



Espectroscopía vibracional e imágenes hiperespectrales aplicadas a la clasificación quimiométrica de residuos de disparo

Ángela Lizeth Álvarez Jiménez

Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias con mención en Química



Director: **Dr. Jorge Carlos Yáñez Solorza**

**Universidad de Concepción
Facultad de Ciencias Químicas
Concepción, Chile
2019**

AGRADECIMIENTOS

- A la Universidad de Concepción y la Facultad de Ciencias Químicas por permitir mi formación doctoral en sus instalaciones.
- Al Profesor Jorge Carlos Yáñez por permitirme vincularme en su grupo de investigación LabTres (Laboratorio de Trazas Elementales y Especiación), por toda su colaboración y apoyo durante el desarrollo de la tesis doctoral.
- A la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT) por la Beca Doctorado Nacional 2016, folio 21161209.
- Al Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDECYT) por el apoyo con el proyecto 1151296 y Anillo ACM 170008.
- A la Dirección de Postgrado por proporcionarme la beca doctoral REDOC durante el año 2015.
- Al Profesor Igor K. Lednev por permitirme realizar la pasantía doctoral en su grupo de investigación *Lednev Lab* de la *University at Albany of State University of New York*.
- A los miembros del grupo LabTres por su colaboración en gestiones operativas y administrativas.
- A la Policía de Investigaciones de Chile por su colaboración institucional. A. Dr. Pedro Sáez del Laboratorio Central de Criminalística, Santiago, y en especial a Mauricio Fonseca de la PDI Concepción por su asesoría en materia de seguridad y muestreo de residuos de disparos.

CONTENIDO

LISTA DE FIGURAS	4
LISTA DE TABLAS	6
LISTA DE ANEXOS	7
RESUMEN	8
ABSTRACT	9
1. INTRODUCCIÓN	10
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	17
2.1. Hipótesis	17
2.2. Objetivos	17
3. METODOLOGÍA	18
3.1. Obtención de muestras	18
3.2. Instrumentación.....	20
3.3. Tratamiento de datos	22
3.4. Análisis quimiométrico	23
4. ESPECTROSCOPIA INFRARROJO Y MÉTODOS DE CLASIFICACIÓN QUIMIOMÉTRICA PARA LA DIFERENCIACIÓN DE PÓLVORA	24
4.1. Consideración adicional en la metodología	24
4.2. Resultados y discusión	25
5. ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL DE RESIDUOS DE DISPARO DE ORIGEN ORGÁNICO PARA LA DIFERENCIACIÓN DE LA MUNICIÓN SEGÚN EL FABRICANTE	32
5.1. Consideraciones adicionales en la metodología	32
5.2. Resultados y discusión	33
6. DETECCIÓN DE RESIDUOS DE DISPARO EN LA PIEL MEDIANTE IMÁGENES HIPERESPECTRALES	44
6.1. Consideraciones adicionales en la metodología	44
6.2. Resultados y discusión	45
7. ANÁLISIS RAMAN DE RESIDUOS DE DISPARO OBTENIDOS DE LA DESCARGA DE DOS TIPOS DE ARMA DE FUEGO: PISTOLA (9 mm) Y REVÓLVER (.38")	50
7.1. Resultados y discusión	50
8. CONCLUSIONES	54
DIFUSIÓN DEL TRABAJO	56
REFERENCIAS	57
ANEXOS	63

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. a) Esquema de una munición, b) Ilustración de algunos tipos de bala. ⁵	11
Figura 2. Estructura química de los principales compuestos orgánicos encontrados en los residuos de disparo. Fuente: elaboración propia	11
Figura 3. Esquema del principio del efecto fotoacústico. Fuente: elaboración propia	13
Figura 4. Esquema de la interacción del haz infrarrojo con la muestra a través de la reflectancia total atenuada. ³⁰	13
Figura 5. Diagrama de energía de los estados involucrados en la señal Raman. ³¹	14
Figura 6. Micro-captura de las pólvoras estudiadas utilizando un microscopio digital. En cada imagen se resalta el número de muestras por fabricante de munición. Fuente: elaboración propia	18
Figura 7. (a) Ilustración del disparo realizado sobre la pieza de tela ubicada a 30 cm de distancia del arma de fuego. b) Soporte de aluminio utilizado para el muestreo de GSR. La flecha indica la ubicación de la cinta en el cabezal del colector. Fuente: elaboración propia	19
Figura 8. a) Área de la mano sometida a muestreo. ³⁴ b) Municiones empleadas y número de muestras generadas por fabricante. ^{35,36}	19
Figura 9. Espectros promedios de pólvora perteneciente a CBC (negro), FAMAE (naranja), Remington (verde) y Winchester (morado) usando a) PAS y b) ATR-FTIR. El espectro promedio representa la suma de cada uno de los espectros, divididos por su cantidad total (por clase de GSR) usando Matlab 8.3.0 con la interfaz PLS_Toolbox. Fuente: elaboración propia.....	25
Figura 10. Gráfico de scores a) PAS y b) ATR-FTIR de las clases de pólvora estudiadas: CBC (negro), FAMAE (naranja), Remington (verde) y Winchester (morado). Fuente: elaboración propia	26
Figura 11. Vector de regresión a) PAS y b) ATR-FTIR para la clasificación de las clases de pólvora: 1) CBC, 2) FAMAE, 3) Remington y 4) Winchester. Fuente: elaboración propia	31
Figura 12. Espectros promedios PAS de los GSR producidos por la descarga de municiones Fiocchi (azul), Maxxtech (rojo) y Remington (verde). El espectro promedio representa la suma de cada uno de los espectros, divididos por su cantidad total (por clase de GSR) usando Matlab 8.3.0 con la interfaz PLS_Toolbox. Fuente: elaboración propia	34
Figura 13. Espectros Raman y ATR-FTIR de GSR producidos por la descarga de municiones a) Fiocchi (azul) b) Maxxtech (rojo) y c) Remington (verde) acompañados de imágenes ópticas de partículas representativas designadas como negra, café y café claro. Las imágenes muestran la heterogeneidad de las partículas GSR con respecto al tamaño, forma y color. Los espectros se normalizaron a la intensidad del pico más alta para fines de comparación. Los espectros Raman fueron procesados mediante suavizado y corrección de línea de base. Fuente: elaboración propia.	35
Figura 14. Comparación espectral a) Raman y b) ATR-FTIR entre los tipos de partículas GSR	

designadas como negra, café y café claro, producidas al disparar municiones Fiocchi (azul), Maxxtech (roja) y Remington (verde). Cada espectro representa la suma de cada uno de los espectros, divididos por su cantidad total (por tipo de partícula de cada clase de GSR) usando Matlab 8.3.0 con la interfaz PLS_Toolbox. Fuente: elaboración propia 36

Figura 15. Gráfico de scores de clases de GSR estudiadas, incluido el PC 1 y el PC 2: Fiocchi (azul), Maxxtech (rojo) y Remington (verde). Para Raman y ATR-FTIR se destacan los tipos de partículas GSR producidas por cada clase designadas como negra, café y café claro. Fuente: elaboración propia..... 38

Figura 16. Gráfico de *loadings* para los dos primeros PCs de (a) PAS, (b) Raman y (c) ATR-FTIR, dónde se indican las bandas espectrales importantes para la identificación y discriminación de GSR..... 39

Figura 17. Efecto de la solución $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ sobre el espectro PAS de (a) cinta, (b) piel, (c) pólvora de referencia y (d) muestra de GSR tratada con solución $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$. Fuente: elaboración propia 45

Figura 18. Espectros ATR-FTIR extraídos de las imágenes hiperespectrales de las muestras de GSR: (a) OGSR, espectros de partículas orgánicas GSR (rojo) y pólvora de referencia (naranja). (b) IGSR (verde), piel (gris) y cinta (azul). Fuente: elaboración propia..... 46

Figura 19. Imagen visual e hiperespectral ATR-FTIR de la cinta de muestreo (a) antes y (b) después de la adición de la solución $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$. La escala de color determina la correlación (0.5 a 1) con la señal química detectada. Las áreas de color azul y blanco representan el patrón espectral de la cinta y la piel, respectivamente. Fuente: elaboración propia 47

Figura 20. Imagen visual e hiperespectral ATR-FTIR de los GSR pertenecientes (a) CBC, (b) Maxxtech y (c) Remington. La escala de color determina la correlación (0.5 a 1) con la señal química detectada. Las áreas de color rojo y verde indican una alta correlación con el patrón espectral de las partículas orgánicas e inorgánicas de GSR respectivamente. Las áreas de color azul y blanco indican una alta correlación con el patrón espectral de la cinta y la piel respectivamente. Fuente: elaboración propia..... 48

Figura 21. (a) Imagen SEM y (b) Espectros EDX de una muestra típica de GSR. Fuente: elaboración propia..... 49

Figura 22. Espectros Raman de partículas GSR observadas a partir de la descarga de municiones usando pistola (9 mm) y revólver (.38"): a) OGSR, b) grafito, c) grafito óxido, d) grafito óxido con banda a 1086 cm^{-1} , e) grafito óxido con banda a 925 cm^{-1} , f) grafito óxido con banda a 465 cm^{-1} g) IGSR con bandas en $1001, 610$ y 447 cm^{-1} . Fuente: elaboración propia..... 51

Figura 23. Espectros Raman de las matrices involucradas en la recolección de los GSR: a) OGSR, b) piel, c) cinta y d) guante de tela. Fuente: elaboración propia..... 52

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Descripción de las muestras GSR generadas usando pistola y revólver.....	20
Tabla 2. Parámetros del PCA para la identificación de pólvora por fabricante (CBC, FAMAE, Remington y Winchester).	26
Tabla 3. Distancias entre las clases de pólvoras investigadas (CBC, FAMAE, Remington y Winchester).	27
Tabla 4. Resultados de clasificación usando el modelo SIMCA para la predicción de la clase de pólvora (CBC, FAMAE, Remington y Winchester) mediante validación cruzada y externa.	28
Tabla 5. Calidad de los modelos SIMCA en términos de sensibilidad (Sn, %), especificidad (Sp, %) y precisión (Pre, %).	28
Tabla 6. Parámetros evaluados en los modelos PLS-DA para la clasificación de pólvora por fabricante (CBC, FAMAE, Remington y Winchester).	29
Tabla 7. Resultados de clasificación usando el modelo PLS-DA para la predicción de la clase de pólvora (CBC, FAMAE, Remington y Winchester) mediante validación cruzada y externa.	29
Tabla 8. Calidad de los modelos PLS-DA en términos de sensibilidad (Sn, %), especificidad (Sp, %) y precisión (Pre, %).	30
Tabla 9. Asignación de bandas para los espectros PAS y ATR-FTIR de la Figura 12 y 14 respectivamente.	34
Tabla 10. Asignación de bandas Raman para las clases de GSR (Fiocchi, Maxxtech y Remington) en los espectros de la Figura 14a.	37
Tabla 11. Parámetros del PCA para la identificación de GSR por fabricante (Fiocchi, Maxxtech y Remington).	38
Tabla 12. Parámetros del modelo SIMCA para la clasificación GSR por fabricante.	41
Tabla 13. Distancias entre las clases de GSR investigadas (Fiocchi, Maxxtech y Remington). .	41
Tabla 14. Resultados de clasificación usando el modelo SIMCA en la predicción de la clase de GSR mediante validación cruzada y externa.	42
Tabla 15. Calidad de los modelos SIMCA en términos de sensibilidad (Sn, %), especificidad (Sp, %) y precisión (Pre, %).	42
Tabla 16. Descripción de las partículas observadas a partir de la descarga de la pistola (9 mm) y revólver (.38”).	50

LISTA DE ANEXOS

- Anexo 1.** Comparación espectral ATR-FTIR de una partícula GSR representativa de Fiocchi, Maxxtech y Remington, y los espectros de estándares que contribuyen a la composición orgánica en los GSR. Fuente: elaboración propia 63
- Anexo 2.** Comparación espectral Raman de una partícula GSR representativa de Fiocchi, Maxxtech y Remington, y los espectros de estándares que contribuyen a la composición orgánica en los GSR. Fuente: elaboración propia 64



RESUMEN

Los delitos con uso de armas de fuego y explosivos han aumentado en las últimas décadas a nivel global, generando un alto impacto en la sensación de seguridad de la sociedad. En la actualidad, la detección de residuos de disparo (GSR) se basa principalmente en la determinación de Pb, Ba y Sb mediante microscopía electrónica de barrido con detector de energía dispersiva (SEM-EDX), sin considerar los residuos de tipo orgánico. Esto hace que la identificación de GSR pueda estar sujeta a error, por ejemplo, debido a la producción de municiones sin metal en las últimas décadas, y las fuentes ambientales u ocupacionales de metales asociados a GSR. En este trabajo se ha considerado que la implementación del análisis orgánico de GSR puede proporcionar información forense complementaria al método actual. Los métodos vibracionales, como la espectroscopía fotoacústica (PAS), espectroscopía infrarrojo con transformada de Fourier por reflectancia total atenuada (ATR-FTIR), las imágenes hiperespectrales y la espectroscopía Raman, son técnicas altamente sensibles y no destructivas capaces de proporcionar información sobre el perfil espectral orgánico de los GSR.

Los GSR resultantes de un disparo dependen de distintos factores, tales como el tipo de arma, tipo de munición (fabricante, calibre), distancia y ángulo de disparo y condiciones ambientales. En este sentido, se consideró que la identificación del fabricante de municiones utilizadas en actos que involucren el uso de armas de fuego o explosivos es información relevante para fines investigativos forenses. Para la caracterización de los GSR, se propuso PAS, ATR-FTIR y Raman, las cuales combinadas con métodos quimiométricos pueden clasificar y discriminar GSR con respecto al fabricante. Los espectros GSR se adquirieron de la descarga de municiones provenientes de tres fabricantes diferentes y ampliamente usadas (Fiocchi, Maxxtech y Remington). Estos se recuperaron desde una pieza de tela simulando la ropa de la víctima. El análisis de componentes principales (PCA) y el modelado independiente suavizado de analogía de clases (SIMCA) se utilizaron para lograr una diferenciación y clasificación efectiva (100%) de los GSR según el fabricante. Los resultados demostraron las ventajas de usar el perfil orgánico para la identificación y diferenciación de GSR.

La detección de GSR depositados en la piel es una práctica establecida en los laboratorios forenses a nivel mundial. La microscopía hiperespectral ATR-FTIR y espectroscopía Raman fueron empleadas para detectar GSR orgánicos colectados directamente desde las manos del disparador y para rastrear el arma utilizada (calibre) respectivamente. Los GSR fueron adquiridos de la descarga de municiones de tres distintos fabricantes y de diferente calibre (9 mm y .38"). Detección positiva de GSR tipo orgánico fue lograda mediante imágenes hiperespectrales ATR-FTIR. Sin embargo, la determinación del calibre y arma a partir de los espectros Raman no fue conseguido, debido a la detección no uniforme de GSR en las muestras colectadas.

ABSTRACT

Crimes involving firearms and explosives have increased in recent decades globally, which effect on security sense of society. Currently, gunshot residues (GSR) detection is based on the determination of Pb, Ba and Sb by scanning electron microscopy with energy dispersive detector (SEM-EDX), without considering the organic components. The recognition of GSR based only in those three metals has some disadvantages such as the increasing use of lead-free ammunition, environmental or occupational sources of metals associated to GSR, induce uncertainty in their recognition. In this work it has been considered that the GSR organic analysis can provide complementary forensic information to the current method. Vibrational methods, such as photoacoustic (PAS), attenuated total reflectance Fourier transform infrared (ATR-FTIR), hyperspectral imaging and Raman spectroscopy, are highly selective and non-destructive analytical techniques able to provide organic GSR profile information.

The chemical composition of GSR depends on the combination of several factors including type of weapon and ammunition (manufacturer, caliber), distance and angle of the shot, and environment conditions. The identification of the ammunition manufacturer used in firearms or explosives events can provide relevant information for forensic purposes. PAS, ATR-FTIR and Raman spectroscopic studies of GSR originating from firing ammunition produced by three different manufacturers (Fiocchi, Maxxtech and Remington). Differentiation of the manufacturers was achieved using the vibrational fingerprint of the GSR coupled with chemometric methods. GSR were collected using tape-lifting protocol from cloth targets, which simulate victim clothes. Principal component analysis (PCA) and soft independent modeling of class analogy (SIMCA) were used to achieve an effective differentiation and classification (100%) of GSRs based on ammunition manufacturer. The results demonstrated the advantages of using the organic profile spectral for GSR identification and differentiation.

The GSR detection on skin is an established practice in forensic laboratories. ATR-FTIR hyperspectral microscopy and Raman spectroscopy were applied to detect organic GSR on the shooter hands and to determinate of the weapon (caliber) used, respectively. GSR were acquired from discharge of different ammunition manufacturer and caliber (9 mm and .38"). Positive detection of OGSR was achieved by hyperspectral imaging ATR-FTIR. However, the determination of weapon and caliber from Raman spectra were not achieved due to the non-uniform GSR detection in the collected samples.

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente, los peritajes de delitos con armas de fuego presentan una creciente limitación y amenaza en la confiabilidad de sus resultados, debido a la producción de municiones con pólvora libre de metales pesados (Pb, Ba, Sb) o con bajas concentraciones de estos, cuya detección es clave en los métodos convencionales de análisis de residuos de disparo (GSR, *gunshot residue*). En consecuencia, el análisis de compuestos orgánicos en el peritaje de GSR permite obtener información complementaria que mejoraría la certeza de peritajes forenses.

En este contexto, Latinoamérica concentra el 33% de homicidios mundiales, aunque sólo representa el 8% de la población. De acuerdo con el balance entregado por la fundación *InSight Crime*, basado en el número de homicidios registrados y en el total de población estimada del 2017, Venezuela fue el país con la tasa más alta de homicidios en el mundo (89 homicidios por 100 mil habitantes). Chile se encuentra entre los países con la menor tasa de homicidio en Sudamérica (3.3 por cada 100 mil habitantes), sin embargo, presenta un ligero incremento desde el 2015 hasta el 2018. En el 2018 se reportaron 733 casos de homicidio, donde el empleo de armas de fuego ocupa el primer lugar como mecanismo más utilizado (42%).¹

La descarga de arma de fuego es un proceso de combustión complejo que genera un producto residual en forma de GSR. Al ejecutarse el arma se producen gases en la combustión, que luego se condensan en partículas de distintas formas y tamaño (0.5-100µm). Los residuos resultantes son un conjunto de partículas de combustión incompleta o completa de la pólvora, de componentes provenientes del fulminante y de metales contenidos en la munición.^{2,3} Por lo tanto, los GSR están formados por constituyentes inorgánicos (IGSR) y orgánicos (OGSR), que se originan principalmente de la pólvora, el fulminante y la bala (Figura 1a).

Dependiendo del material de revestimiento o forma de la bala, estas pueden ser clasificadas y utilizadas para distintos propósitos. La Figura 1b ilustra tres tipos de balas tales como: *i) full metal jacket* que corresponde a las balas completamente revestidas de aleación de cobre o acero con el fin de reducir los residuos de plomo en el cañón del arma una vez ejecutado el disparo, *ii) jacketed hollow point* que pertenecen a las balas blindadas con punta hueca, su cavidad en la punta provoca la deformación de la bala, permitiendo ceder más energía a menor penetración, *iii) lead round nose* que conciernen a las balas constituidas completamente de plomo sin ningún tipo de revestimiento con punta redondeada.⁴

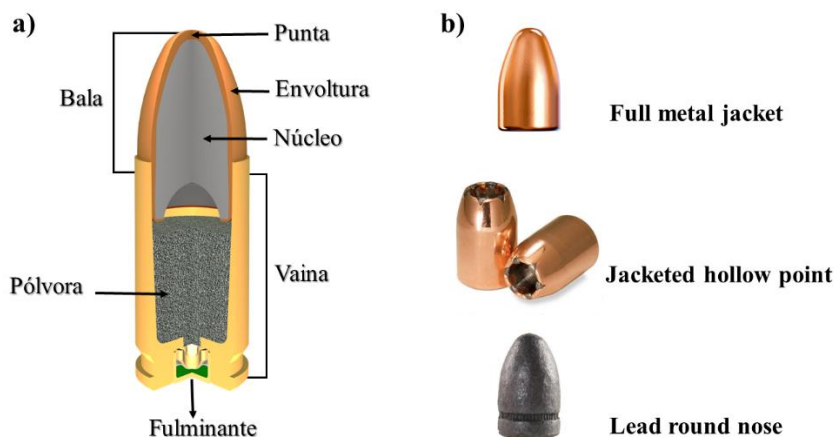


Figura 1. a) Esquema de una munición, b) Ilustración de algunos tipos de bala.⁵

La pólvora de las municiones es la mayor fuente de GSR de origen orgánico y puede ser clasificada como *i) base simple* constituida principalmente por nitrocelulosa como explosivo, *ii) base doble* porque contienen nitrocelulosa y nitroglicerina, la cual aumenta el potencial energético de la pólvora, *iii) base triple* en la que una porción de la nitrocelulosa y nitroglicerina es reemplazada por nitroguanidina (Figura 2). Además, contiene una serie de aditivos que actúan como estabilizantes, plastificantes, inhibidores de destellos, refrigerantes, lubricantes y colorantes. Una lista de compuestos que pueden contribuir a la composición orgánica de GSR ha sido reportada previamente.^{3,6,7} Por otro lado, el fulminante está constituido a base de sulfuro de antimonio (III), trinitroresorcinato de plomo, nitrato de bario, óxido de plomo y tetraceno, cuya combustión genera partículas condensadas de Pb, Ba y Sb, entre otros.² En ambos casos es posible detectar residuos de los compuestos iniciales o productos de su combustión.

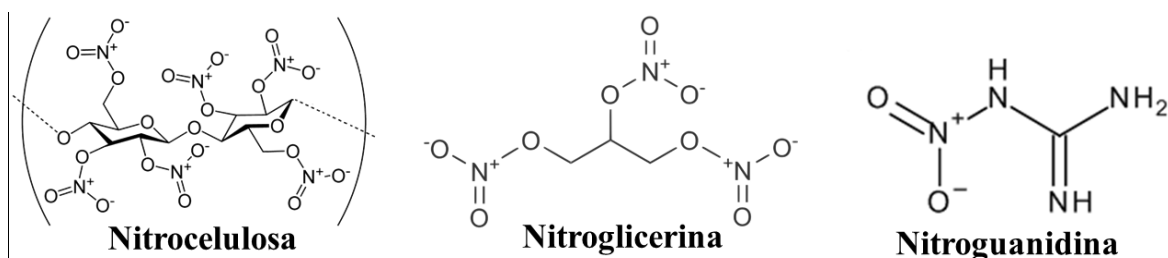


Figura 2. Estructura química de los principales compuestos orgánicos encontrados en los residuos de disparo.
Fuente: elaboración propia

Actualmente, el método estandarizado para el análisis elemental de GSR (Pb, Ba y Sb) es la microscopía electrónica de barrido con un detector de energía dispersiva de rayos X (SEM-EDX), la cual permite conocer simultáneamente la morfología y la composición elemental de las partículas individuales.⁸ Sin embargo, el peritaje de GSR basado sólo en esos tres metales presenta algunas amenazas, como la fabricación de municiones sin plomo y con concentraciones bajas en metales, el hallazgo de partículas metálicas con composición química similar a GSR presentes en el ambiente y en lugares de trabajo.

La contaminación de Pb en el medio puede provenir de diversas fuentes, como escape de los automóviles, vidrio, pinturas y las industrias de impresión. Las aleaciones Pb-Sb se encuentran comúnmente en las baterías de almacenamiento. El Sb se encuentra en los frenos, plásticos y fósforos. La presencia de Ba en los suelos se puede deber a la contaminación por fuegos artificiales y residuos de explosivos.^{9,10} Además, el procedimiento de análisis requiere mucho tiempo y la adquisición y el mantenimiento del equipo requerido es costoso, lo que limita en gran medida la aplicación masiva de esta técnica. Cabe resaltar que en Chile debido al alto valor del instrumento SEM-EDX, sólo se cuenta con un equipo en el Laboratorio de Criminalística Central de la PDI ubicado en Santiago.

En este contexto, algunos métodos alternativos han sido aplicados para la detección de trazas de metal de GSR, tales como espectrometría de absorción atómica de horno de grafito (GF-AAS), espectrometría de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES), espectroscopía de plasma inducido por láser (LIBS) y espectrometría de masas por plasma acoplado inductivamente (ICP-MS).^{2,11} Esas técnicas destacan por sus límites de detección, sin embargo, no permiten la visualización de las partículas GSR y requieren de tediosos procedimientos de preparación de muestra, lo que implica su destrucción.

En consecuencia, varios estudios han centrado su atención en el desarrollo de métodos analíticos que permitan el análisis de otros componentes en los GSR.^{6,12-16} La implementación del análisis orgánico de GSR puede proporcionar información complementaria al método actual. Incluso la combinación de la información inorgánica y orgánica aumentaría el valor de cualquier hallazgo positivo en el trabajo forense, ya que permite interpretaciones más precisas de los resultados analíticos.

La espectroscopía vibracional es una herramienta que permite obtener un perfil químico característico de los compuestos y se ha aplicado en diversas áreas de la ciencia forense.^{14,17-23} La técnica ofrece mediciones confiables y no destructivas y la necesidad de poca o ninguna preparación de la muestra.²⁴ Esto es un atractivo para el análisis de evidencias cuando sólo se recuperan trazas de las muestras en la escena del crimen. El examen de las muestras mediante métodos no destructivos, como espectroscopía fotoacústica (PAS), espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier por reflectancia total atenuada (ATR-FTIR) e imágenes hiperespectrales y la espectroscopía Raman, permiten obtener información del perfil orgánico de los GSR. Dado que se puede detectar compuestos de nitrato como nitrocelulosa o nitroglicerina, los cuales son poco probable de encontrarlos en otro tipo de materiales, la espectroscopía vibracional es muy selectiva para discriminar o no la presencia de GSR.

En breve, el efecto fotoacústico se genera a partir de incidir radiación infrarroja modulada sobre una muestra que se encuentra en una celda cerrada, siendo parte de la radiación absorbida y parcialmente transformada en calor que se transfiere al medio, formando ondas de expansión

térmica. Las variaciones de temperatura van acompañadas por cambios de presión que generan ondas acústicas en la celda, que son detectadas a través de un cantiléver que genera una señal y la amplifica (Figura 3).^{25,26}

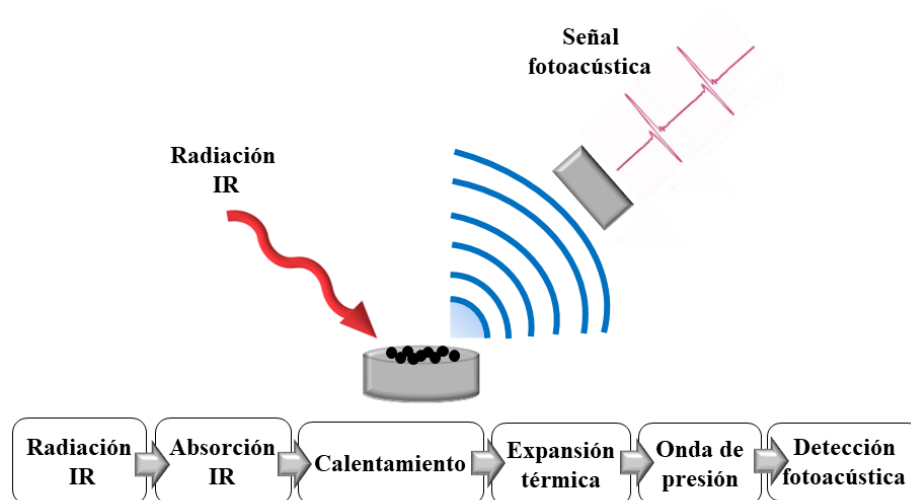


Figura 3. Esquema del principio del efecto fotoacústico. Fuente: elaboración propia

En la espectroscopía IR con accesorio ATR, un haz de radiación atraviesa el cristal ATR donde se encuentra presionada la muestra por una torre de presión. La radiación penetra hasta unas micras sobre la muestra, y una onda evanescente se crea y se refleja en la interfaz del cristal. La intensidad de la onda evanescente se desintegra rápidamente de la superficie del cristal. Después de una o varias reflexiones internas, el haz de IR sale del cristal ATR y se dirige hacia el detector (Figura 4).²⁷ En el caso específico de las imágenes hiperespectrales, son el resultado de la combinación entre la espectroscopía y la información espacial obtenida de la imagen digital. Los conjuntos de datos resultantes son cubos de información numérica que contienen dos ejes de información espacial (x, y) y un tercer eje (z) de información espectral. En las imágenes FTIR, el eje z contiene los valores de absorbancia, transmitancia o reflectancia (números de onda) obtenidos de cada píxel.^{18,28,29}

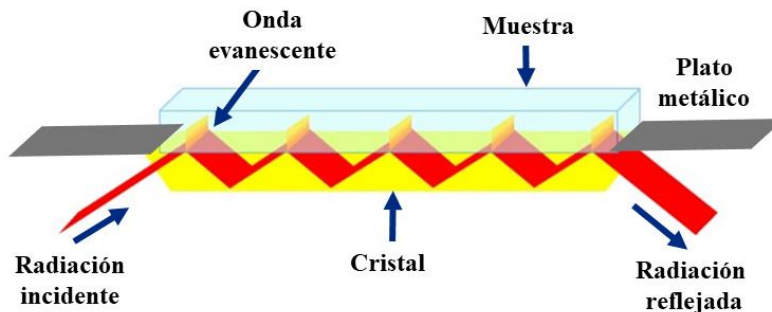


Figura 4. Esquema de la interacción del haz infrarrojo con la muestra a través de la reflectancia total atenuada.³⁰

La espectroscopía Raman es una técnica relacionada con la luz dispersada sobre un material al incidir sobre él un haz de radiación monocromático (visible, ultravioleta o infrarrojo). La mayor

parte de la dispersión resulta en fotones que poseen la misma frecuencia de la radiación incidente, denominado como dispersión elástico o Rayleigh. Cuando la dispersión produce fotones que poseen frecuencias más altas o más bajas que la fuente de excitación, se conoce como dispersión inelástica o Raman. La dispersión Raman puede especificarse adicionalmente como anti-Stokes o Stokes en función de las energías respectivas de los fotones resultantes. Dicha dispersión inelástica resulta de las transiciones ocurridas entre niveles vibracionales y/o rotacionales de la molécula. Para que la vibración sea activa en Raman debe provocar un cambio en la polarizabilidad de la molécula (Figura 5).

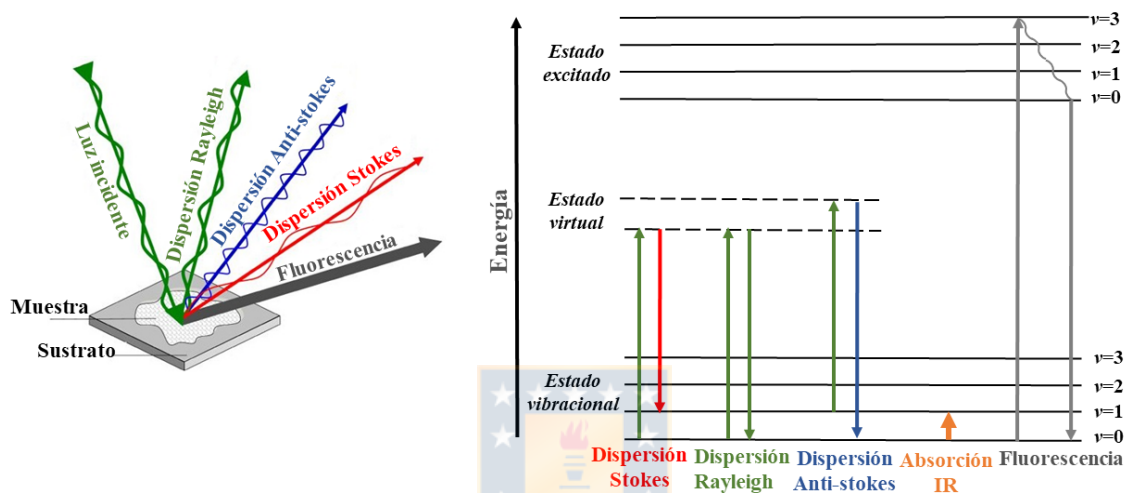


Figura 5. Diagrama de energía de los estados involucrados en la señal Raman.³¹

Además, la fluorescencia es un fenómeno involucrado durante la obtención de la señal Raman, que resulta de la absorción del fotón y relajación de la molécula en el estado electrónico excitado, pasando a un estado excitado de menor energía y liberando un fotón de frecuencia más baja que el incidente. La fluorescencia aparece como una suave curvatura de la línea base y puede alcanzar una intensidad que enmascara la señal Raman.³² Aunque la espectroscopía Raman es un tipo de espectroscopía vibracional, el mecanismo de dispersión Raman de la excitación de fotones es diferente al involucrado en la espectroscopía de absorción infrarroja (Figura 5).

Los datos espectroscópicos se procesan utilizando métodos quimiométricos. Estos métodos proporcionan herramientas matemáticas para procesar grandes cantidades de información y revelar correlaciones entre los patrones espectroscópicos de las muestras. Las técnicas quimiométricas utilizan el análisis multivariado de datos, lo que posibilita la generación de modelos de clasificación, algoritmos de predicción y calibraciones.

El análisis de componentes principales (PCA) proporciona información sobre la relación general entre las muestras en estudio, agrupándolas de acuerdo con la similitud (o diferencia) entre ellas. El objetivo del PCA es hallar las direcciones que expliquen la máxima varianza de un conjunto de datos y utilizarlas como nuevos ejes de coordenadas denominados componentes principales (PC),

los cuales son combinación lineal de las variables originales. De esta forma, se reduce la dimensión de un espacio de k dimensiones a un espacio de a dimensiones ($a < k$), manteniendo intacta la información relevante del conjunto de datos. El método factoriza la matriz de datos X en términos de puntuaciones (*scores*, T), cargas (*loadings*, P) y una matriz de error (E):

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP}^t + \mathbf{E} \quad (1)$$

Cada componente principal contiene información de diferente relevancia. Los primeros PCs describen la fuente de variación más importante del conjunto de datos. La interpretación del modelo se realiza graficando los *scores* y *loadings*. En el gráfico de la matriz de *scores* cada punto representa una observación (muestra), mientras que el gráfico de *loadings* permite la visualización de la contribución de las variables discriminantes.³³

Los métodos de clasificación y reconocimiento de patrones se utilizan comúnmente para la discriminación de muestras en diferentes clases, como por ejemplo el modelamiento independiente suavizado de analogía de clases (SIMCA) y mínimos cuadrados parciales discriminantes (PLS-DA).

SIMCA es un método supervisado de reconocimiento de patrones que se basa en el principio de analogía entre las muestras que pertenecen a una misma clase y emplea las puntuaciones determinadas mediante PCA para el cálculo de las distancias entre los objetos. El método SIMCA calcula un modelo PCA para cada clase presente en el sistema objeto de estudio, posteriormente, integra cada una de las clases y calcula sus límites con una probabilidad del 95%. Para la asignación de un nuevo objeto a una clase, la información que se calcula es dividida en dos, una parte explicada por el modelo de la clase y otra que permanece en los residuales. Si los residuales de la muestra son significativamente mayores que los de la clase, la muestra es rechazada.³³

El algoritmo PLS-DA usa el método de regresión PLS con el fin de obtener variables latentes (LVs) que maximicen la varianza entre los grupos y minimicen la varianza dentro de estos. Según la ecuación 2, X corresponde a la matriz de las variables independientes del conjunto de calibración, Y ($i=1, \dots, n$) es la matriz de las variables respuesta con n filas (muestras) y k columnas (clases), que se construye a partir de la formación de una matriz binaria (0 y 1).³³

$$\mathbf{Y} = \mathbf{XB} \quad (2)$$

La clasificación de una nueva muestra x se lleva a cabo por regresión de Y sobre X , seleccionando el grupo correspondiente al componente de mayor valor de \hat{y} en el vector:

$$\hat{\mathbf{y}}(x) = (\hat{y}_1(x), \dots, \hat{y}_k(x)) \quad (3)$$

El objetivo de este trabajo es desarrollar un método que considere la identificación de compuestos orgánicos que son característicos de los GSR empleando espectroscopía fotoacústica, espectroscopía infrarroja con accesorio ATR e imágenes hiperespectrales y espectroscopía Raman, con interpretación asistida mediante métodos de clasificación quimiométrica.

La base de datos espectrales proporcionará un modelo predictivo del fabricante y calibre de la munición disparada y el tipo de arma. Los métodos optimizados podrán ser probados en casos reales en laboratorios de criminalística para validarlos en condiciones reales y lograr mejorar los peritajes de delitos relacionados con arma de fuego.



2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1. Hipótesis

El perfil orgánico espectral de los residuos de disparo obtenido a partir de espectroscopía vibracional en combinación con métodos de clasificación quimiométricos permite aportar evidencia química a peritajes forenses mediante la identificación de la munición disparada y el tipo de arma de fuego empleada.

2.2. Objetivos

2.2.1. *Objetivo General*

Desarrollar un método de análisis de residuos orgánicos de disparo que permita conocer la clase de munición disparada y el tipo de arma (pistola y revólver) utilizada por medio de espectroscopía vibracional aplicando métodos de clasificación quimiométricos.

2.2.2. *Objetivos Específicos*

- Obtener el perfil espectral orgánico de pólvora y residuos de disparo por medio de espectroscopía fotoacústica, espectroscopía infrarrojo con transformada de Fourier por reflectancia total atenuada e imágenes hiperespectrales, y espectroscopía Raman.
- Aplicar métodos quimiométricos como PCA, SIMCA y PLS-DA para la diferenciación y clasificación de la munición disparada y el tipo de arma (pistola y revólver).
- Validar el modelo de clasificación obtenido con muestras desconocidas.

3. METODOLOGÍA

3.1. Obtención de muestras

Las municiones estudiadas fueron proporcionadas por la Policía de Investigaciones de Chile (PDI) y *New York State Police* de Albany, New York-EE.UU. Las sesiones de disparo se llevaron a cabo con la supervisión y el apoyo de la policía en la galería de tiro del Stadio Italiano de Concepción y en las instalaciones de *New York State Police* de Albany.

3.1.1. Pólvora

Para el análisis de pólvora, las municiones fueron desarmadas en los laboratorios de la PDI, separando cuidadosamente la vaina y la bala sin alterar el contenido de la pólvora. Las muestras de pólvora fueron separadas y almacenadas en bolsas de polietileno hasta el análisis. Cuatro fabricantes de municiones de 9 mm fueron estudiados (Figura 6): a) *Companhia Brasileira de Cartuchos* (Brasil, abreviada en adelante como CBC), b) *Fábrica y Maestranzas del Ejército de Chile* (Chile, abreviada en adelante como FAMAE), c) *Remington* (EE.UU.) y d) *Winchester* (EE.UU.). Un total de 82 muestras de pólvora fueron investigadas.



Figura 6. Micro-captura de las pólvoras estudiadas utilizando un microscopio digital. En cada imagen se resalta el número de muestras por fabricante de munición. Fuente: elaboración propia

3.1.2. Muestreo de residuos de disparo colectados desde textil

Las partículas de GSR se obtuvieron disparando (una vez) en una pieza de tela (25 cm x 25 cm) ubicado a 30 cm de distancia del arma de fuego para maximizar el número de partículas a coleccionar (Figura 7), donde la pieza de tela simula la ropa de la víctima. Los GSR fueron obtenidos a partir de la descarga de municiones de 9 mm *full metal jacket* usando una pistola *Jericho* modelo 941 FS. Los fabricantes de las municiones estudiadas fueron: a) *Fiocchi Munizioni S.P.A* (Italia), b) *Maxxtech Ammunition* (Bosnia y Herzegovina) y c) *Remington UMC* (EE.UU.). Se realizaron

un total de 112 disparos: 40 descargas de arma de fuego fueron obtenidas utilizando municiones FIOCCHI, mientras que se generaron 36 descargas de cada una de las municiones Maxxtech y Remington. Cada muestra de GSR se recuperó utilizando piezas de cinta transparente (6 mm x 6 mm) de doble cara marca 3M (Ted Pella, Inc, Redding, CA, EE.UU.), que se encontraba adherida a un soporte de aluminio (Figura 6). El colector fue presionado (30 veces aprox.) contra la pieza de tela para la obtención de los GSR.

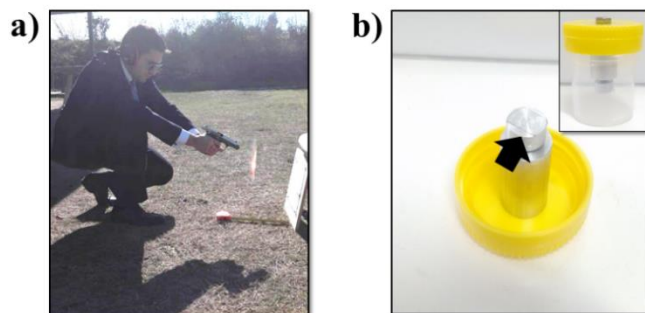


Figura 7. (a) Ilustración del disparo realizado sobre la pieza de tela ubicada a 30 cm de distancia del arma de fuego. b) Soporte de aluminio utilizado para el muestreo de GSR. La flecha indica la ubicación de la cinta en el cabezal del colector. Fuente: elaboración propia

3.1.3. Residuos de disparo colectados desde las manos del disparador

3.1.3.1. Descarga de municiones con arma de fuego calibre 9 mm

Los disparos se llevaron a cabo utilizando una pistola *Jericho* modelo 941 FS de 9 mm. Las manos del disparador se lavaron y se secaron antes y después de cada descarga de munición. Dos disparos sucesivos fueron realizados para la toma de cada muestra. Las muestras de GSR se recolectaron usando una cinta transparente (6 mm x 6 mm) de doble cara 3M adherida a un soporte de aluminio. El lado disponible de la cinta en el colector fue presionado (30 veces/mano aprox.) contra el área superior e inferior de las manos del disparador (Figura 8a). Las municiones de 9 mm *full metal jacket* estudiadas fueron (Figura 8b): (a) Companhia Brasileira de Cartuchos (Brasil), (b) Maxxtech (Bosnia y Herzegovina) y (c) Remington UMC (EE.UU.). Un total de 14 muestras de GSR fueron colectadas.

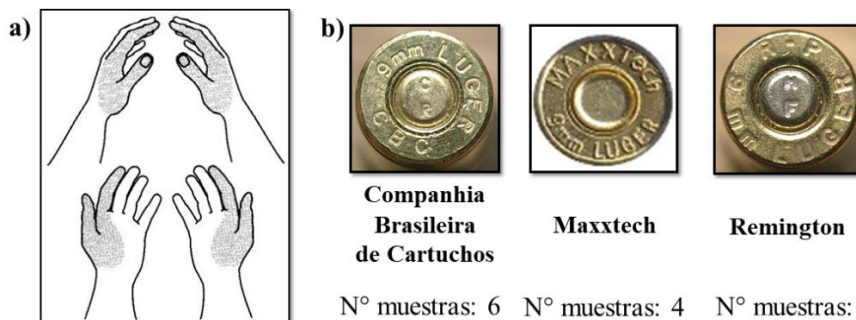


Figura 8. a) Área de la mano sometida a muestreo.³⁴ b) Municiones empleadas y número de muestras generadas por fabricante.^{35,36}

3.1.3.2. Descarga de municiones con pistola de 9 mm y revólver 0.38”

Las muestras de GSR fueron generadas por la descarga de 10 municiones Winchester (EE.UU.) de distinta marca (Luger, NATO, Defender, etc) de calibre 9 mm y .38”, utilizando una pistola *Glock* modelo 26 y un revólver *Smith & Wesson* modelo 64. Una sesión por calibre fue llevada a cabo para la obtención de los GSR. Cinco descargas por calibre fueron realizadas por una misma persona. Las manos del disparador se lavaron y secaron antes y después de la primera descarga de munición. Los residuos correspondientes al disparo N°1 de cada calibre fue colectado directamente desde la piel de ambas manos del disparador. Mientras que los disparos N° 2 hasta el N° 5 fueron ejecutados con las manos protegidas con guantes de tela, con el fin de evitar contaminación cruzada tras cada disparo (Tabla 1). Cada muestra de GSR se recolectó usando una cinta transparente (70 mm x 25 mm) de doble cara 3M adherida a un portaobjetos. El lado disponible de la cinta fue presionado contra el área superior e inferior de las manos del disparador para la obtención de los GSR.

Tabla 1. Descripción de las muestras GSR generadas usando pistola y revólver.

Arma de fuego/Calibre	N° Disparo	Munición	Tipo de bala	Superficie de muestreo
Pistola <i>Glock</i> modelo 26 Calibre 9 mm	1	Winchester Luger	<i>Full metal jacket</i>	Piel
	2	Winchester NATO	<i>Full metal jacket</i>	
	3	Winchester Defender	<i>Bonded jacketed hollow point</i>	
	4	Winchester Train & Defend	<i>Jacketed hollow point</i>	Guante de tela
	5	Winchester Defender	<i>Bonded jacketed hollow point</i>	
Revólver <i>Smith & Wesson</i> modelo 64 Calibre .38”	1	Winchester Defender	<i>Bonded jacketed hollow point</i>	Piel
	2	Winchester Special Target	<i>Full metal jacket</i>	
	3	Winchester Train & Defend	<i>Full metal jacket</i>	
	4	Winchester Train & Defend	<i>Jacketed hollow point</i>	Guante de tela
	5	Winchester Special Target	<i>Lead round nose</i>	

3.2. Instrumentación

3.2.1. Espectroscopía fotoacústico

Las mediciones de pólvora se realizaron usando un espectrómetro Nicolet Nexus 470 FTIR (Thermo Scientific, Madison, WI, EE. UU.) junto con un detector PA 300 (MTEC, Ames, IA, EE. UU.). Mientras que las mediciones de GSR se llevaron a cabo utilizando un espectrómetro FTIR Nicolet iS 10 (Thermo Scientific, Madison, WI, EE. UU.) junto con un detector fotoacústico PA

301 (Gäsera Ltd, Turku, Finlandia). Cada detector fue fijado al espectrómetro mediante una placa base pre-alineada. La cámara de la celda fue purgada con helio con un flujo de 50 ml/min durante 1 minuto, previo a cada adquisición espectral con el fin de mejorar la sensibilidad y reducir los niveles de humedad. Los espectros PAS se recolectaron entre 4000 a 500 cm^{-1} con una resolución de 8 cm^{-1} y 50 acumulaciones por espectro. El espectro de fondo se obtuvo utilizando negro de carbono previo a la medición de cada muestra. Las adquisiciones espectrales se realizaron utilizando el software Thermo Scientific Omnic Spectra versión 9.2.

3.2.2. Espectroscopía infrarrojo con accesorio ATR

Los espectros IR se registraron utilizando un accesorio de muestreo ATR, con cristal de diamante-ZnSe acoplado en un espectrómetro Spectrum 100 FTIR (Perkin Elmer Inc, Waltham, MA, EE. UU.). El espectro de cada muestra se recolectó en el rango de 4000 a 650 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} y 20 acumulaciones por espectro. El espectro de fondo se recolectó previo al análisis de cada muestra. El cristal ATR fue limpiado cuidadosamente con acetona antes de cada recolección. Una vez evaporado el disolvente, se examinó la siguiente muestra. La colección espectral se realizó utilizando el software PE Spectrum versión 7.0 (Perkin Elmer Inc, Waltham, MA, EE. UU.).

Las imágenes hiperespectrales y sus correspondientes espectros IR se registraron usando un espectrómetro Spotlight 400 FTIR (PerkinElmer Inc, Waltham, MA, EE. UU.). Las muestras de GSR se escanearon mediante reflectancia total atenuada con un cristal de germanio. Los espectros fueron colectados en el rango de 4000 a 750 cm^{-1} con una resolución de 8 cm^{-1} y 4 acumulaciones por espectro. El área observada fue de 250 μm^2 con un tamaño de píxel de 6,25 μm x 6,25 μm . El espectro de fondo se recolectó antes del análisis de cada muestra. Para la obtención de las imágenes hiperespectrales y los espectros de IR se operó con el software Spectrum Image versión 1.8 (PerkinElmer Inc, Waltham, MA, EE. UU.).

3.2.3. Espectroscopía Raman

Los espectros Raman se colectaron utilizando un espectrómetro Raman inVia (Renishaw, Gloucestershire, Reino Unido) equipado con un microscopio Leica de 50 \times de magnificación. Se utilizó una fuente de excitación láser Nd: YAG (coherente) con longitud de onda de 785 nm. Los espectros Raman fueron obtenidos en el rango de 1800-600 cm^{-1} con 30 s de exposición y 3 acumulaciones por espectro. El espectrómetro fue calibrado utilizando un estándar de referencia de silicio a 520 cm^{-1} . El sistema fue operado con el software WiRE 3.2 para la adquisición de los espectros Raman.

3.2.4. Microscopía electrónica de barrido con detector de energía dispersiva de rayos X

Para verificar la presencia de GSR, se realizó un análisis convencional de EDX utilizando un difractómetro D4 Endeavor de (Bruker AXS, Karlsruhe, Alemania). La morfología y el tamaño de las partículas GSR se analizaron mediante microscopio electrónico de barrido JSM-6380 LV (Jeol Ltda, Freising, Alemania). Los espectros de EDX se recogieron en un rango de 0 a 20 keV.

3.3. Tratamiento de datos

3.3.1. Extracción de imágenes hiperespectrales y espectros IR

El análisis de imágenes se realizó mediante análisis de componentes principales (PCA) para revelar las diferencias espectrales y la distribución de los constituyentes en las muestras usando el software Spectrum Image (PerkinElmer Inc, Waltham, MA, EE.UU.). Las imágenes se reconstruyeron utilizando las matrices de *scores* de PCA del hipercubo y los espectros IR de referencia de cada componente de interés (OGSR, IGSR, piel y cinta). La similitud se calculó aplicando el coeficiente de correlación de Pearson ($0.5 < r < 1$). El método de correlación utiliza la información espectral contenida en el hipercubo e identifica las regiones con mayor contraste espectral entre los diferentes componentes. Una escala de colores fue utilizada para mostrar el contraste de la composición en la muestra por píxel en la imagen.^{18,28,29,37}

Todos los espectros extraídos de las imágenes se sometieron a supresión atmosférica para corregir los efectos del vapor de agua y del dióxido de carbono. La corrección de ATR se realizó para eliminar los desplazamientos de la banda de absorción y la variación en la profundidad de penetración.^{38,39} Además, se usó la corrección de línea de base para corregir el desplazamiento de la línea de base. Posteriormente, los espectros se transformaron de transmitancia a absorbancia.

3.3.2. Pretratamiento de espectros PAS, IR y Raman

Todos los datos espectrales se importaron a Matlab 8.3.0 (MathWorks Inc., Natick, MA, EE. UU.) con PLS_Toolbox (Eigenvector Research Inc., Manson, WA, EE. UU.) para el preprocesamiento de espectros. Los espectros IR se transformaron de transmitancia a absorbancia y la contribución de fluorescencia en los espectros Raman se eliminó utilizando un algoritmo de corrección de línea base (mínimos cuadrados ponderados, polinomio de 6° orden).

Todos los espectros IR y Raman se transformaron usando distintos algoritmos como derivada (para la corrección de línea base), variable normal estándar (para eliminar las interferencias multiplicativas de la dispersión en la señal espectral) o suavizado (para minimizar el ruido espectral).³³

Posteriormente fueron preprocesados mediante centrado en la media, donde se calcula el valor medio de cada variable (\bar{X}_k) del conjunto de calibración de cada columna de la matriz, y se resta este valor a cada punto (X_{ik}) de la columna. El valor medio corresponde al centro del modelo y los valores de todas las variables estarán referidas a dicho centro.³³

$$X_{ik}^{centrado} = X_{ik} - \bar{X}_k \quad (3)$$

3.4. Análisis quimiométrico

Los datos espectrales se dividieron por selección aleatoria en dos conjuntos: conjunto de entrenamiento para el modelo de clasificación y conjunto de prueba para fines de validación externa.

El análisis de componentes principales (PCA) se utilizó para el agrupamiento exploratorio de las clases en estudio.^{33,37} Como modelos de clasificación se utilizaron los algoritmos SIMCA y PLS-DA. El diseño de la clasificación se evaluó mediante validación cruzada *leave one out* (LOO), en la cual una muestra es retirada del conjunto de entrenamiento y tomada como muestra de prueba, repitiéndose este proceso k veces ($k=1$ hasta $k=n-1$) siendo n el número de muestras.³³

Posteriormente, cada modelo construido fue utilizado para la validación externa del conjunto de prueba. Los modelos fueron evaluados y comparados utilizando diferentes parámetros:⁴⁰

- i) *sensibilidad* (S_n) describe la capacidad del modelo para reconocer correctamente los objetos que pertenecen a la clase g^{th} .
- ii) *especificidad* (S_p) caracteriza la capacidad de la clase g^{th} para rechazar objetos de todas las demás clases.
- iii) *precisión* (Pre) mide la capacidad de un modelo de clasificación para excluir objetos de otras clases en la clase considerada.

Todos estos parámetros fueron calculados para los conjuntos de entrenamiento y los conjuntos de prueba. El análisis quimiométrico se realizó usando Pirouette 4.5 (Infometrix Inc., Woodinville, WA, USA) o PLS_Toolbox de Matlab (Eigenvector Research Inc., Manson, WA, EE. UU.).

4. ESPECTROSCOPIA INFRARROJO Y MÉTODOS DE CLASIFICACIÓN QUIMIOMÉTRICA PARA LA DIFERENCIACIÓN DE PÓLVORA

La pólvora es el propulsor a base de nitrocelulosa que se emplea comúnmente en la fabricación de municiones militares y civiles.⁴¹ Los fabricantes agregan varios compuestos energéticos que determinan la potencia de la explosión y permiten su uso en municiones de alto calibre. En este sentido es posible caracterizar la pólvora de acuerdo con sus componentes, que dependiendo del fabricante varía su composición. En casos donde se ha accionado un arma de fuego, se puede encontrar la pólvora como producto de combustión completa o incompleta.^{2,3} Por lo que su identificación en muestras de residuos de disparo, proporciona información forense relevante como por ejemplo su origen (fabricante).

Dada la disponibilidad de la pólvora en el mercado, se ha facilitado la fabricación de artefactos explosivos improvisados (IED),⁴² conllevando a una creciente de acciones terroristas con resultados catastróficos.⁴³ La identificación de la pólvora en los explosivos utilizados en las IED, también son de interés forense, por lo que diferentes estudios han sido reportados.^{42,44-50}

Lograr clasificar y discriminar pólvora con respecto al fabricante mediante su caracterización espectral infrarrojo combinado con métodos de clasificación quimiométrica, proporciona un indicio de la posibilidad de diferenciar GSR mas adelante. El objetivo de este trabajo es conocer el fabricante de la pólvora mediante su perfil orgánico espectral usando espectroscopía PAS y ATR-FTIR acoplado a métodos de clasificación quimiométrica como SIMCA y PLS-DA.

4.1. Consideración adicional en la metodología

Los espectros PAS fueron transformados por variable normal estándar (SNV) para eliminar las interferencias multiplicativas de la dispersión en la señal espectral. Los datos espectrales ATR-FTIR fueron transformados por 1ª derivada (25 puntos por ventana) para minimizar la desviación de la línea de base.

Un total de 82 muestras de pólvoras pertenecientes a CBC (25), FAMAE (12), Remington (33) y Winchester (12) fueron analizadas por PAS y ATR-FTIR. Los datos espectrales se dividieron por selección aleatoria en dos conjuntos (80:20): conjunto de entrenamiento (66 espectros) para el modelo de clasificación y conjunto de validación (16 espectros) para fines de validación externa.

4.2. Resultados y discusión

4.2.1. Análisis espectral

Los perfiles espectrales PAS y ATR-FTIR de pólvora proveniente de los fabricantes de municiones en estudio (CBC, FAMAE, Remington y Winchester) se muestran en la Figura 9. Las cuatro clases de pólvora mostraron bandas características de compuestos explosivos como nitrocelulosa y nitroglicerina.^{46,51,52} López-López et al.^{46,51} reportaron las zonas espectrales IR características de la pólvora de diferentes municiones con composición conocida y año de fabricación (desde 1978 hasta 2004) proveídas por el Acuartelamiento San Juan del Viso (Madrid, España). La manufactura de las municiones no fue mencionada en el estudio. Las pólvoras analizadas son de base simple, doble y triple. Similar a las zonas espectrales reportadas,^{46,51} en la Figura 9 las tres bandas más intensas a 1670, 1286 y 843 cm^{-1} corresponden a vibración de tensión asimétrica y simétrica del O-NO₂ y tensión N-O respectivamente. La región entre 1200-1000 cm^{-1} está asociada a las vibraciones del ciclo de glucopiranososa de la NC. Las bandas correspondientes a la vibración de tensión del anillo y del C-O se observan a 1164 cm^{-1} y 1026-1008 cm^{-1} respectivamente.⁵² También se observan las bandas generadas por la vibración de tensión C-H a 2974 y 2919 cm^{-1} y de deformación C-H entre 1450-1320 cm^{-1} . En los espectros ATR-FTIR es notable una banda a 1377 cm^{-1} para las muestras Remington y Winchester, la cual puede ser asignada a la vibración de tensión simétrica del NO₂ característica de isómeros de dinitrotolueno.^{53,54}

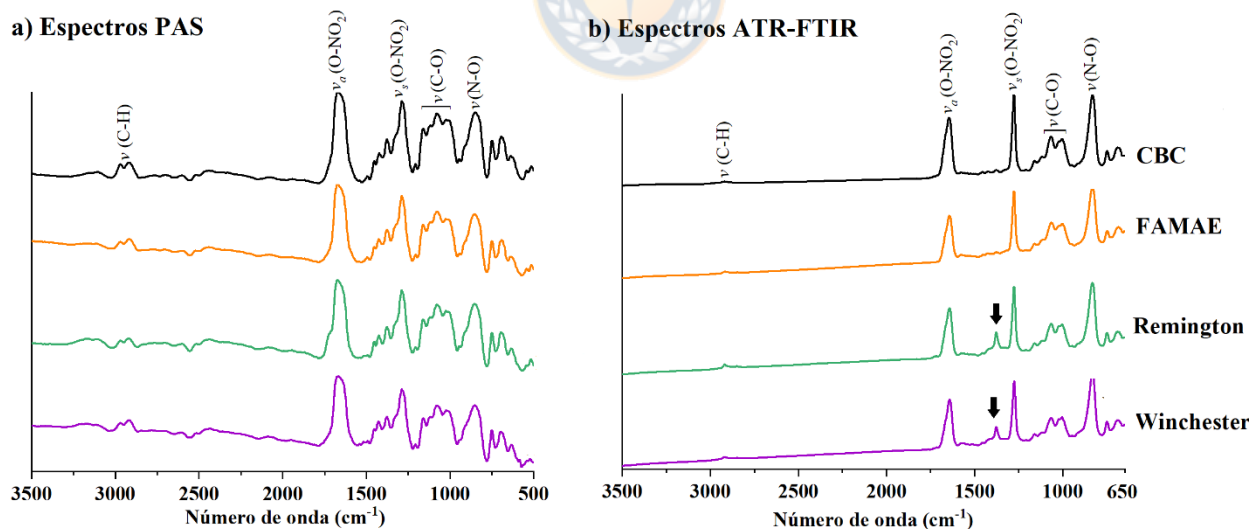


Figura 9. Espectros promedios de pólvora perteneciente a CBC (negro), FAMAE (naranja), Remington (verde) y Winchester (morado) usando a) PAS y b) ATR-FTIR. El espectro promedio representa la suma de cada uno de los espectros, divididos por su cantidad total (por clase de GSR) usando Matlab 8.3.0 con la interfaz PLS_Toolbox.

Fuente: elaboración propia

4.2.2. Análisis de componentes principales

Los espectros PAS y ATR-FTIR de las cuatro clases de pólvora se sometieron a un análisis exploratorio para conocer las tendencias preliminares, la variabilidad y las relaciones en el conjunto de datos. La varianza acumulada de los primeros cuatro PC para el conjunto de datos PAS y ATR-FTIR se presenta en la Tabla 2.

Tabla 2. Parámetros del PCA para la identificación de pólvora por fabricante (CBC, FAMAE, Remington y Winchester).

	Pretratamiento	Validación cruzada	Factores	Varianza acumulada (%)	RMSEC	RMSECV
PAS	Centrado en la media/ Estándar normal variable	LOO	4	93.8	0.0098	0.012
ATR-FTIR	Centrado en la media / 1 ^a derivada	LOO	4	99.3	0.0008	0.0015

La Figura 10a muestra el gráfico de *scores* del conjunto PAS del 1^{er} y 2^o componente obtenido a partir del PCA. El PC 1 diferencia las muestras CBC de las FAMAE/ Winchester. Sin embargo, el cuadrante positivo del PC 1 mostró ligeras diferencias entre las muestras FAMAE y Winchester. Mientras que el PC 2 indicó que las muestras Remington son significativamente diferentes de las restantes clases de pólvora (Fig. 10a).

Fue necesario trazar el PC 2 contra el PC 3 para facilitar la visualización del agrupamiento de las clases de pólvora usando el conjunto de datos ATR-FTIR (Figura 10b). Una clara superposición entra las clases CBC y FAMAE fue observado en el PC 2, mientras que el PC 3 permitió la diferenciación entre la clase Remington y Winchester.

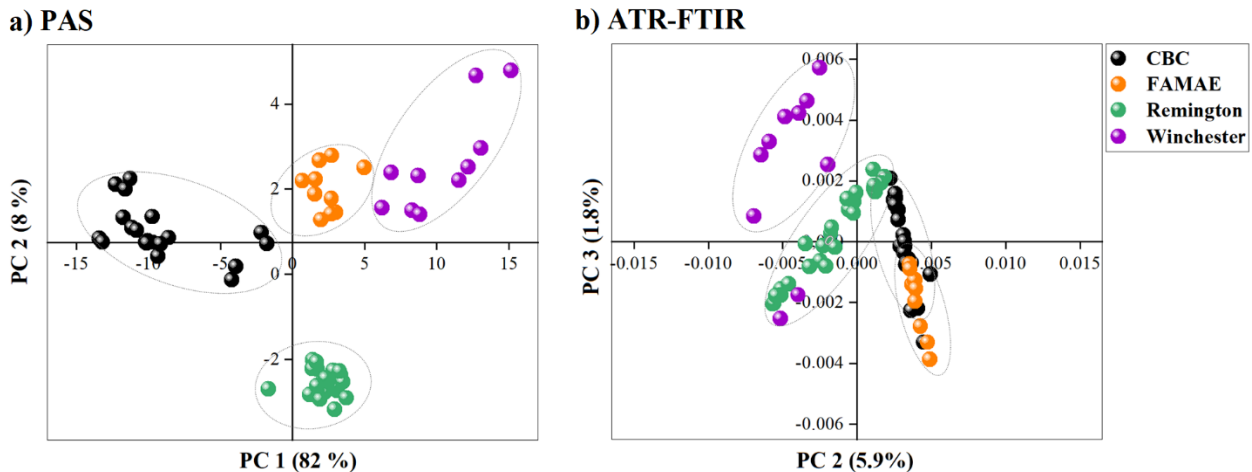


Figura 10. Gráfico de *scores* a) PAS y b) ATR-FTIR de las clases de pólvora estudiadas: CBC (negro), FAMAE (naranja), Remington (verde) y Winchester (morado). Fuente: elaboración propia

4.2.3. Análisis supervisado para la clasificación de pólvora.

Para la construcción de los modelos SIMCA, las transformaciones como SNV (para el conjunto PAS) y 1ª derivada (para el conjunto ATR-FTIR) mostraron la mejor tasa de predicción del 100% y los valores más altos de distancia entre las clases.

El modelo SIMCA proporciona distancias entre clases, indicando qué tan separadas están dos clases. Las mayores distancias entre clases son importantes para producir predicciones confiables. Las distancias entre las clases pólvora se reportan en la Tabla 3.

Tabla 3. Distancias entre las clases de pólvoras investigadas (CBC, FAMAE, Remington y Winchester).

		Distancias entre clases				
		# PC	CBC	FAMAE	Remington	Winchester
PAS	CBC	2	0	3.2194	2.4298	4.0782
	FAMAE	2		0	2.1323	2.5052
	Remington	2			0	2.3500
	Winchester	2				0
ATR-FTIR	CBC	2	0	2.6079	3.2299	4.3902
	FAMAE	2		0	4.0302	4.8989
	Remington	3			0	1.5714
	Winchester	2				0

El modelo SIMCA no solo determina si una muestra pertenece a alguna de las clases, también determina si no pertenece a alguna de ellas.⁵⁵ La Tabla 4 muestra los resultados de la clasificación SIMCA por validación interna y externa obtenida para los conjuntos PAS y ATR-FTIR. La tabla esta descrita en dos posibles resultados: *i*) la muestra se clasificó en algunas de las clases (CBC, FAMAE, Remington y Winchester) o *ii*) la muestra no coincidió en ninguna de las clases. Ambos métodos de validación (validación cruzada y externa) dieron como resultado una clasificación 100% exitosa de las clases de pólvora mediante el conjunto PAS y ATR-FTIR.

Tabla 4. Resultados de clasificación usando el modelo SIMCA para la predicción de la clase de pólvora (CBC, FAMAE, Remington y Winchester) mediante validación cruzada y externa.

Modelo SIMCA		Clase predicha					
		CBC	FAMAE	Remington	Winchester	Ninguna clase	
Conjunto PAS	CBC	<i>C.Ent</i> (100%)	20				
		<i>C.Val</i> (100%)	5				
	FAMAE	<i>C.Ent</i> (100%)		10			
		<i>C.Val</i> (100%)		2			
	Remington	<i>C.Ent</i> (100%)			26		
		<i>C.Val</i> (100%)			7		
	Winchester	<i>C.Ent</i> (100%)				10	
		<i>C.Val</i> (100%)				2	
	Conjunto ATR-FTIR	CBC	<i>C.Ent</i> (100%)	20			
			<i>C.Val</i> (100%)	5			
FAMAE		<i>C.Ent</i> (100%)		10			
		<i>C.Val</i> (100%)		2			
Remington		<i>C.Ent</i> (100%)			26		
		<i>C.Val</i> (100%)			7		
Winchester		<i>C.Ent</i> (100%)				10	
		<i>C.Val</i> (100%)				2	

La sensibilidad, especificidad y precisión fueron parámetros utilizados para evaluar los rendimientos de clasificación. Los valores estadísticos para los conjuntos de entrenamiento y validación de las cuatro clases de pólvora por PAS y ATR-FTIR se muestran en la Tabla 5. Dado que todas las clases se asignaron correctamente, un 100% de precisión, sensibilidad y especificidad fue obtenido.

Tabla 5. Calidad de los modelos SIMCA en términos de sensibilidad (Sn, %), especificidad (Sp, %) y precisión (Pre, %).

		Modelo SIMCA					
		PAS			ATR-FTIR		
		Sn	Sp	Pre	Sn	Sp	Pre
CBC	<i>C. Ent</i>	100	100	100	100	100	100
	<i>C. Val</i>	100	100	100	100	100	100
FAMAE	<i>C. Ent</i>	100	100	100	100	100	100
	<i>C. Val</i>	100	100	100	100	100	100
Remington	<i>C. Ent</i>	100	100	100	100	100	100
	<i>C. Val</i>	100	100	100	100	100	100
Winchester	<i>C. Ent</i>	100	100	100	100	100	100
	<i>C. Val</i>	100	100	100	100	100	100

Los parámetros evaluados en el modelo de clasificación PLS-DA se resumen en la Tabla 6. Estos se reportan de acuerdo a la cantidad de variables latentes seleccionadas para cada clase. Para el conjunto PAS los valores de coeficiente de calibración y validación cruzada del conjunto mostraron una alta correlación ($r^2 > 0.9$) y bajo RMSEC/SECV.

Tabla 6. Parámetros evaluados en los modelos PLS-DA para la clasificación de pólvora por fabricante (CBC, FAMAE, Remington y Winchester).

		Variables latentes	Varianza acumulada (%)	RMSEC	r^2 Cal	RMSECV	r^2 CV
PAS	CBC	5	93.8	0.08	0.99	0.15	0.94
	FAMAE	4	93.5	0.09	0.97	0.13	0.94
	Remington	2	90.0	0.13	0.97	0.14	0.96
	Winchester	4	93.6	0.06	0.99	0.08	0.97
ATR-FTIR	CBC	5	97.9	0.19	0.91	0.22	0.88
	FAMAE	5	98.8	0.10	0.96	0.11	0.95
	Remington	6	98.8	0.22	0.90	0.31	0.78
	Winchester	6	98.8	0.16	0.90	0.21	0.81

La Tabla 7 muestra los resultados de clasificación obtenidos mediante PLS-DA. Los resultados se describen de la misma forma expuesta usando SIMCA: *i*) la muestra se clasificó en algunas de las clases o *ii*) la muestra no coincidió en ninguna de las clases.

Tabla 7. Resultados de clasificación usando el modelo PLS-DA para la predicción de la clase de pólvora (CBC, FAMAE, Remington y Winchester) mediante validación cruzada y externa.

Modelo PLS-DA		Clase predicha				
		CBC	FAMAE	Remington	Winchester	Ninguna clase
Conjunto PAS	CBC	<i>C.Ent</i> (95%)	19			1
		<i>C.Val</i> (100%)	5			
	FAMAE	<i>C.Ent</i> (100%)		10		
		<i>C.Val</i> (100%)		2		
	Remington	<i>C.Ent</i> (100%)			26	
		<i>C.Val</i> (100%)			7	
	Winchester	<i>C.Ent</i> (90%)				9
		<i>C.Val</i> (100%)				2
Conjunto ATR-FTIR	CBC	<i>C.Ent</i> (100%)	20			
		<i>C.Val</i> (100%)	5			
	FAMAE	<i>C.Ent</i> (100%)		10		
		<i>C.Val</i> (100%)		2		
	Remington	<i>C.Ent</i> (88.4%)	1		22	3
		<i>C.Val</i> (100%)			7	
	Winchester	<i>C.Ent</i> (80%)			1	8
		<i>C.Val</i> (100%)				2

Por validación cruzada del conjunto de entrenamiento PAS, dos muestras de CBC (1) y Winchester (1) fueron clasificadas como pertenecientes a ninguna clase, mientras que, para el conjunto de validación externa, todas las muestras fueron asignadas correctamente (100%). En términos de calidad del modelo, un 100% de precisión, sensibilidad y especificidad fue obtenido (Tabla 8).

Por otra parte, usando los datos ATR-FTIR se obtuvo un 88.4% y 80% de correcta clasificación del conjunto de entrenamiento para las muestras Remington y Winchester. Los valores de sensibilidad (>88.9%), especificidad (>97.4%) y precisión (>95.2%) fueron menores. No obstante, mediante validación externa se obtuvo una clasificación 100% exitosa de la pólvora.

Tabla 8. Calidad de los modelos PLS-DA en términos de sensibilidad (Sn, %), especificidad (Sp, %) y precisión (Pre, %).

		Modelo PLS-DA					
		PAS			ATR-FTIR		
		Sn	Sp	Pre	Sn	Sp	Pre
CBC	<i>C. Ent</i>	100	100	100	100	97.6	95.2
	<i>C. Val</i>	100	100	100	100	100	100
FAMAE	<i>C. Ent</i>	100	100	100	100	100	100
	<i>C. Val</i>	100	100	100	100	100	100
Remington	<i>C. Ent</i>	100	100	100	95.7	97.4	95.7
	<i>C. Val</i>	100	100	100	100	100	100
Winchester	<i>C. Ent</i>	100	100	100	88.9	100	100
	<i>C. Val</i>	100	100	100	100	100	100

La Figura 11 muestra los vectores de regresión PAS y ATR-FTIR obtenidos del análisis PLS-DA de las cuatro clases de pólvora, en el cual se observa que los modelos se encuentran gobernados por la combinación de bandas IR.

En los vectores de regresión PAS de CBC, FAMAE y Winchester, la vibración de tensión del anillo de glucopiranososa a 1188 cm^{-1} fue una banda importante para propósitos de clasificación. Tanto FAMAE como Winchester mostraron una alta contribución a 910 cm^{-1} atribuida a la deformación fuera del plano C-H.⁵² En particular, la banda a 1365 cm^{-1} correspondiente a la tensión simétrica de NO_2 asociada con los isómeros de dinitrotolueno fue importante para CBC.^{53,54} En el vector de regresión de Remington se observa una alta influencia a 1720 cm^{-1} que puede ser asociada a la vibración de tensión C=O característico de compuestos como triacetin, dibutil o dietilftalato.^{56,57} Además, la deformación C-H (1434 cm^{-1}) también fue importante para la diferenciación Winchester.^{52,53}

Por otra parte, en el vector de regresión ATR-FTIR la vibración de tensión C-H a 2927 cm^{-1} fue relevante para la clasificación de CBC, Remington y Winchester. Además, la banda a 1634 cm^{-1} asociada a la tensión asimétrica O- NO_2 está presente en el vector de regresión de CBC y FAMAE. También se observó la contribución de la vibración de tensión simétrica O- NO_2 a 1280 cm^{-1} en FAMAE y Winchester.⁵² Específicamente a 1590 cm^{-1} correspondiente a la tensión asimétrica NO_2 característica de los isómeros de dinitrotolueno fue significativo para Remington.^{53,54}

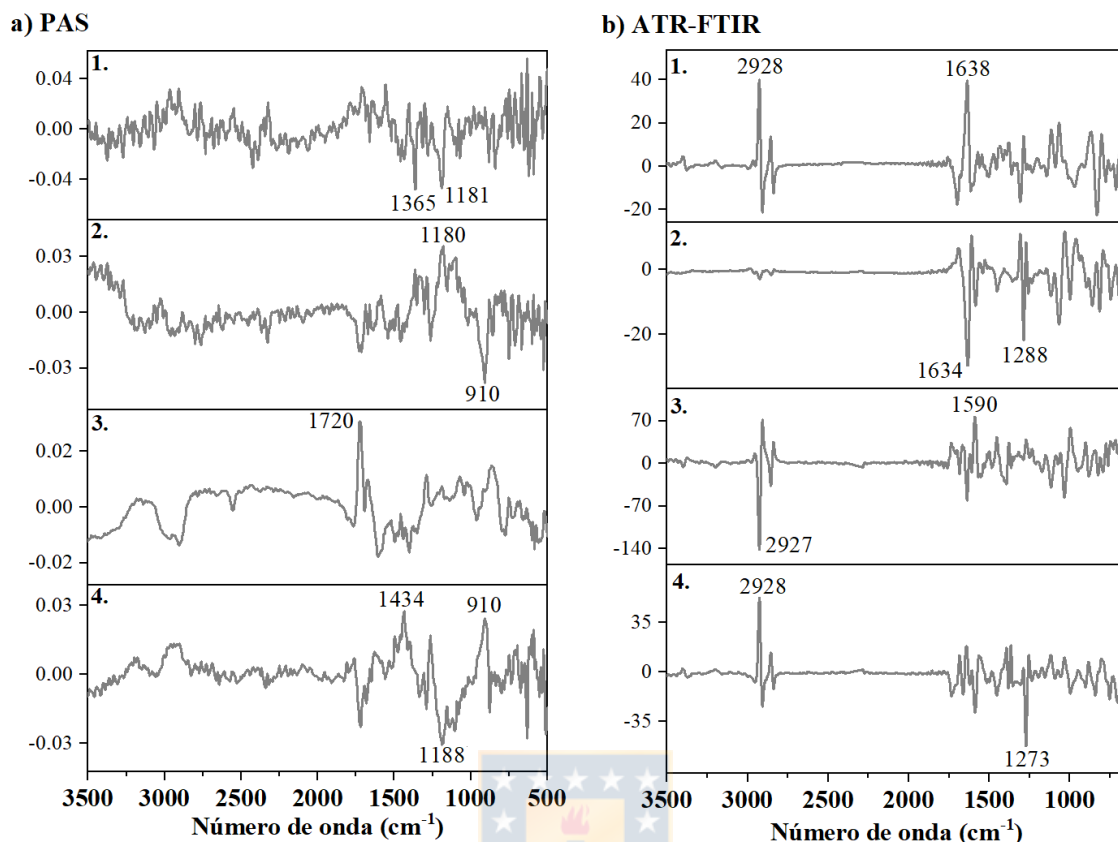


Figura 11. Vector de regresión a) PAS y b) ATR-FTIR para la clasificación de las clases de pólvora: 1) CBC, 2) FAMA, 3) Remington y 4) Winchester. Fuente: elaboración propia

No hay diferencias significativas en la clasificación del conjunto de validación externa PAS y ATR-FTIR (100%) mediante los dos algoritmos estudiados. Sin embargo, la validación cruzada del conjunto de entrenamiento PAS y ATR-FTIR fue mejor mediante el modelo SIMCA (100%). Además, el modelo SIMCA requirió solo dos componentes en cada clase para obtener una diferenciación del 100%. Esto difiere del modelo PLS-DA, pues requiere de un mayor número de variables latentes y no proporciona una clasificación exitosa en el conjunto de entrenamiento. Por lo tanto, el modelo SIMCA podría considerarse como la mejor opción para la clasificación de nuevas muestras.

Por otro lado, algunas limitaciones de la metodología deben ser consideradas. Las formulaciones químicas están en cambios continuos y nuevas marcas de fabricantes pueden ser introducidos en el mercado, implicando que la metodología deba actualizarse continuamente. Claro está que el mercado de proveedores de pólvora es mucho más grande que los cuatro fabricantes investigados en este estudio, por lo tanto, el método propuesto debe tomarse como una prueba de concepto con un alto potencial para identificar y clasificar clases de pólvora y otras muestras forenses como lo son los residuos de disparo. Otra limitación, son los cambios en la composición química de la pólvora durante la explosión, que podrían afectar el objetivo de clasificación. Por tal motivo, un estudio más profundo considerando las limitaciones mencionadas debe ser considerado.

5. ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL DE RESIDUOS DE DISPARO DE ORIGEN ORGÁNICO PARA LA DIFERENCIACIÓN DE LA MUNICIÓN SEGÚN EL FABRICANTE

Una descarga de arma de fuego implica un proceso de combustión complejo que resulta en un producto final en forma de GSR. La composición química de GSR depende de la combinación de varios factores, como el tipo de arma, la formulación de la munición y en especial el calibre.⁵⁸ Si bien los componentes principales de la pólvora en las municiones pueden ser similares, cada fabricante utiliza aditivos secundarios específicos para optimizar el rendimiento de la munición.⁷ Dado que los GSR orgánicos resultantes están constituidos por productos de la combustión completa e incompleta de la pólvora, se conjetura que el fabricante de la munición puede determinarse teniendo en cuenta la composición química de GSR mediante espectroscopía vibracional. Por lo tanto, se realizó un estudio espectroscópico PAS, ATR-FTIR y Raman de residuos de disparos originados por tres fabricantes de municiones (de igual calibre-9 mm y tipo de bala-*full metal jacket*). La diferenciación de los fabricantes (Fiocchi, Maxxtech y Remington) se logró utilizando el perfil orgánico vibracional de los GSR junto con clasificación SIMCA como método de reconocimiento de patrones supervisado.

5.1. Consideraciones adicionales en la metodología

5.1.1. Muestras

Cada muestra de descarga estaba representada por más de 30 partículas GSR (visibles a simple vista). En las mediciones de PAS, los espectros recogidos corresponden a la interacción entre el haz del espectrómetro IR y todo el conjunto de partículas de GSR depositadas en la cinta.

Además, se observó que las partículas GSR depositadas en las descargas individuales y entre las clases de municiones contenían variaciones con respecto a su aspecto (tamaño, forma y color). Para objetivos de estudio por espectroscopía Raman y ATR-FTIR, las partículas observadas fueron agrupadas y clasificadas como partículas tipo negra, café y café claro por cada fabricante. Para cada tipo de partícula GSR se analizaron dos por muestra. Una vez que cada partícula GSR fue analizada por Raman, se retiró manualmente del sustrato de la cinta con una pinza y se almacenó en un portaobjetos hasta el análisis ATR-FTIR.

5.1.2. Tratamiento de espectros

Los espectros PAS fueron transformados por 1ª derivada (25 puntos por ventana) para minimizar la desviación de la línea de base. Una vez corregida la contribución de fondo fluorescente en los espectros de Raman, los datos espectrales fueron transformados por SNV para eliminar las

interferencias multiplicativas de la dispersión en la señal espectral. Los datos espectrales ATR-FTIR fueron transformados por suavizado (Savitzky-Golay, 25 puntos por ventana, polinomio de tercer orden) y corrección de línea de base (mínimos cuadrados ponderados, polinomio de 6° orden) para minimizar el ruido espectral y desviación basal respectivamente.

5.1.3. Conjunto de datos

Un total de 112 descargas de armas de fuego pertenecientes a Fiocchi (40), Maxxtech (36) y Remington (36) fueron analizadas por PAS. Los datos espectrales de PAS se dividieron por selección aleatoria en dos conjuntos (70:30): conjunto de entrenamiento (78 espectros) para el modelo de clasificación y conjunto de validación (34 espectros) para fines de validación externa.

Para el análisis Raman y ATR-FTIR se seleccionaron al azar 6 diferentes descargas de armas de fuego de cada uno de los tres fabricantes. Un total de 96 partículas GSR fueron analizadas:

- 24 espectros de partículas GSR (12 negras, 12 cafés) resultantes de la descarga de municiones Fiocchi fueron colectados.
- 36 espectros de partículas GSR (12 negras, 12 cafés, 12 cafés clara) originadas de la descarga de municiones Maxxtech.
- 36 espectros de partículas GSR (12 negras, 12 cafés, 12 cafés clara) originadas de la descarga de municiones Remington.

Los datos espectrales se dividieron por selección aleatoria en dos conjuntos (70:30): conjunto de entrenamiento (64 espectros) para obtener los modelos de clasificación y conjunto de validación (32 espectros) para fines de validación externa.

5.2. Resultados y discusión

5.2.1. Análisis espectral

La Figura 12 muestra los espectros promedio PAS de las muestras GSR obtenidas por la descarga de municiones Fiocchi, Maxxtech y Remington. Cada espectro promedio representa la suma de cada uno de los espectros, divididos por su cantidad total (por clase de GSR) usando Matlab 8.3.0 con la interfaz PLS_Toolbox.

Estudios anteriores han determinado las zonas espectrales IR características de los GSR.⁵⁹⁻⁶¹ Bueno et al.⁵⁹ diferenció GSR de acuerdo con el calibre de la munición disparada (0.40", 0.38" y 9 mm) usando ATR-FTIR. Las municiones estudiadas corresponden a Federal Ammunition 40 S&W, Winchester Ammunition 38 Special y CCI Blazer Ammunition. Además, Brožek-Mucha⁶⁰ estudió la distribución de GSR mediante SEM-EDX y espectroscopía IR, usando municiones

Sellier & Bellot .32” Auto y realizando disparos a corta distancia con un arma silenciadora. De acuerdo con las zonas espectrales reportadas,^{59,60} la Figura 12 y la Tabla 9 muestran los principales grupos funcionales observados en los espectros PAS de GSR. Las bandas más intensas a 1646, 1287 y 850 cm^{-1} corresponden al tensión asimétrico y simétrico O-NO₂ y la tensión NO (respectivamente) característicos de los compuestos de nitrato éster como la nitrocelulosa y la nitroglicerina.^{7,51} La banda generada por la deformación de C-H se encontró a 1377 cm^{-1} . La región entre 1200-1000 cm^{-1} está asociada al modo vibratorio del ciclo de glucopiranos de la NC. Las bandas correspondientes a la vibración de tensión del anillo y el C-O se observan a 1160 cm^{-1} y 1084-1020 cm^{-1} respectivamente. Además, la región a 750-600 cm^{-1} se asigna a las vibraciones de NO₂ y otras vibraciones de valencia del ciclo de la glucopiranos.^{52,61}

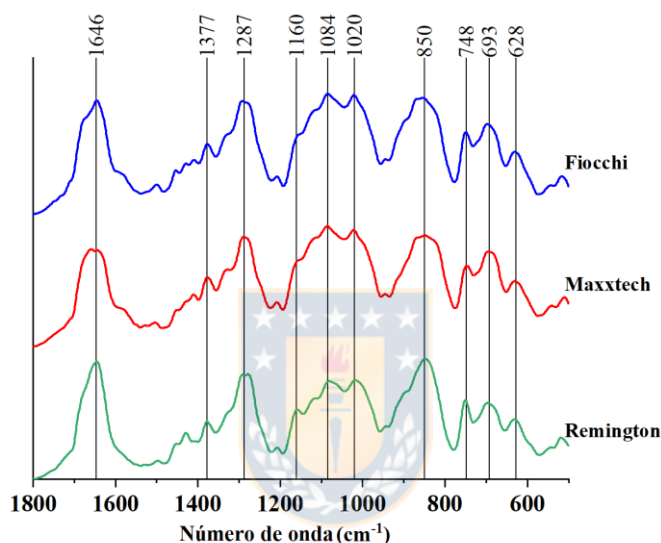


Figura 12. Espectros promedios PAS de los GSR producidos por la descarga de municiones Fiocchi (azul), Maxxtech (rojo) y Remington (verde). El espectro promedio representa la suma de cada uno de los espectros, divididos por su cantidad total (por clase de GSR) usando Matlab 8.3.0 con la interfaz PLS_Toolbox. Fuente: elaboración propia

Tabla 9. Asignación de bandas para los espectros PAS y ATR-FTIR de la Figura 12 y 14 respectivamente.

Asignación	Banda PAS (cm^{-1})	Banda ATR-FTIR (cm^{-1})
$\nu_a(\text{O-NO}_2)$	1646	1630
$\delta(\text{C-H})$	1377	1377
$\nu_s(\text{O-NO}_2)$	1287	1270
$\nu_a(\text{C-O-C})_{\text{ring}}$	1160-1020	1158-998
$\nu(\text{N-O})$	850	817
$\gamma_w(\text{NO}_2)$	748	746
$\delta(\text{NO}_2)$	693	678
$\gamma_r(\text{NO}_2)$	628	625

ν_a (tensión asimétrica), ν_s (tensión simétrica), δ (deformación en tijera), γ_r (deformación en balanceo), γ_w (deformación en abanico)

Para tener en cuenta la heterogeneidad de las muestras, se investigaron diferentes tipos de partículas GSR. Las partículas mostraron variaciones con respecto a su apariencia (tamaño, forma y color) en cada disparo. Por lo tanto, las partículas GSR se agruparon con respecto al color y se clasificaron como negra, café y café claro por fabricante (Figura 13). Las mediciones Raman y ATR-FTIR se realizaron para las partículas GSR seleccionadas. Usando espectroscopía Raman, se observó interferencia de fluorescencia para algunos tipos de partículas. Mientras que por ATR-FTIR se obtuvieron todos los espectros IR, lo que permitió la identificación espectroscópica de todo el conjunto de partículas seleccionadas.

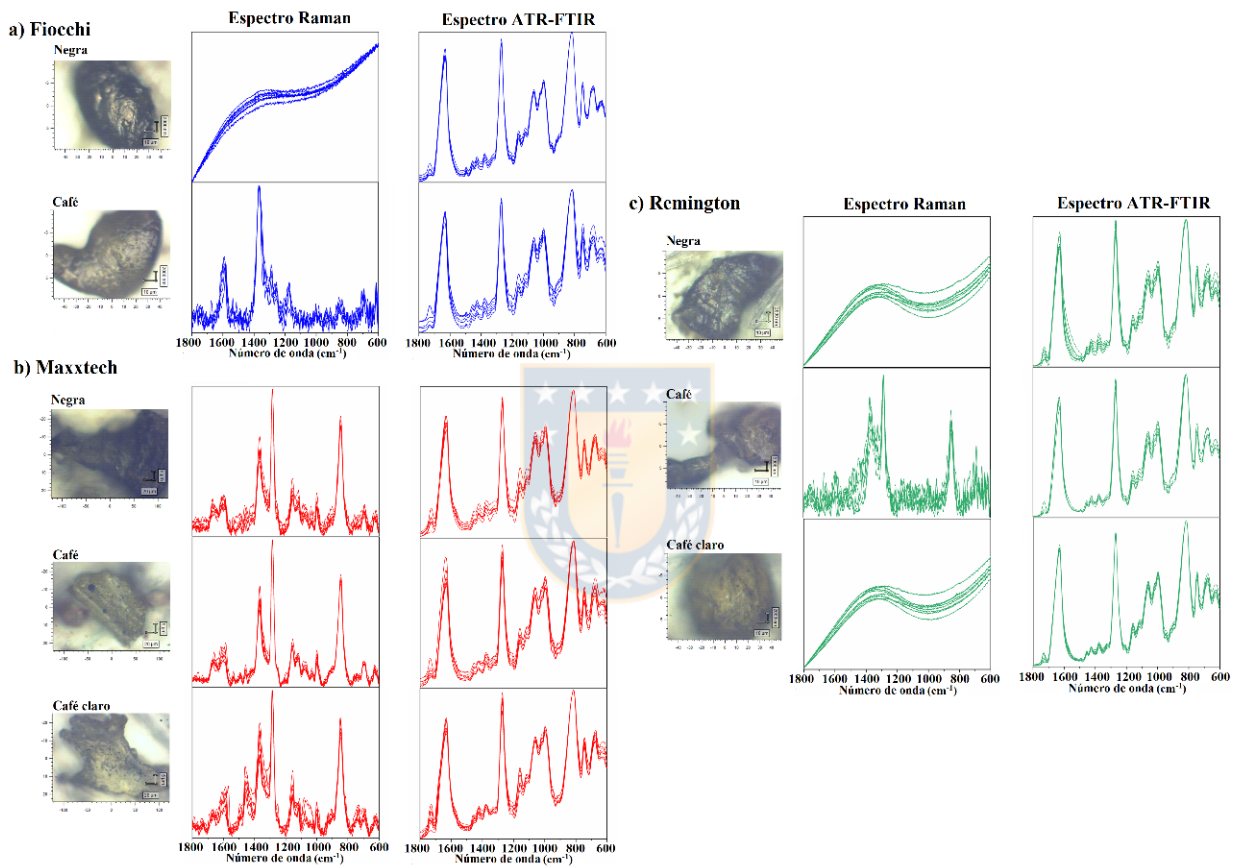
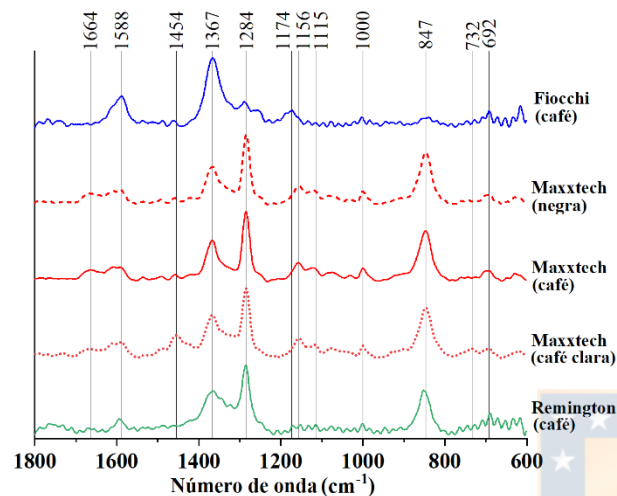


Figura 13. Espectros Raman y ATR-FTIR de GSR producidos por la descarga de municiones a) Fiocchi (azul) b) Maxxtech (rojo) y c) Remington (verde) acompañados de imágenes ópticas de partículas representativas designadas como negra, café y café claro. Las imágenes muestran la heterogeneidad de las partículas GSR con respecto al tamaño, forma y color. Los espectros se normalizaron a la intensidad del pico más alta para fines de comparación. Los espectros Raman fueron procesados mediante suavizado y corrección de línea de base. Fuente: elaboración propia.

Los espectros promedio Raman y ATR-FTIR de los tipos de partículas GSR producidos por fabricante se muestran en la Figura 14. Los espectros IR mostraron similitud espectral entre las clases de GSR. En contraste con el conjunto de datos de IR, los perfiles espectrales de Raman fueron específicos para cada fabricante, siendo notables las diferencias entre ellos. Las asignaciones de las bandas ATR-FTIR son similares a las PAS descritas anteriormente (Tabla 9).

Además, el Anexo 1 muestra una comparación espectral ATR-FTIR entre los perfiles espectrales de las GSR clases y algunos de los compuestos que según Goudsmits et al.⁷ contribuyen a la composición orgánica en los GSR.

a) Espectros Raman



b) Espectros ATR-FTIR

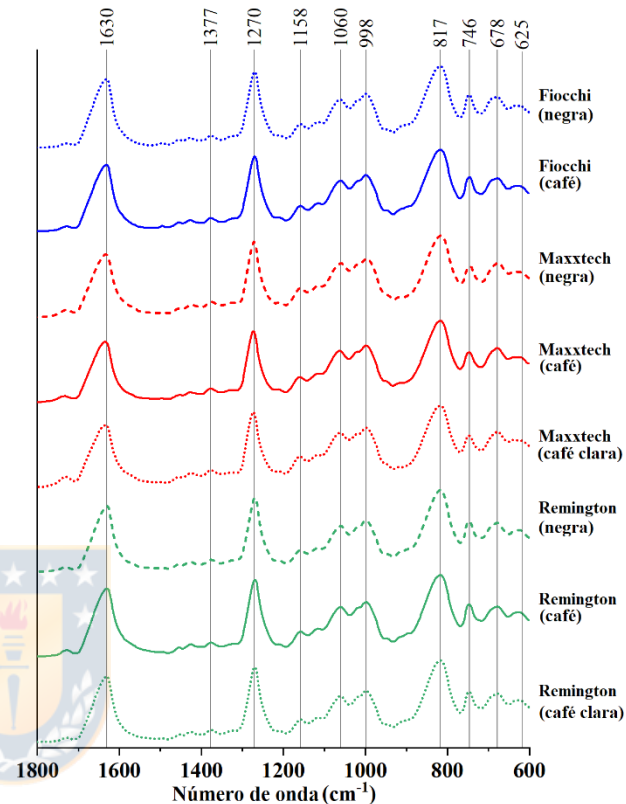


Figura 14. Comparación espectral a) Raman y b) ATR-FTIR entre los tipos de partículas GSR designadas como negra, café y café claro, producidas al disparar municiones Fiocchi (azul), Maxxtech (roja) y Remington (verde). Cada espectro representa la suma de cada uno de los espectros, divididos por su cantidad total (por tipo de partícula de cada clase de GSR) usando Matlab 8.3.0 con la interfaz PLS_Toolbox. Fuente: elaboración propia

Previos estudios han reportado las bandas Raman principales del perfil GSR.^{47,62–68} Bueno et al.⁶² propuso el estudio espectroscópico Raman de los GSR como potencial para su diferenciación según el calibre de la munición disparada. Las municiones estudiadas corresponden a Winchester Ammunition 38 Special calibre 38” y CCI Blazer Ammunition calibre 9 mm. López-López et al.⁶³ llevó a cabo una comparación entre los espectros Raman de pólvora de munición con su respectivo GSR. Las municiones estudiadas fueron Remington Arms Co. Inc. calibre 45”, Remington Peters calibre 22”, Santa Barbara (SB 96+, SB-T 93+) calibre 9 mm, Fiocchi S.P.A calibre 38” y Western Cartridge Co. Calibre 22”. Los espectros GSR mostraron una gran similitud con el espectro de la pólvora de la munición, lo que permite que el GSR se rastree hasta la munición utilizada. Abrego et al.⁶⁵ analizó GSR tipo inorgánico y orgánico mediante ablación láser acoplada a la espectrometría de masas con fuente de plasma de acoplamiento inductivo (LA-ICP-MS) y espectroscopía Raman respectivamente. Los GSR fueron colectados directamente desde las manos

del disparador y las municiones usadas son libres de plomo: Fiocchi (Luger ZP, Luger Gas Check Luger 9x 19) y Remington UMC Luger de calibre 9 mm.

Teniendo en cuenta las bandas Raman reportadas en previos estudios, la Tabla 10 muestra las asignaciones Raman tentativas en los GSR por fabricante. Los tres fabricantes mostraron bandas características en 1588, 1367, 1284 y 847 cm^{-1} que podrían atribuirse a las vibraciones de NO_2 de los compuestos de éster de nitrato. En particular las bandas a 1367 y 1284 cm^{-1} pueden ser también asociadas a los isómeros de dinitrotolueno (2,4- y 2,6-DNT) y a la 2- y 4-nitrodifenilamina como se muestra en el Anexo 2.^{61,62,69,70} Tanto Fiocchi como Maxxtech exhibieron bandas alrededor de 1150 cm^{-1} características del ciclo de glucopiranos de la nitrocelulosa. Solo las partículas de Maxxtech revelan una banda a 1664 cm^{-1} correspondiente a la tensión asimétrica O- NO_2 . La banda generada por la deformación C-H se encontró a 1454 cm^{-1} en partículas de color café claro. También se observaron las bandas correspondientes a las vibraciones de deformación del NO_2 a 732 y 692 cm^{-1} respectivamente. Estas bandas están asociadas a los compuestos de éster de nitrato.^{61,62} Finalmente, se consideró que la centralita estaba presente en las partículas de Maxxtech debido a la banda en 1000 cm^{-1} (Anexo 2).^{62,65,71} Otros compuestos que también contribuyen a la composición orgánica en los GSR son ilustrados en el Anexo 2.

Tabla 10. Asignación de bandas Raman para las clases de GSR (Fiocchi, Maxxtech y Remington) en los espectros de la Figura 14a.

Asignación	Desplazamiento Raman (cm^{-1})			Componente relacionado
	Fiocchi	Maxxtech	Remington	
$\nu_a(\text{O-NO}_2)$		1664		Éster de nitrato
$\nu_a(\text{NO}_2)$	1588	1588	1588	2,4-dinitrotolueno 2,6-dinitrotolueno
$\delta(\text{CH}_2)$		1454		Éster de nitrato
$\nu_s(\text{NO}_2)$	1367	1367	1367	2,4-dinitrotolueno 2,6-dinitrotolueno
$\nu_s(\text{O-NO}_2)$	1284	1284	1284	Éster de nitrato
$\nu_a(\text{C-O-C})_{\text{ring}}$	1174	1156, 1115		Éster de nitrato
$\nu(\text{C-C})$		1000		Metil/Etil centralita
$\nu(\text{N-O})$	847	847	847	Éster de nitrato
$\gamma_w(\text{NO}_2)$		732		Éster de nitrato
$\delta(\text{NO}_2)$		692		Éster de nitrato

ν_a (tensión asimétrica), ν_s (tensión simétrica), δ (deformación en tijera), γ_r (deformación en balanceo), γ_w (deformación en abanico)

5.2.2. Análisis de componentes principales

Las mediciones del conjunto de entrenamiento de PAS, Raman y ATR-FTIR de las clases de GSR se sometieron a análisis exploratorio para investigar la variabilidad y las relaciones en el conjunto de datos. La Tabla 11 resume los parámetros en el PCA para la identificación de las clases de GSR.

Tabla 11. Parámetros del PCA para la identificación de GSR por fabricante (Fiocchi, Maxxtech y Remington).

	Nº Datos	Pretratamiento	Validación cruzada	Factores	Varianza acumulada (%)	RMSEC	RMSECV
PAS	78	Centrado en la media/ 1ª derivada	LOO	5	98	0.0089	0.0110
Raman	40	Centrado en la media / variable normal estándar	LOO	4	83	0.1874	0.2432
ATR-FTIR	64	Centrado en la media / Suavizado y corrección de línea base	LOO	4	99.4	0.0012	0.0018

La Figura 15 muestra las gráficas de *scores* de los dos primeros PC de (a) PAS, (b) Raman y (c) ATR-FTIR. Al trazar el PC 1 contra el PC 2, el gráfico de *scores* muestra grupos definidos de las tres clases de GSR analizadas: Fiocchi (azul), Maxxtech (rojo) y Remington (verde). Es posible notar que las dos primeros PCs, que representan PAS: 94%, Raman: 72.2%, ATR-FTIR: 98.6% de la varianza total, muestran una clara tendencia de los GSR con respecto al fabricante.

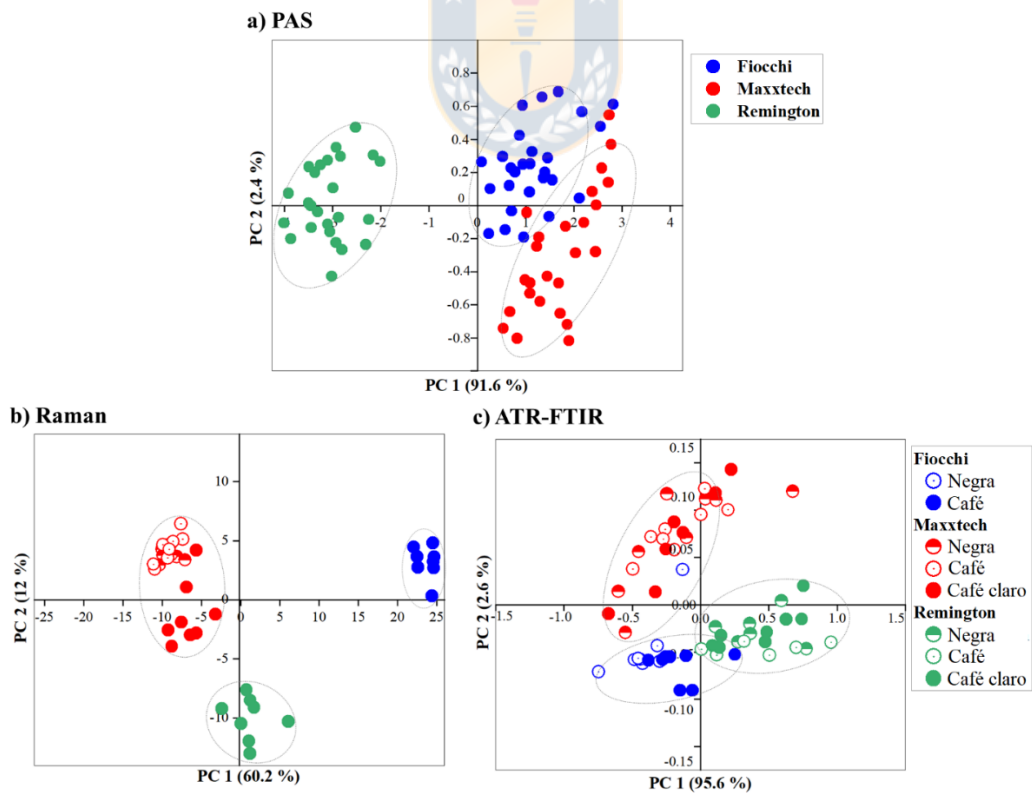


Figura 15. Gráfico de *scores* de clases de GSR estudiadas, incluido el PC 1 y el PC 2: Fiocchi (azul), Maxxtech (rojo) y Remington (verde). Para Raman y ATR-FTIR se destacan los tipos de partículas GSR producidas por cada clase designadas como negra, café y café claro. Fuente: elaboración propia.

El gráfico de *loadings* permite distinguir las variables que más contribuyen a los PCs, para el agrupamiento de clases dentro del conjunto de datos.³³ El PC 1 del gráfico de *loading* de los datos PAS (Figura 16a) indica que la combinación de las bandas generadas por la tensión asimétrica del O-NO₂ (1628 cm⁻¹) y tensión N-O (818 cm⁻¹) son importantes para la discriminación de las muestras Remington y tienen un gran valor negativo, que se proyecta en el cuadrante negativo PC 1 del gráfico de *scores* (Figura 15a). Estas bandas permiten la separación del conjunto de muestras Remington de las clases restantes de GSR. Además, el PC 2 del gráfico de *loading* reveló que las bandas a 1655 y 745 cm⁻¹ correspondientes a la tensión asimétrica de O-NO₂ y la deformación en tijera del NO₂ respectivamente, fueron significativas para la diferenciación entre las muestras de GSR pertenecientes a Fiocchi y Maxxtech.

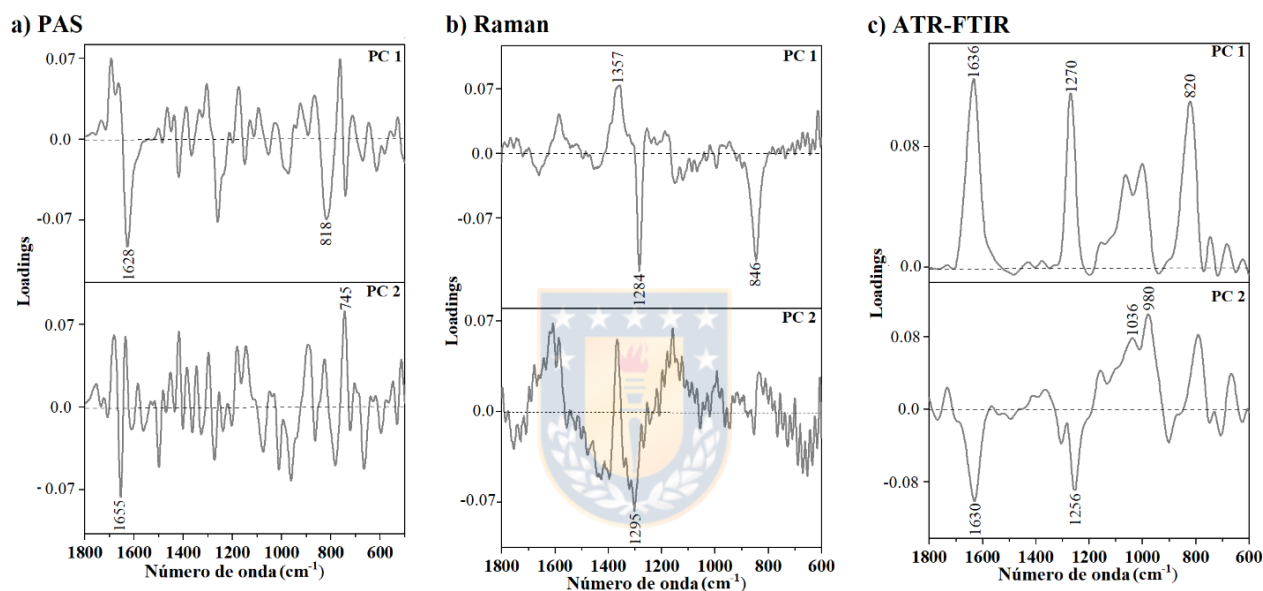


Figura 16. Gráfico de *loadings* para los dos primeros PCs de (a) PAS, (b) Raman y (c) ATR-FTIR, dónde se indican las bandas espectrales importantes para la identificación y discriminación de GSR.

Fuente: elaboración propia

El PC 1 en gráfico de *scores* de los datos Raman (Figura 15b) diferencia el conjunto de muestras Maxxtech (cuadrante negativo) de las Fiocchi (cuadrante positivo). De acuerdo con el PC 1 del gráfico de *loading* (Figura 16b) se evidencia que las bandas en 1284 y 846 cm⁻¹ fueron relevantes (modos vibracionales del grupo de nitrato) para discriminar los residuos de Maxxtech. Mientras que la banda generada por la tensión simétrica de NO₂ (1357 cm⁻¹) muestra una alta contribución para la diferenciación de Fiocchi. Además, el PC 2 (cuadrante negativo) en el gráfico de *scores* muestra que los GSR de Remington fueron significativamente diferentes de los restantes. Se pudo observar que la banda a 1295 cm⁻¹ correspondiente a la tensión simétrica de O-NO₂ fue importante para esta clase (PC 2 en el gráfico de *loading*).

En el gráfico de *scores* de los datos ATR-FTIR (Figura 15c) se evidencia una ligera separación entre las clases de GSR. La contribución de las bandas generadas por la asimetría y simetría de O-NO₂ (1636 y 1270 cm⁻¹ respectivamente) y la tensión de N-O (818 cm⁻¹) permitió el agrupamiento de muestras de Remington en el cuadrante positivo del PC 1 (Figura 15c, 16c). Además, el PC 2 proyecta la separación entre las muestras de Fiocchi y Maxxtech. Las bandas correspondientes a la asimetría y simetría de O-NO₂ (1655 y 1256 cm⁻¹ respectivamente) contribuyeron a la diferenciación de Fiocchi, ubicándose en el cuadrante negativo del PC 2. Mientras que el *loading* basado en la tensión C-O a 1036-980 cm⁻¹, asignó las muestras de Maxxtech en el cuadrante positivo del PC 2.

Cabe señalar que la mejor separación entre clases GSR se logró con los datos Raman, seguido con los datos PAS y finalmente con los datos ATR-FTIR. Esto podría atribuirse a la alta especificidad espectral proporcionada por estas técnicas o por las variaciones en la composición química de las municiones. Las tres técnicas informaron que las características de vibración molecular de GSR se basan en diferentes fenómenos físicos y obedecen a diferentes reglas de selección. Los espectros IR y Raman de GSR se componen de contribuciones de diferentes modos de vibración y, en consecuencia, proporcionan información complementaria. Los resultados de PCA mostrados en la Figura 15 confirman la capacidad de estos métodos (PAS, Raman y ATR-FTIR) para distinguir GSR según el fabricante de la munición disparada. Los resultados obtenidos sugirieron la posibilidad de validar un modelo predictivo para la diferenciación de perfiles GSR.

5.2.3. Análisis supervisado para la diferenciación de municiones

Después de probar diferentes transformaciones espectrales en el conjunto de entrenamiento de PAS, Raman y ATR-FTIR, los tratamientos previos indicados en la Tabla 12 mostraron los mejores resultados para fines de clasificación. SIMCA requiere el desarrollo de componente principal individual (PC) basado en modelos para cada clase.³³ Los números de PC seleccionados en cada modelo de PCA fueron óptimos durante el proceso de desarrollo de los modelos mediante validación cruzada. Los PC designados individualmente para las clases bajo investigación y su varianza acumulativa se pueden visualizar en la Tabla 12 para PAS (> 85%), Raman (> 97%) y ATR-FTIR (> 58%).

Tabla 12. Parámetros del modelo SIMCA para la clasificación GSR por fabricante.

		Conjunto de datos		
		PAS	Raman	ATR-FTIR
Conjunto de entrenamiento		78	40	64
Conjunto de predicción		34	30	32
Pretratamiento		Centrado en la media/ media/ 1 st derivada	Centrado en la media/ Variable normal estándar	Centrado en la media / suavizado y corrección de línea base
Validación cruzada		LOO	LOO	LOO
Factores / Varianza acum (%)	Fiocchi	3 / 89.3	5 / 92.9	2 / 99.1
	Maxxtech	4 / 93.2	2 / 65.7	2 / 97.9
	Remington	4 / 85.8	4 / 82.3	2 / 98.6
Error C. Entrenamiento		0	0	0.016
Erro C. validación		0	0	0.063

Las distancias entre las clases (Fiocchi, Maxxtech y ATR-FTIR) se reportan en la Tabla 13. Los valores bajos de distancia entre las clases fueron observados por ATR-FTIR, que podrían indicar menores diferencias espectrales significativas entre las clases según esta técnica.

Tabla 13. Distancias entre las clases de GSR investigadas (Fiocchi, Maxxtech y Remington).

		Distancias entre clases			
		# PC	Fiocchi	Maxxtech	Remington
PAS	Fiocchi	3	0	2.2029	4.1446
	Maxxtech	4		0	7.2042
	Remington	4			0
Raman	Fiocchi	5	0	7.5441	6.0520
	Maxxtech	2		0	2.9594
	Remington	4			0
ATR-FTIR	Fiocchi	2	0	1.6171	1.8790
	Maxxtech	2		0	2.7413
	Remington	2			0

La Tabla 14 muestra los resultados de la clasificación SIMCA por validación interna y externa obtenida para los conjuntos PAS, Raman y ATR-FTIR. Ambos métodos de validación (validación cruzada LOO y validación externa) dieron como resultado una clasificación 100% exitosa de las clases de GSR usando PAS y Raman. Mientras que para ATR-FTIR, la tasa de predicción para el conjunto de entrenamiento fue del 98.4%, ya que una muestra de Maxxtech se clasificó incorrectamente. Además, para el conjunto de validación se clasificaron erróneamente dos muestras (93.7%) pertenecientes a Fiocchi (1) y Maxxtech (1).

Tabla 14. Resultados de clasificación usando el modelo SIMCA en la predicción de la clase de GSR mediante validación cruzada y externa.

Modelo SIMCA			Clase predicha			
			Fiocchi	Maxxtech	Remington	Ninguna clase
Conjunto PAS	Fiocchi	<i>C.Ent</i> (100%)	28			
		<i>C.Val</i> (100%)	12			
	Maxxtech	<i>C.Ent</i> (100%)		25		
		<i>C.Val</i> (100%)		11		
	Remington	<i>C.Ent</i> (100%)			25	
		<i>C.Val</i> (100%)			11	
Conjunto Raman	Fiocchi	<i>C.Ent</i> (100%)	8			
		<i>C.Val</i> (100%)	4			
	Maxxtech	<i>C.Ent</i> (100%)		24		
		<i>C.Val</i> (100%)		12		
	Remington	<i>C.Ent</i> (100%)			8	
		<i>C.Val</i> (100%)			4	
Conjunto ATR-FTIR	Fiocchi	<i>C.Ent</i> (100%)	16			
		<i>C.Val</i> (87.5%)	7		1	
	Maxxtech	<i>C.Ent</i> (95.8%)	1	23		
		<i>C.Val</i> (91.6%)	1	11		
	Remington	<i>C.Ent</i> (100%)			24	
		<i>C.Val</i> (100%)			12	

La sensibilidad, especificidad y precisión fueron parámetros utilizados para evaluar los rendimientos de clasificación. Los valores estadísticos para los conjuntos de entrenamiento y validación de las tres clases de GSR por PAS, Raman y ATR-FTIR se muestran en la Tabla 15. Dado que al usar PAS y Raman todas las clases se asignaron correctamente, se obtuvo un 100% de precisión, sensibilidad y especificidad. Sin embargo, para el conjunto de entrenamiento y validación, los valores de sensibilidad, especificidad y precisión fueron menores por ATR-FTIR.

Tabla 15. Calidad de los modelos SIMCA en términos de sensibilidad (Sn, %), especificidad (Sp, %) y precisión (Pre, %).

		Modelo SIMCA								
		PAS			Raman			ATR-FTIR		
		Sn	Sp	Pre	Sn	Sp	Pre	Sn	Sp	Pre
Fiocchi	<i>C. Ent</i>	100	100	100	100	100	100	100	97.9	94.1
	<i>C. Val</i>	100	100	100	100	100	100	87.5	95.8	87.5
Maxxtech	<i>C. Ent</i>	100	100	100	100	100	100	95.8	100	100
	<i>C. Val</i>	100	100	100	100	100	100	91.7	100	100
Remington	<i>C. Ent</i>	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	<i>C. Val</i>	100	100	100	100	100	100	100	94.7	92.3

Los resultados de clasificación muestran la capacidad del modelo SIMCA para el reconocimiento y la discriminación de GSR, teniendo en cuenta las diferencias de perfil espectral (IR y Raman) entre los grupos, con un límite de confianza del 95%. No hubo diferencias en las tasas de predicción del conjunto de entrenamiento y validación utilizando PAS y Raman. Ambas técnicas mostraron excelentes resultados para la clasificación de las clases GSR. Esto difiere según ATR-FTIR, ya que proporcionó diferencias espectrales entre clases menos significativas. Por lo tanto, PAS y Raman junto con el método SIMCA podrían considerarse como la mejor opción para la clasificación de nuevas muestras de GSR. Los resultados reportados en esta sección también muestran la capacidad del modelo SIMCA para obtener una clasificación rápida, confiable y precisa de nuevas muestras. Sin embargo, la metodología propuesta debe incluir un aumento significativo en el número de fabricantes de municiones, para dar certeza de su versatilidad y capacidad predictiva en la aplicación práctica por parte de las agencias de aplicación de la ley.

Es importante enfatizar que, la heterogeneidad de las partículas de GSR en cada descarga individual y entre los tipos de fabricantes fue observado, en los cuales varió su apariencia (tamaño, forma y color), espectros vibracionales y propiedades fluorescentes. El uso de espectroscopía Raman para algunas partículas GSR fue limitada debido a la fuerte interferencia de fluorescencia. Dicha limitante se logró superar fácilmente mediante ATR-FTIR, aunque el poder de diferenciación en este caso no fue tan bueno como el de la espectroscopia Raman.

Las ventajas de las técnicas detalladas anteriormente, que incluyen la medición directa de muestras de GSR de una manera no destructiva, con relativa facilidad de medición con instrumentos comerciales, las hacen especialmente adecuadas para su uso en laboratorios forenses. Además, la capacidad de predicción observada para las muestras investigadas lleva a la conclusión de que las técnicas quimiométricas acopladas IR/ Raman pueden proporcionar información confirmatoria en investigaciones criminales, una vez la metodología se encuentre completamente desarrollado y validado.

6. DETECCIÓN DE RESIDUOS DE DISPARO EN LA PIEL MEDIANTE IMÁGENES HIPERESPECTRALES

Los retos principales en eventos que involucran el uso de arma de fuego reside en la recopilación, caracterización y preservación de la evidencia física y química. Cuando un arma de fuego ha sido ejecutada, las partículas resultantes se depositan en las superficies cercanas al disparo, por lo que las áreas comunes de muestreo son las manos y ropa del disparador y los objetos circundantes.^{9,72,73} Demostrar la presencia de dichas partículas en presencia de piel o la ropa de un sospechoso con el fin de avanzar en una investigación criminal o para presentarla como prueba en un juicio penal es una práctica establecida en los laboratorios forenses a nivel mundial, sin embargo no exenta de desafíos analíticos. En esta sección, se aplicó espectroscopía PAS y microscopía hiperespectral para evaluar la detección de residuos orgánicos de disparo colectados directamente de las manos del disparador, en presencia de restos de células epidérmicas que generan interferencias en la detección.

6.1. Consideraciones adicionales en la metodología

6.1.1. Espectros de referencia

Con el fin de identificar el perfil orgánico de GSR en presencia de células epiteliales, espectros de referencia fueron obtenidos a partir de la pólvora contenida en las municiones estudiadas, las cuales fueron desarticuladas en los laboratorios de la PDI, separando el cartucho y la bala sin alterar el contenido de pólvora. Los espectros de referencia de la pólvora se obtuvieron bajo las mismas condiciones que las muestras GSR. El espectro de referencia fue comparado con el perfil espectral orgánico del GSR.

Los espectros de referencia de piel y carbonato se obtuvieron de la biblioteca forense del software Spectrum Image (PerkinElmer Inc, Waltham, MA, EE. UU.).

6.1.2. Tratamiento de la muestra

El procedimiento de tratamiento de la muestra GSR se basa en el descrito por Burnett⁷⁴ y modificado para esta aplicación. Se usó como oxidante de epiteliales de la piel una mezcla de NaOCl al 6% grado reactivo y disolución saturada de Ca(OCl)₂ en una proporción de 1:1 en volumen. 20 ml de la disolución de Na⁺/Ca²⁺ se filtraron con discos de filtro de microfibra 0.7 μm (Ahlstrom-Munksjö, Helsinki, Finland). La disolución Na⁺/Ca²⁺ se aplicó sobre la superficie de la muestra de GSR. Se añadió una gota cada 5 segundos durante 5 minutos en cada muestra. Finalmente, las muestras se lavaron con agua ultrapura Millipore Direct-Q® 3 UV durante unos

15 segundos y se secaron con una lámpara de infrarrojo (Beurer, Alemania) durante unos 10 minutos.

6.2. Resultados y discusión

6.2.1. Detección de GSR por espectroscopía fotoacústica

El procedimiento de muestreo de las partículas GSR recolectadas por el método de levantamiento de cinta desde las manos del disparador implica la descamación de las células epiteliales. Con el fin de evitar interferencias por células, se aplicó una solución de $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ sobre la cinta.⁷⁴ Primeramente, se evaluó el efecto de la solución $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ en (a) cinta, (b) piel (c) pólvora y (d) muestra de GSR (Figura 17). La supresión de las bandas de absorción a 1650 y 1550 cm^{-1} típicas de la piel fue obtenida con la adición de la solución $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (Figura 17b), lo que demuestra la eliminación efectiva de los depósitos de la piel para las mediciones mediante espectroscopía PAS. En contraste, no se observaron cambios en el perfil espectral de la pólvora de referencia (Figura 17c) que es importante para la detección de GSR mediante dicha técnica espectroscópica. Sin embargo, en las muestras de GSR colectadas y tratadas con la solución $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ no se evidenció el perfil espectral característico de la pólvora (Figura 1d).

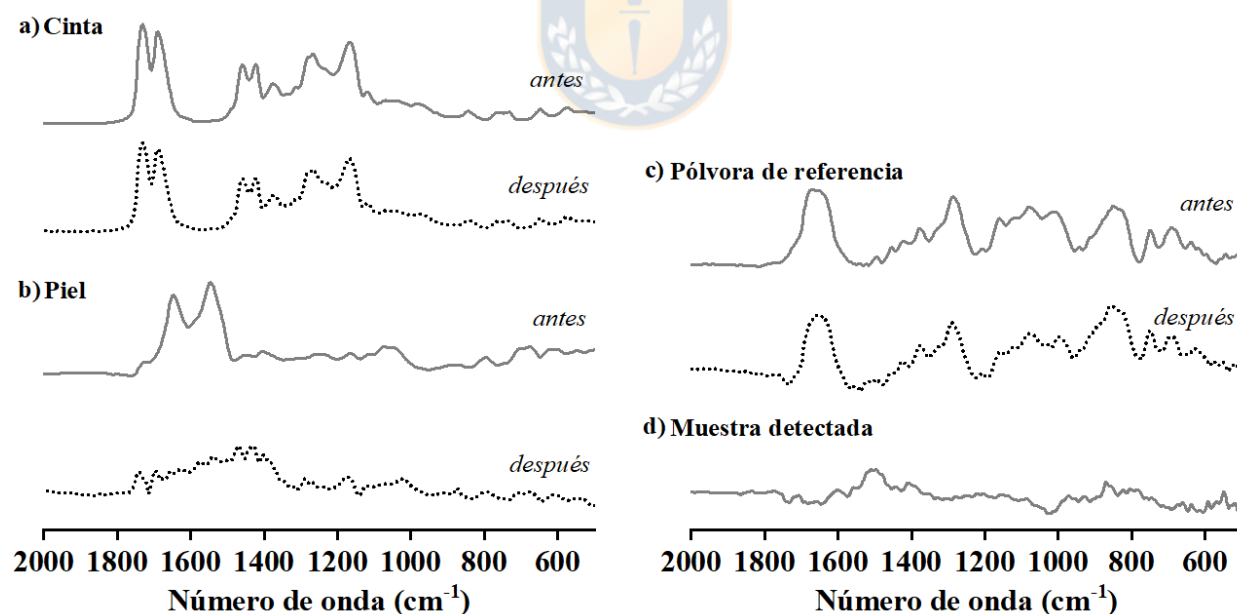


Figura 17. Efecto de la solución $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ sobre el espectro PAS de (a) cinta, (b) piel, (c) pólvora de referencia y (d) muestra de GSR tratada con solución $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$. Fuente: elaboración propia

A pesar de que la detección de PAS es altamente sensible, no fue posible detectar muestras de GSR. Una posible explicación de esta detección fallida es que las intensidades de las bandas de la cinta son mucho más dominantes que las bandas de las partículas depositadas de GSR. (Figura 1d).

Además, el haz de irradiación con el detector fotoacústico no es ajustable para la focalización específica de las partículas GSR. De acuerdo con esto, consideramos el uso de una técnica micro espectroscópica para la localización de las partículas de interés.

6.2.2. Detección de GSR por microscopía hiperespectral ATR-FTIR

La Figura 18 muestra los espectros ATR-FTIR extraídos de la imagen hiperespectral de muestras de GSR: (a) OGSR, (b) IGSR, células de la piel y la cinta. Las partículas OGSR encontradas mostraron las bandas de absorción características de compuestos de éster de nitrato (nitrocelulosa y nitroglicerina). Tres bandas intensas a 1637, 1273 y 821 cm^{-1} correspondientes a la vibración de tensión asimétrica y simétrica del O-NO₂ y la tensión N-O (respectivamente) fueron observadas. La región entre 1064-1000 cm^{-1} está asociada a las vibraciones de tensión C-O. El espectro OGSR mostró una alta similitud con el espectro de la pólvora de referencia (Figura 18a).⁵⁹⁻⁶¹ Además, también se detectaron partículas de IGSR. Las bandas de absorción se asignaron a ion carbonato coordinado (CO₃²⁻) originado a partir de complejos de metal-carbonato. Estos compuestos inorgánicos se agregan para neutralizar los productos de descomposición en la pólvora.⁴ Las bandas observadas en 1393, 1016 y 860 cm^{-1} se asociaron a los modos vibracionales de tensión y deformación de CO₃²⁻ (Figura 18b-trazo verde).⁷⁵⁻⁷⁸ Otras bandas en la región 700-240 cm^{-1} originadas por enlaces de hidróxidos de metal u óxidos de metal están presentes en GSR, pero no pueden detectarse usando ATR-FTIR (4000-750 cm^{-1}).⁷⁹

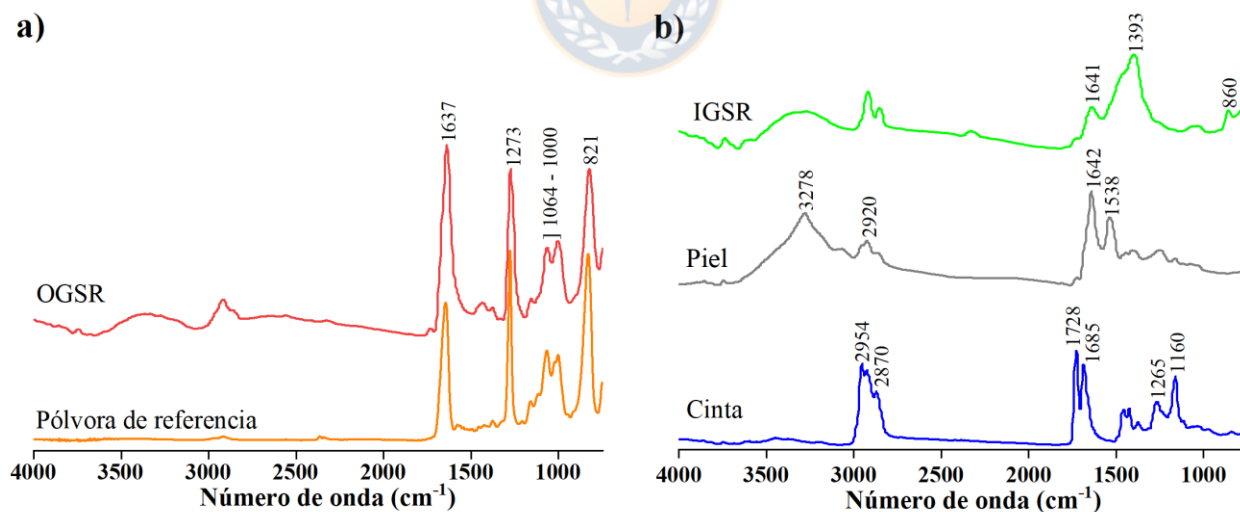


Figura 18. Espectros ATR-FTIR extraídos de las imágenes hiperespectrales de las muestras de GSR: (a) OGSR, espectros de partículas orgánicas GSR (rojo) y pólvora de referencia (naranja). (b) IGSR (verde), piel (gris) y cinta (azul). Fuente: elaboración propia

También se detectaron patrones espectrales de piel y cinta. Bandas vibracionales prominentes de tensión O-H (3278 cm^{-1}), de tensión C-H (2920 cm^{-1}), de tensión amida I y II (1642 y 1538 cm^{-1}) son características del espectro típico de la piel y se pueden atribuir a los lípidos, proteínas y

humedad (Figura 18b, trazo gris).⁸⁰ Además, las bandas IR intensas correspondientes a la vibración de tensión C-H ($3000-2800\text{ cm}^{-1}$), de tensión carbonilo (1728 cm^{-1}), de tensión C=C (1685 cm^{-1}) y tensión asimétrica C-O-C ($1265-1160\text{ cm}^{-1}$) fueron asignados a polimetilacrilato de la cinta (Figura 18b-trazo azul).^{81,82}

El tratamiento con la solución $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ se usó antes del análisis de GSR mediante microscopía hiperespectral ATR-FTIR. La Figura 19 muestra una imagen visual e hiperespectral ATR-FTIR de la cinta de muestreo (a) antes y (b) después de la eliminación de los residuos de la piel. Una eliminación efectiva de los residuos de la piel en la cinta de muestreo puede ser observada.

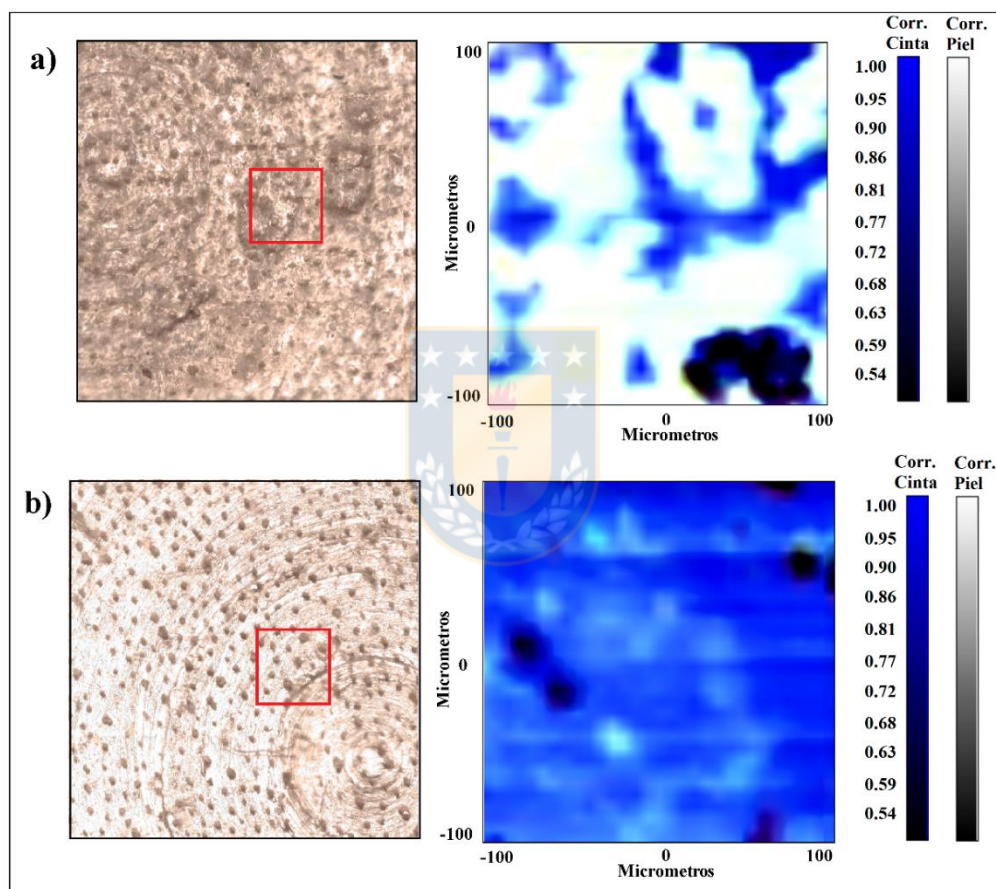


Figura 19. Imagen visual e hiperespectral ATR-FTIR de la cinta de muestreo (a) antes y (b) después de la adición de la solución $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$. La escala de color determina la correlación (0.5 a 1) con la señal química detectada. Las áreas de color azul y blanco representan el patrón espectral de la cinta y la piel, respectivamente. Fuente: elaboración propia

Del mismo modo, las imágenes visuales y ATR-FTIR de las tres clases de municiones disparadas (a) CBC, (b) Maxxtech y (c) Remington se muestran en la Figura 20. El color del píxel se establece mediante un espectro de referencia seleccionado preliminarmente para cada analito de interés. Las áreas de color azul y blanco en imágenes ATR representan el patrón espectral de la cinta y la piel, respectivamente. Las áreas de color rojo y verde representan el patrón espectral de OGSR e IGSR

respectivamente. Un valor de $r = 0.5$ indica una baja correlación, mientras que el valor de $r = 1$ indica una alta correlación con el patrón espectral.

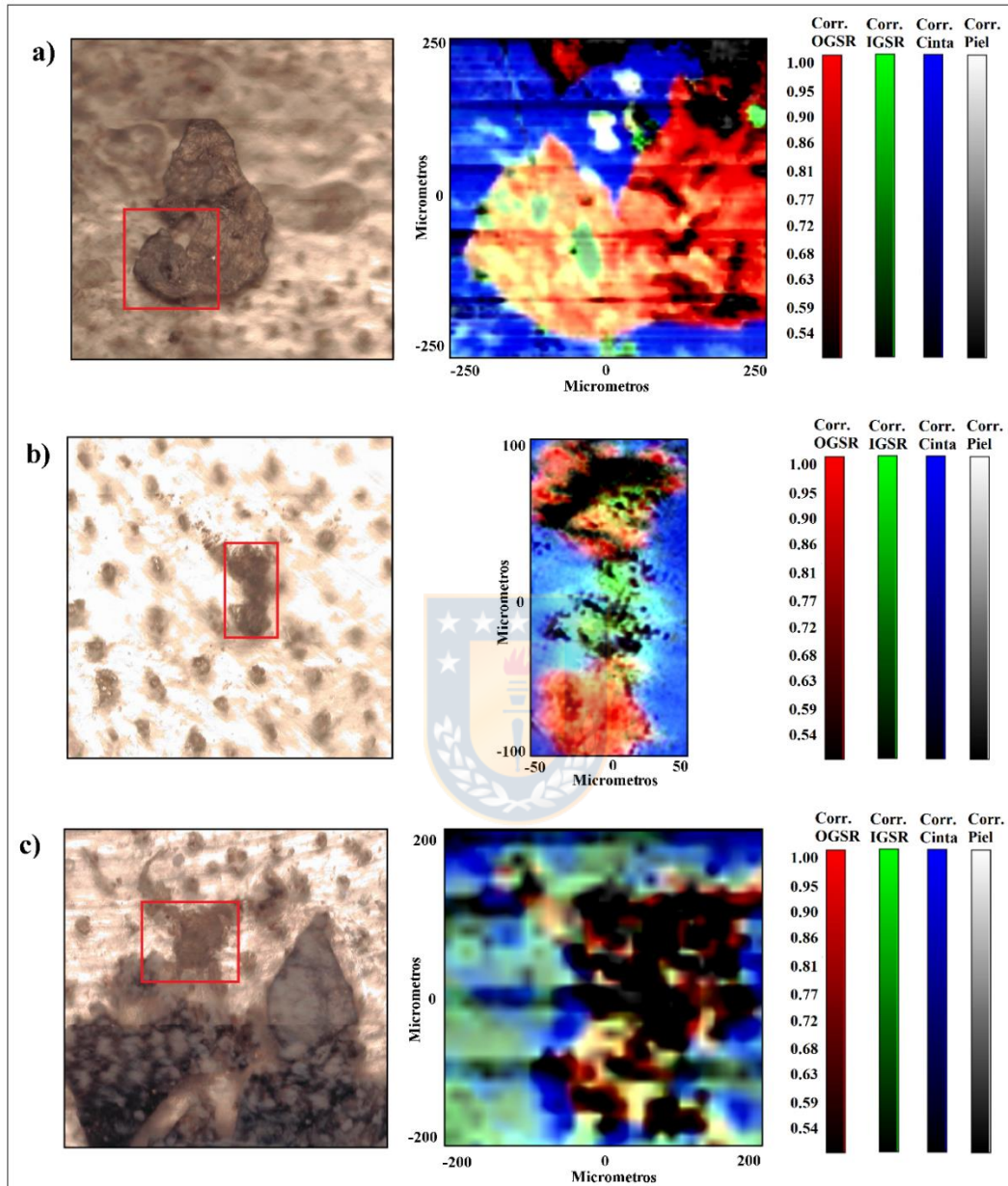


Figura 20. Imagen visual e hiperespectral ATR-FTIR de los GSR pertenecientes (a) CBC, (b) Maxxtech y (c) Remington. La escala de color determina la correlación (0.5 a 1) con la señal química detectada. Las áreas de color rojo y verde indican una alta correlación con el patrón espectral de las partículas orgánicas e inorgánicas de GSR respectivamente. Las áreas de color azul y blanco indican una alta correlación con el patrón espectral de la cinta y la piel respectivamente. Fuente: elaboración propia

Los residuos de la piel se eliminaron de manera eficiente, que se evidencia por la mínima contribución de las áreas de color blanco en las imágenes hiperespectrales ATR-FTIR (Figura. 20a-c). En contraste, se logra la detección de partículas OGSR e IGSR. La absorción IR producida por las partículas de carbonato metálico fueron observadas y son resaltadas con color verde. El

perfil espectral OGSR fue encontrado en algunas muestras (color rojo), permitiendo una identificación confiable de OGSR en la mano del disparador. El porcentaje de OGSR observado en las muestras de CBC, Maxxtech y Remington fue del 83%, 50% y 50%, respectivamente. Sin embargo, la detección no uniforme en las muestras no indica necesariamente la ausencia de OGSR. La detección variable de partículas de OGSR podría atribuirse a la pequeña exploración realizada por muestra debido a limitaciones de tiempo. Por lo tanto, se debe considerar un área de escaneo más grande y un mayor número de observaciones para evaluaciones futuras.

Por lo tanto, la metodología propuesta basada en la microscopía hiperespectral ATR-FTIR para la detección de GSR se ha tomado como una prueba de concepto para casos forenses donde el objetivo es identificar OGSR desde las manos del disparador. Estos resultados preliminares mostraron que la microscopía hiperespectral ATR-FTIR permite obtener información complementaria de OGSR e IGSR a los resultados de análisis elemental que se logran por SEM-EDX. Dado que el levantamiento de la cinta es la técnica de muestreo más utilizada, el análisis OGSR podría implementarse sin modificar las partículas IGSR. Además, los enfoques no destructivos son importantes para los exámenes posteriores. También es importante señalar que la combinación de datos orgánicos e inorgánicos aumentaría el valor de cualquier hallazgo positivo. Conjuntamente, se deben realizar más estudios con diferentes armas de fuego, municiones e incluyendo un mayor número de muestras.

6.2.3. Análisis GSR por SEM-EDX

La evaluación de la composición elemental de las muestras de GSR se realizó mediante análisis SEM-EDX en todas las muestras después de su pretratamiento con la solución $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$. Se encontraron partículas típicas de GSR (Figura 21a) sin que el tratamiento con $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ afectara la información química relevante, lo que concuerda con los informes anteriores.⁷⁴ Como ejemplo, la Figura 21b muestra la composición elemental (Pb, Ba y Sb) detectada para una partícula GSR perteneciente a Remington. El espectro de EDX también muestra la presencia de otros elementos como calcio (Ca), carbono (C), oxígeno (O) y molibdeno (Mo). También se detectaron cantidades traza de azufre (S), cobre (Cu), aluminio (Al), zinc (Zn) y hierro (Fe).

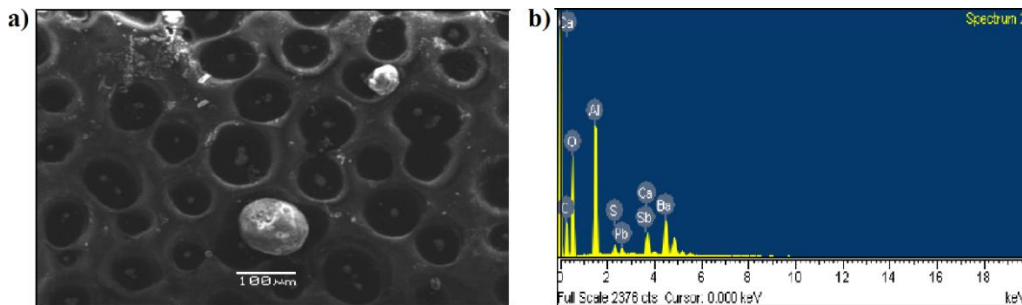


Figura 21. (a) Imagen SEM y (b) Espectros EDX de una muestra típica de GSR. Fuente: elaboración propia

7. ANÁLISIS RAMAN DE RESIDUOS DE DISPARO OBTENIDOS DE LA DESCARGA DE DOS TIPOS DE ARMA DE FUEGO: PISTOLA (9 mm) Y REVÓLVER (.38")

Los residuos de disparo resultantes en un acto criminal dependen de distintos factores tales como el tipo de arma de fuego (calibre, edad y condición del arma), tipo de munición (fabricante, calibre), distancia y ángulo de disparo, condiciones atmosféricas y tiempo desde que se realizó el disparo. Una vez ejecutado el arma, los GSR son dispersados en el ambiente, y las partículas condensadas se depositan principalmente en la superficie exterior de la mano del disparador. En consecuencia, las manos del que ejecutó el disparo, son el mejor lugar para la detección de las partículas de GSR de interés. Un previo estudio ha estimado que las cantidades de deposición para los compuestos de OGSR en las manos del disparador oscilan entre 90 y 178 ng en total.⁸³ Además, la apariencia (color, tamaño y forma) de los GSR depositados en la piel están directamente influenciados por los factores mencionados anteriormente. El objetivo de esta sección fue rastrear el arma utilizada (calibre) a partir de los espectros Raman de los GSR colectados directamente desde las manos del disparador.

7.1. Resultados y discusión

La presencia de partículas orgánicas e inorgánicas fue detectada en las muestras colectadas desde las manos del disparador. En la Tabla 16, se resumen las tentativas tipos de partículas observadas por número de disparo y calibre, y la Figura 22 ilustra sus correspondientes perfiles espectrales.

Tabla 16. Descripción de las partículas observadas a partir de la descarga de la pistola (9 mm) y revólver (.38").

Partícula	Compuesto relacionado	Ubicación (N° disparo y calibre)
a	OGSR	Disparo 1, 3-5/ 9 mm Disparo 5/ .38"
b	Grafito	Disparo 1, 4/ 9 mm Disparo 2/ 0.38"
c	Grafito óxido	Disparo 1-5/ 9 mm Disparo 1, 4-5/ .38"
d	Grafito óxido + banda a 1086 cm ⁻¹	Disparo 1/ 9 mm Disparo 3/ 9 mm
e	Grafito óxido + banda a 925 cm ⁻¹	Disparo 1/ 9 mm Disparo 4/ 9 mm
f	Grafito óxido + banda a 465 cm ⁻¹	Disparo 2/ 9 mm Disparo 2-3/ 0.38
g	IGSR con bandas en 1001, 610 y 447 cm ⁻¹	Disparo 1/ 9 mm Disparo 4/ 0.38
h	Partículas fluorescentes	Disparo 2/ 9 mm Disparo 1-5/ 0.38"

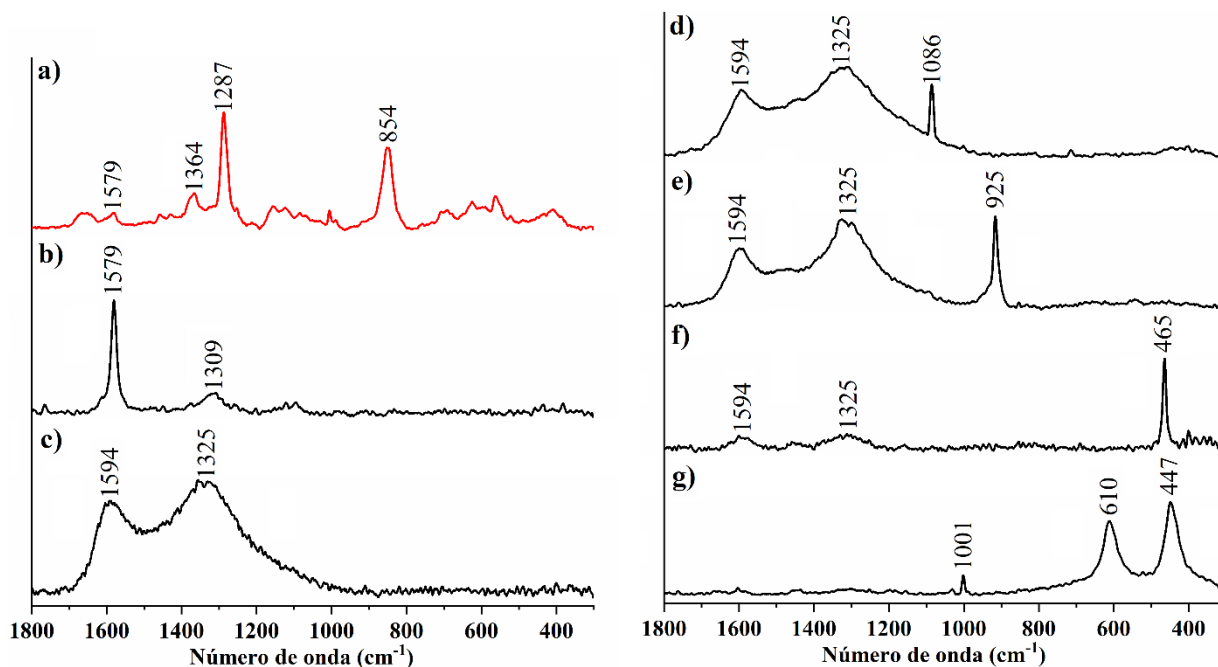


Figura 22. Espectros Raman de partículas GSR observadas a partir de la descarga de municiones usando pistola (9 mm) y revólver (.38''): a) OGSR, b) grafito, c) grafito óxido, d) grafito óxido con banda a 1086 cm^{-1} , e) grafito óxido con banda a 925 cm^{-1} , f) grafito óxido con banda a 465 cm^{-1} g) IGSR con bandas en 1001 , 610 y 447 cm^{-1} . Fuente: elaboración propia

Los espectros Raman de GSR de origen orgánico revelaron varias bandas que fueron asociadas a los compuestos originados de la pólvora en la munición. En la Figura 22a las bandas principales resaltadas a 1579 , 1364 , 1287 y 854 cm^{-1} corresponden a las vibraciones de tensión NO_2 de los compuestos de éster de nitrato e isómeros de dinitrotolueno.^{61,62,69,70} La Figura 23 ilustra una comparación espectral entre el perfil OGSR y las matrices involucradas en su recolección (piel, cinta y guante de tela). Es posible observar que las bandas del OGSR son propias y no provienen de ninguna de las matrices de muestreo. El espectro de piel (Figura 23b) muestra la vibración de tensión $\text{C}=\text{O}$ amida I (1652 cm^{-1}), las vibraciones de deformación del CH_2 y CH_3 (1456 cm^{-1}), vibraciones de tensión $\text{C}-\text{N}$ o deformación en tijera $\text{N}-\text{H}$ amida III (1296 cm^{-1}) y las vibraciones de tensión $\text{C}-\text{C}$ del anillo (1002 cm^{-1}).^{84,85} El espectro Raman de la cinta (Figura 23c) corresponde al polipropileno isotáctico $[-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-]_n$. Las principales bandas a 1459 , 1152 , 842 y 809 cm^{-1} corresponden a la vibración de deformación en tijera del CH_2 , vibración de tensión $\text{C}-\text{C}$ y las vibraciones de deformación en balanceo del CH_2 respectivamente.⁸⁶ Además, el perfil espectral que exhibe el guante de tela (Figura 23d) proviene de fibras de polyester (tereftalato de polietileno, PET). Sus bandas corresponden a la vibración de tensión $\text{C}=\text{O}$ (1726 cm^{-1}), vibración de deformación del anillo (1614 cm^{-1}), vibración de tensión $\text{C}-\text{C}$ del anillo y del $\text{C}-\text{O}$ (1290 cm^{-1}) y a la vibración de tensión $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ (859 cm^{-1}).⁸⁷

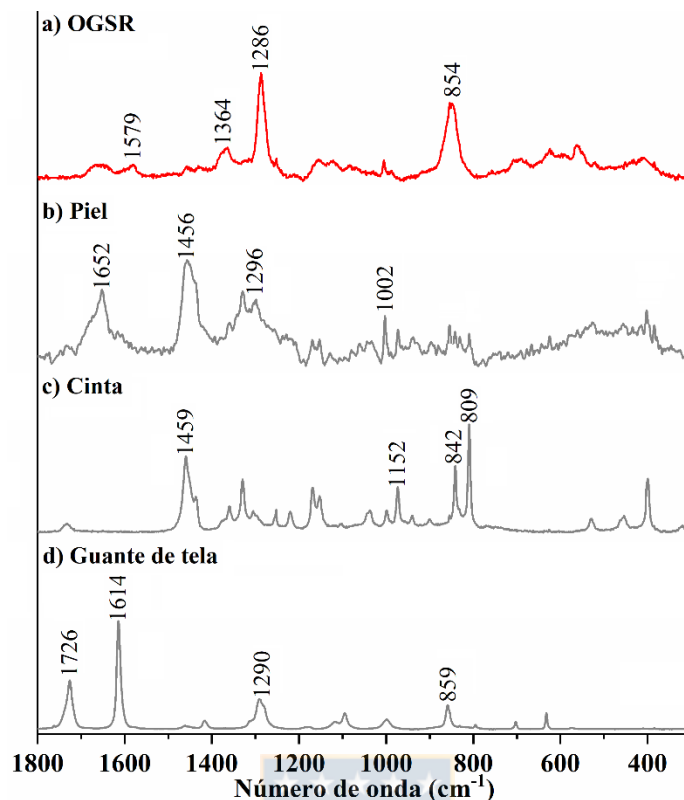


Figura 23. Espectros Raman de las matrices involucradas en la recolección de los GSR: a) OGSR, b) piel, c) cinta y d) guante de tela. Fuente: elaboración propia

Es necesario destacar que la detección del perfil orgánico de GSR fue variable en las muestras analizadas. En las descargas con la pistola de 9 mm, partículas OGSR fueron encontradas en todas las muestras, excepto en el disparo #2 (colectado en guante). Mientras que, en las descargas con revólver el perfil OGSR sólo fue detectado en el disparo # 5 (colectado en guante). Por tal motivo la información obtenida no fue concluyente para rastrear el calibre de la munición y el arma utilizada.

Durante la exploración Raman, GSR tipo inorgánicos fueron detectados. La presencia de grafito y grafito oxidado fue observada en la mayoría de las muestras (Figura 22 b-c). Su presencia se debe a que este componente es agregado a los granos de pólvora con el fin de eliminar las cargas de corriente estática que se genera a partir de la propia fricción entre ellos. También actúa como retardante de la velocidad de combustión.^{4,88} Para el grafito las bandas estrechas G y D fueron observadas a 1579 y 1309 cm^{-1} , mientras que las bandas amplias características del grafito oxidado estuvieron a 1594 (G) y 1325 (D) cm^{-1} .^{89,90}

También se detectaron otras partículas inorgánicas con bandas adicionales a las características G y D del grafito oxidado (Figura 22d-f). La presencia del ion CO_3^{2-} originado de compuestos metal-carbonato (Ba/Pb/ CaCO_3) puede ser evidenciado con la banda a 1086 cm^{-1} en la Figura 22d.⁹¹⁻⁹³ Por otra parte, la banda a 925 cm^{-1} podría relacionarse con el ion perclorato (ClO_4^-) del compuesto

AgClO₄.⁹⁴ Además, la banda a 465 cm⁻¹ (Figura 22f) puede ser asociada al óxido de antimonio (III).^{95,96} La presencia del ion clorato (ClO₃⁻) en compuestos como Na/KClO₃ fue vinculado con las bandas a 1001, 610 y 447 cm⁻¹.⁹⁴

Finalmente se debe mencionar que también existen interferencias en la detección de OGSR debido a la fluorescencia de la mayoría de estas partículas que son observadas en las descargas realizadas con revólver (Tabla 16). El enmascaramiento de la señal Raman por la fluorescencia, no permite evidenciar los GSR de tipo orgánico, al menos en las muestras analizadas en este estudio. Sin embargo, es necesario tener un mayor número de descargas para tener conclusiones con mayor certeza estadística.

La problemática de la interferencia de fluorescencia en algunas partículas GSR podría ser abordada utilizando una fuente de excitación a longitud de onda mayor (1064 nm). Esto es posible dado que los fotones en el IR cercano no poseen suficiente energía para acceder a los estados vibratorios que causan la fluorescencia.^{24,32,97}

Otra posibilidad, sería implementar la técnica de muestreo *Surface Enhanced Raman Scattering* (SERS), que ha sido empleada en distintos análisis de evidencia forense (fibras, pinturas, explosivos, huellas dactilares, fluidos corporales, drogas, fibras)^{19,98} ya que permite reducir los efectos de fluorescencia y mejora la señal en la que mediante espectroscopía Raman convencional con la que no fue posible su detección. Esta mejora se debe principalmente al uso de nanoestructuras metálicas (Au o Ag) que forman plasmones de superficie que aumentan las señales por un factor de 10³ a 10⁷. Estas nanoestructuras metálicas se introducen en la muestra usando desde *nanofilms* hasta el depósito de coloides metálicos directamente sobre la muestra. Posteriormente, los espectros son colectados usando el espectrómetro Raman convencional. Cabe mencionar que el uso de esta metodología de preparación presenta la desventaja de modificación de la evidencia y por ende no es posible llevar a cabo análisis posteriores de la muestra.^{24,97}

Las temáticas abordadas hasta aquí apuntan a la capacidad de la espectroscopía vibracional para servir como técnicas útiles y complementarias para el análisis de evidencia forense. La espectroscopía PAS, microscopía hiperespectral ATR-FTIR y Raman son muy selectivas con la capacidad de proporcionar una identificación confirmatoria de manera no destructiva y rápida de explosivos y residuos de disparo. Actualmente estas técnicas han mostrado resultados prometedores en un entorno de laboratorio, con una creciente tendencia de incorporar estadísticas en el análisis de datos espectrales. Dicha integración espectroscópica y estadística se encuentra en continuo desarrollo hasta que se convierta en un método práctico en las evaluaciones forenses. Claro está, que validaciones exhaustivas deben llevarse a cabo antes de que sean integradas a los protocolos forenses del mundo real.

8. CONCLUSIONES

- La espectroscopía PAS y ATR-FTIR junto con análisis de clasificación quimiométrico permitió la diferenciación de pólvora de diferente origen. El PCA mostró el agrupamiento de las clases de pólvora en función de su composición orgánica. Mediante modelos SIMCA y PLS-DA se obtuvo la diferenciación exitosa de pólvoras desconocidas según su fabricante a partir de sus espectros PAS y ATR-FTIR. El método propuesto fue prometedor para el análisis de GSR en investigaciones forenses, donde la clasificación puede proporcionar información complementaria.
- Un estudio espectroscópico vibracional (PAS, ATR-FTIR y Raman) de residuos de disparos originados de la descarga de municiones de tres fabricantes diferentes (de igual calibre y tipo de bala) fue llevado a cabo. La diferenciación de los fabricantes (Fiocchi, Maxxtech y Remington) se logró utilizando el perfil vibracional de los GSR junto con análisis de componentes principales. La mejor separación entre las clases de GSR se logró con los datos Raman y PAS, debido a la alta especificidad espectral proporcionada por estas técnicas o por las variaciones en la composición química de las municiones. La clasificación del fabricante se logró utilizando el modelo SIMCA. La validación interna del conjunto de entrenamiento fue del 100% mediante PAS y Raman, y del 98.4% utilizando mediciones ATR-FTIR. Parámetros como sensibilidad, especificidad y precisión fueron evaluados. La capacidad de estos modelos se probó mediante la asignación correcta de muestras externas. Los resultados mostraron una diferenciación efectiva (100%) utilizando PAS y Raman, mientras que un ATR-FTIR obtuvo un 93.7%. Entre las ventajas del método propuesto se encuentran el análisis rápido y no destructivo.
- La detección de partículas OGSR colectados desde la piel mediante microscopía hiperespectral ATR-FTIR mostraron la idoneidad de la técnica para fines forenses. Una solución $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ fue aplicada con éxito para eliminar los residuos de la piel depositados en el colector de cinta y evitar así las interferencias espectrales. El sencillo procedimiento permitió mejorar la detección de GSR por ATR-FTIR y la generación de imágenes IR hiperespectrales. La información obtenida de OGSR e IGSR es complementaria a la detección elemental estandarizada. El método propuesto no es destructivo, lo que permite la preservación de la muestra sin daño físico, lo cual es importante para el análisis adicional de SEM-EDX.

- Análisis Raman de GSR colectados desde las manos del disparador fue abordado con el fin de rastrear el arma utilizada (pistola y revolver). El perfil orgánico de GSR característico de los compuestos originados de la pólvora de la munición fue evidenciado en algunas muestras. La contribución de fluorescencia en algunas partículas evitó la detección homogénea en las muestras descargadas. Además, el limitado número de muestras estudiadas (10) no fueron concluyentes sobre la reproducibilidad de la detección. En consecuencia, el objetivo de rastrear el arma utilizada no fue logrado. Cabe mencionar, que partículas inorgánicas como grafito, carbonatos, cloratos y percloratos, provenientes del fulminante y pólvora fueron también detectados.
- Como resultado de la adopción de la espectroscopía vibracional (espectroscopía PAS, microscopía hiperespectral ATR-FTIR y espectroscopía Raman) con asistencia de métodos quimiométricos, la ciencia forense en su conjunto se puede beneficiar obteniendo resultados complementarios a los actuales. La espectroscopía vibracional es una herramienta analítica forense ideal porque no es destructiva, lo suficientemente versátil como para caracterizar muchas formas de evidencia, de naturaleza confirmatoria y capaz de proporcionar el perfil espectral de un analito de interés. La realización de nuevos estudios empleando estas metodologías, permitirá su implementación en la práctica forense en el futuro.



DIFUSIÓN DEL TRABAJO

Publicaciones científicas

- Á. Álvarez, J. Yáñez, D. Contreras, R. Saavedra, P. Sáez, D. Amarasiriwardena. *Propellant's differentiation using FTIR-photoacoustic detection for forensic studies of improvised explosive devices*. Forensic Science International 2017. 280: 169–175.
- Á. Álvarez, J. Yáñez. *Screening of GSR in skin by ATR-FTIR Hyperspectral Microscopy*. Enviado a Applied Spectroscopy 2019.
- Á. Álvarez, J. Yáñez, I.K. Lednev. *Vibrational spectroscopy of organic gunshot residue: comparative statistical analysis to differentiate ammunition based on its manufacturer*. Enviado a Analytical Chemistry.

Eventos científicos

- *Forensic analysis of gunshot residues and gunpowder by Atomic Spectrometry, FTIR-Photoacoustic Spectrometry for identifying ammunition brands*. 32° Congreso Latinoamericano de Química (CLAQ), Concepción-Chile 2016. Modalidad oral.
- *Gunpowder's differentiation using FTIR-photoacoustic detection for forensic studies of improvised explosive devices*, 9° Congreso Argentino de Química Analítica (CAQA), Río Cuarto-Argentina 2017. Modalidad oral.
- *Gunpowder's differentiation using FTIR-photoacoustic detection for forensic studies of improvised explosive devices*, XXXII Jornadas Chilenas de Química, Puerto Varas-Chile 2018. Modalidad Póster.
- *Detection and classification of GSR and gunpowder by FTIR-photoacoustic detection and FTIR-ATR hyperspectral microscopy*, 33° Congreso Latinoamericano de Química (CLAQ), La Habana-Cuba 2018. Modalidad oral.

REFERENCIAS

1. Chris Dalby & Camilo Carranza. Balance de Insight Crime sobre los homicidios en Latinoamérica en 2018. *Insight Crime* (2019). Available at: <https://es.insightcrime.org/noticias/analisis/balance-de-insight-crime-sobre-los-homicidios-en-2018/>. (Accessed: 1st April 2019)
2. A.J. Schwoeble & Exline, D. L. *Gunshot residue: Current Methods in Gunshot residue analysis*. CRC Press (CRC Press, 2000). doi:10.1201/9781420042573
3. Dalby, O., Butler, D. & Birkett, J. W. Analysis of gunshot residue and associated materials - A review. *J. Forensic Sci.* **55**, 924–943 (2010).
4. Wallace, J. S. *Chemical Analysis of Firearms, Ammunition, and Gunshot Residue*. (CRC Press, 2008). doi:<https://doi.org/10.4324/9781315153254>
5. Winchester Ammunition. Winchester Products. Available at: <https://winchester.com/>. (Accessed: 15th May 2019)
6. Goudsmits, E., Sharples, G. P. & Birkett, J. W. Recent trends in organic gunshot residue analysis. *Trends Anal. Chem.* **74**, 46–57 (2015).
7. Goudsmits, E., Sharples, G. P. & Birkett, J. W. Preliminary classification of characteristic organic gunshot residue compounds. *Sci. Justice* **56**, 421–425 (2016).
8. ASTM International. E1588-17 Standard Guide for Gunshot Residue Analysis by Scanning Electron Microscopy / Energy Dispersive X-Ray Spectrometry. **i**, 1–5 (2010).
9. O'Mahony, A. M., Samek, I. A., Sattayasamitsathit, S. & Wang, J. Orthogonal identification of gunshot residue with complementary detection principles of voltammetry, scanning electron microscopy, and energy-dispersive X-ray spectroscopy: Sample, screen, and confirm. *Anal. Chem.* **86**, 8031–8036 (2014).
10. Brožek-Mucha, Z. Chemical and physical characterisation of welding fume particles for distinguishing from gunshot residue. *Forensic Sci. Int.* **254**, 51–58 (2015).
11. Chang, K. H., Jayaprakash, P. T., Yew, C. H. & Abdullah, A. F. L. Gunshot residue analysis and its evidential values: A review. *Aust. J. Forensic Sci.* **45**, 3–23 (2013).
12. Cruces-Blanco, C., Gámiz-Gracia, L. & García-Campaña, A. M. Applications of capillary electrophoresis in forensic analytical chemistry. *Trends Anal. Chem.* **26**, 215–226 (2007).
13. Taudte, R. V. *et al.* Detection of gunshot residues using mass spectrometry. *Biomed Res. Int.* **2014**, 1–16 (2014).
14. Ewing, A. V. & Kazarian, S. G. Infrared spectroscopy and spectroscopic imaging in forensic science. *Analyst* **142**, 257–272 (2017).
15. Brožek-Mucha, Z. Trends in analysis of gunshot residue for forensic purposes. *Anal. Bioanal. Chem.* **409**, 5803–5811 (2017).
16. Mistek, E., Fikiet, M. A., Khandasammy, S. R. & Lednev, I. K. Toward Locard's Exchange Principle: Recent Developments in Forensic Trace Evidence Analysis. *Anal. Chem.* **91**, 637–654 (2019).
17. Muro, C. K., Doty, K. C., Bueno, J., Halámková, L. & Lednev, I. K. Vibrational spectroscopy: Recent developments to revolutionize forensic science. *Anal. Chem.* **87**, 306–327 (2015).
18. Edelman, G. J., Gaston, E., van Leeuwen, T. G., Cullen, P. J. & Aalders, M. C. G. Hyperspectral imaging for non-contact analysis of forensic traces. *Forensic Sci. Int.* **223**,

- 28–39 (2012).
19. Khandasammy, S. R. *et al.* Bloodstains, paintings, and drugs: Raman spectroscopy applications in forensic science. *Forensic Chem.* **8**, 111–133 (2018).
 20. Doty, K. C. & Lednev, I. K. Raman spectroscopy for forensic purposes: Recent applications for serology and gunshot residue analysis. *Trends Anal. Chem.* **103**, 215–222 (2018).
 21. Lehtinen, J., Hirschmann, C. B., Keiski, R. L. & Kuusela, T. Human hair in the identification of cocaine abuse with cantilever-Enhanced photoacoustic spectroscopy and principal component analysis. *Appl. Spectrosc.* **67**, 846–850 (2013).
 22. Sharma, R. C., Kumar, S., Gautam, S., Gupta, S. & Srivastava, H. B. Photoacoustic sensor for trace detection of post-blast explosive and hazardous molecules. *Sensors Actuators, B Chem.* **243**, 59–63 (2017).
 23. Álvarez, Á. *et al.* Propellant's differentiation using FTIR-photoacoustic detection for forensic studies of improvised explosive devices. *Forensic Sci. Int.* **280**, 169–175 (2017).
 24. Chalmers, J. M., Edwards, H. G. M. & Hargreaves, M. D. *Infrared and Raman Spectroscopy in Forensic Science. Infrared and Raman Spectroscopy in Forensic Science* (John Wiley & Sons, 2012). doi:10.1002/9781119962328
 25. Schmid, T. Photoacoustic spectroscopy for process analysis. *Anal. Bioanal. Chem.* **384**, 1071–1086 (2006).
 26. Uotila, J. & Kauppinen, J. Fourier transform infrared measurement of solid-, liquid-, and gas-phase samples with a single photoacoustic cell. *Appl. Spectrosc.* **62**, 655–660 (2008).
 27. Milosevic, M. Internal reflection and ATR spectroscopy. *Appl. Spectrosc. Rev.* **39**, 365–384 (2004).
 28. Amigo, J. M., Babamoradi, H. & Elcoroaristizabal, S. Hyperspectral image analysis. A tutorial. *Anal. Chim. Acta* **896**, 34–51 (2015).
 29. De Juan, A. *et al.* Spectroscopic imaging and chemometrics: A powerful combination for global and local sample analysis. *Trends Anal. Chem.* **23**, 70–79 (2004).
 30. CHROMacademy. Introduction to IR Spectroscopy-Attenuated Total Reflectance (ATR). Available at: <https://www.chromacademy.com/infrared-training.html>. (Accessed: 15th May 2019)
 31. Butler, H. J. *et al.* Using Raman spectroscopy to characterize biological materials. *Nature Protocols* **11**, (Nature Publishing Group, 2016).
 32. Larkin, P. J. *IR and Raman spectroscopy: principles and spectral interpretation*. (Elsevier, 2011). doi:10.3390/rel9100297
 33. Otto, M. *Chemometrics: Statistics and Computer Application in Analytical Chemistry. Chemometrics* (John Wiley & Sons, 2016). doi:10.1002/9783527699377
 34. Mulloor, J. Evaluation of Cryofocusing Capillary Microextraction of Volatiles for Improved Detection of Organic Gunshot Residue on the Hands of Shooters. (Florida International University, 2017). doi:10.25148/etd.FIDC001776
 35. Association of Firearm and Tool Mark Examiners. AFTE Forums. Available at: <http://forum.afte.org/index.php?topic=1087.0>. (Accessed: 15th May 2019)
 36. International Ammunition Association, I. Pobjeda-Technology MAXX-Tech ammo - General Ammunition Discussion. Available at: <https://forum.cartridgecollectors.org/t/pobjeda-technology-maxx-tech-ammo/17103>. (Accessed: 15th May 2019)
 37. Bro, R. & Smilde, A. K. Principal component analysis. *Anal. Methods* **6**, 2812–2831 (2014).
 38. Chalmers, J. M. Anomalies, Artifacts and Common Errors in Using Vibrational

- Spectroscopy Techniques. *Handb. Vib. Spectrosc.* 2327–2347 (2002). doi:10.1002/9780470027325.s3101
39. Boulet-Audet, M., Buffeteau, T., Boudreault, S., Daugey, N. & Pézolet, M. Quantitative determination of band distortions in diamond attenuated total reflectance infrared spectra. *J. Phys. Chem. B* **114**, 8255–8261 (2010).
 40. Wehrens, R. *Chemometrics with R: Multivariate Data Analysis in the Natural Sciences and Life Sciences. Appl. Spat. Data Anal. with R* (Springer Science & Business Media, 2011). doi:10.1007/978-0-387-78171-6
 41. Heramb, R. M. & McCord, Bb. R. Manufacture of Smokeless Powders and their Forensic Analysis: A Brief Review. *Forensic Sci. Commun.* **4**, 2 (2002).
 42. West, C., Baron, G. & Minet, J. J. Detection of gunpowder stabilizers with ion mobility spectrometry. *Forensic Sci. Int.* **166**, 91–101 (2007).
 43. AOAV (Action on Armed Violence). Latest Improvised Explosive Device (IED) news. *Action on Armed Violence* (2019). Available at: <https://aoav.org.uk/>. (Accessed: 26th April 2019)
 44. Chajistamatiou, A. S. & Bakeas, E. B. A rapid method for the identification of nitrocellulose in high explosives and smokeless powders using GC-EI-MS. *Talanta* **151**, 192–201 (2016).
 45. Joshi, M., Delgado, Y., Guerra, P., Lai, H. & Almirall, J. R. Detection of odor signatures of smokeless powders using solid phase microextraction coupled to an ion mobility spectrometer. *Forensic Sci. Int.* **188**, 112–118 (2009).
 46. López-López, M., Ferrando, J. L. & García-Ruiz, C. Comparative analysis of smokeless gunpowders by Fourier transform infrared and Raman spectroscopy. *Anal. Chim. Acta* **717**, 92–99 (2012).
 47. López-López, M., Merk, V., García-Ruiz, C. & Kneipp, J. Surface-enhanced Raman spectroscopy for the analysis of smokeless gunpowders and macroscopic gunshot residues. *Anal. Bioanal. Chem.* **408**, 4965–4973 (2016).
 48. Perez, J. J., Flanigan, P. M., Brady, J. J. & Levis, R. J. Classification of smokeless powders using laser electrospray mass spectrometry and offline multivariate statistical analysis. *Anal. Chem.* **85**, 296–302 (2013).
 49. MacCrehan, W. A. & Bedner, M. Development of a smokeless powder reference material for propellant and explosives analysis. *Forensic Sci. Int.* **163**, 119–124 (2006).
 50. Scherperel, G., Reid, G. E. & Waddell Smith, R. Characterization of smokeless powders using nanoelectrospray ionization mass spectrometry (nESI-MS). *Anal. Bioanal. Chem.* **394**, 2019–2028 (2009).
 51. López-López, M. *et al.* New protocol for the isolation of nitrocellulose from gunpowders: Utility in their identification. *Talanta* **81**, 1742–1749 (2010).
 52. Kovalenko, V. I., Mukhamadeeva, R. M., Maklakova, L. N. & Gustova, N. G. Interpretation of the IR spectrum and structure of cellulose nitrate. *J. Struct. Chem.* **34**, 540–547 (1994).
 53. Ramos, C. M., Alzate, L. F., Herna, N. M., Herna, S. P. & Mina, N. Density functional theory treatment of the structures and vibrational frequencies of 2,4- and 2,6-dinitrotoluenes. *J. Mol. Struct. THEOCHEM* **769**, 69–76 (2006).
 54. Puiu, A., Giubileo, G. & Cesaro, N. Comprehensive Infrared Study of Tetryl, Dinitrotoluene, and Trinitrotoluene Compounds. **69**, 1472–1486 (2015).
 55. Gemperline, P. *Practical Guide to Chemometrics. Technometrics* (CRC Press, 2006). doi:10.2307/1269627
 56. Rajamanikyan, M. *et al.* Isolation and characterization of phthalates from *brevibacterium*

- mcBrellneri that cause cytotoxicity and cell cycle arrest. *EXCLI J.* **16**, 375–387 (2017).
57. Lacerda, C. V., Carvalho, M. J. S., Ratton, A. R., Soares, I. P. & Borges, L. E. P. Synthesis of Triacetin and Evaluation on Motor. *J. Braz. Chem. Soc.* **26**, 1625–1631 (2015).
 58. Blakey, L. S., Sharples, G. P., Chana, K. & Birkett, J. W. Fate and Behavior of Gunshot Residue—A Review. *J. Forensic Sci.* **63**, 9–19 (2018).
 59. Bueno, J., Sikirzhyski, V. & Lednev, I. K. Attenuated Total Reflectance-FT-IR Spectroscopy for Gunshot Residue Analysis: Potential for Ammunition Determination. *Anal. Chem.* **85**, 7287–7294 (2013).
 60. Brožek-Mucha, Z. A study of gunshot residue distribution for close-range shots with a silenced gun using optical and scanning electron microscopy, X-ray microanalysis and infrared spectroscopy. *Sci. Justice* **57**, 87–94 (2017).
 61. Moore, D. S. & McGrane, S. D. Comparative infrared and Raman spectroscopy of energetic polymers. *J. Mol. Struct.* **661–662**, 561–566 (2003).
 62. Bueno, J., Sikirzhyski, V. & Lednev, I. K. Raman Spectroscopic Analysis of Gunshot Residue Offering Great Potential for Caliber Differentiation. *Anal. Chem.* **84**, 4334–4339 (2012).
 63. López-López, M., Delgado, J. J. & García-Ruiz, C. Ammunition identification by means of the organic analysis of gunshot residues using Raman spectroscopy. *Anal. Chem.* **84**, 3581–3585 (2012).
 64. López-López, M., Delgado, J. J. & García-Ruiz, C. Analysis of macroscopic gunshot residues by Raman spectroscopy to assess the weapon memory effect. *Forensic Sci. Int.* **231**, 1–5 (2013).
 65. Abrego, Z. *et al.* A novel method for the identification of inorganic and organic gunshot residue particles of lead-free ammunitions from the hands of shooters using scanning laser ablation-ICPMS and Raman micro-spectroscopy. *Analyst* **139**, 6232–6241 (2014).
 66. Karahacane, D. S., Dahmani, A. & Khimeche, K. Raman spectroscopy analysis and chemometric study of organic gunshot residues originating from two types of ammunition. *Forensic Sci. Int.* **301**, 129–136 (2019).
 67. Bueno, J. & Lednev, I. K. Raman microspectroscopic chemical mapping and chemometric classification for the identification of gunshot residue on adhesive tape. *Anal. Bioanal. Chem.* **406**, 4595–4599 (2014).
 68. Bueno, J., Halámková, L., Rzhhevskii, A. & Lednev, I. K. Raman microspectroscopic mapping as a tool for detection of gunshot residue on adhesive tape. *Anal. Bioanal. Chem.* 7295–7303 (2018). doi:10.1007/s00216-018-1359-1
 69. Pacheco-Londoño, L. C., Ortiz-Rivera, W., Primera-Pedrozo, O. M. & Hernández-Rivera, S. P. Vibrational spectroscopy standoff detection of explosives. *Anal. Bioanal. Chem.* **395**, 323–335 (2009).
 70. López-López, M. & García-Ruiz, C. Infrared and Raman spectroscopy techniques applied to identification of explosives. *Trends Anal. Chem.* **54**, 36–44 (2014).
 71. Zeng, J., Qi, J., Bai, F., Chung Yu, J. C. & Shih, W. C. Analysis of ethyl and methyl centralite vibrational spectra for mapping organic gunshot residues. *Analyst* **139**, 4270–4278 (2014).
 72. Sharma, S. P. & Lahiri, S. C. A preliminary investigation into the use of FTIR microscopy as a probe for the identification of bullet entrance holes and the distance of firing. *Sci. Justice* **49**, 197–204 (2009).
 73. Hannigan, T. J., Mcdermott, S. D., Greaney, C. M., Shaughnessy, J. O. & Brien, C. M. O.

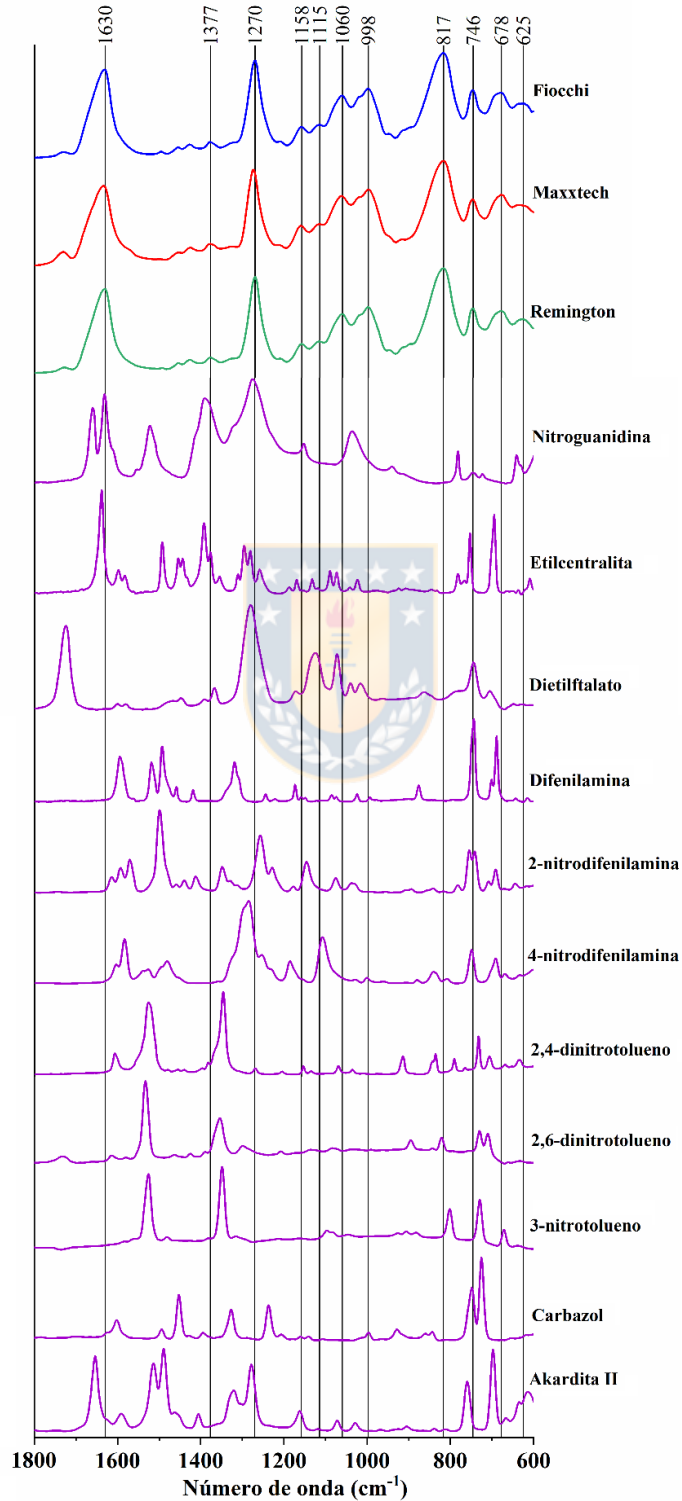
- Evaluation of gunshot residue (GSR) evidence : Surveys of prevalence of GSR on clothing and frequency of residue types. *Forensic Sci. Int.* **257**, 177–181 (2015).
74. Burnett, B. R. The Effect of Skin Debris on Gunshot Residue Sampling and Detection. *J. Forensic Sci.* **61**, 1632–1638 (2016).
 75. Beveridge, A. *Forensic Investigation of Explosions*. (CRC Press, 2012). doi:https://doi.org/10.1201/b11938
 76. Bueno, J. & Lednev, I. K. Attenuated Total Reflectance-FT-IR Imaging for Rapid and Automated Detection of Gunshot Residue. *Anal. Chem.* **86**, 3389–3396 (2014).
 77. Suetsugu, Y., Shimoya, I. & Tanaka, J. Configuration of Carbonate Ions in Apatite Structure Determined by Polarized Infrared Spectroscopy. *J. Am. Ceram. Soc.* **81**, 746–748 (1998).
 78. Andersen, F. A. & Brečević, L. Infrared Spectra of Amorphous and Crystalline Calcium Carbonate. *Acta Chem. Scand.* **45**, 1018–1024 (1991).
 79. McDevitt, N. T. & Baun, W. L. Infrared absorption study of metal oxides in the low frequency region (700-240 cm^{-1}). *Spectrochim. Acta* **20**, 799–808 (1964).
 80. Kollias, N. & Stamatas, G. N. Optical non-invasive approaches to diagnosis of skin diseases. *J. Investig. Dermatology Symp. Proc.* **7**, 64–75 (2002).
 81. Nyquist, R. A., Fiedler, S. & Streck, R. Infrared study of vinyl acetate, methyl acrylate and methyl methacrylate in various solvents. *Vib. Spectrosc.* **6**, 285–291 (1994).
 82. Carmona, P. & Moreno, J. The infrared spectra and structure of methyl acrylate. *J. Mol. Struct.* **82**, 177–185 (1982).
 83. Moran, J. W. & Bell, S. Skin Permeation of Organic Gunshot Residue: Implications for Sampling and Analysis. *Anal. Chem.* **86**, 6071–6079 (2014).
 84. Franzen, L. & Windbergs, M. Applications of Raman spectroscopy in skin research — From skin physiology and diagnosis up to risk assessment and dermal drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **89**, 91–104 (2015).
 85. Ferreira, A. M. *et al.* Discrimination of non-melanoma skin cancer and keratosis from normal skin tissue in vivo and ex vivo by Raman spectroscopy. *Vib. Spectrosc.* **100**, 131–141 (2019).
 86. Nielsen, A. S., Batchelder, D. N. & Pyrz, R. Estimation of crystallinity of isotactic polypropylene using Raman spectroscopy. *Polymer (Guildf)*. **43**, 2671–2676 (2002).
 87. Hager, E., Farber, C. & Kurouski, D. Forensic identification of urine on cotton and polyester fabric with a hand-held Raman spectrometer. *Forensic Chem.* **9**, 44–49 (2018).
 88. Davis, T. L. *The Chemistry of Powder and Explosives. I & II*, (Pickle Partners Publishing, 1972).
 89. Mai, T. T., Thuc, chi N. H. & Thuc, H. H. Preparation of Graphene Nano-Layer by Chemical Graphitization of Graphite Oxide from Exfoliation and Preliminary Reduction. *Fullerenes, Nanotub. Carbon Nanostructures* **23**, 742–749 (2014).
 90. Kartick, B., Srivastava, S. K. & Srivastava, I. Green Synthesis of Graphene. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **13**, 4320–4324 (2013).
 91. Ciomartan, D. A., Clark, R. J. H., McDonald, L. J. & Odlyha, M. Studies on the thermal decomposition of basic lead (II) carbonate by Fourier-transform Raman spectroscopy, X-ray diffraction and thermal analysis. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 3639–3645 (1996).
 92. Zapata, F. & García-ruiz, C. Analysis of different materials subjected to open-air explosions in search of explosive traces by Raman microscopy. *Forensic Sci. Int.* **275**, 57–64 (2017).
 93. Stich, S. *et al.* Raman Microscopic Identification of Gunshot Residues. *J. Raman Spectrosc.* **29**, 787–790 (1998).

94. Zapata, F. & García-ruiz, C. The discrimination of 72 nitrate , chlorate and perchlorate salts using IR and Raman spectroscopy. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **189**, 535–542 (2018).
95. Degen, I. & G.Newman. Raman spectra of inorganic ions. *Spectrochim. Acta* **49**, 859–887 (1993).
96. Ghosal, S. & Fang, H. Raman spectroscopy based identification of flame retardants in consumer products using an acquired reference spectral library. *Talanta* **132**, 635–640 (2015).
97. Ferraro, J., Nakamoto, K. & Brown, C. W. *Introductory Raman Spectroscopy*. (Academic Press, 2003). doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-254105-6.X5000-8>
98. Fikiet, M. A. *et al.* Surface enhanced Raman spectroscopy: A review of recent applications in forensic science. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **197**, 255–260 (2018).



ANEXOS

Anexo 1. Comparación espectral ATR-FTIR de una partícula GSR representativa de Fiocchi, Maxxtech y Remington, y los espectros de estándares que contribuyen a la composición orgánica en los GSR. Fuente: elaboración propia



Anexo 2. Comparación espectral Raman de una partícula GSR representativa de Fiocchi, Maxxtech y Remington, y los espectros de estándares que contribuyen a la composición orgánica en los GSR. Fuente: elaboración propia

