

Instituto de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

**CONTRIBUIÇÕES PARA A QUÍMICA FORENSE: SENSORES
PARA EXPLOSIVOS, EFEITO DE INTERFERENTES NA
ANÁLISE DE EXPLOSIVOS E AVALIAÇÃO DA OZONÓLISE
COMO MÉTODO DE DESCONTAMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE
INCÊNDIO**

Filipe Gabriel Martinez Mauricio

Orientadora: Profa. Dra. Ingrid Távora Weber

Brasília, DF

2019

Folha de Aprovação

Comunicamos a aprovação da Defesa de Tese do (a) aluno (a) **Filipe Gabriel Martinez Mauricio**, matrícula nº **15/0113897**, intitulada “**Contribuições para a Química Forense: Sensores para Explosivos, Efeito de Interferentes na Análise de Explosivos e Avaliação da Ozonólise como Método de Descontaminação de Resíduos de Incêndio**”, apresentada no (a) Sala de Reuniões do IQ da Universidade de Brasília (UnB) em 26 de setembro de 2019.

Prof.^a Dra. Ingrid Távora Weber
Presidente de Banca (IQ/UnB)

Dr. Márcio Talhavini
Membro Titular (INC/PF)

Prof.^a Dra. Maria Fernanda Pimentel Avelar
Membro Titular (DEQ/UFPE)

Prof.^a Dra. Claudia Cristina Gatto
Membro Titular (IQ/UnB)

Prof. Dra. Carolina Santos Silva
Membro Suplente (LITPEG/UFPE)

Em 26 de setembro de 2019.

Agradecimentos

Agradeço a minha esposa Camilla, que torna minha vida melhor a cada dia. Agradeço a minha família, Consuelo, Carlos, Leide, Lydia e Laira. Sempre divertidos e mentalmente instáveis. Amo todos vocês. Dedico esse trabalho à minha avó Lydia Mauricio, que nos deixou esse ano. Sentirei saudades. Agradeço a todos os meus amigos inseparáveis Herbert, Bruno, Taiane, Cris e Marcio. Agradeço aos amigos que descobri em Recife, morando em uma pequena casa chamada “Gregório”, Rodrigo, Cícero e Leonis. Agradeço especialmente aos amigos de trabalho, André e Yago, melhores companhias de laboratório. Aos meus anfitriões, Marcella Lucena e Diego, que me resgataram da rua e tive o prazer de conviver na Espanha. Agradeço ao Laboratório de Inorgânica e Materiais (LIMA), que possui incontestavelmente a melhor equipe de pesquisadores e amigos: Carime, Rogério, Luana, Gabriel (mendigo), Marcos, Kaline, Ídio, Carol, Aline, Nara, Victoria, Mari e Ricardo. Uma atenção especial a orientadora Ingrid Távora Weber, que é a melhor pesquisadora que conheci. Um exemplo para nós de profissionalismo e pessoa. Agradeço aos professores Marcelo Zohio e Junior pelo apoio e cooperação. Agradeço à Polícia Federal Brasileira e ao Instituto de Criminalística Nacional (INC) pela colaboração, especialmente aos peritos Marcio Talhavini e Lúcio Logrado por todo o auxílio e disponibilidade para a realização dos trabalhos. Agradeço à *Universidad de Alcalá*, em especial ao grupo CINQUIFOR coordenado pelos professores Carmen Garcia Ruiz, Fernando Ortega e Gemma Montalvo, por me aceitar no doutorado sanduíche. Agradeço especialmente ao meu supervisor Felix Zapata, que me auxiliou nas atividades e ainda teve tempo de ser nosso guia turístico. Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento e apoio a esse trabalho.

“Break the cycle. Rise above. Focus on Science.”

Sanchez, Rick

Resumo

Este trabalho foi desenvolvido no contexto do projeto do Núcleo de Estudos em Química Forense (NEQUIFOR-CAPES) e propõe trazer diferentes contribuições para a área da química forense. Três problemas foram abordados neste trabalho e estão apresentados da seguinte forma: No **Capítulo I**, os mecanismos de supressão de sensores luminescentes para detecção de nitroaromáticos (NACs) foram avaliados. Foram testados três sensores luminescentes da literatura. Todos reportaram a presença do mecanismo de transferência de elétrons por fotoindução (PET). Diferentes experimentos demonstraram que o PET não é o principal mecanismo responsável pela redução da luminescência. Em vez disso, todos os sistemas apresentaram efeito filtro interno como mecanismo de supressão. Os testes também sugerem a inviabilidade desses sistemas para testes de triagem para NAC nas mãos de suspeitos devido à baixa seletividade, levando a falso-positivos. No **Capítulo II**, interferentes em materiais de coleta usados em análises de resíduos de explosivos inorgânicos foram avaliados por cromatografia iônica (CI). Dos 15 materiais de coleta testados, 13 apresentaram valores significativos de interferentes (*i.e.* Na^+ , K^+ , SO_4^{2-} , NO_3^- , Mg^{2+} e Ca^{2+}). Os materiais com maiores concentrações de interferentes identificados foram hastes de algodão (swabs), destinados a uso forense. Os resultados mostram a extrema necessidade de analisar previamente o “branco” dos materiais de coleta. Além disso, os materiais podem ser lavados para remoção dos interferentes utilizando ao menos três ciclos de limpeza. Por fim, o **Capítulo III** foi dedicado à avaliação da eficácia de armários ozonizadores na descontaminação de trajes de bombeiros. Os resultados mostraram que a ozonização em fase gasosa foi capaz de degradar apenas 14% e 36% de moléculas de pireno e 9-metilantraceno, respectivamente. Esses valores foram considerados baixos em comparação com outras metodologias disponíveis na literatura. Além disso, os resultados de espectrometria de massas por APCI/MS indicaram que as moléculas não foram totalmente degradadas, deixando resíduos de maior massa molecular ainda impregnadas no tecido de trajes. Assim, conclui-se que, nas condições estudadas, os armários ozonizadores não são indicados para a descontaminação de resíduos de incêndio em trajes de bombeiros.

Palavras Chave: química forense, sensores luminescentes, interferentes, armários ozonizadores.

Abstract

This work was supported by the project of the *Núcleo de Estudos em Química Forense* (NEQUIFOR-CAPES) and propose different contributions for forensic chemistry. Here, the research was divided in three chapters with different approaches: In the **Chapter I**, the sensing mechanism of three luminescent sensors, already reported in literature, were evaluated. These sensors were chosen because their authors reported the presence of photoinduced electron transfer (PET) mechanisms. After the mechanism evaluation, the results demonstrated that all systems do not present PET as main luminescence suppression mechanism. Instead, inner filter effect (IFE) was considered mandatory for luminescence decrease. Additionally, these systems presented false-responses for common cosmetic interferers and were considered not suitable for screening tests for explosives. The **Chapter II** proposed the evaluation of interferers in sampling material for explosive used in explosive residues analysis for ion chromatography. A wash procedure for remove of interferers was also investigated. Fifteen different materials were evaluated and twelve presented significant concentrations of interferers (*i.e.* Na⁺, K⁺, SO₄²⁻, NO₃⁻, Mg²⁺ e Ca²⁺). Unexpectedly, forensic swab materials presented the highest amounts of interferers followed by commercial cotton materials. The results indicate that it is extremely necessary the blanc procedure for any sampling material and, even for forensic materials, it is mandatory a previously analysis. Further, it was show that the sampling materials can be cleaned just employing a washing procedure with at least three wash cycles. In **Chapter III**, gas phase ozone chamber was evaluated in decontamination of firefighter's suit. The results showed that molecules such as pyrene and 9-metilantracene has only 14% and 36% of degradation at 60 min, respectively, which are lower values when compared with other methods among the literature. Further, APCI/MS spectrometry confirms that these organic molecules are converted to higher mass molecules that remains in the fabric of the firefighter's suit. Thus, our group do not recommend the use of gas phase ozone chamber for decontamination of firefighter equipment.

Keywords: forensic chemistry, luminescent sensors, interferers, gas phase ozone chamber.

Prefácio

A ciência forense emprega várias áreas da ciência para associar pessoas, locais e objetos envolvidos em atividades criminais. Está é uma área interdisciplinar que utiliza todo o conjunto de conhecimentos (*e.g.* física, química, biologia, engenharia, *etc.*), para analisar vestígios e chegar o mais próximo da verdade. Por isso, há uma demanda constante por tecnologias e métodos que auxiliem os peritos na rotina de investigação, para que possam atuar de maneira mais objetiva na resolução de crimes.

Nesta tese, encontram-se trabalhos de diferentes escopos, utilizando a ciência forense como o principal fio condutor. O trabalho foi dividido em três capítulos: (i) Sensores Luminescentes para Detecção de Compostos Nitroaromáticos: Investigação dos Mecanismos e Avaliação em Testes de Triagem na Rotina Forense, (ii) Avaliação de Interferentes em Materiais de Coleta Usados em Análises de Resíduos de Explosão por Cromatografia Iônica (CI) e (iii) Avaliação de Armários de Ozonização na Descontaminação de Trajes de Bombeiros. Neste prefácio, procura-se esclarecer os motivos e caminhos responsáveis pelas linhas de pesquisa seguidas.

Os trabalhos desenvolvidos no primeiro capítulo foram resultado de uma colaboração com o Laboratório de Terras Raras BSTR, da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Inicialmente, a pesquisa visava o desenvolvimento de um dispositivo contendo sensores luminescente para detecção de compostos nitroaromáticos (NAC, do inglês *nitroaromatic compounds*). Os NACs são comumente encontrados em explosivos e pretendia-se obter um dispositivo para ser usado em testes de triagem com suspeitos de terem manuseado explosivos. Esse dispositivo seria baseado em um material previamente descrito na literatura - um gel luminescente fabricado a partir de íons lantanídeos e ácido iminodiacético. Em teoria, os sensores luminescentes reduzem drasticamente a luminescência em contato com NAC, tipicamente associado ao mecanismo de transferência de elétrons por fotoindução (PET). Como descrito na literatura, esse processo ocorreria de maneira seletiva, fornecendo uma metodologia robusta para triagem de suspeitos. Nossos primeiros experimentos mostraram que os géis não apresentavam a devida seletividade. Estudos posteriores também indicaram um mecanismo de supressão diferente no material conhecido como efeito filtro interno (IFE). Logo, os géis luminescentes foram desqualificados como sensores de triagem. Alguns sensores luminescentes para NACs já descritos na literatura foram revisitados para uma avaliação criteriosa do mecanismo de redução de luminescência e seletividade. Os resultados

obtidos originaram duas publicações: Silva *et al.*^a, relacionada ao desenvolvimento e possíveis aplicações dos géis; e Mauricio *et al.*^b, referente aos resultados descritos no capítulo I desta tese (disponível no **anexo I**).

O segundo capítulo foi realizado em colaboração com o Instituto Nacional de Criminalística (INC) da Polícia Federal Brasileira, com a supervisão do perito MSc. Lúcio Paulo L. Logrado. Atualmente no Brasil, os peritos enfrentam uma grande demanda de análises de resíduos de explosão devido ao elevado número de ataques a caixas eletrônicos. A identificação de explosivos é, portanto, uma tarefa crucial para os trabalhos de inteligência das polícias, incluindo a análise do perfil químico dos explosivos. A cromatografia iônica (CI) é o principal método empregado pela Polícia Federal para identificar esses resíduos inorgânicos pós-explosão. Contudo, a natureza dos explosivos inorgânicos apresenta alguns problemas para análises de CI. Por exemplo, há uma grande variação na faixa de concentração dos analitos analisados (e muitas vezes a concentração é baixa); além disso, as amostras contêm basicamente íons comumente encontrados no ambiente (*e.g.* Na⁺, K⁺, SO₄²⁻, Cl⁻, NO₃⁻, *etc.*). Embora a maioria das coletas desses resíduos sejam realizadas com hastes de algodão, a polícia federal brasileira não possui um protocolo de coleta específico e as vezes materiais genéricos, como, por exemplo, pedaços de algodão são usados para coleta em cenas de crime. Se o material de coleta apresentar uma quantidade não nula dos íons de interesse, resultados inconclusivos ou falso positivos podem ser obtidos. Baseado no contexto descrito, o segundo capítulo tem por objetivo avaliar a presença de interferentes em materiais de coleta (de uso comercial ou forense) usados na identificação de explosivos inorgânicos por CI. Como resultados dessa pesquisa, foi publicado um artigo^c na *Forensic Science International* (disponível no **anexo II**).

Por fim, o terceiro capítulo foi realizado em colaboração com o grupo de Pesquisa em Ciências Químicas e Forenses (CINQUIFOR) da *Universidad de Alcalá* na Espanha,

^a Silva, J. Y. R.; da Luz, L. L.; Mauricio, F. G. M.; Vasconcelos Alves, I. B.; Ferro, J. N. de S.; Barreto, E.; Weber, I. T.; de Azevedo, W. M.; Júnior, S. A. Lanthanide-Organic Gels as a Multifunctional Supramolecular Smart Platform. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2017, 9 (19), 16458–16465.

^b Mauricio, F. G. M.; Silva, J. Y. R.; Talhavini, M.; Júnior, S. A.; Weber, I. T. Luminescent Sensors for Nitroaromatic Compound Detection: Investigation of Mechanism and Evaluation of Suitability of Using in Screening Test in Forensics. *Microchem. J.* 2019, 150.

^c Mauricio, F. G. M.; Abritta, V. R. M.; de Lacerda Aquino, R.; Ambrósio, J. C. L.; Logrado, L. P. L.; Weber, I. T. Evaluation of Interferers in Sampling Materials Used in Explosive Residue Analysis by Ion Chromatography. *Forensic Sci. Int.* 2019, 109908.

em um programa de doutorado sanduíche com duração de nove meses. O trabalho foi desenvolvido também em colaboração com o *Cuerpo de Bomberos de Madrid* que atualmente está preocupado com efeitos deletérios provenientes de resíduos de incêndio, responsáveis por um aumento na incidência de câncer nos bombeiros. Resíduos da combustão de matéria orgânica, que apresentam propriedades carcinogênicas, são comumente encontrados nos trajes/equipamentos dos bombeiros. Atualmente a limpeza dos trajes é feita em máquinas de lavar e esse procedimento só ocorre uma ou duas vezes por ano para evitar danos nas fibras do tecido. Buscando soluções para esse problema, empresas começaram a comercializar armários ozonizadores. Em teoria, O₃ em fase gasosa tem a capacidade de oxidar e romper duplas ligações de compostos orgânicos, degradando os resíduos de incêndios presentes nos trajes. Apesar da literatura mostrar diversos exemplos de compostos degradados com a ozonização, não existem estudos sistemáticos que avaliem a adequação desta técnica à descontaminação dos trajes de bombeiros. Nesse contexto, o capítulo três aborda o uso da ozonólise como possível técnica de descontaminação dos trajes de bombeiros e mostra os resultados obtidos na avaliação desses armários ozonizadores.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Estruturas químicas de NACs encontradas comercialmente.....	1
Figura 2. Desenho esquemático do mecanismo de supressão da luminescência e espectro de emissão observado (a) antes e (b) depois do aumento de concentração do NAC.	3
Figura 3. (a) desenho esquemático do mecanismo de <i>quenching</i> dinâmico, (b) redução de intensidade (I^0/I) vs concentração de analito ($[A]$) e (c) tempo de vida (τ^0/τ) vs concentração de analito ($[A]$) em casos aonde ocorre <i>quenching</i> dinâmico. (adaptado de Lakowicz <i>et al.</i> ⁶⁰)	8
Figura 4. (a) Mecanismo de <i>quenching</i> estático, (b) dependência da intensidade (I^0/I) e (c) tempo de vida (τ^0/τ) em função da concentração de analito ($[A]$); e (d) exemplo de uso dos espectros de absorção na determinação de <i>quenching</i> estático (adaptado de Lakowicz <i>et al.</i> ⁶⁰ e Wang <i>et al.</i> ⁶³).	9
Figura 5. Efeito da coexistência de <i>quenching</i> estático e dinâmico em casos que respondem quadraticamente (a) ou exponencialmente (b). (adaptado de Lakowicz <i>et al.</i> ⁶⁰)	10
Figura 6. Mecanismo de supressão por transferência de energia por ressonância.	11
Figura 7. Esquema de representação do efeito filtro interno.....	12
Figura 8. Desenho esquemático das dimensões da cubeta e dos feixes de emissão e excitação utilizadas na equação de Parker <i>et al.</i> ⁷⁴	13
Figura 9. Redução de intensidades luminescência da MOF estudada por Xu <i>et al.</i> ⁵⁷ após a adição de diferentes NACs e (b) redução das emissões da CDs estudados por Campos <i>et al.</i> ⁸⁶ na presença de clorodinitroanilina (a inserção se refere ao gráfico linear de Stern-Volmer).....	15
Figura 10. Exemplos de tipos de interação entre sensor e analito propostos por (a) Joarder <i>et al.</i> ⁷⁵ , (b) Niu <i>et al.</i> ⁵⁶ e (c) Nagarkar <i>et al.</i> ²⁵ , os quais seriam, segundo os autores, responsáveis pela seletividade dos sensores luminescentes para o PA.	16
Figura 11. Estrutura química da 4-nitroanilina.....	19
Figura 12. Desenho esquemático do experimento com duas cubetas para a confirmação de IFE.	21
Figura 13. Espectros de (a) FTIR, (b) emissão/excitação, e (c) UV-VIS do sensor 1S (inserção: imagem de cubeta contendo 1S excitado à 365 nm).....	22

Figura 14. Difratoogramas dos sensores (a) 2S e (b) 3S (medidas obtidas vs. medidas teóricas da CIF). Espectros de excitação (vermelho) e emissão (preto) dos sensores (c) 2S e (d) 3S (Inserções: imagens das cubetas contendo 2S e 3S , excitados em 254 nm).....	23
Figura 15. Diminuição da luminescência nos espectros de emissão do sensor 1S em função do aumento de concentração dos analitos (a) PA, (b) NA, e (c) TNT.....	25
Figura 16. (a) Porcentagem de redução de luminescência do 1S na presença de 4×10^{-5} M de diferentes NACs ($\% \text{ de redução} = 100 \times (1 - I/I^0) \%$); e gráficos de Stern-Volmer para 1S na presença de (b) PA, (c) NA, e (d) TNT.	25
Figura 17. (a) Espectros de emissão dos sensores 1S (ciano), 2S (vermelho) e 3S (verde), além dos espectros UV/VIS do PA (laranja), NA (Vermelho) e TNT (preto). (b) Espectros UV/VIS do sensor 1S , na ausência e na presença dos NACs: (b) PA, (c) NA, e (d) TNT – a linha tracejada representa a combinação linear dos espectros de 1S e do respectivo NAC.	27
Figura 18. Curvas de decaimento radiativo para o sensor 1S em diferentes concentrações de (a) PA, (b) NA e (c) TNT; e plotes de Stern-Volmer para 1S nos experimentos de tempo de vida, cubeta 1-mm e cubeta 1-cm, para (d) PA, (e) NA e (e) TNT.	29
Figura 19. (a) Espectros UV/VIS dos NACs destacando o λ de emissão (460 nm) e excitação (360 nm) do sensor 1S (tracejado vermelho destaca o limite de absorção 0,05 usado na equação 10); e plotes de Stern-Volmer de 1S , com e sem correção das intensidades (equação 11), para (b) PA, (c) NA, e (d) TNT.....	31
Figura 20. Imagens do experimento de duas cubetas: os sensores (a-b) 1S , (c-d) 2S , e (e-f) 3S são adicionados à cubeta 1 enquanto 4×10^{-5} M de PA é adicionado à cubeta 2 (imagens a direita) provocando a redução do efeito filtro.....	33
Figura 21. Comparação em entre os Plotes de Stern-Volmer obtidos nos experimentos de uma-cubeta (vermelho) e duas-cubetas (preto) para 1S na presença dos analitos (a) PA, (b) NA, e (c) TNT (número de replicatas = 3).	34
Figura 22. Espectros de absorção dos NACs em (a) água e (b) etanol (linhas verticais representam os λ de excitação de cada sensor).....	35
Figura 23. Espectros UV/VIS dos interferentes testados (linhas verticais correspondem aos λ excitação de 1S , 2S e 3S) e (b) porcentagem de redução de luminescência dos sensores na concentração de 0,05 g/L de cada interferente (número de replicatas = 3).	37
Figura 24. Comparação entre a porcentagem de redução de luminescência provocada pelos interferentes e os analitos alvo reportados pelos autores, para os sensores (a) 1S , (b) 2S e (c) 3S	38

CAPÍTULO II

Figura 1. Classificação de explosivos por uso.....	45
Figura 2. Apreensões de fogos de artifício usados em ataques a caixas eletrônicos (adaptado das refs. ^{109,110}).....	48
Figura 3. Desenho esquemático do funcionamento de uma coluna de cromatograma (adaptado de Torres ¹¹⁹).....	50
Figura 4. Cromatograma dos padrões de ânions (esquerda) e cátions (direita) em concentração 5 mg/L. (*) Íons de interesse em análises de pós-explosão.....	55
Figura 5. Gráfico de barras de concentração de íons interferentes após várias lavagens das amostras (a-b) FS-(1 - 2), (c-e) SF-(1 - 4).....	59
Figura 6. Imagem de uma amostra FS-2 antes (esquerda) e depois (direita) do processo de lavagem.....	60
Figura 7. Gráfico de barras de concentração de íons interferentes após várias lavagens das amostras (a-b) CS-(1 - 2), (c-d) CD-(1 - 2), (e-g) CR-(1 - 3) e (h-i) CB-(1 - 2).	64
Figura 8. Imagem exemplo das hastes de algodão e algodões bola antes e depois do procedimento de lavagem.....	65
Figura 9. Concentração total de interferentes para cada material analisado.	66

CAPÍTULO III

Figura 1. Estruturas químicas de alguns dos COP comumente encontrados em trajes de bombeiros usados (Chico <i>et al.</i> ¹³⁵).....	70
Figura 2. Imagem de armário ozonizador comercial fabricado por <i>Safy Seguridad</i> [®] . 71	
Figura 3. Trajes de segurança níveis A, B, C e D, usados por bombeiros segundo o MAEPP (adaptado da referência ¹⁴⁶).....	75
Figura 4. Desenho esquemáticos das camadas de um típico traje de proteção de bombeiros (adaptado da referência ¹⁵⁰).	76
Figura 5. Imagens e estruturas das fibras comerciais dos polímeros (a) Nomex [®] , (b) Kevlar [®] e (c) Teflon [®]	76
Figura 6. Esquema de reações do O ₃ com alquenos, em fase líquida e gasosa (adaptado de Wadia <i>et al.</i> ¹⁶⁰).....	79

Figura 7. Esquema da reação entre ozônio e grupos azo (adaptado de Miller <i>et al.</i> ¹⁶⁶).	80
Figura 8. Produtos identificados por CG/MS da reação do ozônio com pireno em solução aquosa (adaptado de Yao <i>et al.</i> ¹⁶⁷).	81
Figura 9. Armário ozonizador utilizado no trabalho.	83
Figura 10. (a) adaptações com tubos realizada no armário ozonizador; (b) fluxômetro; e bquer insuflado na (a) ausência e (b) presença de luz UV (254 nm).	85
Figura 11. Desenho esquemático do processo de deposição de solução de tartrazina nos discos de algodão e (b) discos de algodão pendurados para início do processo de ozonização.	86
Figura 12. (a) Tecidos usados nos experimentos e diferentes camadas (1 – camada externa, 2 – barreira impermeável e 3 – linha de proteção térmica) e (b) pedaços de tecido costurados para testes de simulação.	87
Figura 13. Estruturas químicas das moléculas modelo (a) Tartrazina, (b) Pireno e (c) 9-metilantraceno.	89
Figura 14. Espectros de absorção das moléculas modelo (a) tartrazina, (b) Pireno e (c) 9-metilantraceno.	90
Figura 15. Espectros de absorção da tartrazina após diferentes tempos de ozonização na (a) ausência e (b) presença de luz UV (254 nm); (c) Porcentagem de degradação em função do tempo de ozonização observada nos testes em solução (número de replicatas = 3).	92
Figura 16. (a) Estrutura química da celulose e (b) mancha de solução de tartrazina em um disco de algodão.	93
Figura 17. Imagens dos discos de algodão submetidos a: diferentes tempos de ozonização; secos e molhados; na ausência e presença de luz UV (254 nm).	94
Figura 18. Porcentagens de descoloração obtidas nos experimentos de ozonização com a tartrazina nos discos de algodão nos tempos 30 e 60 min em diferentes cenários (i = Seco/sem UV; ii = Seco/com UV; iii = Úmido/sem UV; iv = Úmido /com UV).	95
Figura 19. Espectros de absorção obtidos nos experimentos de simulação com as moléculas modelo (a-b) pireno e (c-d) 9-metilantraceno, secos e molhados.	96
Figura 20. Gráficos de porcentagem de degradação em função do tempo de ozonização para os experimentos de simulação com os pedaços de traje e (a) pireno e (b) 9- metilantraceno. (inserções são as estruturas químicas das moléculas modelo mostrando os sextetos).	97

Figura 21. Espectros de massas dos reagentes puros (a) pireno e (b) 9-metilantraceno; e espectros de massas das soluções após 60 min de ozonolises contendo (c) pireno e (d) 9-metilantraceno.	100
Figura 22. Proposta de mecanismo de degradação do pireno por ozonólise (P1 = 4,5-fenantrenocarbaldeído, P2 = 4-fenantrenocarbaldeído, P3 = ácido 4-fenantrenocarboxílico).....	101
Figura 23. Proposta de mecanismo de degradação do 9-metilantraceno por ozonólise (A1 = 3-propanaldeído-4-metilnaftaleno-2-carbaldeído, A2 = ácido 3-propanaldeído-4-metilnaftaleno-2-carboxílico).	101
Figura 24. Espectros de massas das soluções extraídas dos trajes sem ozonólise para o (a) pireno e (b) 9-metilantraceno; e espectros de massas das soluções extraídas dos trajes após 60 min de ozonolises contendo (c) pireno e (d) 9-metilantraceno.	103

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Relação de sensores encontrados na literatura regidos por mecanismo de PET.	4
Tabela 2. Valores de concentração de NAC, área integrada de emissão na ausência (I°) e presença de NAC (I), intensidade corrigida (I_{cor}), fator de correção (η), e absorção do NAC em 360 nm (A_{ex}), usados para calcular os parâmetros de IFE e os plots de Stern-Volmer de 1S e PA.	31
Tabela 3. Valores de concentração de NAC, área integrada de emissão na ausência (I°) e presença de NAC (I), intensidade corrigida (I_{cor}), fator de correção (η), e absorção do NAC em 360 nm (A_{ex}), usados para calcular os parâmetros de IFE e os plots de Stern-Volmer de 1S e NA.	31
Tabela 4. Valores de concentração de NAC, área integrada de emissão na ausência (I°) e presença de NAC (I), intensidade corrigida (I_{cor}), fator de correção (η), e absorção do NAC em 360 nm (A_{ex}), usados para calcular os parâmetros de IFE e os plots de Stern-Volmer de 1S e TNT.	32
Tabela 5. Porcentagens de redução de luminescência do sensor 1S para diferentes NACs obtidos pelos experimentos de uma- e duas-cubetas.	35
Tabela 6. Coeficientes de extinção molar (ϵ) em diferentes comprimentos de onda para PA, NA e TNT.	35
Tabela 7. Relação de cosméticos utilizados nos testes de interferentes e os respectivos códigos atribuídos.	36

CAPÍTULO II

Tabela 1. Composição de resíduos de pós-explosão encontrados em diferentes casos (adaptado de Kulia <i>et al.</i> ⁹⁷).	42
Tabela 2. Explosivos inorgânicos típicos e íons encontrados em análises de pós-explosão.	43
Tabela 3. Classificação de explosivos segundo os diferentes grupos explosóforos (adaptado de Urbanski ¹⁰²).	45
Tabela 4. Reações de decomposição do ANFO em diferentes proporções (adaptado de Sickler ¹¹³).	49

Tabela 5. Codificação utilizada par identificar os materiais de coleta estudados.	52
Tabela 6. Figuras de mérito calculados para os cátions e ânions de interesse para análises de pós explosão.....	55
Tabela 7. Concentração de cátions obtidas por CI nos materiais forenses avaliados..	57
Tabela 8. Concentração de ânions obtidas por CI nos materiais forenses avaliados...	58
Tabela 9. Concentração de cátions obtidas por CI nos materiais comerciais avaliados.	62
Tabela 10. Concentração de cátions obtidas por CI nos materiais comerciais avaliados.	63

CAPÍTULO III

Tabela 1. Relação de diferentes toxinas identificadas em incêndios. ¹⁴²	73
Tabela 2. Tabela de potencial de oxidação de diferentes compostos (adaptado de Parsons <i>et al.</i> ¹⁵⁸).	78
Tabela 3. Porcentagens de degradação obtidas nos experimentos de ozonização com o pireno e 9-metilantraceno nos pedaços de traje nos tempos 15, 30 e 60 min.....	97

LISTA DE ABREVIACOES

- ANFO – nitrato de amonia – leo combustível (*ammonium nitrate – fuel oil*)
- BDC – benzeno-1,3,4-dicarboxilato
- BTC – benzeno-1,4-tricarboxilato
- CB – bola de algodão
- CD – disco de algodão
- CI – cromatografia de ions
- COP – composto orgânico persistente
- COV – composto orgânico volátil
- CR – rolo de algodão
- CS – haste de algodão comerciais
- DRX – difraco de raios-X
- FS – haste de algodão (*swabs*) de uso forense
- FTIR – espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (*Fourie- transform infrared spectroscopy*)
- HOMO – *highest occupied molecular orbital*
- HPA – hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
- IFE – efeito filtro interno (*inner filter effect*)
- LMOF – MOFs luminescentes (*luminescent MOFs*)
- LOD – limite de deteco (*limit of detection*)
- LOQ – limite de quantificao (*limit of quantification*)
- LUMO – *lowest unoccupied molecular orbital*
- MOF – redes metalorgânicas (*metal-organic frameworks*)
- NA – 4-nitroanilina
- NAC – compostos nitroaromáticos (*nitroaromatic compound*)
- PA ou TNP– cido pícrico (*picric acid*) ou 2,4,6-trinitrofenol (*2,4,6-trinitrophenol*)
- PET – transferência de elétron por fotoinduco (*photoinduced electron transfer*)
- QD – *quenching* dinâmico
- QE – *quenching* estático
- RET – transferência de energia por ressonância (*resonance energy transfer*)
- SF – filtro de seringa
- SV – Stern-Volmer
- TNT – 2,4,6-trinitrotolueno

SUMÁRIO

CAPÍTULO I - Sensores Luminescentes na Detecção de Compostos Nitroaromáticos: Avaliação do Efeito Filtro Interno

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	5
2.1. Objetivos Gerais	5
2.2. Objetivos Específicos	5
3. REFERENCIAL TEÓRICO.....	6
3.1. Mecanismos de Supressão de Luminescência	6
3.1.1. <i>Transferência de Energia Fotoinduzida (PET)</i>	6
3.1.2. <i>Transferência de Energia Ressonante RET</i>	10
3.1.3. <i>Efeito Filtro Interno (IFE)</i>	11
3.2. Sensores Luminescentes para a detecção de NACs.....	13
4. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....	17
4.1. Síntese do Sensor 1S	17
4.2. Síntese do Sensor 2S	17
4.3. Síntese do Sensor 3S	18
4.4. Caracterização dos Sensores.....	18
4.5. Medidas de fluorescência dos sensores na presença dos NACs.....	19
4.5.1. <i>Experimento de cubeta 1-cm (uma-cubeta)</i>	20
4.5.2. <i>Experimento em cubeta 1-mm</i>	20
4.5.3. <i>Experimento de dupla-cubeta</i>	20
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
5.1. Caracterização	21
5.1.1. <i>Sensor 1S</i>	21
5.1.2. <i>Sensores 2S e 3S</i>	22
5.2. Investigação dos mecanismos de supressão	23

5.3. Efeito dos Interferentes no IFE.....	36
6. CONCLUSÃO.....	38
CAPÍTULO II - Avaliação de Interferentes em Materiais para Coleta de Resíduos Explosivos para Análise por Cromatografia Iônica.....	40
1. INTRODUÇÃO.....	41
2. OBJETIVOS.....	43
2.1. Objetivos Gerais.....	43
2.2. Objetivos Específicos.....	44
3. REFERENCIAL TEÓRICO.....	44
3.1. Explosão e Explosivos.....	44
3.1.1. <i>Pólvora</i>	46
3.1.2. <i>Emulsões explosivas</i>	48
3.2. Cromatografia Iônica.....	49
4. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....	51
4.1. Materiais de Coleta e Pré-processamento.....	51
4.2. Procedimento de Extração e Lavagem.....	52
4.2.1. <i>Hastes/Bolas/Discos/Rolos de Algodão</i>	52
4.2.2. <i>Filtros de Seringa</i>	53
4.1. Análises cromatográficas.....	53
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
5.1. Considerações Iniciais.....	54
5.2. Avaliação dos Materiais de Uso Forense.....	56
5.3. Avaliação de Materiais de Uso Comercial.....	60
6. CONCLUSÕES.....	66

CAPÍTULO III - Avaliação da Ozonólise como Técnica de Descontaminação de Trajes de Bombeiros.....	68
1. INTRODUÇÃO.....	69
2. OBJETIVOS.....	72
2.1. Objetivos Gerais.....	72
2.2. Objetivos específicos.....	72
3. REFERENCIAL TEÓRICO.....	72
3.1. Compostos Orgânicos Voláteis e Persistentes.....	72
3.2. Os trajes e sua descontaminação.....	73
3.3. Ozonólise e os armários de ozonização.....	78
3.3.1. <i>Propriedades físico-químicas</i>	78
3.3.2. <i>Reações de ozonólise</i>	78
3.3.3. <i>Ozônio e os Malefícios à Saúde</i>	82
4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	82
4.1. Reagentes.....	82
4.2. Equipamentos e Métodos.....	83
4.3. Experimentos de Degradação das Moléculas Modelo.....	84
4.3.1. <i>Experimentos com Tartrazina</i>	84
4.3.1.1 <i>Em Solução:</i>	84
4.3.1.2. <i>Em Fase Gasosa</i>	85
4.3.2. <i>Experimentos com Pireno e 9-Metilantraceno</i>	86
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	88
5.1. Experimentos em Solução.....	90
5.2. Experimentos em fase gasosa.....	92
5.2.1. <i>Pireno e 9-Metilantraceno</i>	95
6. CONCLUSÕES.....	104

CAPÍTULO IV - Considerações Finais.....	106
REFERÊNCIAS.....	109
ANEXOS.....	126

Capítulo I

SENSORES LUMINESCENTES NA DETECÇÃO DE COMPOSTOS NITROAROMÁTICOS: AVALIAÇÃO DO EFEITO FILTRO INTERNO

1. INTRODUÇÃO

Os compostos nitroaromáticos (*nitroaromatic compounds* ou NACs) são considerados fortes poluentes ambientais, pois apresentam altos potenciais mutagênicos e propriedades carcinogênicas.¹ Além disso, a presença do grupo nitro torna os NACs potenciais explosivos, utilizados principalmente na confecção de minas terrestres e granadas.²⁻⁴ A **Figura 1** mostra alguns exemplos de NACs utilizados comercialmente. Um dos NACs mais estudados é o 2,4,6-trinitrofenol (TNP), também conhecido como ácido pícrico (PA). Por apresentar maior energia de explosão que TNT (2,4,6 trinitrotolueno), o PA é o principal constituinte de explosivos como o picrato de amônio e pentolita, usados na fabricação de foguetes, granadas, minas terrestres, bombas, entre outros.⁵ Adicionalmente, esse material está presente na síntese de anilina, digestão de metais, em corantes, fogos de artifício, *etc.*⁶ A alta solubilidade do PA, e outros NACs, faz com que tenha alta mobilidade em efluentes, afetando tanto a superfície de biomas aquáticos como lençóis freáticos subterrâneos.⁷ Como o PA apresenta alta toxicidade, torna-se um sério problema ambiental. Portanto, seja por questões ambientais, seja por um viés forense, a detecção de NACs é uma questão que tem atraído a atenção de muitos grupos de pesquisa.

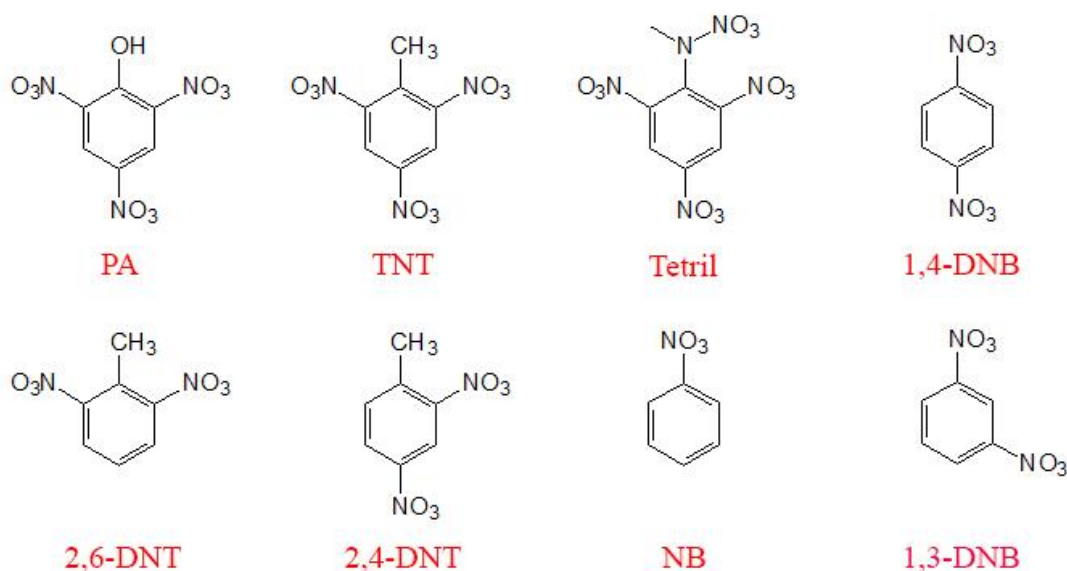


Figura 1. Estruturas químicas de NACs encontradas comercialmente.

Diversos métodos de detecção de NACs são encontrados na literatura atualmente, como por exemplo métodos cromatográficos, colorimétricos, sensores eletroquímicos, espectrometria por mobilidade de íons, espectroscopia Raman, espectrometria de massa, etc.⁸⁻¹¹ Entretanto, a maioria desses métodos exigem preparação de amostras e tempo de análise significativo. Em princípio, fenômenos que resultem em mudanças nas intensidades de fluorescência, comprimento de onda ou tempo de vida, para um determinado analito, podem ser utilizadas na detecção desse composto em específico.¹² Por isso, em meados de 2009, foi proposta a detecção de NACs usando sensores fluorescentes. Esses materiais ganharam destaque pela potencial aplicação na detecção de explosivos nas mãos, vestimentas ou pertences de suspeitos, podendo, por exemplo, ser usados em aeroportos ou eventos públicos. A literatura atribui a essa técnica alta seletividade, sensibilidade, curto tempo de resposta, baixo custo e fácil manuseio de equipamento.⁵

Quando o analito entra em contato com o sensor, a detecção pode ser evidenciada por mudanças nas intensidades de fluorescência (**Figura 2**), deslocamentos do máximo da banda, ou variações no tempo de vida de medidas fluorescentes. Nesses casos, o fenômeno de supressão de luminescência é geralmente relacionado com mecanismos de transferência de elétrons por fotoindução (do inglês, *photo-induced electron transfer* ou PET)¹³, no qual o fluoróforo transfere um elétron do orbital HOMO para o LUMO do NAC, resultando na redução das intensidades de emissão, processo também denominado de *quenching*.¹⁴

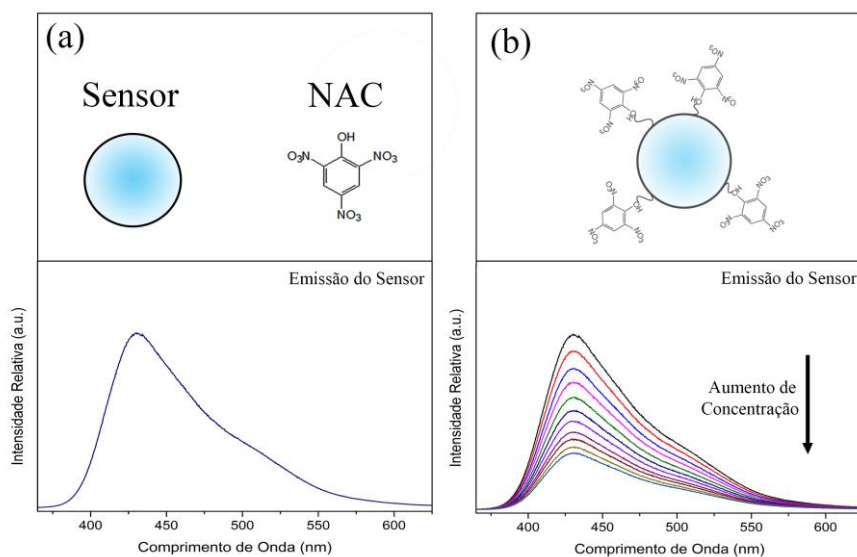


Figura 2. Desenho esquemático do mecanismo de supressão da luminescência e espectro de emissão observado (a) antes e (b) depois do aumento de concentração do NAC.

A presença de grupos elétron-deficientes ($-\text{NO}_2$) nos NACs permite inferir que esses compostos são susceptíveis a transferências de elétrons quando combinados com moléculas de alta disponibilidade eletrônica. Logo, materiais com abundância de elétrons como certos cromóforos seriam potenciais sensores na detecção de NACs. Baseados nesses conceitos, muitos sensores luminescentes encontrados na literatura associam à redução de emissão a mecanismos de PET devido a potencial transferência eletrônica do cromóforo (sensor) para os grupos elétron-deficientes dos NACs. Na **Tabela 1**, alguns exemplos de sensores encontrados no estado-da-arte com mecanismos de detecção baseados em supressão de luminescência. Em todos esses trabalhos, o PET é reportado como o mecanismo principal da redução de luminescência.

Tabela 1. Relação de sensores encontrados na literatura regidos por mecanismo de PET.

Sensor Luminescente	Ano	Mecanismo de supressão	Ref.
[CdCl(L)Eu(H ₂ O)(DMA)](NO ₃)·3DMA	2014	PET	15
[Zn(PAM)(en)]	2015	PET	16
[Zn ₄ O(L _a) ₂ (H ₂ O) ₃] ₃ ·DMA ₃ ·EtOH ₆ ·H ₂ O	2011	PET	17
[Tb(HL)(H ₂ O) ₄]·H ₂ O	2014	PET	18
(Me ₂ NH ₂) ₆ [In ₁₀ (TTCA) ₁₂]·24DMF·15H ₂ O	2014	PET	19
[NH ₂ (CH ₃) ₂][Mg ₃ (NDC) _{2,5} (HCO ₂) ₂ (DMF) _{0,75} (H ₂ O) _{0,25}]	2014	PET	20
[Eu ₃ (MFDA) ₄ (NO ₃)(DMF) ₃]	2013	PET	21
Eu _{0,5} [EuNa _{0,5} L(DMF)(H ₂ O)]	2015	PET	22
[NH ₂ (CH ₃) ₂][Cd ₆ (L _b) ₄ (DMF) ₆ (HCOO)]	2014	PET	23
[Tb(L _c)(OH)]·x(solv.)	2015	PET	24
Zr ₆ O ₄ (OH) ₄ (L _a) ₆	2015	PET	25
[M(NDC)(H ₂ O)] _n (M = Zn ou Cu)	2015	PET	26
[Eu(BTB)(H ₂ O)](DMF) ₂	2015	PET	27
[Cd(NDC) _{0,5} (PCA)]·G _x	2013	PET	28
CdS QDs	2014	PET	29
ZnS-Mn ²⁺ QDs	2008	PET	30
MnD-ZnS QDs	2011	PET	31
(Alq ₃)	2012	PET	32
Benzopireno	2016	PET	33

L_a = (2,2',2''-(nitrilotris(methylene))tris(1H-benzo[d]imidazole-2,1-diyl))tris(methylene)tribenzoic acid; PAM = 4,4'-methylenebis[3-hydroxy-2-naphthalenecarboxylic acid]; en = 1,2-ethanediamine; HL = 1,10-biphenyl-2,3,30,50-tetracarboxylate; TTCA = triphenylene-2,6,10-tricarboxylate; NDC = 2,6-naphthalenedicarboxylate; MFDA = 9,9-dimethylfluorene-2,7-dicarboxylate; L_b = 2,4,6-tris[1-(3-carboxylphenoxy)methyl]mesitylene; L_c = 5-(4-carboxyphenyl)pyridine-2-carboxalate; L_a = 2'-amino-[1,1':4',1''terphenyl]-4,4''-dicarboxylate; BTB = 1,3,5-benzenetrisbenzoate; PCA = 4-pyridinecarboxylic acid; Alq₃ = 8-hydroxyquinoline aluminum;

Apesar do PET ser extensivamente citado como o mecanismo de supressão, a maioria dos trabalhos não avalia outras possibilidades, como por exemplo, a absorção do próprio analito. Os NACs possuem altas bandas de absorção, geralmente em regiões próximas da excitação do fluoróforo (entre 250 e 400 nm).^{8,34,35} Com isso, o fenômeno de absorção nessa região também pode resultar em supressão da luminescência, fenômeno conhecido como efeito filtro interno ou IFE (*inner filter effect*).^{36,37} Como resultado, equívocos na determinação dos mecanismos de *quenching* podem ocorrer.

Entre sensores luminescentes, os mecanismos de IFE estão presentes principalmente na detecção de compostos biológicos, detecção de íons, determinação de pH, *etc.*³⁸⁻⁴⁴ Alguns trabalhos encontrados na literatura discutem o IFE na detecção de NACs.⁴⁵⁻⁴⁹ Rong *et al.*⁵⁰ utilizam uma matriz de carbono grafítico para a detecção seletiva de TNT, atribuindo o fenômeno de supressão de fluorescência ao IFE. Shanmugaraju *et al.*⁵¹

descrevem um sensor luminescente para a identificação visual de explosivos nitro aromáticos. Pesenti *et al.*⁵² apresentam um teste do tipo *lab on a chip* para a análise de explosivos nitroaromáticos. Taudte *et al.*⁵³ descrevem um detector portátil de explosivos baseado no *quenching* do pireno. E Zhu *et al.*⁵⁴ relatam o uso de *quantum dots* para a detecção de TNT em água e em bagagens. Similarmente, Wang *et al.*⁵⁵ baseiam-se no mesmo mecanismo para detecção de PA a partir de *Carbon Dots* funcionalizados com Ag.

Com base no contexto supracitado, neste capítulo procurou-se avaliar os mecanismos de supressão da luminescência de três sensores para detecção de NACs encontrados na literatura, bem como o efeito de interferentes no desempenho destes sensores em testes de triagem (*screening tests*). A escolha destes sistemas foi baseada na ausência de dados reportados pelos autores que pudessem associar a supressão da luminescência aos mecanismos de PET. Uma vez determinado o mecanismo, buscou-se avaliar a seletividade desses sensores na presença de interferentes. Um dos principais interesses desse trabalho foi estudar a viabilidade desses sensores em aplicações forenses de triagem ou *screening*, como a detecção e resíduos de explosivos em roupas e mãos de suspeitos. Nesse cenário, a escolha dos interferentes avaliados baseou-se na aplicação desejada e, para isso, foram selecionados alguns produtos comerciais que poderiam facilmente ser encontrados nas mãos de uma pessoa, avaliando a interferência no desempenho do sensor e a potencialidade do uso comercial desses materiais.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos Gerais

Avaliar os mecanismos de supressão em sensores luminescentes previamente publicados na literatura. Três sensores descritos na literatura foram escolhidos: *Carbon Dot*, $[\text{Eu}_2(\text{BDC})_3(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot (\text{H}_2\text{O})_2$ e $[\text{Tb}(\text{BTC})]_n$, publicado pelos autores Niu *et al.*⁵⁶, Xu *et al.*⁵⁷ e Xiao *et al.*⁵⁸, respectivamente. Além disso, propõem-se avaliar esses materiais como sensores para triagem de suspeitos de manuseio de explosivos. Para isso, a seletividade desses materiais foi estudada na presença de diferentes interferentes, comumente encontrados nas mãos da população.

2.2. Objetivos Específicos

- Sintetizar e caracterizar os sensores luminescentes escolhidos da literatura: *Carbon Dot*⁵⁶, [Eu₂(BDC)₃(H₂O)₂](H₂O)₂⁵⁷ e [Tb(BTC)]_n⁵⁸;
- Avaliar e definir o mecanismo de supressão de luminescência (PET ou IFE) dos sensores testados;
- Avaliar a viabilidade desses materiais como sensores de triagem de suspeitos usando diferentes interferentes comuns (cosméticos, hidratantes, protetores solares, *etc.*).

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Mecanismos de Supressão de Luminescência

Diferentes mecanismos de supressão da luminescência são encontrados na literatura. Entre eles, destacam-se a (i) transferência de elétron por foto-indução, PET (*photoinduced electron transfer*) e a (ii) transferência de energia por ressonância, RET (*resonance energy transfer*).

3.1.1. Transferência de Energia Fotoinduzida (PET)

No mecanismo de PET ocorre uma forte interação entre o doador (D, que em geral corresponde ao fluoróforo) e o aceptor (A, que em geral corresponde ao analito) por meio da transferência de um elétron do HOMO de D para o LUMO de A. Em seguida elétron excitado retorna para o estado fundamental e perde energia por modos não radiativos, diminuindo a intensidade da luminescência^{5,59}. Esse processo ocorre de duas formas: *quenching* dinâmico (QD) e *quenching* estático (QE). No QD (**Figura 3a**), o PET ocorre *via* colisões moleculares entre o fluoróforo e o analito. Em casos onde unicamente ocorre QD, a relação entre a intensidades (I^0/I) e a concentração de analito $[A]$ deve obedecer a equação (1), também chamada de equação de Stern-Volmer (SV):

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{SV}[A] \quad \text{Equação 1}$$

$$K_{SV} = K_d \tau_0 \quad \text{Equação 2}$$

Onde, I_0 e I são as intensidades de emissão na ausência e na presença do analito, respectivamente, $[A]$ é a concentração de analito na solução e K_{SV} é a constante de Stern-Volmer. Essa constante por sua vez é igual à constante de taxa de colisão bimolecular (K_d) multiplicada pelo tempo de vida da emissão do fluoróforo na ausência de analito (τ_0). Nesse caso, a representação gráfica da equação de SV origina uma curva linear (curva de Stern-Volmer)⁶⁰, como exemplificado na **Figura 3b**. Sabendo que a temperatura afeta diretamente o número de colisões moleculares, um aumento na inclinação da reta é esperado com o aumento da temperatura. Dessa forma, o coeficiente angular (K_{SV}) aumenta, bem como a eficiência no processo de *quenching*. Adicionalmente, colisões moleculares afetam diretamente as taxas de decaimento radiativo do fluoróforo, respeitando a relação⁶¹:

$$\frac{I_0}{I} = \frac{\tau_0}{\tau} \quad \text{Equação 3}$$

Onde, τ é o tempo de vida na presença do analito. Como resultado, o gráfico de τ^0/τ em função de $[A]$ deve ser análogo ao gráfico de SV (**Figura 3c**).

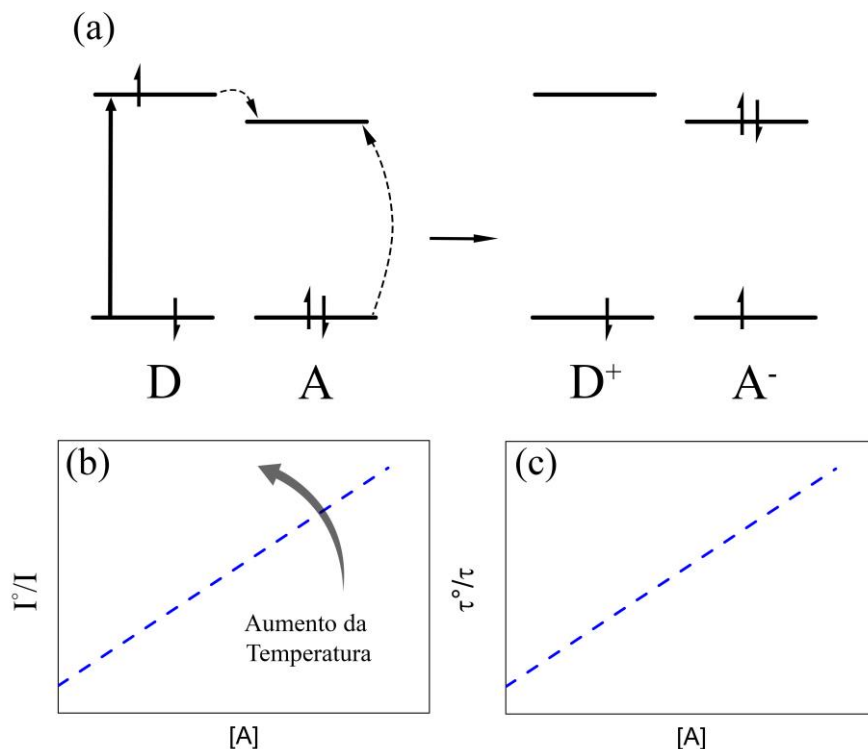


Figura 3. (a) desenho esquemático do mecanismo de *quenching* dinâmico, (b) redução de intensidade (I^0/I) vs concentração de analito ($[A]$) e (c) tempo de vida (τ^0/τ) vs concentração de analito ($[A]$) em casos aonde ocorre *quenching* dinâmico. (adaptado de Lakowicz *et al.*⁶⁰)

O *quenching* estático (QE), por outro lado, ocorre pela formação de complexos que resultam em um estado fundamental não-emissor (**Figura 4a**).⁶⁰ De maneira similar ao QD, o QE responde a uma equação linear (**Figura 4b**),

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_a[A] \quad \text{Equação 4}$$

Porém, K_a é a constante de associação do complexo. O aumento da temperatura, diferente do QD, contribui para a degradação dos complexos formados, diminuindo a constante de associação e por consequência a eficiência de supressão da luminescência (**Figura 4b**). Diferentemente do QD, casos decorrentes de QE não apresentam mudanças nos tempos de vida pois aqueles fluoróforos que não foram complexados – e que ainda são capazes de emitir após a excitação – permanecem com suas propriedades luminescentes inalteradas. Nesse caso, a fluorescência da amostra diminui à medida em que o número de fluoróforos com possibilidade de emissão diminui. Como resultado, o gráfico de τ^0/τ vs $[A]$ é uma reta com coeficiente angular nulo (constante - **Figura 4c**).⁶²

Além disso, a formação de novos complexos por QE ocasiona a mudanças no espectro de absorção da amostra. Dessa forma, a combinação linear entre o espectro de absorção do doador e o acceptor devem apresentar resultados diferentes dos

experimentais.^{60,62} Como exemplo podemos citar os trabalhos de Wang *et al.*⁶³ e Zheng *et al.*⁶⁴, que aplicaram essa metodologia para amostras de MEH-PPV (*Poly(2-methoxy,5-(29-ethylhexloxy)-p-phenylene-vinylene)*) que apresentaram supressão para derivados de fulerenos C₆₀, como exemplifica a **Figura 4d**. Nesses trabalhos, a soma linear entre os espectros do sensor (linha) e do analito (ponto-linha) mostra o mesmo perfil que o espectro do sensor + analito (pontilhado), inferindo que não há a formação de complexos e descartando a presença de QE no mecanismo de supressão.

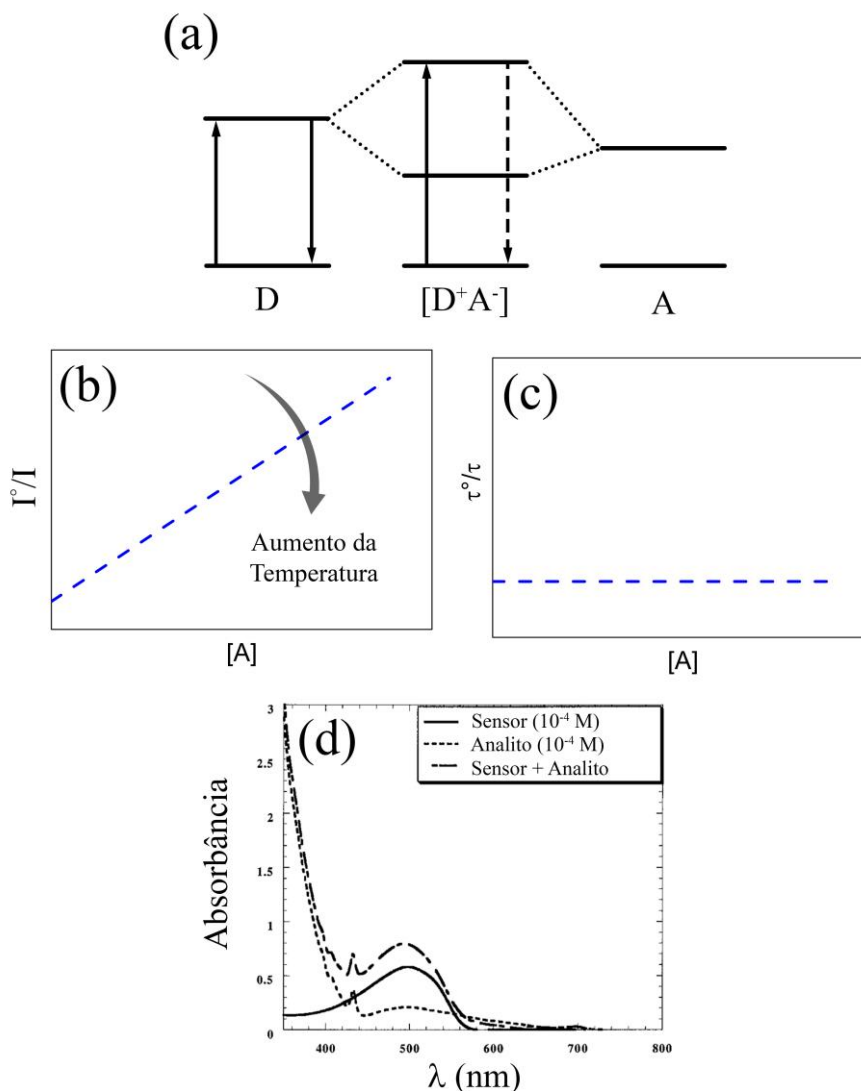


Figura 4. (a) Mecanismo de *quenching* estático, (b) dependência da intensidade (I^0/I) e (c) tempo de vida (τ^0/τ) em função da concentração de analito ([A]); e (d) exemplo de uso dos espectros de absorção na determinação de *quenching* estático (adaptado de Lakowicz *et al.*⁶⁰ e Wang *et al.*⁶³).

Em alguns casos, o gráfico de SV pode não apresentar linearidade. Esse fenômeno é geralmente associado à coexistência de ambos QD e QE. A supressão da luminescência obedece a equação (5)^{65,66}:

$$\frac{I_0}{I} = (1 + K_a[A])(1 + K_{SV}[A]) \quad \text{Equação 5}$$

Como resultado, o gráfico da equação apresenta um ajuste quadrático, como mostrado no **Figura 5a**. Entretanto, visto que o tempo de vida não é afetado em casos de puro QE, o gráfico de τ^0/τ vs $[A]$ apresenta um comportamento linear (reta na **Figura 5a**), devido apenas a componente de QD. Em casos extremos, a presença simultânea de QD e QE pode ser fitada a partir da equação (6)⁶⁶:

$$\frac{I_0}{I} = (1 + K_{SV}[A])e^{V[A]} \quad \text{Equação 6}$$

Onde V é o volume de moléculas ativas próximos ao fluoróforo. Isso ocorre porque em determinados conjuntos doador/aceptor alguns sítios ativos do fluoróforo estariam mais acessíveis que outros, como no caso do triptófano titulado em proteína.^{60,67} Para esses casos, um gráfico exponencial pode ser observado, como mostra a **Figura 5b**.

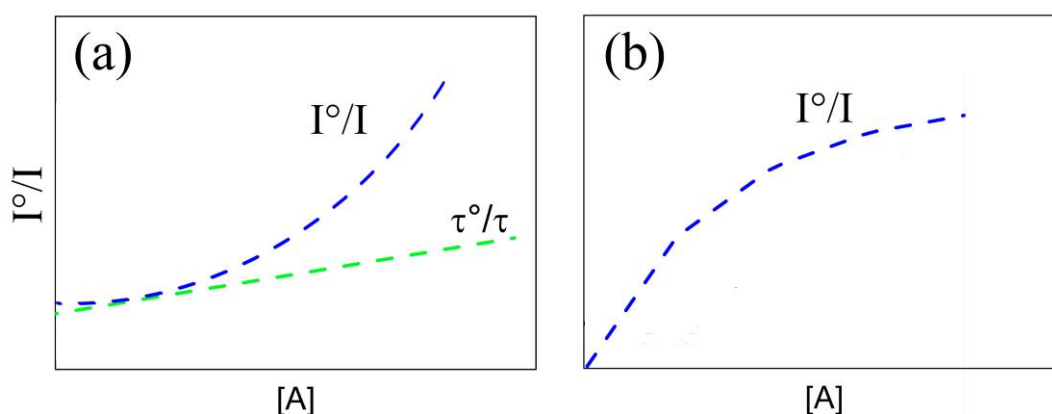


Figura 5. Efeito da coexistência de *quenching* estático e dinâmico em casos que respondem quadraticamente (a) ou exponencialmente (b). (adaptado de Lakowicz *et al.*⁶⁰)

Conseqüentemente, para determinar os mecanismos de supressão envolvidos em uma amostra, as contribuições de QD e QE podem ser mensuradas principalmente por medidas de fluorescência resolvidas no tempo, espectros de absorção do sensor + analito e medidas em função da temperatura.^{37,64}

3.1.2. *Transferência de Energia Ressonante* RET

No caso dos mecanismos regidos por RET, uma transferência apenas de energia é observada do estado excitado do doador (D) para o acceptor (A). Nesse caso, não há a transferência de elétrons de um doador para o acceptor. Como esquematizado na **Figura**

6, o processo inicia com o doador D possuindo um elétron excitado no LUMO. Posteriormente, o RET ocorre quando o elétron excitado de D retorna para o estado fundamental e, simultaneamente, transfere energia para o elétron do acceptor A. O acceptor pode ser fluorescente ou não, mas em ambos os casos a intensidade de emissão do fluoróforo D é reduzida, pois a população do estado emissor é reduzida.^{14,68} Para que o RET ocorra, a distância entre D e A é inversamente proporcional à sexta potência da eficiência de transferência de energia, devendo respeitar a seguinte relação⁶⁰:

$$k_T = \frac{1}{\tau_D} \left(\frac{R_0}{r} \right)^6 \quad \text{Equação 7}$$

Onde k_T é a taxa de transferência de energia; τ_d é o tempo de vida de D na ausência de A; r é a distância entre os centros D e A; e R_0 é a distância de Förster, que corresponde à distância em nm entre cada espécie. A transferência de energia é primariamente dependente da sobreposição entre o espectro de emissão do doador D e o espectro de absorção do acceptor.

Na literatura também é possível encontrar diferentes trabalhos que utilizam os mecanismos de RET para a detecção de NACs.⁶⁹⁻⁷³ Nesses trabalhos, a determinação do mecanismo RET ocorre principalmente quando a emissão do sensor (doador) está posicionada em uma região de menor comprimento de onda (< energia) que a banda de absorção do NAC (acceptor).

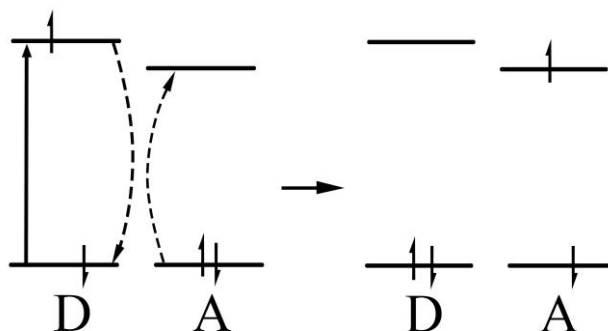


Figura 6. Mecanismo de supressão por transferência de energia por ressonância.

3.1.3. Efeito Filtro Interno (IFE)

O efeito filtro interno também é um processo de redução na intensidade da luminescência que pode ocorrer na presença de um analito. Entretanto é de suma importância destacar que o IFE não é um processo de supressão de luminescência ou *quenching* em função da interação fluoróforo-analito, propriamente dita. Quando uma

solução contém um analito o qual absorve luz na região de excitação do fluoróforo F, esse composto age como um filtro e impede sua excitação de F – que consequentemente passa a não emitir. Diferentemente dos mecanismos de *quenching*, esse processo ocorre independentemente de qualquer interação entre o fluoróforo e o analito (**Figura 7**).

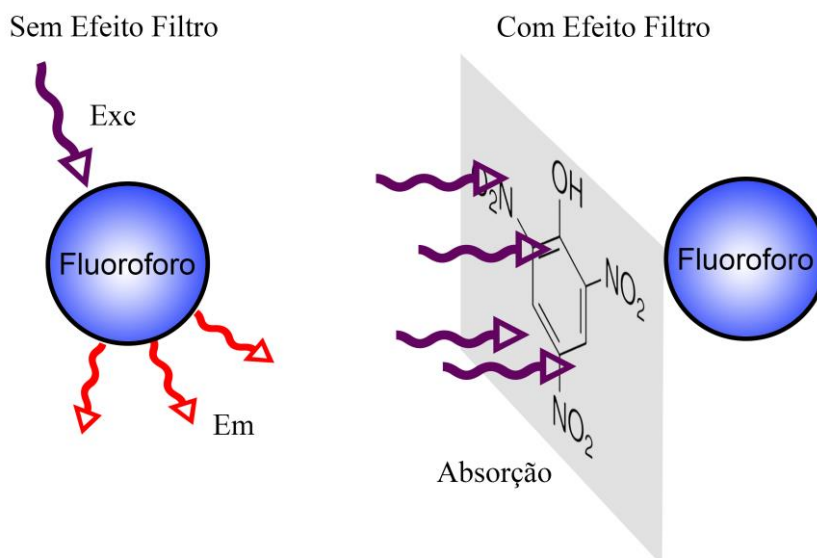


Figura 7. Esquema de representação do efeito filtro interno.

Como discutido anteriormente, as contribuições de QD e QE podem ser determinadas graficamente nas curvas de I°/I ou τ°/τ vs $[A]$, mas os valores de IFE não. Parker *et al.*⁷⁴ foram os primeiros a estudar os fenômenos de IFE e apresentaram uma equação para correção das intensidades de emissão em função do IFE.

$$I_{cor} = I \times \eta \quad \text{Equação 8}$$

$$\eta = \frac{2.3 d A_{ex}}{1-10^{-d A_{ex}}} 10^g A_{em} \frac{2.3 s A_{em}}{1-10^{-s A_{em}}} \quad \text{Equação 9}$$

Onde η é o fator de correção, I_{cor} é a intensidade de emissão corrigida; d são as dimensões da cubeta; g e s estão associados à espessura dos feixes de excitação e emissão (**Figura 8**); e A_{ex} e A_{em} são as absorbâncias no máximo da curva de excitação e emissão, respectivamente. Essa equação descreve a correção do IFE tanto na região de excitação como de emissão. Entretanto, quando a absorção do analito na região de emissão é desprezível (absorbância menor que 0,05)⁶⁰ considera-se apenas o IFE proveniente do fenômeno de excitação, representada pela equação:

$$\eta = \frac{2.3 d A_{ex}}{1-10^{-d A_{ex}}} \quad \text{Equação 10}$$

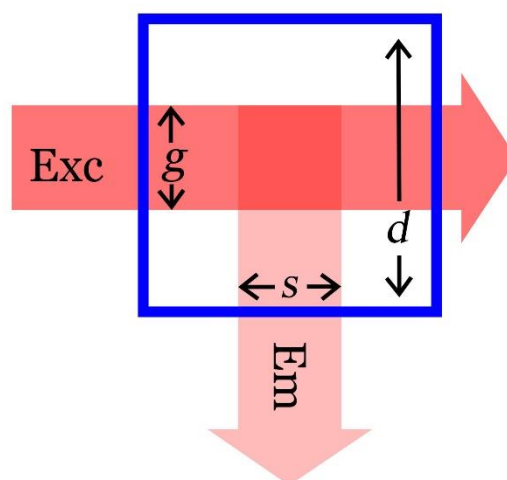


Figura 8. Desenho esquemático das dimensões da cubeta e dos feixes de emissão e excitação utilizadas na equação de Parker *et al.*⁷⁴

3.2. Sensores Luminescentes para a detecção de NACs

Diversos trabalhos na literatura propõem o uso de sensores luminescentes para determinar a presença de explosivos (NACs) como uma estratégia para auxiliar no combate a ações terroristas.^{5,25,26,28,56,58,75} Em especial, os trabalhos abordam a possibilidade de detecção de resíduos de explosivos em suspeitos (mãos, roupas, objetos de pertence, etc.). Este tipo de abordagem é de grande valor para o cenário forense, pois aumenta as possibilidades de testes de triagem (*screening*) de suspeitos de terrorismo ou ações criminosas.⁵¹⁻⁵⁴ Os testes de triagem devem ser fáceis, simples, rápidos, portáteis, confiáveis e sem necessidade de preparo de amostra, para que possam ser empregados em situações como por exemplo aeroportos, eventos com grande circulação de pessoas ou abordagem policial em *blitz*.

Na literatura, sensores luminescentes para a detecção de NACs utilizam majoritariamente sistemas baseados em MOFs (*Metal-Organic Frameworks*). As MOFs são formadas a partir de ligantes orgânicos e metais que exibem estruturas poliméricas 2D ou 3D.^{76,77} Entre as características que favorecem o uso de MOFs como sensores é possível destacar a alta porosidade e estabilidade química. MOFs luminescentes (LMOFs) oferecem grandes vantagens no campo dos sensores luminescentes devido à presença de anéis aromáticos contendo ligações conjugadas que favorecem a absorção de energia. Como consequência, esses materiais apresentam maiores tempos de vida e

rendimentos quânticos. Quando as LMOFs contêm íons lantanídeos tem-se ainda pureza de cores e emissão modulável.⁷⁸

Lan *et al.*⁷⁹ reportaram pela primeira vez o uso de LMOFs na detecção de NACs em 2009. Nesse trabalho, a MOF $[Zn_2(bpdc)_2(bpee)]$ ($bpdc = 4,4$ -bifenildicarboxilato; $bpee = 1,2$ -bipiridileno) foi empregada como sensor luminescente na detecção de DNT e DMNB. Nesse trabalho, a supressão de luminescência foi associada a um possível *quenching* por oxirredução. Entretanto, os autores reportaram a necessidade de uma melhor investigação dos processos envolvidos na supressão não obtendo conclusões acerca dos reais mecanismos envolvidos.

Xu *et al.*⁵⁷ reportaram, pela primeira vez, o uso de uma MOF contendo íon lantanídeos, $[Eu_2(BDC)_3(H_2O)_2] \cdot (H_2O)_2$ ($BDC =$ benzeno-1,4-dicarboxilato), para a detecção de DNT (dinitrotolueno) e DMNB (2,3-dimetil-2,3-dinitrobutano) (**Figura 9a**). Os autores relataram que o sensor apresentou redução de intensidade acima de 50% após a adição de 150 ppm de TNT (2,4,6-trinitrotolueno) ou DNB (2,4-dinitrobutano). Os autores compararam a supressão da luminescência da MOF na presença de diversos analitos (fenol, bromofenol, nitrobenzeno, xileno, tolueno, *etc.*) para avaliar a seletividade do sensor frente a outros compostos e concluíram que o sistema era seletivo para TNT e DNB. Mesmo na ausência de curvas de SV, o mecanismo de supressão foi associado ao *quenching* por PET.

De maneira análoga, Gurtovyi *et al.*⁸⁰ reportaram recentemente o uso da MOF $\{[Zn(L)(DPDC)]\}_n$ ($DPDC = 4,4$ -bifenildicarboxilato) para a detecção de NACs e associaram a supressão ao mecanismo do tipo PET, também sem avaliar as curvas de SV. Os NACs são compostos eletro-deficientes^{5,25,81} e portanto tem a possibilidade de receber elétrons do sensor (MOF), que agiria como doador. Por esta razão, é esperado por muitos autores que os mecanismos de PET sejam dominantes nos sensores luminescentes para detecção de NACs.

O segundo tipo de material mais estudado para sensores luminescentes de NACs são os *quantum dots*.^{30,81-85} Nesses casos há uma predominância de mecanismos de *quenching* e FRET. Alguns *quantum dots* são baseados em metais como cádmio, o que é uma desvantagem considerando a toxicidade dos metais pesados. Outros são baseados em carbono (*Carbon Dots*, CDs), os quais apresentam maior biocompatibilidade e têm atraído a atenção como possíveis sensores luminescentes para detecção de NACs.

Campos *et al.*⁸⁶ utilizaram CDs funcionalizados com PAMAN-NH₂ (poli(amidoamina)), para a detecção de clorodinitroanilina. Os autores determinaram o mecanismo de supressão como sendo do tipo PET. Devido à ausência de alterações nos tempos de vida, os autores associaram a redução de luminescência à existência de QE, com $K_a = 2,3 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}$ (**Figura 9b**). Entretanto, novos testes seriam necessários para tal afirmação, uma vez que o IFE não modifica os tempos de vida, analogamente ao QE.

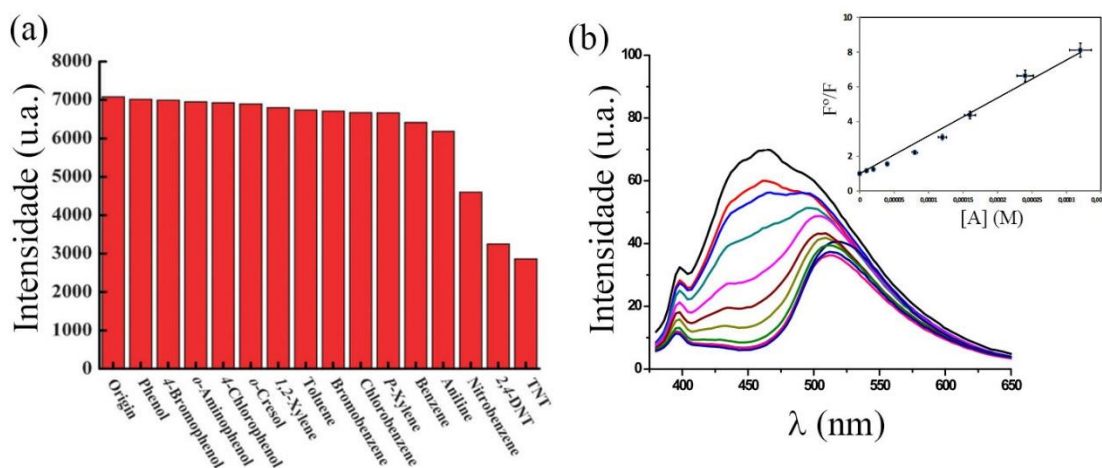


Figura 9. Redução de intensidades luminescência da MOF estudada por Xu *et al.*⁵⁷ após a adição de diferentes NACs e (b) redução das emissões da CDs estudados por Campos *et al.*⁸⁶ na presença de clorodinitroanilina (a inserção se refere ao gráfico linear de Stern-Volmer).

A seletividade dos sensores luminescentes é um ponto bastante importante nas pesquisas. Joarder *et al.*⁷⁵ estudaram a MOF $[\text{Zn}_8(\text{ad})_4(\text{BPDC})_6\text{O} \cdot 2\text{Me}_2\text{NH}_2]$ (BPDC = difenildicarboxilato; ad = adenina) como sensor de PA. Os autores associaram as interações de hidrogênio entre grupos fenólicos e aminas livres da MOF como principal responsável pela supressão na luminescência (**Figura 10a**). Cristais de PA e adenina foram obtidos e analisados e como resultado, as duas moléculas foram encontradas ligadas por interações de H. Os autores então usaram a existência destas ligações de H para justificar a existência de PET no sistema.

Analogamente, Niu *et al.*⁵⁶ estudaram o sistema CDs funcionalizados com aminas visando obter um sensor seletivo para PA. Os autores observaram maiores supressões de intensidade de emissão na presença de PA quando comparado com outros sete analitos (DNT^d, TNT, fenol, etanol, acetona, tolueno, benzoato). Dessa forma, os autores concluíram que o sistema era seletivo a PA em virtude de interações de hidrogênio entre

^d 2,4-dinitrotoluene

as aminas na superfície do CD e os grupos fenólicos do PA (**Figura 10b**). Nagarkar *et al.*²⁵ também estudaram a MOF $Zr_6O_4(OH)_4(L)_6$ como sensor de PA e concluíram que o sistema era seletivo a PA devido à interações semelhantes (**Figura 10c**).

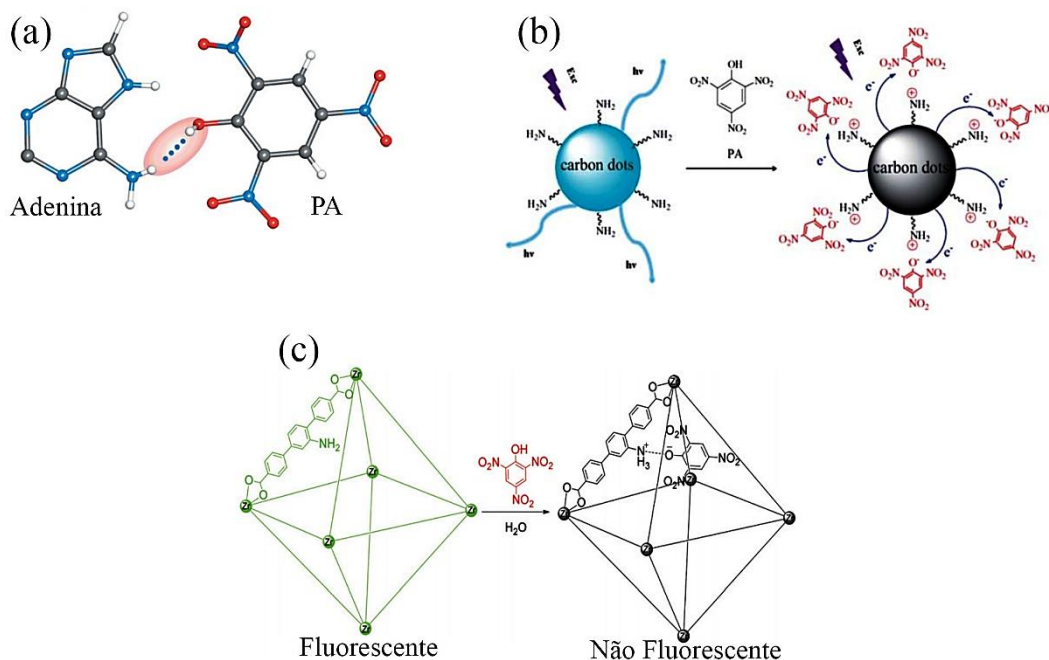


Figura 10. Exemplos de tipos de interação entre sensor e analito propostos por (a) Joarder *et al.*⁷⁵, (b) Niu *et al.*⁵⁶ e (c) Nagarkar *et al.*²⁵, os quais seriam, segundo os autores, responsáveis pela seletividade dos sensores luminescentes para o PA.

O IFE também é um mecanismo de supressão recorrente entre sensores na literatura. Recentemente, Yan *et al.*⁸⁷ observaram a redução da luminescência de QDs fluorescentes na presença de tripsina - pesticida comercial. Em outro exemplo, Zheng *et al.*³⁹ atribuíram ao IFE redução de emissão de CDs na presença de Cr(VI). Nesse caso, o objetivo do trabalho era detectar este metal em amostras ambientais, entretanto, a possibilidade de contaminações por interferentes é um risco considerado pelo autor. Devido à possibilidade de contaminação com outros metais, os autores apresentam uma tabela de tolerância definindo razão molar de metal/interferente que o método suporta para manter os resultados confiáveis. Este tipo de cuidado é necessário para garantir a viabilidade comercial do sensor.

No campo dos sensores de NACs, recentemente Tanwar *et al.*⁴⁵ propõem a detecção de PA utilizando o polímero fluorescente PFAM (poli([4,4-(((2-fenil-9H-fluoreno-9,9-diil))bis(hexano-6,1-diil))bis(oxy))-dianilina])) e identificam o IFE como principal mecanismo. Os autores reportam que a detecção de PA é seletiva, embora o trabalho

apenas teste diferentes tipos de NAC (PA, DNB, TNT, NB^e, NM^f, RDX^g, entre outros explosivos). Visto que interferentes são uma fonte de falso-positivos, seriam de grande interesse testar outros compostos encontrados no alvo de detecção. Esse padrão de comparação entre NACs para determinar a seletividade de sensores luminescentes é constantemente encontrado na literatura.^{45,50,88-90}

4. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

Para os testes propostos, três sensores luminescentes foram sintetizados e caracterizados de acordo com trabalhos na literatura: **(1S)** *Carbon Dot*⁵⁶, **(2S)** [Eu₂(BDC)₃(H₂O)₂](H₂O)₂ (BDC = 1,4-benzenodicarboxilato)⁵⁷ e **(3S)** [Tb(BTC)]_n (BTC = 1,3,5-benzenotricarboxilato)⁵⁸. É importante destacar que todos os sensores escolhidos para os ensaios tiveram os mecanismos de supressão luminescente associados com PET na literatura.

4.1. Síntese do Sensor 1S

O sensor **1S** foi sintetizado seguindo a metodologia proposta por Niu *et al.*⁵⁶. Nesse caso, uma solução contendo 300 mg de ácido cítrico (VETEC[®], ≥99,9% de pureza) e 300 mg de ureia (VETEC[®], ≥99,9%) foram adicionados a um reator de vidro contendo 10 mL de H₂O destilada. Posteriormente, a solução foi submetida à radiação de micro-ondas e aquecidas por 15 min, 150 W a 160 °C (micro-ondas Anton-Paar[®], Monowave 300).

4.2. Síntese do Sensor 2S

O EuCl₃·6H₂O e H₂BDC (H₂BDC = ácido benzeno-1,4-dicarboxílico) foram obtidos através da Aldrich[®] ≥99,9%. Para obtenção do sal (Na₂BDC), a uma solução aquosa contendo H₂BDC foi adicionada solução de NaOH (0,1 mol/L) até pH=7, e posteriormente filtrada sob vácuo para remoção de impurezas. Em seguida, uma alíquota

^e nitrobenzene

^f nitromethane

^g 1,3,5-trinitroperhydro-1,3,5-triazine

de etanol foi adicionada ao filtrado provocando a precipitação do sal. Após sucessivas filtrações com etanol, o precipitado foi separado e secado a temperatura ambiente sob vácuo. O produto formado foi um sólido de coloração branca.

Seguindo a metodologia proposta por Xu *et al.*⁵⁷, o sensor **2S** foi preparado pelo sistema de microemulsão CTAB/heptano/1-hexanol/água (CTAB = brometo de cetrimônio). Primeiramente, 911 mg de CTAB (VETEC[®], ≥99,9%), 38,31 g de 1-hexanol e 296,36 g de heptano foram adicionados a um béquer (100 mL) e agitados por 30 min, fornecendo um sistema de microemulsão. Uma segunda mistura foi obtida adicionando EuCl₃·6H₂O (0,225 mL; 0,1 mol/L) e Na₂BDC (0,225 mL; 0,1 mol/L) à microemulsão. Após a mistura ser agitada vigorosamente por 2 h, a solução foi centrifugada a 6000 rpm por 20 min até obter um precipitado branco. O sólido obtido foi secado sob vácuo a temperatura ambiente e lavado diversas vezes com etanol.

4.3. Síntese do Sensor 3S

O sensor **3S** foi sintetizado pela rota de ultrassom combinada com difusão proposta por Xiao *et al.*⁵⁸. Uma mistura de 126 mg de Tb(NO₃)₃·6H₂O (Aldrich[®], ≥99,9%), 20 mg de H₃BTC (Aldrich[®], ≥99,9%), 4,0 mL de etanol, 4,0 mL de N,N-dimetilformamida e 3,2 mL de H₂O destilada foram adicionadas a um béquer de 50 mL e agitados por 4 h. Posteriormente, um pequeno frasco de 10 mL contendo uma mistura 200 µL de trietilamina (AnalaR[®], ≥99,5%) e 300 µL de H₂O foi colocado dentro do béquer e selado com vários pedaços de parafilme. Após centrifugação (3000 rpm), um precipitado branco foi obtido. Em seguida, o sólido foi lavado com etanol e secado sob vácuo por 24 h em temperatura ambiente.

4.4. Caracterização dos Sensores

Medidas de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram obtidas em um espectrômetro *VARIAN-640 IR* operado no modo ATR (*attenuated total reflectance*), com região de alcance entre 400 e 4000 cm⁻¹ e resolução de espectral de 4 cm⁻¹. Medidas de espectroscopia de absorção UV-VIS foram obtidas em um espectrômetro *Varian UV-VIS-NIR Carry 5000*, enquanto os espectros de fluorescência de emissão e excitação foram obtidos em um espectrofotômetro *Horiba Jobin Yvon*

FluoroLog FL3-22 com lampada contínua de Xenônio 450 W, utilizando um detector *Sincerity CCD UV/VIS spec.* Curvas de tempo de vida para o sensor **1S** foram obtidos no mesmo equipamento de fluorescência operando em modo TCSPC (*time-correlated single photon counting*) usando um *NanoLED-340* (pulsado em 339 nm) como fonte de excitação. Difratometria de raios X (DRX) foi empregada utilizando um difratômetro Bruker D8 Advanced com Davinci design com ânodo de cobre ($\lambda_{k\alpha1} = 1,5406 \text{ \AA}$, $\lambda_{k\alpha2} = 1,5444 \text{ \AA}$, $I_{\alpha2}/I_{\alpha1} = 0,5$). As análises por DRX de pó foram realizadas à temperatura ambiente. As intensidades foram coletadas em intervalo de 2θ entre 5 e 50° , com incremento de $0,01^\circ/\text{min}$.

4.5. Medidas de fluorescência dos sensores na presença dos NACs

Três NACs foram selecionados para os testes, 1,3,5-trinitrofenol (ácido pícrico - PA), 4-nitroanilina (NA) e 1,3,5-trinitrotolueno (TNT). Todos os NACs usados foram disponibilizados pelo Instituto Nacional de Criminalística da Polícia Federal. Diferentemente do PA e TNT, o NA não está presente em nenhum dos testes de seletividade realizados previamente para os sensores **1S**, **2S** e **3S** nos trabalhos encontrados na literatura.⁵⁶⁻⁵⁸ Além disso, NA possui um espectro de absorção análogo ao PA, apesar de não apresentar grupo fenólico em sua estrutura (**Figura 11**).

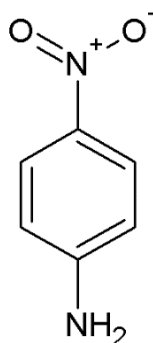


Figura 11. Estrutura química da 4-nitroanilina.

Para manter a comparabilidade nos testes de redução da intensidade de emissão, os sensores foram solubilizados/dispersados seguindo às recomendações dos autores. Assim, o sensor **1S** foi solubilizado em água em concentração de 0,06 g/L, enquanto os sensores **2S** e **3S** foram dispersados em etanol em concentrações de 0,15 g/L e 0,50 g/L, respectivamente. As medidas de fluorescência foram realizadas utilizando as mesmas

condições durante todos os experimentos: os comprimentos de onda de excitação foram 360 nm, 315 nm, e 324 nm para os sensores **1S**, **2S** e **3S**, respectivamente; as fendas de excitação e emissão foram mantidas em 1 nm; tempo de integração de 3 segundos; e faixas de aquisição de 375-630 nm, 500-750 nm e 450-710 nm (**1S**, **2S** e **3S**, respectivamente). Para evitar desvios da linearidade devido ao aumento da absorção as concentrações máximas utilizadas nos experimentos foram $4,4 \cdot 10^{-5}$ mol/L para PA; $7,2 \cdot 10^{-5}$ mol/L para NA; e $43,9 \cdot 10^{-5}$ mol/L para TNT.

As curvas de Stern-Volmer foram obtidas a partir da área integrada dos espectros de emissão do sensor **1S**, e diferentes experimentos foram utilizados:

4.5.1. *Experimento de cubeta 1 cm (uma-cubeta)*

A suspensão de **1S** (3mL) foi acondicionada em uma cubeta padrão (*i.e.*, 1 cm de caminho óptico) e os espectros de emissão de fluorescência foram obtidos com diferentes concentrações de NAC.

4.5.2. *Experimento em cubeta 1 mm*

O mesmo procedimento anterior foi adotado, porém, usando uma cubeta de menor caminho óptico (1 mm).

4.5.3. *Experimento de dupla-cubeta*

Adaptando a configuração original do fluorímetro, uma segunda cubeta (**2**) foi colocada na direção do feixe de excitação, a 5 cm da cubeta **1** que permaneceu direcionada para o detector, como mostra o esquema na **Figura 12**. A suspensão do sensor foi adicionada à cubeta 1 enquanto apenas água (3 mL) foi adicionada à cubeta 2. Os espectros de emissão foram obtidos em com diferentes concentrações de NACs adicionados apenas na cubeta 2.

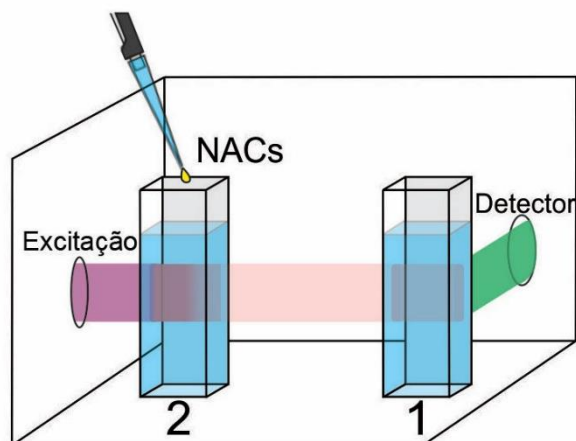


Figura 12. Desenho esquemático do experimento com duas cubetas para a confirmação de IFE.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização

5.1.1. *Sensor 1S*

Como mostrado na **Figura 13a**, o espectro de FTIR do sensor **1S** apresenta uma banda larga entre 3100 e 3500 cm^{-1} associada ao estiramento N-H, confirmando a existência do grupo amina em sua estrutura. Na **Figura 13b**, o espectro de excitação ($\lambda_{\text{em}} = 460 \text{ nm}$) apresenta uma banda larga centrada em 360 nm, já o espectro de emissão ($\lambda_{\text{exc}} = 360 \text{ nm}$) mostra uma banda larga centrada em 460 nm, responsável pela cor ciano observada (inserção na **Figura 13b**). Medidas de absorção na **Figura 13c** mostram bandas largas com máximos centrados em 272 nm, 341 nm, e 402 nm. Todos esses resultados estão de acordo com o reportado pela ref.⁵⁶ o que indica que o sensor foi corretamente sintetizado.

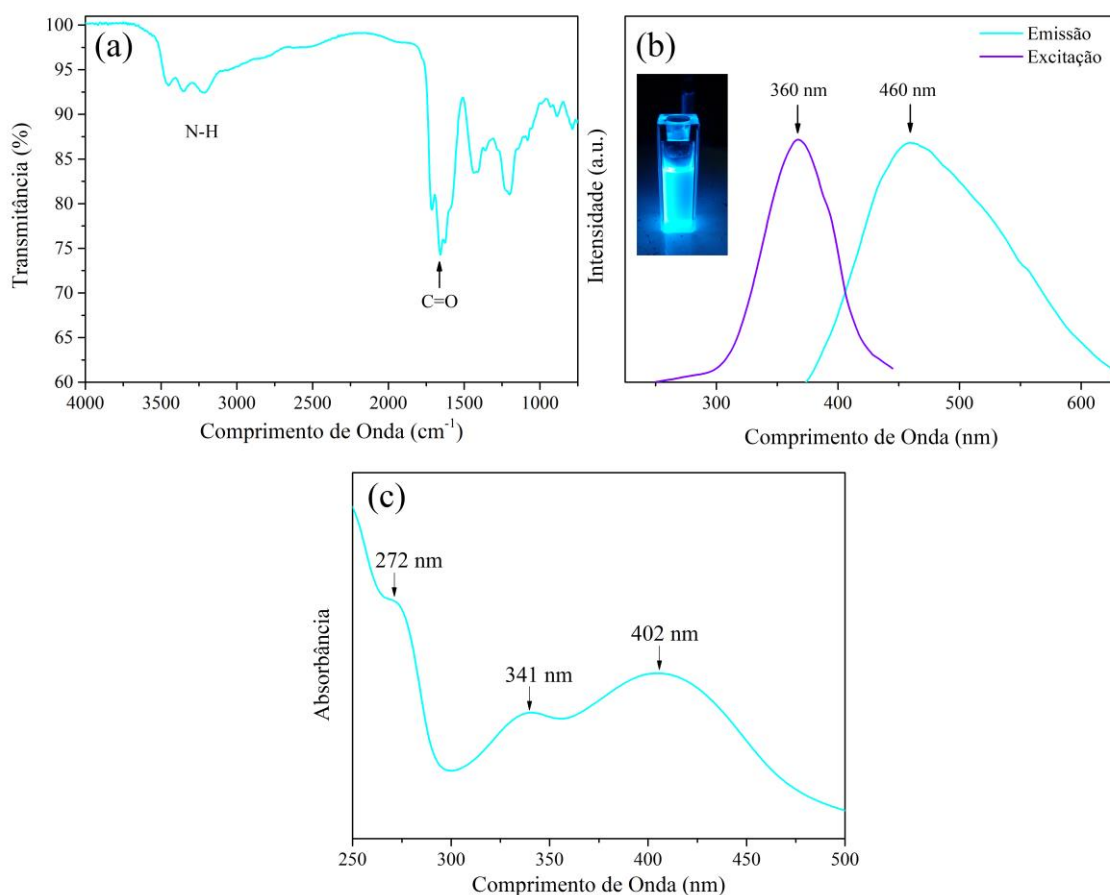


Figura 13. Espectros de (a) FTIR, (b) emissão/excitação, e (c) UV-VIS do sensor **1S** (inserção: imagem de cubeta contendo **1S** excitado à 365 nm).

5.1.2. Sensores **2S** e **3S**

Utilizando o arquivo CIF fornecido pelos autores^{57,58}, a fase das estruturas sintetizadas foram comparadas com a literatura. O difratograma do **2S** (**Figura 14a**) apresenta picos finos correspondentes com as posições esperadas para a fase $[\text{Eu}_2(\text{BDC})_3(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot (\text{H}_2\text{O})_2$. Da maneira análoga o difratograma do **3S** (**Figura 14b**) apresenta os picos similares aos valores teóricos para $[\text{Tb}(\text{BTC})]_n$. Como observado nas **Figuras 14c** e **14d**, os espectros de excitação dos sensores **2S** e **3S** mostram bandas largas centradas em 300 nm ($\lambda_{\text{em}} = 615$ e 544 nm, respectivamente) referente à transição $\pi\text{-}\pi^*$ do ligante. Adicionalmente, **2S** apresenta picos estreitos associados às transições $f\text{-}f$ do estado ${}^7\text{F}_0$ para os estados ${}^5\text{D}_4$, ${}^5\text{G}_6$ e ${}^5\text{L}_6$ do íon Eu^{3+} , já o sensor **3S** apresenta as transições ${}^5\text{L}_j \leftarrow {}^7\text{F}_6$ ($j = 9-10$) e ${}^5\text{G}_j \leftarrow {}^7\text{F}_6$ ($j = 5-6$), associadas ao íon Tb^{3+} . O espectro de emissão de **2S** apresenta as transições ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_j$ ($j = 0-5$) características do Eu^{3+} (**Figura 14c**), com destaque para a transição em 615 nm

($^5D_0 \rightarrow ^7F_2$) associada à emissão de cor vermelha do material (inserção na **Figura 14c**). Com relação ao **3S**, o espectro de emissão (**Figura 14d**) revela transições $^5D_4 \rightarrow ^7F_j$ ($j = 6-2$) associadas ao íon Tb^{3+} , destacando a típica transição $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$ (544 nm) associada à coloração verde típica (inserção na **Figura 14d**). Os resultados indicam que os sensores **2S** e **3S** também foram corretamente sintetizados.

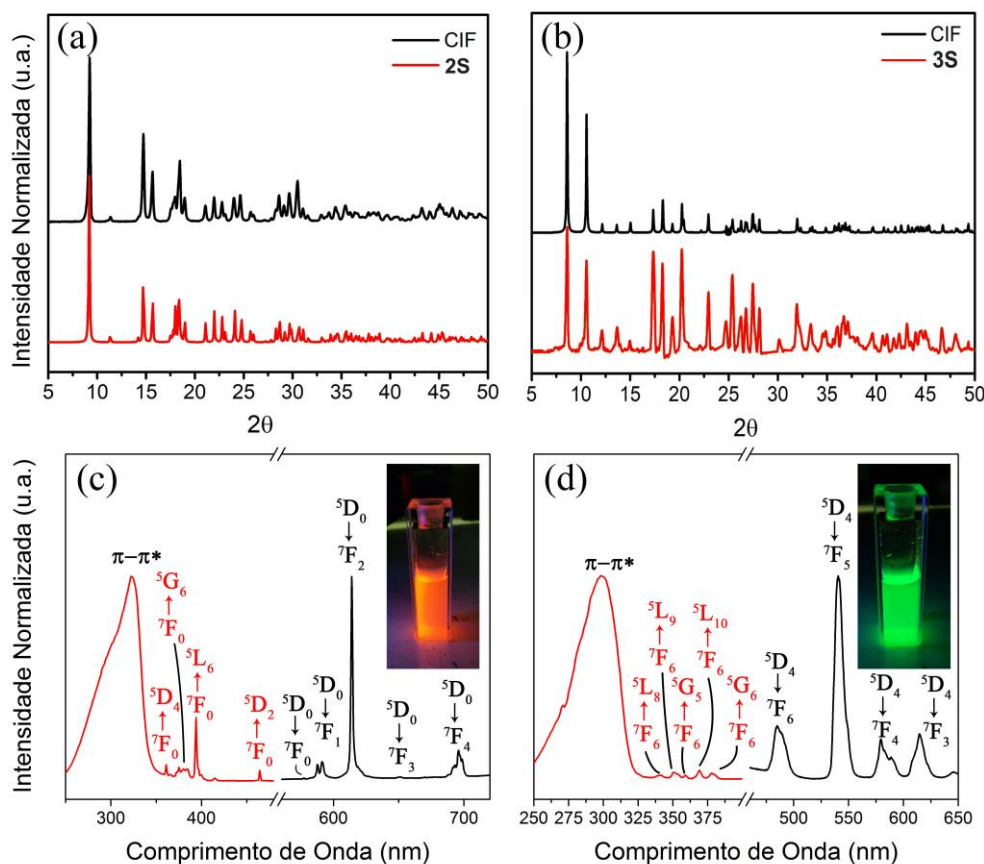


Figura 14. Difratogramas dos sensores (a) **2S** e (b) **3S** (medidas obtidas vs. medidas teóricas da CIF). Espectros de excitação (vermelho) e emissão (preto) dos sensores (c) **2S** e (d) **3S** (Inserções: imagens das cubetas contendo **2S** e **3S**, excitados em 254 nm).

5.2. Investigação dos mecanismos de supressão

É importante destacar que os sensores **2S** e **3S**, por serem suspensões, apresentam alto espalhamento de luz o que dificulta a reprodutibilidade das medidas de fluorescência. Em função disso, o sensor **1S** foi escolhido como modelo para os experimentos iniciais, já que esse sistema é totalmente solúvel em água e não apresenta problemas de espalhamento. Outro ponto que torna esse sensor interessante para os testes é a presença de aminas livres funcionais na superfície. De acordo com Nagarkar *et al.*²⁸, Niu *et al.*⁵⁶ e

Joarder *et al.*⁷⁵, esses grupos na superfície do sistema se ligam eletrostaticamente ao fenol do PA, favorecendo a transferência de elétrons pelo mecanismo de PET. Como consequência, é esperado um aumento considerável na seletividade do sensor **1S** em relação aos NACs que contém o grupo fenol.

Inicialmente, avaliou-se a eficiência dos NACs na supressão de luminescência do **1S** em concentração fixa de $4 \cdot 10^{-5}$ mol/L, usando o experimento padrão de uma cubeta (seção 4.5.1). A **Figura 15** mostra o efeito de redução da intensidade nos espectros de emissão do sensor **1S** em diferentes concentrações de PA (**15a**), NA (**15b**) e TNT (**15c**). Como mostrado na **Figura 16a**, o TNT apresentou o menor valor de porcentagem de supressão com apenas $0,65 \pm 0,1\%$. Entretanto, os compostos PA e NA mostraram porcentagens de supressão maiores, com os valores $52,3 \pm 1,6\%$ e $38,1 \pm 2,1\%$, respectivamente. As curvas de Stern-Volmer apresentaram um ajuste linear (segundo a equação 11) como mostram as **Figuras 16b**, **16c** e **16d**. Em todos os ajustes lineares os valores de coeficiente R^2 foram superiores à 0,999, indicando que o modelo descreve satisfatoriamente os valores. As constantes de Stern-Volmer (K) obtidas para PA e TNT foram de $0,25 \text{ M}^{-1}$ e $0,002 \text{ M}^{-1}$, respectivamente. Esses valores foram considerados próximos aos reportados por Niu *et al.*⁵⁶ ($0,33 \text{ M}^{-1}$ e $0,006 \text{ M}^{-1}$).⁵⁶ O maior destaque está para o NA que obteve um K de $0,16 \text{ M}^{-1}$, de ordem comparável ao K obtido para o PA. Mesmo que menor, o valor observado para NA contradiz as expectativas propostas por Niu *et al.*⁵⁶, que destaca a alta seletividade do **1S** para PA. Como mencionado anteriormente, essa seletividade foi atribuída à presença de ligações entre aminas de **1S** e o fenol do PA. Entretanto, os resultados obtidos indicam que essas ligações podem não ser determinantes para redução da luminescência, já que o NA não possui grupos hidroxilas.

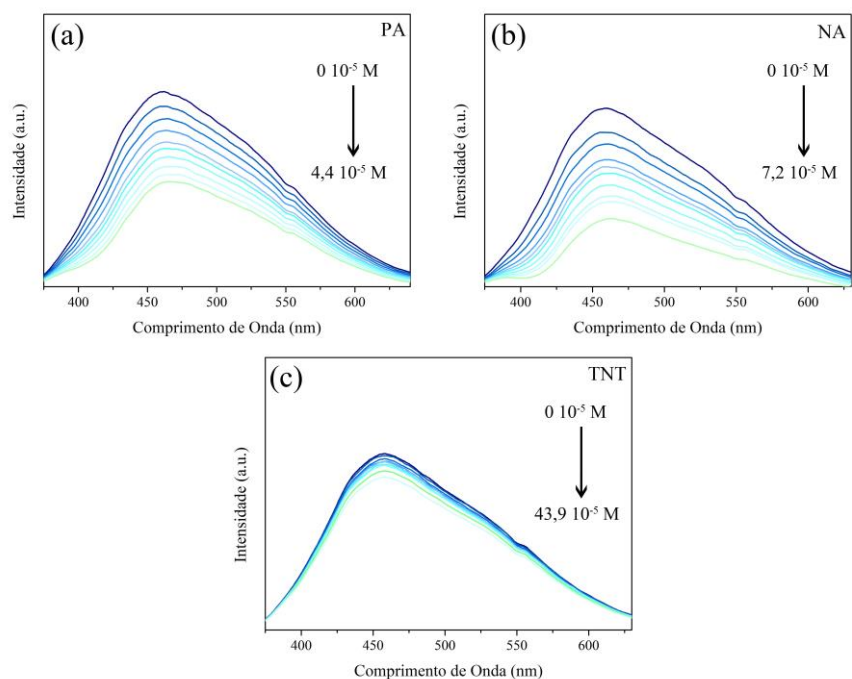


Figura 15. Diminuição da luminescência nos espectros de emissão do sensor **1S** em função do aumento de concentração dos analitos (a) PA, (b) NA, e (c) TNT.

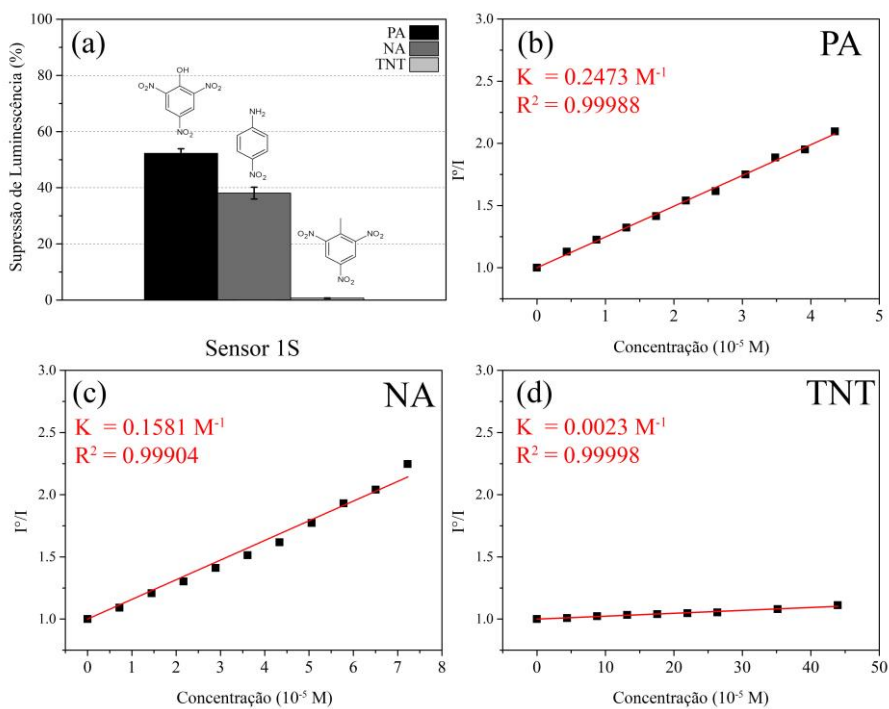


Figura 16. (a) Porcentagem de redução de luminescência do **1S** na presença de $4 \times 10^{-5} \text{ M}$ de diferentes NACs ($\% \text{ de redução} = 100 \times (1 - I/I^0) \%$); e gráficos de Stern-Volmer para **1S** na presença de (b) PA, (c) NA, e (d) TNT.

Para investigar mais profundamente o **1S**, foi estudado separadamente cada possível mecanismo responsável pela diminuição de luminescência: *quenching* estático, *quenching* dinâmico, e IFE. Primeiramente, avaliou-se à possibilidade da presença do mecanismo de RET no sistema. Para que esse mecanismo seja possível, é necessário que haja a sobreposição entre a banda de absorção do analito e a banda de emissão do sensor⁴⁷ Na **Figura 17a** são mostrados os espectros de emissão do **1S** (azul) e de absorção do PA, NA e TNT. Como observado a banda de emissão do sensor está posicionada em uma região de menor energia que as bandas de absorção dos NACs. Isso indica que a transferência não é favorável e que o RET é bastante improvável entre **1S** e os NACs testados.^{5,60} Também foi analisada a posição das bandas de emissão dos sensores **2S** (vermelho) e **3S** (verde) e verificou-se que para estes sistemas o RET também não é provável, visto que as bandas de emissão também se localizam em uma região de menor energia.

Para avaliar a existência de *quenching* estático, procurou-se por mudanças significativas nos espectros de absorção, como deslocamentos ou mudanças no perfil espectral da mistura sensor-analito, pois estas são fortes indicativos de novos estados fundamentais e/ou complexos.⁹¹⁻⁹³ Na **Figura 17b**, observa-se que a soma dos espectros de absorção do **1S** e do PA (linha tracejada) se ajustam perfeitamente ao espectro da mistura **1S** + PA (linha preta). A ausência de qualquer alteração permite inferir que não há formação de complexos no estado fundamental, sugerindo também a ausência de *quenching* estático. O mesmo pode ser observado para NA (**Figura 17c**) e TNT (**Figura 17d**).

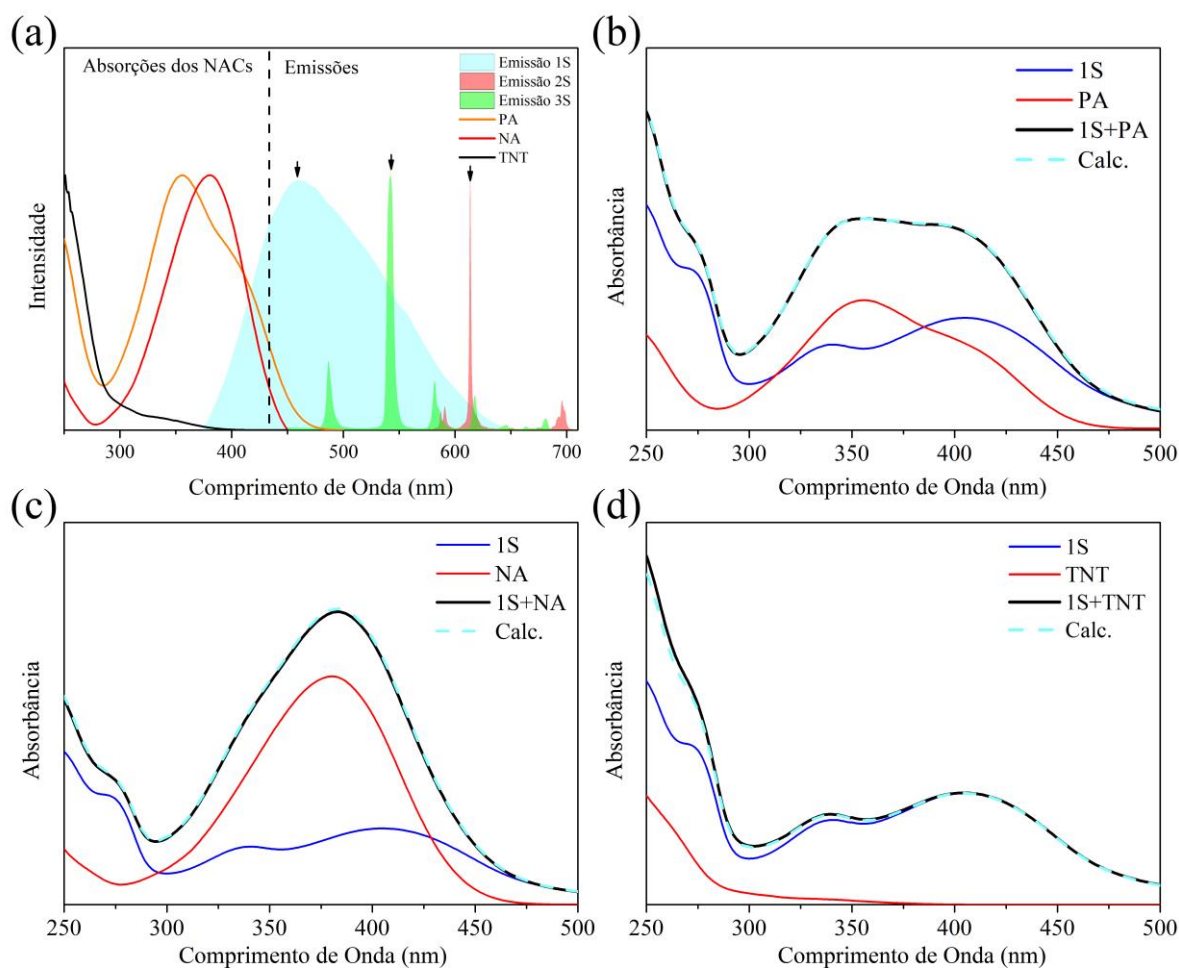


Figura 17. (a) Espectros de emissão dos sensores **1S** (ciano), **2S** (vermelho) e **3S** (verde), além dos espectros UV/VIS do PA (laranja), NA (Vermelho) e TNT (preto). (b) Espectros UV/VIS do sensor **1S**, na ausência e na presença dos NACs: (b) PA, (c) NA, e (d) TNT – a linha tracejada representa a combinação linear dos espectros de **1S** e do respectivo NAC.

O *quenching* dinâmico foi então avaliado. Para isso, foram realizadas medidas de decaimento de fluorescência, na presença e ausência dos NACs. No caso de *quenching* dinâmico, o fluoróforo deve ter seu tempo de vida reduzido de forma proporcional ao aumento da concentração do analito. Nas **Figura 18** são apresentadas as curvas de decaimento obtidas para **1S** em diferentes concentrações de PA (**Figura 18a**), NA (**Figura 18b**) e TNT (**Figura 18c**). As curvas medidas para **1S** puro foram ajustadas como monoexponenciais, com tempo de vida equivalente a 9,97 ns e, mesmo após a adição dos NACs, esses valores não tiveram significativas variações. Como resultado, infere-se que o *quenching* dinâmico pode também não ser responsável pela redução de luminescência.

Com base na relação de Lambert-Beer (Equação 11) a contribuição de IFE em um sistema também pode ser avaliada de acordo com a equação:

$$A = \varepsilon c d \quad \text{Equação 11}$$

Onde A é a absorvância, c é a concentração do analito, ε é o coeficiente de extinção molar, e d é o caminho óptico. Dessa forma, a redução do caminho óptico de 1 cm para de 1 mm (seção 4.5.2) é suficiente para reduzir o efeito da absorção (IFE) em 10 vezes. Se isto ocorrer o IFE deve se tornar irrelevante. Nas **Figuras 18d-18f** foram comparados os gráficos de Stern-Volmer obtidos por medidas usando (i) cubeta padrão 1-cm, (ii) cubeta 1 mm, e (iii) tempos de vida (τ^o/τ). Os gráficos foram ajustados linearmente e todos os R^2 foram superiores à 0,999. Primeiramente, as constantes K encontradas para cubeta 1-mm (vermelho) e τ^o/τ (preto) mostraram valores muito próximos para PA (0,009 M^{-1} e 0,005 M^{-1} , respectivamente), NA (0,002 M^{-1} e 0,003 M^{-1} , respectivamente), e TNT (0,002 M^{-1} e 0,002 M^{-1} , respectivamente). A similaridade entre esses valores confirma uma pequena contribuição de *quenching* dinâmico no sistema. Entretanto, destaca-se a grande divergência entre os valores de K obtidos por “cubeta 1-mm” / “tempo de vida” e os medidos em cubeta padrão 1-cm (0,25 M^{-1} para PA, 0,16 M^{-1} para NA, e 0,002 M^{-1} para TNT), mostradas pelos pontos e reta em azul na **Figura 18d-18f**. Devido a essa grande diferença é plausível pensar que os mecanismos de *quenching* em **1S** são secundários e têm pouca relevância para a supressão de luminescência e que na verdade o IFE é mais importante no processo. Adicionalmente, é importante notar que, nas medidas de cubeta 1-mm e τ^o/τ , o PA apresenta um pequeno aumento em relação aos outros NACs, mostrando que pode haver uma maior afinidade entre o sensor e PA, mas que não oferece significativo aumento de seletividade.

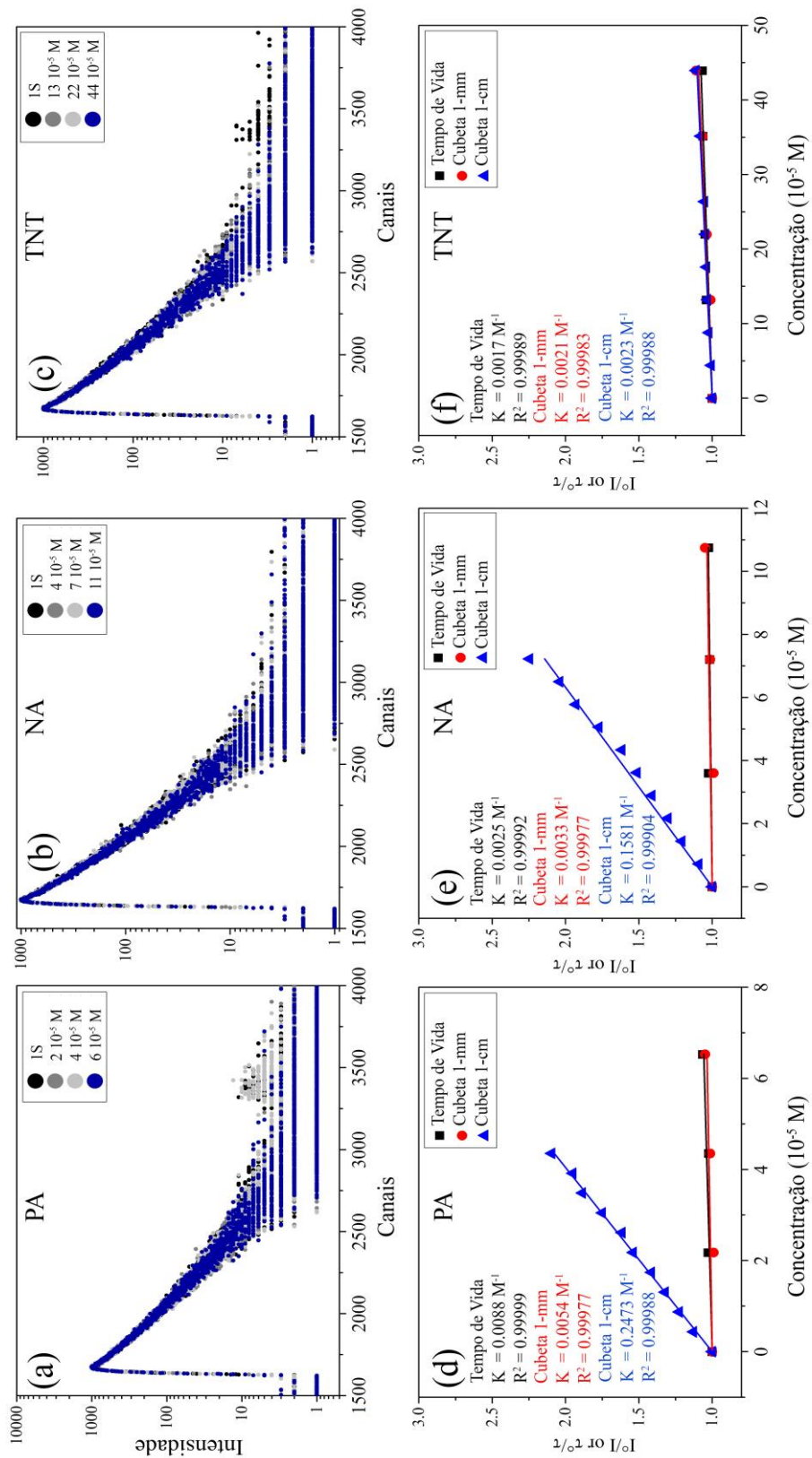


Figura 18. Curvas de decaimento radiativo para o sensor 1S em diferentes concentrações de (a) PA, (b) NA e (c) TNT; e plots de Stern-Volmer para 1S nos experimentos de tempo de vida, cubeta 1-mm e cubeta 1-cm, para (d) PA, (e) NA e (f) TNT.

Como os resultados apontam para irrelevância do PET para diminuição da luminescência, um estudo mais aprofundado do IFE foi elaborado para o sensor **1S**. A intensão aqui é evidenciar ferramentas, já presentes na literatura, que auxiliem pesquisadores a atribuir corretamente os mecanismos de supressão.

Primeiramente, a equação de correção de Parker (equação 10) foi utilizada nas medidas obtidas para **1S**. Essa equação descreve fenômenos de absorção, tanto na região de excitação (IFE primário), quanto na região de emissão (IFE secundário). Entretanto, a literatura destaca que essa equação pode ser simplificada quando a absorção em qualquer uma das regiões é inferior a 0,05.⁶⁰ Na **Figura 19a** são apresentados os espectros UV/VIS do PA, NA, e TNT na concentração de $4 \cdot 10^{-5}$ M, além de destacar os comprimentos de onda de excitação e emissão (linhas verticais azuis), e o limite de absorção - 0,05 (tracejado horizontal). Como observado, nenhum dos NACs apresentaram absorção acima de 0,05 na região de excitação (360 nm), ao contrário da região de emissão (460 nm). Assim, a equação 9 foi simplificada para desprezar o valor de IFE secundário e a equação 10 foi usada na correção das intensidades medidas.

Usando essa equação, novas curvas de Stern-Volmer corrigidas foram criados e comparados com os dados sem correção (**Figuras 19b-19d**). Valores de concentração de NAC, intensidade aferida na ausência (I°) e presença de NACs (I), intensidade corrigida (I_{cor}), fator de correção (η), e absorção do NAC em 360 nm (A_{ex}), usados para criar os plots de Stern-Volmer, estão disponíveis nas **Tabelas 2, 3, e 4**. Como mostrado nas **Figuras 19b e 19c**, as medidas corrigidas para PA e NA apresentam grande divergência em relação às sem correção. Apenas o TNT (**Figura 19d**), por apresentar baixa absorbância, não mostra grandes variações em relação às medidas iniciais. As curvas ajustadas linearmente ($R^2 > 0,999$) apresentaram baixos valores de constante K_{cor} (K corrigido) para PA ($0,002 \text{ M}^{-1}$) e NA ($0,004 \text{ M}^{-1}$), e TNT ($0,002 \text{ M}^{-1}$), de maneira análoga aos resultados obtidos em cubeta 1-mm e τ°/τ .

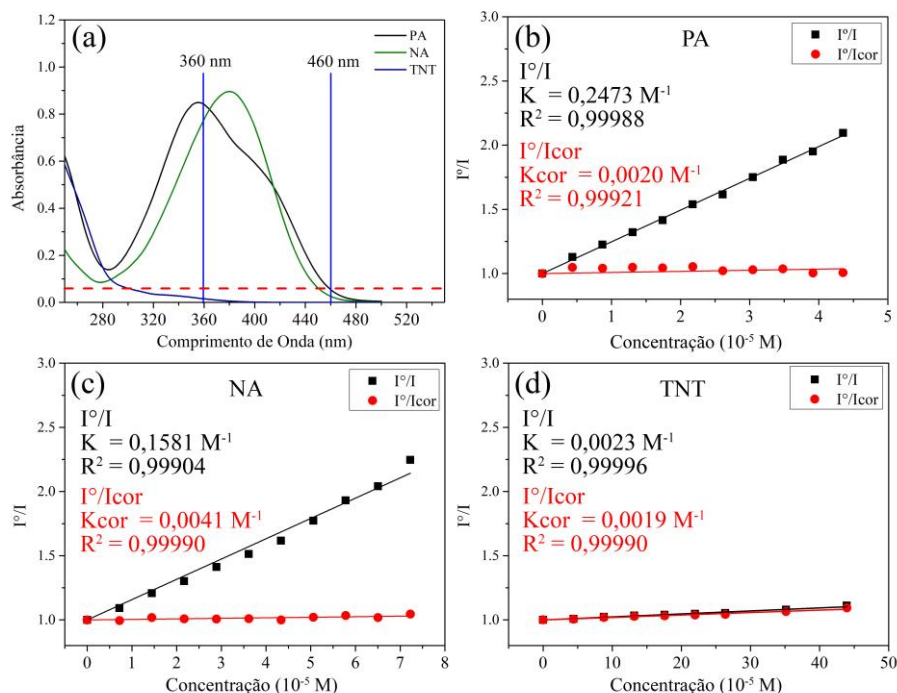


Figura 19. (a) Espectros UV/VIS dos NACs destacando o λ de emissão (460 nm) e excitação (360 nm) do sensor **1S** (tracejado vermelho destaca o limite de absorção 0,05 usado na equação 10); e plots de Stern-Volmer de **1S**, com e sem correção das intensidades (equação 11), para (b) PA, (c) NA, e (d) TNT.

Tabela 2. Valores de concentração de NAC, área integrada de emissão na ausência (I°) e presença de NAC (I), intensidade corrigida (I_{cor}), fator de correção (η), e absorção do NAC em 360 nm (A_{ex}), usados para calcular os parâmetros de IFE e os plots de Stern-Volmer de **1S** e PA.

Concentração (10^{-5} M)	I°	I	I°/I	Abs	η	I_{cor}	I°/I_{cor}
0.0	1.95E+06	1.95E+06	1	4.56E-04	1.00071	1.95E+06	0.9993
0.4	1.95E+06	1.73E+06	1.12838	0.06567	1.07771	1.86E+06	1.04702
0.9	1.95E+06	1.59E+06	1.22512	0.14477	1.17612	1.87E+06	1.04166
1.3	1.95E+06	1.48E+06	1.32167	0.2096	1.26088	1.86E+06	1.04821
1.7	1.95E+06	1.38E+06	1.41474	0.27874	1.35525	1.87E+06	1.0439
2.2	1.95E+06	1.27E+06	1.53917	0.35245	1.46032	1.85E+06	1.054
2.6	1.95E+06	1.21E+06	1.61604	0.43358	1.58117	1.91E+06	1.02205
3.0	1.95E+06	1.12E+06	1.74966	0.51091	1.70127	1.90E+06	1.02844
3.5	1.95E+06	1.04E+06	1.88563	0.58474	1.82023	1.88E+06	1.03593
3.9	1.95E+06	1.00E+06	1.95051	0.65832	1.94279	1.94E+06	1.00397
4.4	1.95E+06	931530.123	2.09551	0.73898	2.08153	1.94E+06	1.00672

* ($I_{cor} = \eta \times I$).

Tabela 3. Valores de concentração de NAC, área integrada de emissão na ausência (I°) e presença de NAC (I), intensidade corrigida (I_{cor}), fator de correção (η), e absorção do NAC em 360 nm (A_{ex}), usados para calcular os parâmetros de IFE e os plots de Stern-Volmer de **1S** e NA.

Concentração (10^{-5} M)	I°	I	I°/I	Abs	η	I_{cor}	I°/I_{cor}
0.0	2.05E+06	2.05E+06	1	-8.34E-06	1.00017	2.05E+06	0.99983
0.7	2.05E+06	1.88E+06	1.09087	0.08182	1.09735	2.06E+06	0.9941
1.4	2.05E+06	1.70E+06	1.20707	0.15265	1.18623	2.01E+06	1.01757
2.2	2.05E+06	1.57E+06	1.30206	0.23208	1.29111	2.03E+06	1.00849
2.9	2.05E+06	1.45E+06	1.41123	0.31136	1.40118	2.03E+06	1.00717
3.6	2.05E+06	1.35E+06	1.51336	0.3798	1.50046	2.03E+06	1.0086
4.3	2.05E+06	1.27E+06	1.61662	0.45782	1.61831	2.05E+06	0.99896
5.1	2.05E+06	1.16E+06	1.77194	0.53361	1.7374	2.01E+06	1.01988
5.8	2.05E+06	1.06E+06	1.93001	0.61255	1.86608	1.98E+06	1.03426
6.5	2.05E+06	1.00E+06	2.04009	0.69455	2.00457	2.01E+06	1.01772
7.2	2.05E+06	912371.9	2.24599	0.77673	2.14797	1.96E+06	1.04563

* ($I_{cor} = \eta \times I$).

Tabela 4. Valores de concentração de NAC, área integrada de emissão na ausência (I^0) e presença de NAC (I), intensidade corrigida (I_{cor}), fator de correção (η), e absorção do NAC em 360 nm (A_{ex}), usados para calcular os parâmetros de IFE e os plots de Stern-Volmer de **1S** e TNT.

Concentração (10^{-5} M)	I^0	I	I^0/I	Abs	η	I_{cor}	I^0/I_{cor}
0.0	2.17E+06	2.17E+06	1	-2.57E-04	0.99988	2.17E+06	1.00012
4.4	2.17E+06	2.15E+06	1.00704	0.00123	1.0016	2.15E+06	1.00543
8.8	2.17E+06	2.12E+06	1.0228	0.00279	1.0034	2.13E+06	1.01933
13.2	2.17E+06	2.10E+06	1.03311	0.00423	1.00506	2.11E+06	1.02791
17.6	2.17E+06	2.08E+06	1.03916	0.00596	1.00706	2.10E+06	1.03188
22.0	2.17E+06	2.07E+06	1.0471	0.00772	1.00909	2.09E+06	1.03766
26.4	2.17E+06	2.06E+06	1.05342	0.009	1.01058	2.08E+06	1.04239
35.2	2.17E+06	2.01E+06	1.07955	0.01214	1.01422	2.04E+06	1.06441
43.9	2.17E+06	1.95E+06	1.1115	0.01476	1.01727	1.98E+06	1.09263

* ($I_{cor} = \eta \times I$).

Uma das características do IFE é o fato de que esse mecanismo não depende de interações efetivas entre o fluoróforo e o analito. Esse conceito foi suficiente para propor um experimento simples para detecção de IFE utilizando duas cubetas. Como detalhado na seção 4.5.3, o experimento foi adaptado colocando uma segunda cubeta (2) em frente ao feixe de excitação, enquanto uma solução contendo o sensor permaneceu na cubeta (1) voltada para o detector. Espectros de emissão foram adquiridos adicionando diferentes concentrações de NAC na cubeta 2. Nesse cenário, qualquer redução na intensidade de emissão é sem dúvida proveniente de IFE devido ao bloqueio do feixe excitação pela absorção do analito. Na **Figura 20a** e **20b**, imagens do experimento de dupla-cubeta revelam uma grande redução na emissão do sensor **1S** após a adição de PA (4×10^{-5} M) na cubeta 2. Adicionalmente, as curvas de Stern-Volmer obtidas com uma e duas cubetas foram comparados na **Figura 21a** (PA), **21b** (NA), e **21c** (TNT). Cada medida foi feita em triplicata e as regressões lineares apresentaram $R^2 > 0,999$. Observa-se um pequeno aumento na inclinação das medidas de dupla-cubeta em função do aumento da concentração. Entretanto, é evidente uma alta correlação entre os pontos obtidos nos dois experimentos. Isso pode ser evidenciado pois a diferença entre os valores de intensidade entre os dois experimentos não ultrapassa 6,0%. Outra evidência é que as constantes K nos dois experimentos apresentam valores muito próximos: $0,25 \text{ M}^{-1}$ e $0,27 \text{ M}^{-1}$ (PA); $0,16 \text{ M}^{-1}$ e $0,17 \text{ M}^{-1}$ (NA); $0,002 \text{ M}^{-1}$ e $0,003 \text{ M}^{-1}$ (TNT) - uma e duas cubetas, respectivamente. Todos esses experimentos mostram inequivocamente que IFE é o principal mecanismo de supressão da luminescência no sensor **1S**.

Após realizada a prova de conceito para determinar os mecanismos de **1S**, os experimentos de uma e duas cubetas foram aplicados aos sensores **2S** e **3S**. Os dois experimentos foram realizados medindo as intensidades de fluorescência na concentração

4×10^{-5} M de NAC. Na **Figura 20c-f**, observa-se grande redução de luminescência para os sensores **2S** e **3S** quando adicionado PA na cubeta 2, de maneira similar ao observado para **1S**.

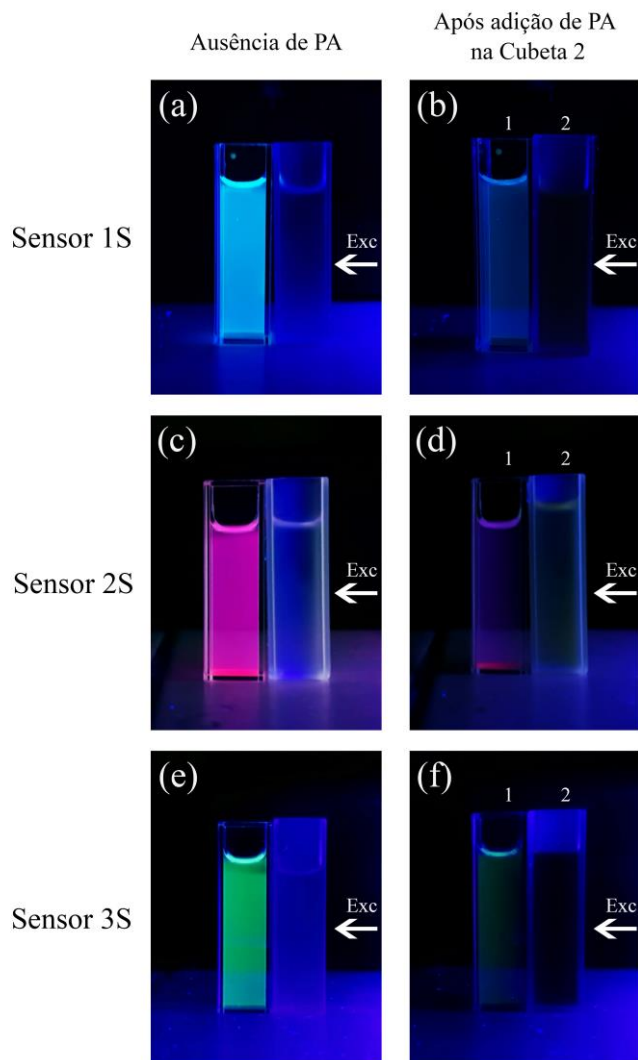


Figura 20. Imagens do experimento de duas cubetas: os sensores (a-b) **1S**, (c-d) **2S**, e (e-f) **3S** são adicionados à cubeta 1 enquanto 4×10^{-5} M de PA é adicionado à cubeta 2 (imagens a direita) provocando a redução do efeito filtro.

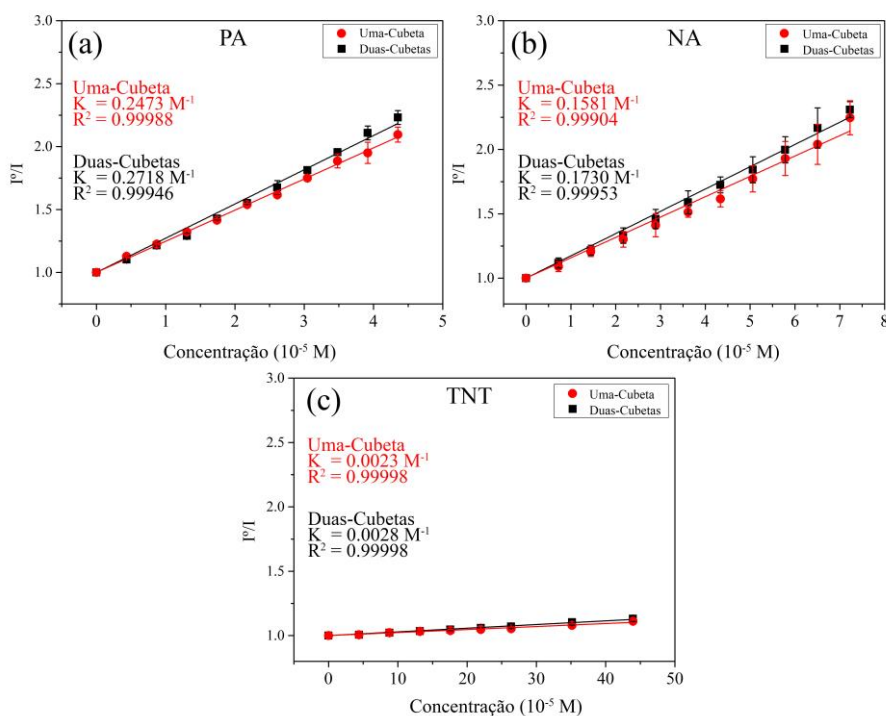


Figura 21. Comparação em entre os Plotes de Stern-Volmer obtidos nos experimentos de uma-cubeta (vermelho) e duas-cubetas (preto) para **1S** na presença dos analitos (a) PA, (b) NA, e (c) TNT (número de replicatas = 3).

A **Tabela 5** compara as porcentagens de supressão obtidas no experimento, e como resultado, valores muito próximos foram encontrados entre os experimentos de uma- e duas-cubetas. Por exemplo, o **2S** mostra diferença entre os dois experimentos de apenas 1,7%, 1,7% e 0,8% (PA, NA e TNT, respectivamente), enquanto o **3S** apresentou 0,2%, 0,5% e 0,8%.

Para somar a análise e entender o comportamento observado, espectros UV/VIS dos NACs foram adquiridos e são mostrados na **Figura 22**. Os espectros mostram que as bandas de absorção, principalmente do PA e NA, coincidem com o comprimento de onda de excitação dos sensores. Quanto maior a absorção nesse ponto, maior a diminuição de luminescência provocada. Esse comportamento pode ser nitidamente observado para **1S**, que possui maior supressão para PA e NA ($55 \pm 2\%$, $42 \pm 1\%$, respectivamente), e está melhor sobreposto que **2S** ($17 \pm 3\%$ e $11 \pm 3\%$, respectivamente) ou **3S** ($19 \pm 2\%$ e $17 \pm 2\%$, respectivamente). É importante notar que o TNT apresentou menor supressão para **1S** nos dois experimentos ($0,7 \pm 0,1\%$ e $0,6 \pm 0,1\%$, uma e duas cubetas, respectivamente), enquanto o sensor **2S** mostrou os maiores ($8 \pm 2\%$ e $9 \pm 1\%$, respectivamente). Como mostra a **Tabela 6**, o coeficiente de extinção (ϵ) para o TNT excitado à 360 nm (**1S**) é $404 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ enquanto em 315 nm (**2S**) é $1040 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, o que também justifica a maior supressão

de **2S** para TNT. Logo, todos os resultados indicam que o IFE também é o principal mecanismo de supressão para **2S** e **3S** ao invés do PET.

Tabela 5. Porcentagens de redução de luminescência do sensor **1S** para diferentes NACs obtidos pelos experimentos de uma- e duas-cubetas.

Experimento	Porcentagem de redução de luminescência (média % e desvio padrão)								
	1S			2S			3S		
	PA	NA	TNT	PA	NA	TNT	PA	NA	TNT
<i>Uma-cubeta</i>	52±2	38±2	0,7±0,1	15±2	13±2	8±2	19±2	17±2	6±2
<i>Duas-Cubetas</i>	55±2	42±1	0,6±0,1	17±3	11±3	9±1	19±2	17±2	7±1

* Todas as medidas correspondem à concentração de $4 \cdot 10^{-5}$ M do NAC; n = 3 (n – número de replicadas).

Tabela 6. Coeficientes de extinção molar (ϵ) em diferentes comprimentos de onda para PA, NA e TNT.

Sensor	Comprimento de Onda (nm)	Coeficiente de Extinção Molar ($M^{-1}cm^{-1}$)		
		PA	NA	TNT
2S	315	8 728	4 880	1 040
3S	324	11 606	6 735	859
1S	360	16 730	15 504	404

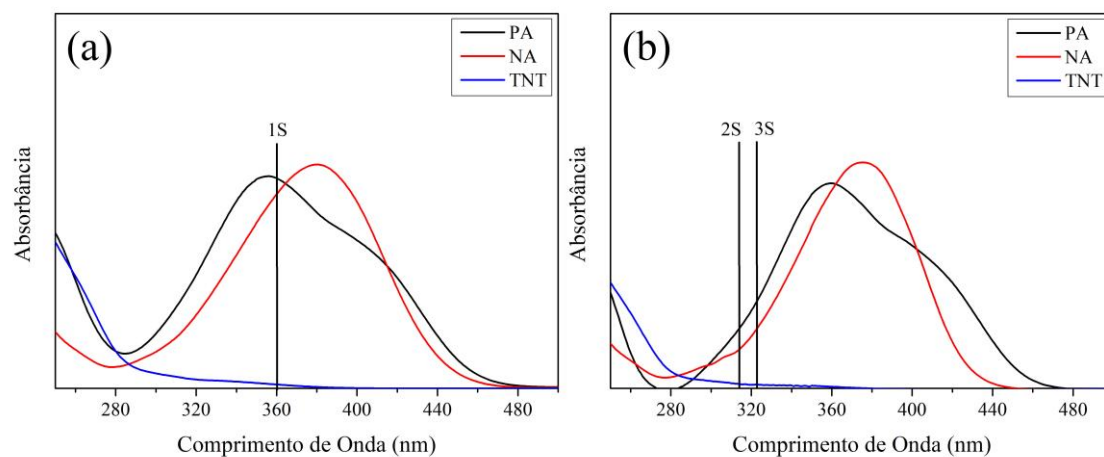


Figura 22. Espectros de absorção dos NACs em (a) água e (b) etanol (linhas verticais representam os λ de excitação de cada sensor).

5.3. Efeito dos Interferentes no IFE

Apesar de não ter um mecanismo de *quenching* (como esperado com base na literatura existente), os sistemas estudados ainda poderiam ser úteis para a utilização forense visada neste trabalho. Apesar da supressão da luminescência ocorrer por efeito filtro, ela poderia ainda ser útil em uma técnica de triagem (*screening tests*), como mencionado nos trabalhos de Shanmugaraju *et al.*⁵¹, Pesenti *et al.*⁵², Taudte *et al.*⁵³ e Zu *et al.*⁵⁴ Para tal, entretanto, é fundamental que interferentes que possam ser encontrados nas mãos não cause redução da luminescência. Por esta razão um conjunto de cinco interferentes foi avaliado.

Para testar a possibilidade de usar o IFE como forma de detectar os NACs – visando a aplicação forense previamente descrita - diferentes interferentes foram testados. Os interferentes escolhidos foram alguns cosméticos que poderiam facilmente ser encontrados em um suspeito (base, loção, *mousse*, hidratante, etc.). Os interferentes foram nomeados como **c-1**, **c-2**, **c-3**, **c-4** e **c-5**, como mostrado na **Tabela 7**.

Tabela 7. Relação de cosméticos utilizados nos testes de interferentes e os respectivos códigos atribuídos.

Interferente Cosmético	Código usado
Mousse La Roche-Posay® Anthelios Unfiant	c-1
Base líquida Boticário® make B	c-2
Loção corporal Body Shop® Maringa	c-3
Creme Hidratante Nívea®	c-4
Creme hidratante Cetaphil®	c-5

Os espectros de UV-Vis dos interferentes são apresentados na **Figura 23a**. Destacam-se as amostras **c-1** e **c-2**, que apresentam consideráveis valores de absorção em regiões próximas à região excitação dos sensores. Medidas de fluorescência foram obtidas para cada solução contendo o sensor e interferente em concentração de 0,05 g/L. Como não é possível determinar a concentração exata dos interferentes dos interferentes, utilizou-se 0,05 g/L (massa de cosmético por volume de água). Como previsto, os interferentes com maior absorção próxima à região de excitação ocasionaram altos percentuais de supressão da luminescência. Por exemplo, **c-1** apresentou percentuais de redução de luminescência equivalentes à $57\pm 3\%$, $57\pm 2\%$, e $57\pm 3\%$, enquanto **c-2** mostrou supressão de $12\pm 1\%$, $31\pm 3\%$ e $24\pm 2\%$, para os sensores **1S**, **2S** e **3S**, respectivamente (**Figura 23b**). Por outro lado, os interferentes **c-3**, **c-4** e **c-5** não apresentaram significativa alterações devido às baixas absorbâncias na região de excitação.

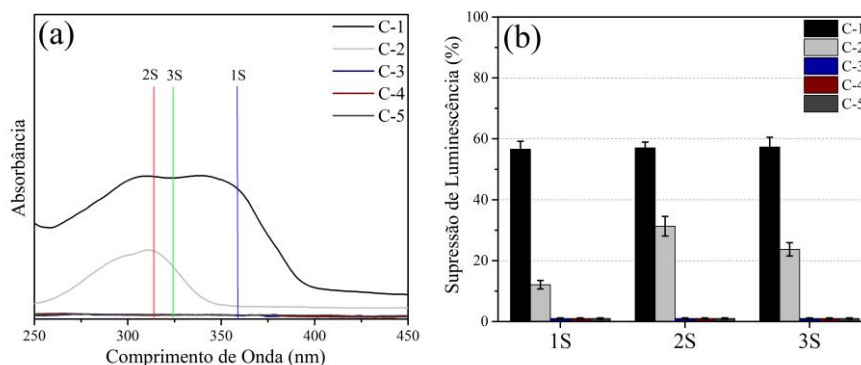


Figura 23. Espectros UV/VIS dos interferentes testados (linhas verticais correspondem aos λ excitação de 1S, 2S e 3S) e (b) porcentagem de redução de luminescência dos sensores na concentração de 0,05 g/L de cada interferente (número de replicatas = 3).

É importante destacar que a literatura reporta alta seletividade para NAC específicos. Dessa forma, os autores de 1S e 3S definem a especificidade dos sensores para PA^{56,58}, enquanto o 2S define como alvo o TNT.⁵⁷ Contudo os testes de seletividade dos artigos mencionados foram realizados com diferentes NACs, sem considerar o espectro de absorção do analito. Na **Figura 24a**, o sensor 1S apresentou 55% de redução na luminescência para c-1 enquanto para PA o sensor apresentou 95%. Analogamente, o sensor 3S apresentou para c-1 uma supressão de 57% enquanto para PA apenas 63% (**Figura 24b**), uma pequena diferença de 6%. Supreendentemente, o sensor 2S não correspondeu às expectativas reportadas por Xu *et al.*⁵⁷ e apresentou maior redução percentual para c-1 (57%) do que para TNT (20%), como mostrado na **Figura 24c**. Com esses dados, fica explícito que qualquer interferente que possua bandas de absorção próximas à excitação podem resultar em falsos-positivos na detecção de explosivos e portanto 1S, 2S e 3S não parecem adequados para o uso em *screening tests*. Esses resultados impactam diretamente a forma como a comunidade científica aborda os sensores luminescentes atualmente, já que o mecanismo de detecção dos sensores tem sido atribuído de forma errônea e que em matrizes complexas há grande susceptibilidade a resultados falsos-positivos.

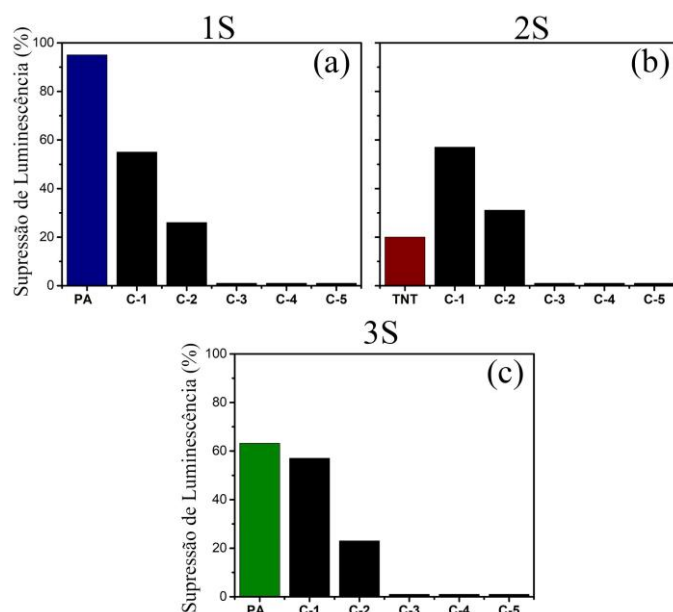


Figura 24. Comparação entre a porcentagem de redução de luminescência provocada pelos interferentes e os analitos alvo reportados pelos autores, para os sensores (a) **1S**, (b) **2S** e (c) **3S**.

6. CONCLUSÃO

Este trabalho teve por objetivo avaliar a viabilidade de alguns sensores luminescentes para a detecção de compostos nitroaromáticos (NACs), visando o uso como uma técnica de triagem em suspeitos de terem manuseado explosivos. Para avaliação da viabilidade, procurou-se em primeiro lugar entender o mecanismo envolvido nestes sensores. Para tal foram testados 3 sistemas sensores *Carbon Dot* (**1S**), $[\text{Eu}_2(\text{BDC})_3(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot (\text{H}_2\text{O})_2$ (**2S**) e $[\text{Tb}(\text{BTC})]_n$ (**3S**) e 3 NACs (ácido pícrico, trinitrotolueno e 4-nitroanilina). Experimentos usando uma-cubeta, cubeta de 1-mm, medidas de tempo de vida e dupla-cubeta foram realizados com **1S** e demonstraram inequivocamente que o efeito filtro interno (IFE) é o principal mecanismo de redução da luminescência nesse sistema. Após a prova de conceito, os sensores **2S** e **3S** foram submetidos ao experimento de duas-cubetas que demonstrou que o IFE é o principal responsável pela redução da luminescência. Nos três casos os mecanismos de PET ou RET são inexistentes ou insignificantes. Em suma, em todos os sensores testados, apesar de haver uma pequena contribuição de *quenching* nos sistemas, o PET desempenha apenas um papel secundário e o IFE é inequivocamente o responsável pela supressão de luminescência.

Mesmo sendo baseado em IFE os sistemas ainda poderiam apresentar potencial para uma identificação preliminar de suspeitos de manuseio de explosivos (NACs). Para avaliar tal potencial, foi testado um conjunto de interferentes, os quais poderiam ser encontrados nas mãos de pessoas comuns (base cosmética, *mousse*, creme hidratante). Os testes mostraram resultados positivos para dois interferentes testados, o que significa que há um sério risco de se obter um resultado falso positivo.

Esses resultados indicam que uma maior atenção deve ser dada para a investigação dos mecanismos de redução da luminescência, especialmente quando uma aplicação específica é pretendida. Muitos trabalhos na literatura não apresentam uma investigação adequada de seus sistemas, o que pode levar a equívocos.

Capítulo II:

Avaliação de Interferentes em Materiais para Coleta de Resíduos Explosivos para Análise por Cromatografia Iônica

1. INTRODUÇÃO

A identificação de explosivos atualmente é um dos principais interesses da perícia forense. Apenas no Brasil, foram registrados 1.579 ataques a caixas eletrônicos utilizando explosivos em 2018.⁹⁴ Paralelamente, 492 casos de explosões a caixas eletrônicos foram registrados na União Europeia, um número 80% maior que os valores aferidos em 2015.⁹⁵ Outro aspecto preocupante é uso de explosivos em ataques terroristas. Em 2016, 40% dos ataques terroristas fizeram uso de explosivos e provocaram a morte de 142 pessoas.⁹⁶ Sendo assim, há uma crescente demanda pelo desenvolvimento de métodos de identificação de resíduos de explosivo, os quais sejam confiáveis e de acordo com a rotina forense.

Enquanto a identificação de explosivos não detonados (pré-explosão) é de suma importância para medidas antiterrorismo e/ou segurança pública, a identificação de explosivos pós detonação (pós-explosão) ajuda os investigadores a distinguir explosões acidentais e criminosas, bem como estabelecem relações entre suspeitos e o cenário de crime. Entretanto, a coleta e interpretação desses resíduos não é uma tarefa trivial e as dificuldades têm diferentes aspectos. Primeiramente, é necessário garantir uma amostra representativa, visto que existe a possibilidade de encontrar quantidades muito baixas de analito (< 1 mg/L). Em seguida, a composição dos analitos muda muito de um caso para outro e as matrizes são bastante complexas. Por fim, uma explosão é um fenômeno não controlável e heterogêneo. Essa soma de variáveis pode levar a laudos inconclusivos, falso-negativos ou falsos-positivos. Embora todos os três aspectos representem sérios problemas para a perícia forense, o pior caso é o falso-positivo, que pode levar à acusação de inocentes.

O uso de explosivos primários (*e.g.* TATP^h, PETNⁱ, TNT, RDX^j, HMX^k, NG^l, NC^m) é rigidamente fiscalizado e regulamentado. Entretanto, dispositivos improvisados baseados em explosivos inorgânicos podem ser fabricados de maneira fácil, com baixo custo e com ingredientes comprados legalmente, tornando-os ideais para crimes e ataques

^h *triacetone triperoxide*

ⁱ *Pentaerythritol tetranitrate*

^j *trinitro-1,3,5-triazacyclohexane*

^k *1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetraza-cyclooctane*

^l *nitroglycerin*

^m *nitrocellulose*

terroristas. Em 2005, Kuila *et al.*⁹⁷ realizou análises de composição em aproximadamente 1000 casos de resíduos e pós-explosão. As amostras foram analisadas pelo Laboratório Central de Ciência Forense da Índia, durante um período de 10 anos. Primeiramente, a presença de explosivos primários foi realizado por CCDⁿ, CLAE^o e CG-EM^p. Posteriormente, a presença de sais inorgânicos foi avaliada por Cromatografia Iônica e EDS^q. Os autores relatam a notória ausência de explosivos primários em todas as amostras testadas, e destacam o uso de explosivos inorgânicos pelos criminosos. Os principais componentes encontrados foram explosivos com base em cloratos, nitratos e permanganatos, como mostra a **Tabela 1**.

Tabela 1. Composição de resíduos de pós-explosão encontrados em diferentes casos (adaptado de Kulia *et al.*⁹⁷)

	Composição Determinada	Número de Casos (%)
Clorato		
1	ClO ₃ ⁻ + As ₂ S ₃	14,0
2	ClO ₃ ⁻ + As ₂ S ₃ + S	7,4
3	ClO ₃ ⁻ + S	3,8
4	ClO ₃ ⁻ + As ₂ S ₃ + Al	2,8
5	ClO ₃ ⁻ + Al + S	2,2
6	ClO ₃ ⁻ + Sb ₂ S ₃	0,5
	Total	30,7
Nitrato		
7	NO ₃ ⁻ + S	7,2
8	NO ₃ ⁻ + S + Al	6,4
9	NO ₃ ⁻ + As ₂ S ₃ + Al	4,5
10	NO ₃ ⁻ + C (carvão) + S + Al	3,8
11	NO ₃ ⁻ + As ₂ S ₃	1,5
12	NO ₃ ⁻ + S + P	1,3
13	KNO ₃ ⁻ + S + C	1,2
	Total	25,9
Nitrato + Clorato		
14	ClO ₃ ⁻ + NO ₃ ⁻ + S	11,5
15	ClO ₃ ⁻ + NO ₃ ⁻ + As ₂ S ₃ + S	7,9
16	ClO ₃ ⁻ + NO ₃ ⁻ + As ₂ S ₃	6,9
17	ClO ₃ ⁻ + NO ₃ ⁻ + S + Al	4,9
18	ClO ₃ ⁻ + NO ₃ ⁻	3,7
19	ClO ₃ ⁻ + NO ₃ ⁻ + S + As ₂ S ₃ + Al	2,8
	Total	37,7
Permanganato		
21	KMnO ₄ + Glicerina	3,2
22	KMnO ₄ + NO ₃ ⁻ + S	2,5
	Total	5,7

Para a análise de explosivos inorgânicos, uma das técnicas mais utilizadas é a Cromatografia Iônica. Essa técnica possui alta sensibilidade, precisão quantitativa e fácil

ⁿ Cromatografia em Camada Delgada

^o Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

^p Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massas

^q Espectroscopia de raios-X por Dispersão de Energia

interpretação de dados, além de gerar perfis químicos que diferenciam resíduos de pré- e pós-explosão.⁹⁸ Entretanto, um dos principais problemas na identificação desses resíduos é a composição de explosivos inorgânicos (**Tabela 2**) que apresentam íons tipicamente identificáveis, como cloretos, nitratos, sulfatos, carbonatos, *etc.* Esses íons podem ser facilmente encontrados e, por isso, contaminações por interferentes são uma realidade dentro das investigações. Portanto, é de extrema importância a prevenção de qualquer fonte de contaminação que possa interferir nas análises de explosivos e possam, porventura, dificultar a interpretação de dados.

Tabela 2. Explosivos inorgânicos típicos e íons encontrados em análises de pós-explosão.

Tipo de Explosivo	Composição	Ânions Característicos	Cátions Característicos
ANFO	Nitrato de amônio, óleo combustível	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺
Pólvora Negra	Sais de Nitrato, Enxofre, Carvão	NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , OCN ⁻ , SCN ⁻	Na ⁺ , K ⁺
Pólvora <i>Flash</i>	Sais de Cloratos, enxofre, Alumínio	ClO ₃ ⁻ , ClO ₄ ⁻ , Cl ⁻ , SO ₄ ²⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , OCN ⁻ , SCN ⁻	Na ⁺ , K ⁺
Clorato/açúcar	Sais de Clorato, açúcar	ClO ₃ ⁻ , ClO ₄ ⁻ , Cl ⁻	Na ⁺ , K ⁺
Perclorato/açúcar	Sais de Perclorato, açúcar	ClO ₃ ⁻ , ClO ₄ ⁻ , Cl ⁻	Na ⁺ , K ⁺

Uma dessas fontes de interferentes, muitas vezes negligenciada, são os materiais de coleta e pré-processamento, inerentes à rotina de trabalho dos peritos. Entre os materiais de coleta, encontram-se principalmente hastes de algodão ou derivados (algodão bola, rolo de algodão, *etc.*). Entre os materiais de pré-processamento, os filtros de seringa são normalmente usados para evitar que partículas maiores entrem no CI, danificando a coluna cromatográfica, tornando seu uso indispensável na maioria dos laboratórios. Embora muitos pesquisadores tenham ciência dos problemas envolvendo interferentes nesses materiais, há uma carência na literatura de pesquisas que mostrem efetivamente a influência de interferentes em materiais de coleta.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos Gerais

Este trabalho tem por objetivo avaliar possíveis interferentes presentes em materiais de coleta e pré-processamento de amostras de resíduos de explosão para análise por cromatografia iônica. Estes interferentes são íons que podem levar a resultados inconclusivos ou falso-positivo das análises. Além disso, objetiva-se também avaliar a

viabilidade de remoção dos interferentes dos materiais a partir de um processo de lavagem.

2.2. Objetivos Específicos

- Identificar e quantificar por CI os interferentes presentes em diferentes materiais usados na rotina forense (*swabs* de algodão e filtros de seringa);
- Identificar e quantificar por CI os interferentes presentes em diferentes materiais comerciais (algodão bola, rolo de algodão, disco de algodão e hastes de algodão);
- Avaliar a remoção de interferentes dos materiais de coleta (de uso forense e comercial) usando um procedimento de lavagem;

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Explosão e Explosivos

Uma explosão pode ser definida como uma grande quantidade de energia liberada em um curto intervalo de tempo, acompanhada de um aumento abrupto de volume. Essa energia pode ser proveniente de gases sob alta pressão, reações nucleares (fissão, fusão, etc.) ou do produto de uma reação química, chamados de explosivos químicos.⁹⁹ Os explosivos químicos são substâncias capazes de armazenar energia potencial química para provocar uma explosão, produzindo luz, calor, som e pressão.^{100,101} Em geral, esses compostos apresentam em suas estruturas grupos funcionais que favorecem reações de oxirredução e, conseqüentemente, liberação de energia. De acordo com a classificação de Plets, esses grupos funcionais, também chamados de explosóforos, podem ser divididos em oito categorias, como mostra a **Tabela 3**.⁹⁹⁻¹⁰¹

Tabela 3. Classificação de explosivos segundo os diferentes grupos explosóforos (adaptado de Urbanski¹⁰²)

Grupos Explosóforos	Nome	Exemplos
-NO ₂ e -ONO ₂	Nitrito/Nitrato	RDX ^r , TNT ^s , PA ^t , NH ₄ NO ₃ , KNO ₃ , NaNO ₃
-N=N- e -N=N=N-	Azo/Azida	AgN ₃ , Pb(N ₃) ₂ , NH ₄ N ₃
-OCIO ₂ e -OCIO ₃	Clorato/Perclorato	NaClO ₃ , KClO ₃ , NaClO ₄ , KClO ₄ , FOCIO ₃
-C=N-O-	Fulminato	HONC, Hg(ONC) ₂
-O-O- e -O ₃ -	Peróxido/Ozônio	TATP ^u , MEKP ^v
-NX ₂	Nitrogênio-Halogêneo	NCl ₃ , NI ₃
-C≡C- e -C≡C·M ⁺	Acetileno/Acetilato Metálico	C ₂ H ₂ ; Ag ₂ C ₂ , Hg(C ₂ H)
R _n -M	Explosivos Metalorgânicos	IrCl(CO)(PPh ₃) ₂ ; PtCl ₂ (S ₄ N ₄)(PMe ₂ Ph) ¹⁰³

Além da classificação química, os explosivos podem ser categorizados pelo seu desempenho/uso¹⁰⁰⁻¹⁰²: (i) explosivos primários, (ii) explosivos secundários, (iii) explosivos terciários e (iv) propelentes, como mostrado na **Figura 1**.

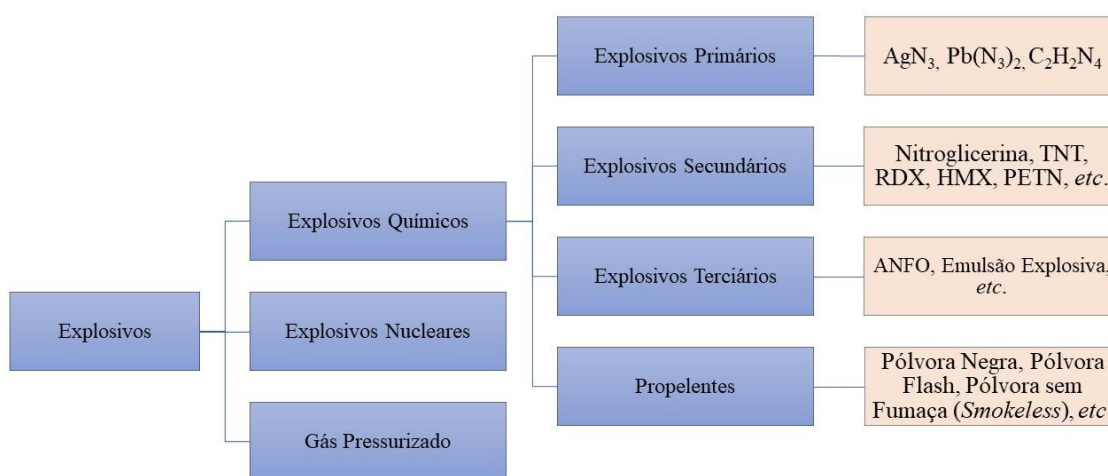


Figura 1. Classificação de explosivos por uso.

Explosivos primários são altamente sensíveis e podem ser detonados a partir de estímulos físicos, e.g. calor, atrito, eletricidade, impacto, etc. Nesse tipo de explosivo a velocidade de detonação é muito mais rápida que nos demais. Entretanto, a alta sensibilidade desses materiais restringe seu uso por motivos de segurança. Dessa forma eles são empregados em menor quantidade, usados para iniciar explosivos menos sensíveis através de espoletas e detonadores.

Explosivos secundários possuem menor sensibilidade a estímulos, não sendo possível sua iniciação por calor ou eletricidade. Por consequência, esses materiais são mais

^r 1,3,5-Trinitro-1,3,5-triazinane

^s 1,3,5-trinitrotoluene

^t picric acid

^u triacetone triperoxide

^v methyl ethyl ketone peroxide

seguros para o manuseio e por isto são largamente usados na indústria. Em contrapartida, esses materiais dependem de um explosivo primário para iniciar o processo de detonação. Os explosivos secundários ainda podem ser subdivididos em explosivos comerciais (baixa densidade) e militares (alta densidade).

Existe ainda a possibilidade de utilizar *explosivos terciários*, que não conseguem sua detonação por explosivos primários. Em vez disso, é necessário um explosivo secundário intermediário. Devido ao baixo custo e segurança no manuseio esses explosivos são largamente empregados na construção civil e mineração.

Por fim, os *propelentes* são substâncias químicas que produzem energia e grandes quantidades de gás pressurizado, normalmente com o intuito de gerar propulsão/empuxo. Esses materiais são constituídos de um combustível e um oxidante, sendo que a reação entre os dois ocorre de maneira relativamente mais lenta. Conseqüentemente, existe apenas a “queima” dos reagentes e, a menos que os gases produzidos sejam confinados, não existe a possibilidade de detonação. Um exemplo em evidência, dado os casos de assalto a caixas eletrônicos, é a pólvora.

Entre os explosivos empregados atualmente, alguns se destacam devido sua versatilidade, baixo custo e uso em diversos setores. Por exemplo, a pólvora e as emulsões explosivas permeiam a indústria moderna em diversos setores, como balística, propulsão de foguetes, fogos de artifício, mineração, construção civil, materiais bélicos, *etc.*

3.1.1. Pólvora

Empregada principalmente na fabricação de “bombinhas” (*firecracker*^w), a pólvora negra é obtida através da mistura em fase sólida de três componentes principais: nitrato de potássio (KNO₃), carvão vegetal (C) e enxofre (S). Normalmente, a composição da pólvora negra segue proporções de 65-75% de KNO₃, 15-20% de C e 10-15% de S. Entretanto, a proporção considerada mais eficiente é 75-15-10 (% de KNO₃/C/S) que tem sua reação de combustão descrita por^{104,105}:



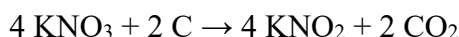
Uma abordagem mais acurada leva em conta que, embora a fórmula química do carvão não seja única, a fórmula empírica C₇H₄O tem maior sucesso em explicar os produtos formados, de acordo com a equação¹⁰⁵:

^w Pequenos artefatos explosivos contendo pólvora negra, que produzem um som alto após a explosão.

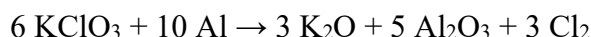


Como resultado da queima, a massa total de produtos apresentam em média 56% de sólidos, 43% de gases, 1% de água e calor liberado equivalente à 685 Kcal/Kg ou 3 MJ/Kg.^{106,107}

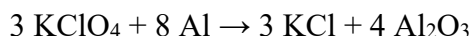
Em menor proporção, reações paralelas entre os reagentes podem ocorrer durante a deflagração, formando tiosulfato ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) e óxido nitroso (N_2O) de acordo com as equações¹⁰⁸:



Com o desenvolvimento da tecnologia outras composições de pólvora foram desenvolvidas, como a Pólvora *Flash*. Diferentemente da pólvora negra, esse material é composto primariamente por sais de clorato e metais oxidáveis que, quando deflagrada, provoca uma intensa emissão de luz. Essa característica torna esse material atrativo para a fabricação de fogos de artifício. Entre as diferentes composições de pólvora *flash*, comumente utiliza-se 30% alumínio (Al) e 70% clorato de potássio (KClO_3)¹⁰⁶, levando à equação balanceada:



Outra possibilidade, é a substituição do clorato pelo perclorato (ClO_4^-), na proporção estequiométrica de 65% de KClO_4 e 35% de Al, seguindo à equação¹⁰⁵:



A composição simples desses materiais, aliada a alta disponibilidade de matéria prima, propicia um baixo custo de produção de fogos de artifício. Consequentemente, esses artefatos são amplamente comercializados para entretenimento (*e.g.* fogos de artifício). Entretanto, também podem ser usados em ações delituosas, seja para ações de

terrorismo ou roubos a caixas eletrônicos, como mostram as apreensões da Polícia Federal na **Figura 2**.^{109,110}



Figura 2. Apreensões de fogos de artifício usados em ataques a caixas eletrônicos (adaptado das refs.^{109,110})

3.1.2. *Emulsões explosivas*

As emulsões explosivas são explosivos terciários fabricados a partir de uma fase orgânica (óleo combustível, como por exemplo óleo diesel, gasolina, *etc.*), uma fase aquosa (presente o oxidante) e um surfactante (estabilizante).^{111,112} A composição mais comum encontrada é baseada no uso de nitrato de amônio (NH_4NO_3) como oxidante, conhecido como ANFO (*ammonium nitrate – fuel oil*). No ANFO, uma solução supersaturada de NH_4NO_3 normalmente corresponde a mais de 80% da formulação.¹¹³ Na **Tabela 4** é possível observar as diferentes proporções entre o NH_4NO_3 e o óleo combustível, os produtos formados e a energia liberada para cada formulação. Adicionalmente, diferentes aditivos podem ser incorporados para aumentar/diminuir a potência do explosivo (*e.g.* alumínio, nitroglicerina, PETN^x) ou para fazer uma marcação química (EGDN^y ou DMNB^z).^{113,114} As emulsões explosivas possuem baixo custo de produção e são de fácil fabricação uma vez que consistem basicamente na mistura de nitrato de amônio e óleo combustível. O ANFO vem sendo amplamente empregado na construção civil e mineração no último século, e por isso se torna bastante acessível, mesmo com a regulamentação dos órgãos públicos.

^x *Pentaerythritol tetranitrate*

^y *ethylene glycol dinitrate*

^z *dimethyl nitrobutane*

Tabela 4. Reações de decomposição do ANFO em diferentes proporções (adaptado de Sickler¹¹³).

Proporção NH ₄ NO ₃ /combustível	Reação provável	Energia (J/g)
94,5% / 5,5%	$3 \text{ NH}_4\text{NO}_3 + \text{CH}_2 \rightarrow 7 \text{ H}_2\text{O} + \text{CO}_2 + 3 \text{ N}_2$	3,891
92,0% / 8,0%	$2 \text{ NH}_4\text{NO}_3 + \text{CH}_2 \rightarrow 5 \text{ H}_2\text{O} + \text{CO} + 2 \text{ N}_2$	3,389
96,6% / 3,4%	$5 \text{ NH}_4\text{NO}_3 + \text{CH}_2 \rightarrow 11 \text{ H}_2\text{O} + \text{CO}_2 + 4 \text{ N}_2 + 2 \text{ NO}$	2,510
81,6% / 18,4 %	$2 \text{ NH}_4\text{NO}_3 + 2 \text{ Al} \rightarrow 6 \text{ H}_2\text{O} + \text{Al}_2\text{O}_3 + 3 \text{ N}_2$	6,778

Os explosivos comerciais, como as emulsões, dependem de legislação específica para venda. Segundo a Portaria 3 de 2012 do Ministério da Defesa, os fabricantes, distribuidores e comerciantes somente podem vender explosivos para pessoas físicas e/ou jurídicas que possuam registro e sejam fiscalizadas pelo exército brasileiro. Entretanto, o roubo de cargas de emulsão explosiva é constantemente foco de notícias. Por exemplo, em janeiro de 2019 uma carga contendo 5,7 toneladas de ANFO foram roubadas no estado do Ceará.¹¹⁵ Paralelamente ao roubo de cargas, frequentemente quantidades de emulsão explosiva são apreendidas nas mãos de suspeitos para o uso em caixas eletrônicas, sugerindo fortemente que as cargas roubadas se destinam às ações criminosas.

Dado o panorama exposto, a identificação de explosivos torna-se uma ferramenta valiosa para o trabalho de inteligência. Identificar os explosivos auxilia a estabelecer uma correlação entre os criminosos e atos, favorecendo o entendimento do *modus operandi* de organizações criminosas e a prevenção de ações. Logo, é muito importante garantir a confiabilidade dos métodos de identificação de explosivos para minimizar equívocos.

3.2. Cromatografia Iônica

Segundo a IUPAC^{aa}, a cromatografia é definida como um método físico de separação no qual os componentes que serão separados encontram-se distribuídos em duas fases, uma estacionária e a outra móvel (fase móvel) – a qual se desloca em uma direção definida.¹¹⁶ A fase móvel interage com a fase estacionária de acordo com características como polaridade, o que resulta em uma separação seletiva dos componentes presentes na fase móvel (**Figura 3**). Cada componente da fase móvel após sair da coluna passa por um detector que produz gráficos de intensidade vs. tempo, conhecidos como cromatogramas.

117,118

^{aa} *International Union of Pure and Applied Chemistry* (União Internacional de Química Pura e Aplicada)

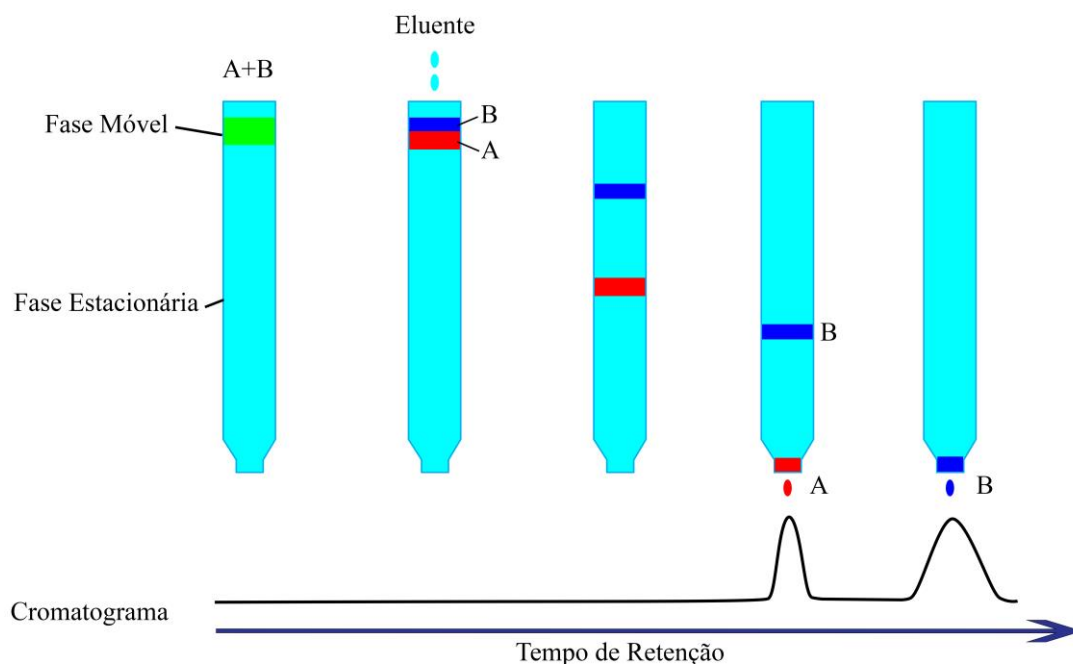
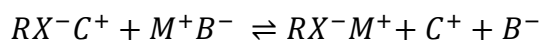


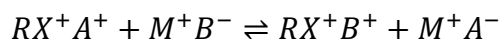
Figura 3. Desenho esquemático do funcionamento de uma coluna de cromatograma (adaptado de Torres¹¹⁹)

O conceito de cromatografia foi criado em 1906 pelo pesquisador Mikhail Tswatt. Entretanto, apenas em 1975 o primeiro cromatógrafo de íons tornou-se possível graças a tecnologia de troca iônica, proposta por Wheaton e Baumann em 1953.¹²⁰ A cromatografia iônica separa os analitos baseado em cargas eletrostáticas. Nesse caso, a fase estacionária apresenta grupos funcionais (R-X) que possuem cargas opostas as dos analitos. Componentes com poucas interações com a fase estacionária eluirão mais rapidamente, enquanto os elementos com maior interação ficam mais tempo retidos na matriz. O fenômeno de troca iônica (catiônica e aniônica) pode ser definido pela equação de equilíbrio:

Troca catiônica:



Troca Aniônica:



Em CI existem tipicamente dois modos de atuação do eluente: isocrático, onde a composição do eluente permanece constante por toda a corrida, ou gradiente, onde a composição do eluente é modificada gradativamente com o passar do tempo. No método isocrático, a largura dos picos tende a aumentar em função do tempo de retenção,

provocado pela maior interação do analito com a resina da coluna. Em contrapartida, no método gradiente, o aumento das interações entre eluente e analito reduz a retenção e provoca a diminuição da largura dos picos. Normalmente, o uso de gradiente só é aconselhável em casos onde o modo isocrático não é suficiente para a separação dos compostos.

Como principal técnica de identificação de explosivos inorgânicos nos laboratórios forenses, a CI possui sensibilidade para quantificar baixas concentrações de resíduos (na ordem de $\mu\text{g/ml}$). Além disso, o equipamento pode ser facilmente operado e os cromatogramas interpretados, o que o torna uma técnica bastante acessível.^{97,98,121} Na literatura, diferentes trabalhos são encontrados no aprimoramento de métodos de CI em análises de explosivos¹²¹⁻¹²³, buscando otimizar a separação de íons pela coluna.

Apesar de bem estabelecida as vantagens dessa técnica, o procedimento de coleta dos resíduos é igualmente importante para garantir a confiabilidade dos resultados na CI. Com relação a isso, apenas um trabalho foi encontrado relacionado aos materiais de coleta. Nesse caso, DeTata *et al.*¹²⁴ mostram uma comparação entre diferentes materiais (*i.e.* hastes de algodão e algodão bola) para a coleta de resíduos de explosão orgânicos e inorgânicos. A principal preocupação é a capacidade de cada material de recuperar os resíduos de maneira eficiente. Para as análises de explosivos inorgânicos, uma recuperação de 95% dos resíduos foi observada quando adotado o uso de uma solução de etanol:água. O texto também discute brevemente a presença de pequenas quantidades de íons interferentes a nível de *background* nos materiais, sem especificar as concentrações.

4. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

4.1. Materiais de Coleta e Pré-processamento

Diferentes materiais usados para a coleta de resíduos pós-explosão foram avaliados. Estes materiais foram chamados de materiais de coleta. Além disso, filtros de seringa, os quais são rotineiramente usados para filtrar a solução de analitos antes da injeção no cromatógrafo também foram avaliados. Os filtros foram chamados de materiais de pré-processamento. Foram testadas ao todo 15 amostras, categorizados por sua finalidade: (i) uso forense, ou (ii) uso comercial. As amostras de uso forense correspondem na verdade a hastes de algodão vendidas explicitamente para fins forenses. Neste trabalho foram analisadas duas marcas de hastes de algodão para fins forenses (*Forensic Swabs* - FS),

cedidas pelo INC/PF. Além dos materiais forenses, foram analisados diversos tipos de algodão comercializado para diferentes fins, os quais podem ser usados por peritos para coletar resíduos na indisponibilidade dos *swabs forenses*. Estes foram adquiridos no comércio local e correspondem a 2 hastes de algodão comercial (*commercial swabs* - CS), 2 discos de algodão (*cotton discs* - CD), 3 rolos de algodão (*cotton rolls* - CR), 2 algodões bola (*Cotton Ball* - CB). Também foram analisados 4 filtros de seringa (*syringe filters* - SF). Os materiais foram usados sem nenhum tratamento prévio e as marcas e o código empregado no trabalho para cada material estão descritos na **Tabela 5**.

Tabela 5. Codificação utilizada para identificar os materiais de coleta estudados.

Tipo de Material	Marca	Código
Hastes de Algodão para Fins Forenses	Agilent® (haste de madeira)	FS-1
	Zaragatoa® (haste de plástico)	FS-2
Hastes de Algodão Comerciais	York® (haste de plástico)	CS-1
	Topz® (haste de plástico)	CS-2
Discos de Algodão	Apolo®	CD-1
	Topz®	CD-2
Rolos de Algodão	Needs®	CR-1
	Cremer®	CR-2
	York®	CR-3
Algodão Bola	Needs®	CB-1
	Cremer®	CB-2
Filtros de Seringa	Whatman®	SF-1
	Agilent®	SF-2
	Millipore®	SF-3
	Analítica®	SF-4

4.2. Procedimento de Extração e Lavagem

4.2.1. Hastes/Bolas/Discos/Rolos de Algodão

Para extração dos íons (contaminantes inerentes), cada amostra de haste de algodão foi colocada em um tubo de ensaio (10 mL) contendo 3 mL de água Milli-Q e agitados em um vortex por 30 segundos. Em seguida, 1,5 mL dessa solução foi transferida para um vial de poliestireno específico para cromatografia. O restante da solução foi descartada e o processo de lavagem foi repetido quatro vezes para cada amostra. Para os discos/rolos/bolas de algodão o mesmo procedimento de lavagem das hastes foi adotado, porém, $1,00 \pm 0,05$ g de cada material foi pesado e utilizado nos procedimentos de extração.

4.2.2. Filtros de Seringa

As amostras foram preparadas fixando os filtros de seringa SF1, SF2, SF3 e SF4 (todos com porosidade igual a 0,45 μm) em uma seringa de poliestireno (20 mL). Foram adicionados 10 mL de água Milli-Q à seringa e os primeiros 1,5 mL de água foram coletados em um vial para análises de CI. O restante da água foi descartada. Após o descarte, o processo de lavagem foi repetido quatro vezes para cada amostra de filtro.

4.1. Análises cromatográficas

Os equipamentos usados nesse trabalho foram disponibilizados pelo Instituto Nacional de Criminalística (INC/PF). Além disso, o método empregado nas análises de CI foi desenvolvido e validado pelo próprio INC/PF. As análises foram conduzidas em um cromatógrafo *Thermo Scientific Dionex ICS-5000* com amostrador automático *AS-AP* e supressão eletrolítica auto regenerativa. Na análise dos ânions, foi utilizada uma coluna Dionex IonPacTM (2 x 250 mm) utilizando um gerador de eluente EGC equipado com um cartucho de hidróxido de potássio (KOH), operando em modo *mult-step gradient mode*, começando em 10 mmol/L (0 min) até 45 mmol/L (40 min). Para as separações catiônicas, foi utilizada uma coluna Dionex IonPacTM CS12A (2 x 250 mm), operada em regime isocrática 20 mM de ácido metanosulfônico (MSA), gerado a partir de um gerador de eluente EGC equipado com um cartucho de MSA, enquanto a corrente de supressão foi mantida em 15 mA. Em todos os experimentos, as temperaturas da coluna e do detector foram mantidas em 30°C e 25°C, respectivamente. O tempo total de retenção foi de 45 min, com *loop size* de 10 μL e fluxo constante de 0,25 mL/min. Após cada corrida, aproximadamente 2 mL de água pura Milli-Q (18,2 M Ω a 25 °C) foram bombeados pela coluna, na intenção de evitar contaminação cruzada entre as amostras. O controle do equipamento e aquisição de dados foram realizados com o *software Chromeleon*[®]. Um *Vortex Mixer Kasvi*[®] K45-2820 foi empregado na agitação das amostras.

Duas curvas analíticas foram usadas nos experimentos, uma para baixas concentrações (na faixa 0,01 até 1 mg/L) e outra para altas concentrações (na faixa de 1 até 20 mg/L). Ambas as curvas foram obtidas em seis níveis de concentração e triplicata. Os limites de detecção (LOD) e limites de quantificação (LOQ) foram calculados através do método de regressão linear^{125,126}, usando a equação:

$$LOD \text{ ou } LOQ = \frac{F \times DP}{b} \quad \text{Equação 1}$$

Onde F são os fatores 3,3 ou 10 para LOD ou LOQ, respectivamente; DP é o desvio padrão da regressão linear da curva analítica; e b a inclinação da curva analítica. Por fim, as resoluções foram calculadas diretamente pelo *software Chromeleon*[®], de acordo com a equação:

$$R = 2 \times \frac{t_{ref} - t_r}{W_{ref} + W_r} \quad \text{Equação 2}$$

Onde t_{ref} é o tempo e retenção do pico de referência interna; t_r é o tempo de retenção do pico aferido; W_{ref} e W_r são as larguras dos picos de referência e do aferido, respectivamente.

Para construção das curvas de calibração, soluções padrão contendo os íons foram preparadas em concentração fixa (1000 mg/mL) e as diluições foram realizadas diretamente pelo equipamento. A solução padrão para os ânions foi feita a partir de sais de sódio - cloreto (Vetec Ltda.), fosfato (Vetec Ltda.), clorito (Sigma-Aldrich Ltda.), perclorato (Sigma-Aldrich Ltda.), clorato (Baker Ltda.), sulfato (Cinética Ltda.), tiosulfato (Carlo Erba Ltda.) e nitrato (QEEL Ltda) - e de sais de potássio - brometo (Vetec Ltda.), tiocianato (Vetec Ltda.), cianato (Sigma-Aldrich Ltda.) e oxalato (QEEL Ltda.). Já a solução padrão de cátions foi preparada a partir de cloreto de lítio (Vetec Ltda.), cloreto de cálcio (Vetec Ltda.), sulfato de magnésio (Vetec Ltda.), cloreto de amônio (Merck Ltda.), cloreto de estrôncio (Merck Ltda.) e formiato de amônio (ACROS Ltda.). Todos os padrões, amostras e eluentes foram preparados usando água ultrapura (18,2 MΩ cm) a partir de um purificador *Millipore Direct-Q5*.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Considerações Iniciais

A **Figura 4** exibe os cromatogramas das soluções padrão (contendo 7 cátions e 18 ânions) em concentração de 5 mg/L. Observa-se que todos os analitos puderam ser adequadamente separados com o método utilizado. Os íons de interesse para esse trabalho foram destacados na **Figura 4** (*) e na **Tabela 6**. Esses íons compreendem um conjunto de 5 cátions (Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Mg^{2+} e Ca^{2+}) e 10 ânions (Cl^- , ClO_2^- , ClO_3^- , ClO_4^- , NO_2^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, CN^- e SCN^-), os quais são tipicamente identificados em cenários de

pós-explosão de explosivos inorgânicos, como nitratos, cloratos ou percloratos. Explosivos que apresentam esse perfil podem ser pólvora negra, fogos de artifício, emulsões explosivas, ANFO, *etc.*¹²² A **Tabela 6** também apresenta as figuras de mérito calculadas para o método, *i.e.* tempo de retenção médio, desvio padrão relativo e resolução.

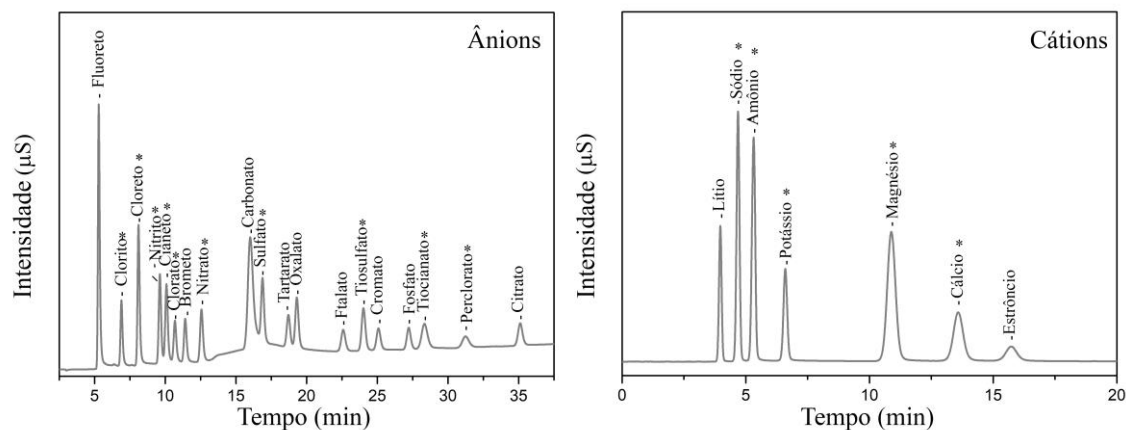


Figura 4. Cromatograma dos padrões de ânions (esquerda) e cátions (direita) em concentração 5 mg/L. (*) Íons de interesse em análises de pós-explosão.

Tabela 6. Figuras de mérito calculados para ânions e cátions de interesse para análises de pós explosão.

Íon	Tempo de Retenção (min)		Área do Pico	Resolução	LD (mg/L)	LQ (mg/L)
	Média (n = 6)	DPR (%)				
Ânions						
Cl ⁻	7,851	0,06	4,4867	5,02	0,0129	0,0392
ClO ₂ ⁻	6,734	0,06	1,8202	2,81	0,0264	0,0801
ClO ₃ ⁻	10,240	0,07	1,4764	2,05	0,0262	0,0794
ClO ₄ ⁻	29,204	0,06	1,3852	5,89	0,0243	0,0736
NO ₂ ⁻	9,279	0,06	2,5246	1,35	0,0186	0,0563
NO ₃ ⁻	11,986	0,07	2,4037	7,28	0,0103	0,0312
SO ₄ ⁻	16,161	0,06	3,0612	4,26	0,0268	0,0813
S ₂ O ₃ ²⁻	22,679	0,06	2,3811	2,02	0,0293	0,0887
CN ⁻	9,723	0,06	1,6299	1,55	0,0365	0,1105
SCN ⁻	26,597	0,06	1,9093	3,32	0,0180	0,0545
Cátions						
Na ⁺	4,711	0,08	3,5523	2,27	0,0124	0,0375
NH ₄ ⁺	5,373	0,08	1,9165	3,84	0,0697	0,2113
K ⁺	6,626	0,06	2,0909	2,64	0,0423	0,1281
Mg ²⁺	10,849	0,04	6,2244	3,65	0,0257	0,0777
Ca ²⁺	13,559	0,03	4,3559	2,59	0,0337	0,1020

*DPR = Desvio Padrão Relativo; LD = Limite de Detecção; LQ = Limite de quantificação; n = número de replicatas.

A literatura não especifica os limites de detecção e quantificação que devem ser considerados na análise de resíduos de explosivo (pós-explosão). A Polícia Federal

também não tem uma normativa a este respeito. Assim sendo, neste trabalho optou-se por considerar como um resultado positivo para as análises das amostras valores de concentração maior ou igual ao maior LQ calculado ($LQ_{NH_4^+} = 0,2 \text{ mg/L}$). Desta forma, o valor de $0,2 \text{ mg/L}$ foi adotado como valor de corte para todos os analitos e qualquer concentração encontrada abaixo $0,2 \text{ mg/L}$ foi desconsiderada.

5.2. Avaliação dos Materiais de Uso Forense

A priori, buscou-se avaliar diferentes materiais usados na rotina dos peritos forenses, como os *Swabs* de coleta (FS) e os filtros de seringas (SF). As concentrações dos íons de interesse (possíveis interferentes) após o processo de extração são mostradas nas **Tabelas 7** (cátions) e **8** (ânions). Importante destacar que não foram encontrados traços de ClO_2^- , ClO_4^- , NO_2^- , $S_2O_3^{2-}$, CN^- e SCN^- em nenhuma das amostras analisadas. Entretanto, altas concentrações de Na^+ e K^+ foram encontradas para FS-1 ($4,6 \pm 0,6 \text{ mg/L}$ e $0,8 \pm 0,3 \text{ mg/L}$, respectivamente) e FS-2 ($15 \pm 3 \text{ mg/L}$ e $0,3 \pm 0,3 \text{ mg/L}$, respectivamente). Adicionalmente, a marca FS-1 também apresentou os íons SO_4^{2-} ($6,0 \pm 0,8 \text{ mg/L}$), Cl^- ($2,0 \pm 0,3 \text{ mg/L}$), K^+ ($1,4 \pm 0,2 \text{ mg/L}$) e Ca^{2+} ($0,51 \pm 0,09 \text{ mg/L}$).

Em relação aos filtros de seringa, as amostras SF-2 e SF-3 foram as únicas que não apresentaram níveis significativos de interferentes, sendo considerados materiais limpos. Já a amostra SF-1 apresentou valores consideráveis de Cl^- , Na^+ e K^+ ($4 \pm 1 \text{ mg/L}$, $1,5 \pm 0,8 \text{ mg/L}$ e $1,2 \pm 0,2 \text{ mg/L}$, respectivamente), enquanto o SF-4 apresentou apenas SO_4^{2-} ($0,6 \pm 0,3 \text{ mg/L}$).

A partir dessas considerações, as amostras FS-1, FS-2, SF-1 e SF-4 (assim como fabricados) foram consideradas inapropriadas para a coleta de resíduos de explosivos por apresentar níveis consideráveis de um ou mais interferentes. Visto que a presença desses íons foi confirmada, os materiais foram submetidos ao processo de consecutivas lavagens (seção 4.2) para avaliar a possibilidade de remoção desses interferentes.

Alíquotas de cada lavagem foram analisadas por CI e as concentrações obtidas apresentadas na **Tabela 7 e 8**. Adicionalmente, gráficos de barra 3D (Concentração vs. Número de Lavagens vs. Interferentes) foram construídos para cada material e disponibilizados na **Figura 5**. Como observado, todos os FS e SF sofreram redução das concentrações de íons após os ciclos de lavagem. No caso das amostras FS-2, SF-1, SF-2, SF-3 e SF-4 (**Figuras 5b-5e**) uma drástica redução de interferentes já é percebida na segunda lavagem, e se tornam concentrações inexpressivas a partir da terceira lavagem.

Um maior destaque pode ser dado a amostra FS-1 que apresenta concentrações persistentes de K^+ , mesmo após o ciclo de quatro lavagens. As concentrações encontradas para esse íon foram: $1,4 \pm 0,2$ mg/L, $1,1 \pm 0,1$ mg/L, $0,7 \pm 0,1$ mg/L e $0,8 \pm 0,2$ mg/L, respectivos as lavagens 1, 2, 3 e 4. Logo, o processo de lavagem parece não ser adequado a todos os tipos de haste, mas oferece uma alternativa para aumentar a confiabilidade caso a amostra seja resistente a lavagem. Além disso, a amostra FS-1 apresentou simultaneamente a combinação de íons SO_4^{2-} com Na^+/K^+ , tipicamente associada ao perfil químico de alguns explosivos (**Tabela 1**). Deve-se ter um maior cuidado com materiais que apresentem esses perfis químicos uma vez que essa combinação de interferentes podem contribuir para falsos-positivos.

Tabela 7. Concentração de cátions obtidas por CI nos materiais forenses avaliados.

Concentração de Interferente (mg/L) (n = 3)											
Material	N° da Lavagem	Na^+		NH_4^+		K^+		Mg^{2+}		Ca^{2+}	
		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
FS-1	1	4,6	0,6	n.s.	n.s.	1,4	0,2	0,8	0,3	0,51	0,09
FS-1	2	0,69	0,07	n.s.	n.s.	1,1	0,1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
FS-1	3	0,20	0,03	n.s.	n.s.	0,7	0,1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
FS-1	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,8	0,2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
FS-2	1	15	3	n.s.	n.s.	0,3	0,3	1,1	0,5	n.s.	n.s.
FS-2	2	1,02	0,06	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,21	0,09	n.s.	n.s.
FS-2	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
FS-2	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-1	1	1,5	0,8	n.s.	n.s.	1,2	0,2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-1	2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-1	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-1	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-2	1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-2	2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-2	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-2	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-3	1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-3	2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-3	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-3	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-4	1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-4	2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-4	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-4	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

*n = número de replicatas; DP = Desvio Padrão; n.s. = não significativo;

Tabela 8. Concentração de ânions obtidas por CI nos materiais forenses avaliados.

Concentração de Interferente (mg/L) (n = 3)									
Material	N° da Lavagem	Cl ⁻		NO ₃ ⁻		SO ₄ ²⁻		ClO ₃ ⁻	
		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
FS-1	1	2,0	0,4	n.s.	n.s.	6,0	0,8	n.s.	n.s.
FS-1	2	0,4	0,2	n.s.	n.s.	0,6	0,1	n.s.	n.s.
FS-1	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
FS-1	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
FS-2	1	0,7	0,7	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
FS-2	2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
FS-2	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
FS-2	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-1	1	4	1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-1	2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-1	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-1	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-2	1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-2	2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-2	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-2	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-3	1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-3	2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-3	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-3	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-4	1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,6	0,3	n.s.	n.s.
SF-4	2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-4	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
SF-4	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

*n = número de replicatas; DP = Desvio Padrão; n.s. = não significativo;

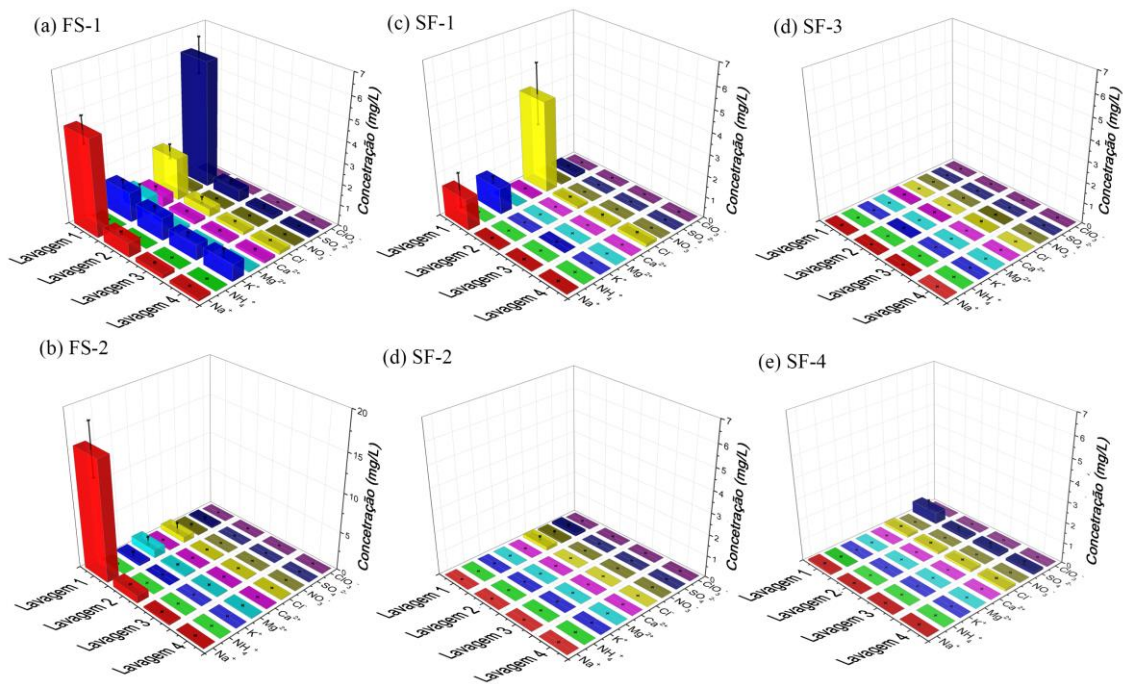


Figura 5. Gráfico de barras de concentração de íons interferentes após várias lavagens das amostras (a-b) FS-(1 - 2), (c-e) SF-(1 - 4).

Além da ausência de interferentes, é necessário que o *swab* mantenha certas características estruturais para ser adequado ao uso. Por exemplo, se a lavagem acarretar um desprendimento de algodão esta amostra não deve mais ser considerada como adequada. A integridade dos *swabs* foi monitorada ao longo do processo de lavagem. Observou-se que mesmo após ser lavada consecutivas vezes o material FS-1 manteve suas características estruturais após a secagem (24 horas a temperatura ambiente). Contudo, o *swab* FS-2 apresentou uma perda considerável de compactação/forma do algodão (**Figura 6**). Visto que essa característica pode provocar problemas durante uma perícia real, essa amostra foi considerada inapropriada para ser lavada antes do uso. Somando isto a presença de interferentes antes da lavagem, esta amostra foi considerada como inapropriada para a coleta de resíduos de explosão.



Figura 6. Imagem de uma amostra FS-2 antes (esquerda) e depois (direita) do processo de lavagem.

5.3. Avaliação de Materiais de Uso Comercial

Na rotina de um laboratório de análise forense, muitas vezes é necessário adaptar ou improvisar materiais de coleta comerciais com o intuito de reduzir custos ou quando não há a disposição materiais específicos. Alguns peritos relataram que por vezes fizeram uso de diferentes formas de algodão para coletar amostras de resíduos de explosivos. Dentro desse contexto, diferentes marcas de algodão comumente encontradas no comércio foram analisadas por CI. As amostras analisadas foram hastes de algodão (CS), discos de algodão (CD), bolas de algodão (CB) e rolos de algodão (CR). O principal objetivo foi avaliar se esses materiais, que são mais baratos e disponíveis, podem ser usados na rotina de peritos.

Foram testados nove amostras, divididas em: 2 de CS; 2 de CD; 3 de CR; e 2 de CB. As concentrações médias e o desvio padrão dos íons de interesse são mostradas nas **Tabelas 9** (cátions) e **10** (ânions). Na primeira extração, todas as amostras apresentaram valores significativos de Na^+ , com concentrações variando de $1,05 \pm 0,09$ mg/L até $3,7 \pm 0,5$ mg/L. Algumas amostras mostraram concentrações relevantes de K^+ , como CR-1 ($2,3 \pm 0,8$ mg/L), CR-2 ($1,4 \pm 0,2$ mg/L), CD-2 ($1,1 \pm 0,1$ mg/L) e CB-2 ($0,5 \pm 0,2$ mg/L). Valores significativos de Cl^- e SO_4^{2-} também foram encontrados nas amostras CB-1 ($1,01 \pm 0,04$ e $0,70 \pm 0,04$ mg/L, respectivamente), CD-1 ($0,41 \pm 0,04$ e $0,43 \pm 0,03$ mg/L, respectivamente) e CS-1 ($0,49 \pm 0,04$ e $0,36 \pm 0,07$ mg/L, respectivamente). Um maior destaque deve ser dado as amostras que mostraram a presença do íon NO_3^- , principal componente na composição de emulsões explosivas como o ANFO. Esse íon foi

encontrado nas amostras CR-1 ($8,0\pm 2,0$ mg/L), CR-2 ($4,2\pm 0,6$ mg/L), CD-2 ($3,4\pm 0,4$ mg/L), CB-2 ($1,5\pm 0,7$ mg/L), CB-1 ($0,52\pm 0,03$ mg/L) e CS-1 ($0,34\pm 0,04$ mg/L).

Foram avaliadas as combinações de diferentes íons que pudessem indicar o perfil químico dos explosivos. Duas combinações foram observadas: SO_4^{2-} com K^+/Na^+ - encontradas nas amostras CS-1, CD-1 e CB-1; e NO_3^- com K^+/Na^+ - encontrada nas amostras CS-1, CD-2, CR-1, CR-2, CB-1 e CB-2. Visto que todas as amostras apresentam ao menos uma combinação de íons que pode sugerir um resultado falso positivo, estas amostras sem pré-tratamento (lavagem) foram consideradas inapropriados para a coleta de amostras de resíduos de explosão.

Assim como os materiais forenses, o procedimento de lavagem foi aplicado aos materiais comerciais na tentativa de reduzir a concentração de interferentes (seção 4.2)..

Como observado nas **Tabelas 9 e 10**, todas as amostras apresentaram reduções significativas de interferentes a partir da segunda lavagem. Esse comportamento pode ser melhor observado através dos gráficos de barras 3D disponíveis na **Figura 7**. Por exemplo, a amostra CR-1 (**Figura 7a**), que apresenta a maior concentração de NO_3^- (8 ± 2 mg/L), foi considerada isenta de interferentes após a segunda lavagem. A única exceção para esse comportamento foi amostra CS-1 que apresenta valores significantes de Na^+ até a quarta lavagem ($3,7\pm 0,5$ mg/L; $0,7\pm 0,2$ mg/L; $0,41\pm 0,06$ mg/L; e $0,30\pm 0,06$ mg/L, respectivamente da 1ª a 4ª lavagem). É importante destacar que a amostra CS-2 (**Figura 7b**), contra as expectativas, mostrou concentrações de interferentes menores inclusive que os materiais forenses FS-1 e FS-2.

Tabela 9. Concentração de cátions obtidas por CI nos materiais comerciais avaliados.

Concentração de Interferentes (mg/L) (n = 3)											
Materiais	Nº da Lavagem	Na ⁺		NH ₄ ⁺		K ⁺		Mg ²⁺		Ca ²⁺	
		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
CS-1	1	3,7	0,5	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CS-1	2	0,7	0,2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CS-1	3	0,41	0,06	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CS-1	4	0,30	0,06	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CS-2	1	1,05	0,09	n.s.	n.s.	0,3	0,1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CS-2	2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CS-2	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CS-2	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CD-1	1	2,2	0,2	n.s.	n.s.	0,26	0,03	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CD-1	2	0,4	0,3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CD-1	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CD-1	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CD-2	1	1,4	0,1	n.s.	n.s.	1,1	0,1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CD-2	2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CD-2	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CD-2	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CR-1	1	1,5	0,1	n.s.	n.s.	2,3	0,8	n.s.	n.s.	0,21	0,08
CR-1	2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,3	0,2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CR-1	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,26	0,09	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CR-1	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,20	0,07	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CR-2	1	1,13	0,03	n.s.	n.s.	1,4	0,2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CR-2	2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CR-2	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CR-2	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CR-3	1	2,4	0,4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CR-3	2	0,5	0,1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CR-3	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CR-3	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CB-1	1	1,9	0,2	n.s.	n.s.	0,21	0,01	n.s.	n.s.	0,23	0,03
CB-1	2	0,27	0,04	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CB-1	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CB-1	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CB-2	1	1,1	0,2	n.s.	n.s.	0,5	0,2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CB-2	2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CB-2	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CB-2	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

*n = número de replicatas; DP = Desvio Padrão; n.s. = não significativo;

Tabela 10. Concentração de cátions obtidas por CI nos materiais comerciais avaliados.

Concentração de Interferentes (mg/L) (n = 3)									
Materiais	Nº da Lavagem	Cl ⁻		NO ₃ ⁻		SO ₄ ²⁻		ClO ₃ ⁻	
		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
CS-1	1	0,48	0,04	0,34	0,04	0,36	0,07	n.s.	n.s.
CS-1	2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CS-1	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CS-1	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CS-2	1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CS-2	2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CS-2	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CS-2	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CD-1	1	0,41	0,04	n.s.	n.s.	0,43	0,03	n.s.	n.s.
CD-1	2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CD-1	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CD-1	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CD-2	1	0,09	0,01	3,4	0,4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CD-2	2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CD-2	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CD-2	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CR-1	1	0,3	0,1	7	2	0,24	0,03	n.s.	n.s.
CR-1	2	n.s.	n.s.	0,2	0,2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CR-1	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CR-1	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CR-2	1	n.s.	n.s.	4,2	0,6	0,24	0,01	n.s.	n.s.
CR-2	2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CR-2	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CR-2	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CR-3	1	0,28	0,04	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CR-3	2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CR-3	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CR-3	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CB-1	1	1,01	0,04	0,51	0,03	0,70	0,04	n.s.	n.s.
CB-1	2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CB-1	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CB-1	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CB-2	1	n.s.	n.s.	1,5	0,7	0,21	0,02	n.s.	n.s.
CB-2	2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CB-2	3	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CB-2	4	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

*n = número de replicatas; DP = Desvio Padrão; n.s. = não significativo;

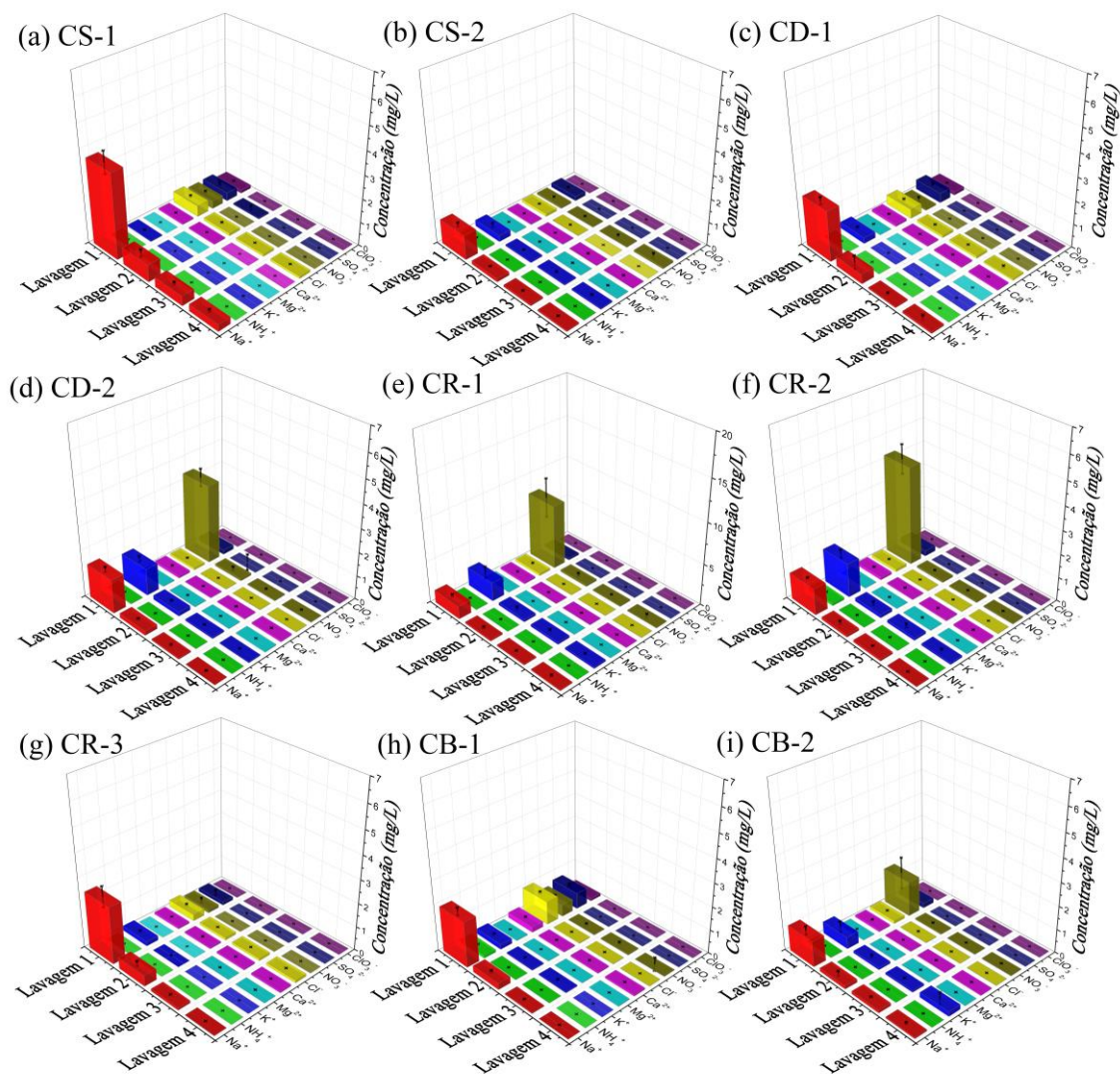


Figura 7. Gráfico de barras de concentração de íons interferentes após várias lavagens das amostras (a-b) CS-(1 - 2), (c-d) CD-(1 - 2), (e-g) CR-(1 - 3) e (h-i) CB-(1 - 2).

Assim como nos materiais forenses, também foi avaliado se as amostras mantinham a sua integridade após as lavagens. Como já mencionado, se uma amostra mostra perda de algodão em função das lavagens, ela não é considerada adequada para o uso em questão. As amostras CS-1 e CS-2 mostraram perda do formato/compactação do algodão nas hastes, o que poderia provocar problemas na coleta por falta de firmeza do material, ou até mesmo a queda do algodão (**Figura 8a**). Por outro lado, as amostras CD, CB e CR não apresentaram mudanças significantes e foram consideradas as mais adequadas aos ciclos de lavagem, como exemplificado na **Figura 8b**, que mostra uma imagem de uma amostra de CB antes de depois de quatro lavagens.

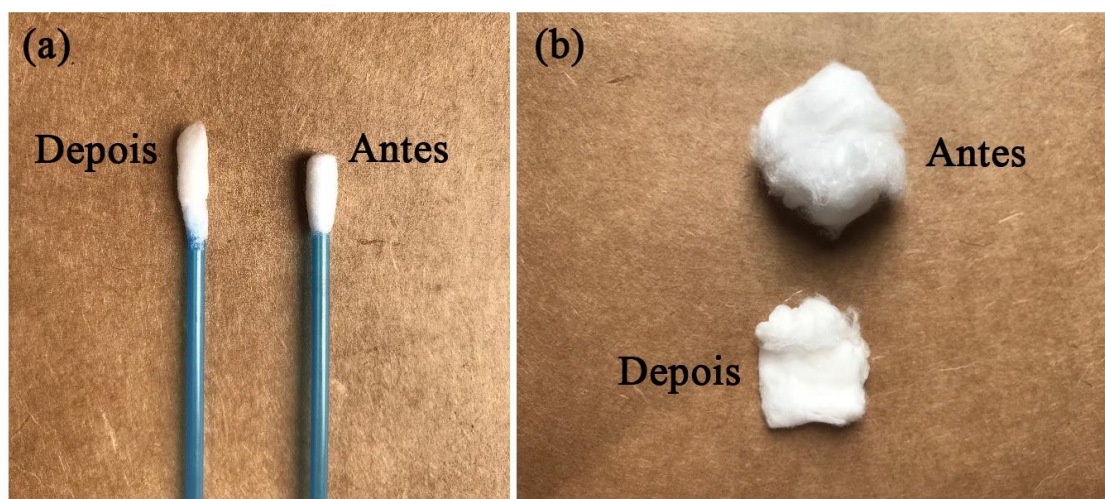


Figura 8. Imagem exemplo das hastes de algodão e algodões bola antes e depois do procedimento de lavagem

A concentração total de interferentes para cada material foi calculada pela soma das concentrações de cada íon na primeira extração (**Figura 9**). Com isso foi possível observar que os materiais com a maior concentração de íons totais foram as amostras FS-1 e FS-2. Por outro lado, os materiais de coleta menos contaminadas foram considerados os materiais comerciais CS-2, CR-3 e CD-1. Dentre todos os testados, os únicos considerados utilizáveis sem a necessidade de lavagem foram os filtros de seringa (SF), com exceção da amostra SF-1. Considerando o total de interferentes, a seguinte lista foi classificada em ordem decrescente de concentração: FS-2 > FS-1 > CR-1 > CR-2 > SF-1 > CD-2 > CS-1 > CB-1 > CB-2 > CD-1 > CR-3 > CS-2 > SF-4 > SF-2 > SF-3.

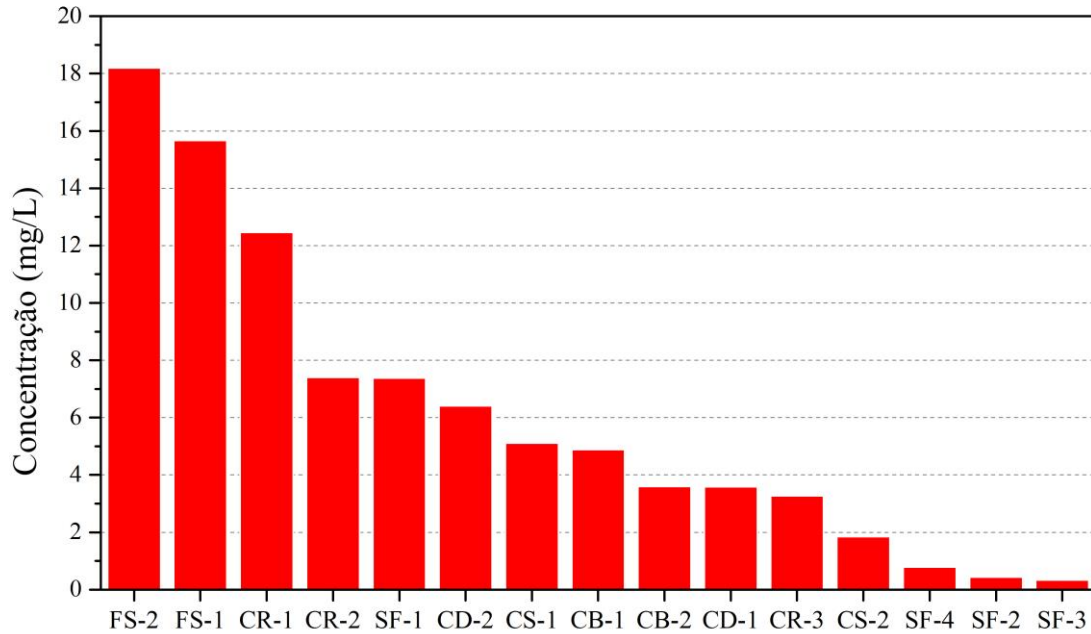


Figura 9. Concentração total de interferentes para cada material analisado.

6. CONCLUSÕES

Esse estudo demonstrou que vários materiais de coleta apresentam valores não-negligenciáveis de íons interferentes ($> 0,2$ mg/L). As únicas amostras que não apresentaram valores significantes de interferentes foram os filtros de seringa SF-2 e SF-3. Contrário as expectativas, as duas hastes de algodão (FS), designadas como materiais de coleta forenses FS-1 e FS-2, mostraram as maiores concentrações totais de íons. Com relação aos materiais comerciais, todos apresentaram quantidades significantes de pelo menos um íon. Entretanto, as amostras de disco, rolo e haste de algodão CD-1, CR-3 e CS-2, respectivamente, mostraram os menores valores de interferentes entre os materiais destinados a coleta. Foi observado que quase todas as amostras apresentaram concentrações significantes de íons de oxidantes (*e.g.* NO_3^- , SO_4^{2-} , *etc.*) que, em combinação com cátions típicos (como K^+ , Na^+ ou NH_4^+), podem ser confundidos com o perfil de resíduos de pós-explosão. Assim, o uso de materiais de coleta sem nenhum tratamento pode induzir a equívocos e falsos-positivos.

A maioria das amostras que passaram pelos quatro ciclos de lavagem foram considerados apropriados ao uso. Apenas as amostras FS-1, CS-1 e CS-2 mostraram-se inapropriadas ao uso devido perda de formato/compactação do algodão na haste, o que

pode prejudicar o evento de coleta. Além disso, pelo menos 3 ciclos de lavagem foram considerados suficientes para remoção dos interferentes dos materiais de coleta, exceto para as amostras FS-1 e CS-1 que apresentaram íons persistentes.

Com base nesses resultados, conclui-se que os materiais de coleta e pré-processamento de resíduos de pós-explosivos precisam ser cuidadosamente avaliados antes de cada experimento. Primeiramente, recomenda-se que todo e qualquer material de coleta/pré-processamento seja analisado, preferencialmente antes de seu uso para garantir que apenas materiais livres de íons interferentes possam ser usados. Caso isso não seja possível, é altamente recomendado que seja feito um “branco” com uma amostra inviolada do material em questão para estimar a quantidade de íons presentes, e assim reduzir os riscos de falso-positivo. Por fim, também é recomendado que todo material de coleta seja lavado ao menos três vezes antes do uso, sempre que possível.

Capítulo III :

Avaliação da Ozonólise como Técnica de

Descontaminação de Trajes de

Bombeiros

1. INTRODUÇÃO

Em incêndios, tanto em locais abertos (florestas, veículos, lixos, etc.) como em locais fechados (casas, fábricas, construções, etc.), inúmeros produtos tóxicos podem ser gerados a partir das reações de combustão. Esses produtos podem vir de combustão completa, produzindo água, CO₂ e calor, ou de combustão incompleta, gerando uma enorme quantidade de substâncias asfixiantes, irritantes, tóxicas, carcinogênicas e/ou mutagênicas.^{127,128} Entre os produtos formados, a literatura destaca a subclasse dos compostos orgânicos voláteis (COV), que são facilmente convertidos a gás por sua alta volatilidade, e compostos orgânicos persistentes (COP), que podem se depositar e ficar impregnados em diferentes superfícies.¹²⁹ Tanto os COV quanto os COP podem apresentar efeitos deletérios a saúde humana e diversas pesquisas estão em andamento para reduzir os riscos de contaminação.^{130,131}

Recentemente, uma pesquisa com 29.993 bombeiros americanos mostrou que 6,9% morreram vítimas de câncer. Além disso, 13,5% dos indivíduos foram diagnosticados com algum tipo de câncer. O estudo também destaca a predominância aparecimento de carcinomas no trato digestivo e respiratório.¹³² Uma segunda pesquisa feita com 16.422 bombeiros originários de cinco países nórdicos mostrou maior incidência nos casos de câncer de próstata, melanoma e outros tipos de câncer de pele, se comparados com a média da população.¹³³ Dado esse panorama, a Agência Internacional para Pesquisa do Câncer (IARC, do inglês *International Agency for Research on Cancer*) já reconhece a profissão bombeiro como uma das 18 ocupações com maior risco de câncer, provocado pela exposição a compostos cancerígenos.¹³⁴

Entre os compostos identificados nos resíduos de incêndios, encontram-se os COV benzeno, benzopireno, 1,3-butadieno e o formaldeído, que apresentam características carcinogênicas comprovadas.¹³⁴ Paralelamente, pesquisa recente realizada pela *Universidad de Alcalá* (Espanha) mostra que diferentes equipamentos usados por bombeiros (*e.g.* trajes, capacetes, luvas, *etc.*) apresentam resíduos de COP impregnados durante a rotina de trabalho.¹³⁵ Entre eles, diversos compostos orgânicos aromáticos, tipicamente agentes cancerígenos (**Figura 1**). A presença destes COV e COP nos trajes e equipamentos de segurança faz com que os bombeiros fiquem expostos a agentes cancerígenos mesmo longe do local de combate ao fogo e esta exposição torna-se crônica.

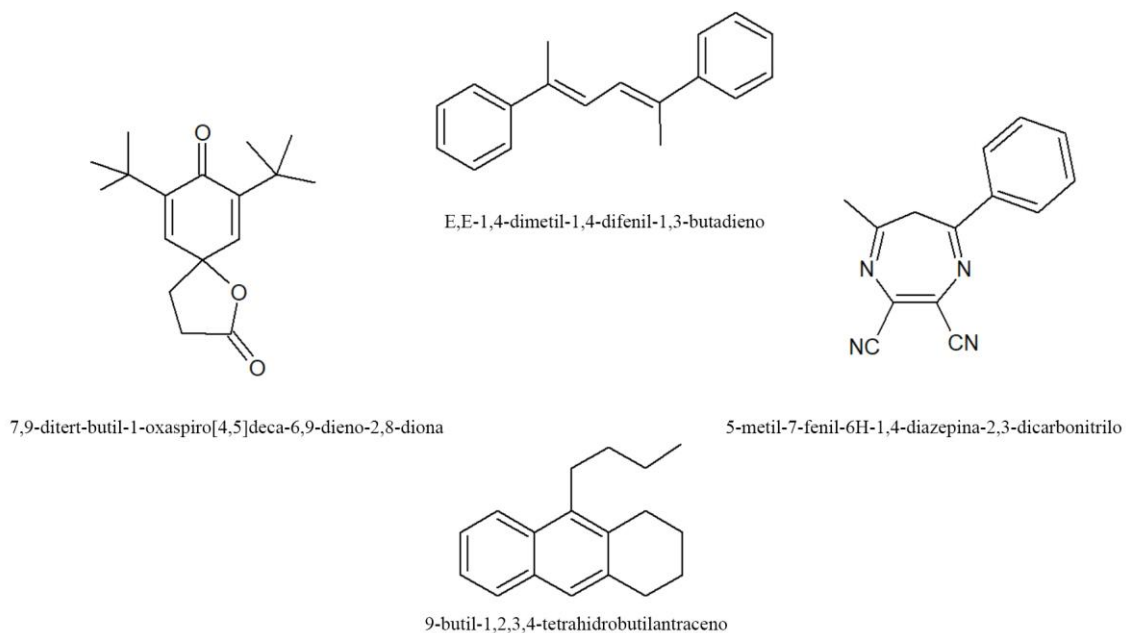


Figura 1. Estruturas químicas de alguns dos COP comumente encontrados em trajes de bombeiros usados (Chico *et al.*¹³⁵)

Atualmente a descontaminação dos trajes de bombeiro é feita em máquinas de lavar convencionais e a lavagem é feita uma ou duas vezes ao ano. Esse número reduzido é justificável pois cada ciclo de lavagem danifica as fibras do traje devido ao atrito mecânico. Por sua vez o traje possui um alto custo, entre US\$ 500 e US\$ 2200 apenas o traje de proteção.¹³⁶ Logo, técnicas alternativas de limpeza dos equipamentos que ofereçam baixo custo, alto eficiência e que não prejudiquem a funcionalidade dos trajes, precisam ser desenvolvidas.

Recentemente, armários de ozonização tem chamado a atenção da comunidade de bombeiros como uma forma de auxiliar na descontaminação de trajes/equipamentos. A depender do meio, as reações de ozonólise favorecem a quebra de duplas ligações, produzindo cetonas e/ou álcoois de cadeia carbônica menor. O ozônio (O₃) é um oxidante poderoso usado em alguns processos oxidativos avançados para a degradação de compostos orgânicos.¹³⁷⁻¹³⁹ Dessa maneira, compostos aromáticos de alta massa molecular impregnados em trajes/equipamentos podem ser oxidados e reduzidos a compostos voláteis que podem ser mais facilmente eliminados dos trajes.

Algumas empresas já comercializam armários ozonizadores, onde os trajes seriam colocados diretamente na presença de um fluxo gasoso de O₃. Recentemente, o *Cuerpo de Bomberos de Madrid* adquiriu um armário ozonizador para descontaminação de trajes

(Figura 2). Junto com o equipamento, comercializado pela *Safy Seguridad*[®], foi enviado um documento de recomendações de uso encaminhado aos clientes¹⁴⁰, contendo diferentes experimentos de ozonólise de diferentes COV, como xileno, tolueno e estireno. Nesses experimentos, uma sala de 50 m³ é saturada com COV através da volatilização de 200 mL da substância, a temperatura ambiente. Após saturar o ambiente, um fluxo contínuo de ozônio é aplicado e os níveis de CO₂ e dos COV são monitorados. Os resultados mostram que foram necessários apenas **4 min** para degradar 94,2% do tolueno e **14 min** para degradar 88% do estireno presentes no ambiente. Embora tenha um rigor científico, o documento abre precedentes para questionamentos: primeiro, não são abordados os produtos formados após a degradação dos COV, que podem também possuir toxicidade; segundo, não são avaliados os efeitos da presença dos trajes na descontaminação dos COV, já que se trata de um novo substrato; por fim, não é um documento publicado em periódicos científicos o que deprecia a credibilidade. Dito isso, é importante destacar que não há confirmações científicas de que os armários de ozonização sejam uma alternativa mais efetiva para a degradação dos resíduos de combustão e de que não afetem a integridade dos trajes.



Figura 2. Imagem de armário ozonizador comercial fabricado por *Safy Seguridad*[®].

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos Gerais

Este trabalho tem por objetivo avaliar a eficiência e a viabilidade de armários ozonizadores comerciais na descontaminação de resíduos de combustão em trajes de bombeiros.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar a eficiência de degradação de moléculas modelo tartrazina, em meio úmido e seco;
- Avaliar a eficiência de degradação das moléculas modelo pireno e 9-merilantraceno em ambiente seco, sobre os trajes de bombeiro, utilizando espectrofotometria de absorção no UV/VIS;
- Identificar os produtos obtidos a partir do processo de ozonização;

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Compostos Orgânicos Voláteis e Persistentes

O processo de combustão ocorre quando um material é oxidado liberando energia tipicamente na forma de luz e calor. Os materiais queimados nesse processo são chamados de combustível e tipicamente são constituídos de carbono e hidrogênio.¹⁴¹ Em sistemas abertos, o agente oxidante normalmente é o O₂ do ar atmosférico. O processo de combustão pode ser chamado completo quando todo o combustível é convertido a CO₂ e água.¹⁴¹ Entretanto, quando há déficit de comburente, a oxidação ocorre de forma incompleta, formando produtos como hidrocarbonetos parcialmente combusto, fuligem, cinzas, monóxido de carbono, *etc.*

Em situações reais de incêndio, reações incompletas são frequentes e levam ao surgimento de diversos subprodutos tóxicos. Os resíduos provenientes da combustão incompleta de materiais derivados de petróleo são os mais tóxicos.¹⁴² Nos últimos anos, a popularização de materiais baseados em plásticos e derivados de petróleo (*e.g.*

equipamentos eletrônicos, recipientes de comida, papéis de parede, estofados) favorecem a produção de altas quantidades de subprodutos tóxicos em incêndios, o que pode representar um problema adicional para a saúde de bombeiros os quais são cronicamente expostos a eles.^{143,144} De maneira similar os incêndios florestais podem gerar quantidades massivas de toxinas a partir da queima de biomassa. Os gases provenientes de combustão incompleta de materiais derivados de petróleo são considerados alguns dos maiores riscos à vida de bombeiros.¹⁴² A **Tabela 1** mostra os diferentes produtos identificados na literatura em um cenário de incêndio e seu efeito para a saúde.

Tabela 1. Relação de diferentes toxinas identificadas em incêndios.¹⁴²

Composto	Exemplos	Origem	Efeito para a saúde
Gases	CO NO ₂	combustão incompleta oxidação do nitrogênio no ar em alta temperatura ou contribuição de algum combustível nitrogenado	asffixiante irritante
Hydrocarbonetos	Insaturados (ex.) 1,3-butadieno, tricloroetileno Saturados (ex. n-hexano) Policíclicos aromático (ex. benzopireno, pireno, antraceno, tolueno) Monoaromáticos: Benzeno, Estireno	combustão incompleta	irritante, carcinogênico, mutagênico irritante, neurotoxicidade carcinogênico, mutagênico carcinogênico, mutagênico
Orgânicos oxigenados	Aldeídos (ex. formaldeídos, acroleína) Álcoois e ácidos (metanol, ácido acético) Fenóis (catecol, cresol, metilfenóis) Quinonas (ex. hidroquinona, antraquinona, fluorenona)	combustão incompleta	irritante, carcinogênico, mutagênico irritante irritante, carcinogênico, mutagênico irritante, alergênico, possível carcinogênico

Entre os diversos produtos formados, os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) merecem uma atenção especial por ser carcinogênico e de difícil degradação.^{142,145} Os HPAs são formados por dois ou mais anéis aromáticos, em condições de baixa oxigenação e temperaturas entre 600 e 900 °C, apresentam alta pressão de vapor e se condensam aproximadamente a 200°C.

Para contornar os problemas oriundos da exposição a este tipo de composto, protocolos de segurança tem sido adotados (e constantemente aperfeiçoados). Por exemplo, o uso EPI (equipamentos de proteção individual) mesmo em situações pós-fogo e a busca por métodos de descontaminação de trajes e equipamentos.

3.2. Os trajes e sua descontaminação

Segundo o MAEPP (Manual de Atendimento às Emergências com Produtos Perigosos)¹⁴⁶, o corpo militar de bombeiros brasileiro trabalha principalmente com 4 tipos de trajes de segurança para atuação em incêndios/áreas de risco, divididos em níveis A, B, C e D.

- Trajes nível A (**Figura 3a**) são roupas de encapsulamento completo, hermeticamente fechadas e com alto nível de proteção química, fabricados para proteger o sistema respiratório e pele de vapores e gases tóxicos. Esses equipamentos restringem drasticamente a movimentação do profissional.
- Trajes nível B (**Figura 3b**) são recomendados em cenários de alto risco para vias respiratórias, mas que não possuem risco imediato em contato com a pele. Além disso, possuem menor peso e são mais confortáveis ao uso que os níveis A.
- Trajes nível C (**Figura 3c**) são recomendadas em situações que não há riscos respiratórios ou de absorção cutânea, porém são mais resistentes capazes de resistir a danos físicos e queimaduras.
- Trajes nível D (**Figura 6d**) são as roupas padrão de serviço dos bombeiros, usadas em situações que não apresentam riscos de produtos químicos e/ou vapores tóxicos. São tipicamente usadas em situações de incêndios. Esse conjunto é constituído de botas, luvas e capuz balaclava antichamas, capacete, uniforme de segurança e equipamento autônomo de respiração.



Figura 3. Trajes de segurança níveis A, B, C e D, usados por bombeiros segundo o MAEPP (adaptado da referência¹⁴⁶).

Tipicamente, os trajes de uso rotineiro (níveis D) são fabricados em três camadas com diferentes composições. Como mostrado na **Figura 4**, a primeira camada (camada externa) tem por objetivo proteger o usuário do contato direto das chamas. A segunda camada é impermeável e tem o objetivo de impedir o contato da pele com substâncias líquidas perigosas. A última camada propicia um isolamento térmico mais eficiente, porém, permite a troca de calor por transpiração. As três camadas de proteção são fabricadas principalmente a partir de poliamidas aromáticas (*Aramid*), principalmente Nomex® e Kevlar® (**Figuras 5a e 5b**). Esses materiais são capazes de suportar temperaturas até 400°C sem perder suas características além de evitar a propagação de chama e calor através do traje.¹⁴⁷

Outro polímero muito usado na fabricação de trajes é o politetrafluoroetileno (PTFE), comercialmente conhecido como Teflon (**Figura 5c**). Os trajes são usualmente recobertos por PTFE como forma de impermeabilizar o equipamento e impedir a permeação de substâncias tóxicas. Esse composto mantém suas propriedades até aproximadamente 300°C, porém, não é recomendado o uso desses trajes acima de 200°C sem uma

ventilação apropriada. Acima de 400°C a decomposição do PTFE pode gerar produtos tóxicos.¹⁴⁸ Durante a rotina de trabalho, os bombeiros são expostos a condições que tornam a decomposição do PTFE inevitável.¹⁴⁸ Para contornar esse problema, os fabricantes sugerem a lavagem dos trajes adicionando PTFE líquido ao detergente para recomposição da camada de proteção.¹⁴⁹

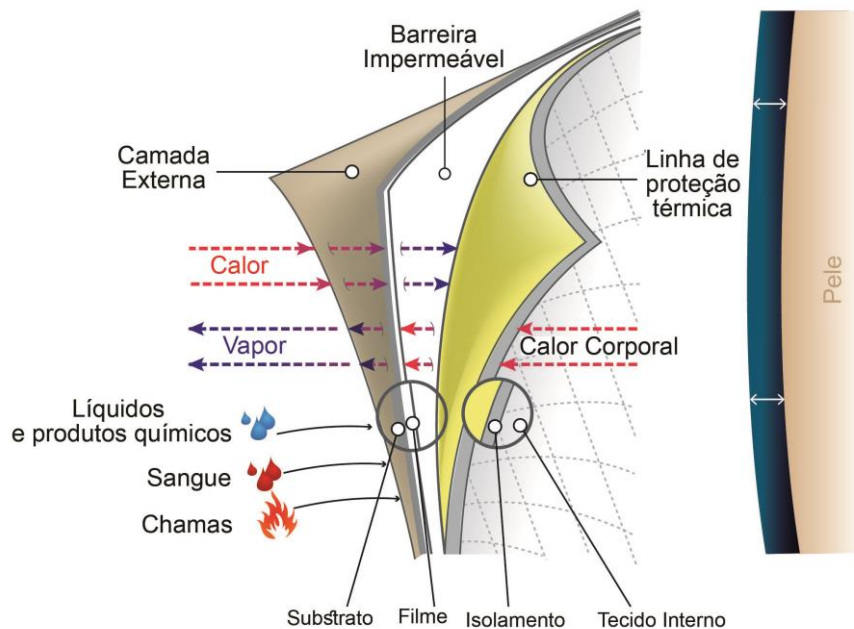


Figura 4. Desenho esquemáticos das camadas de um típico traje de proteção de bombeiros (adaptado da referência¹⁵⁰).

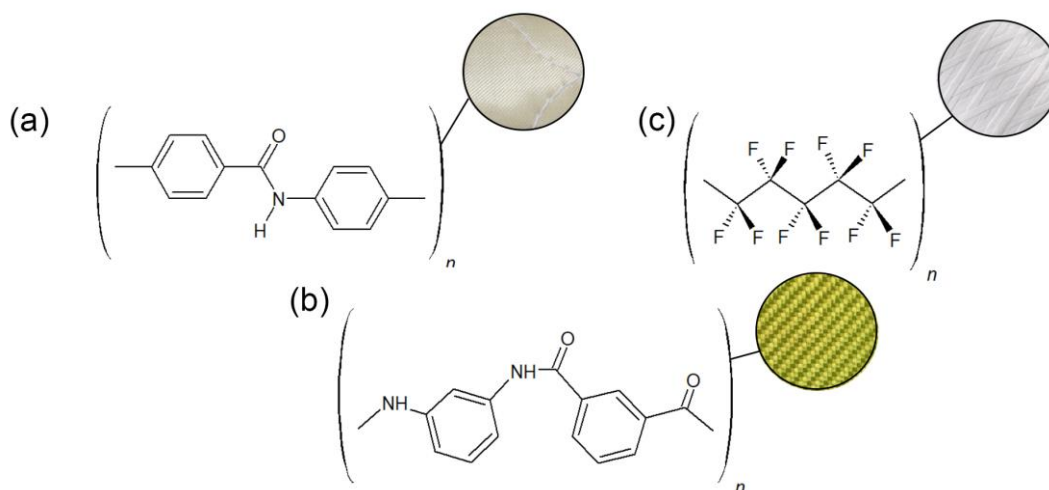


Figura 5. Imagens e estruturas das fibras comerciais dos polímeros (a) Nomex[®], (b) Kevlar[®] e (c) Teflon[®].

Atualmente, países como o Brasil e a Espanha possuem protocolos detalhados de descontaminação de trajes em situações de *hazmat*, do inglês *Hazardous Materials* (materiais perigosos). Em *hazmat* ocorre a exposição dos trajes e equipamentos de segurança a produtos químicos tóxicos (oxidantes explosivos, ácidos, etc.). Nesses casos, os protocolos sugerem a lavagem imediata dos trajes logo após o uso.^{127,151} Por outro lado, a contaminação provocada por situações de rotina (*e.g.* incêndios florestais e urbanos) pode ser negligenciada. Em conversa informal com representantes do corpo de bombeiros do Distrito Federal, soubemos que não há uma política de descontaminação/lavagem dos trajes tipo D usados na rotina dos profissionais. Nos EUA e na Espanha, recomenda-se uma limpeza recorrente dos trajes. Entretanto, o regulamento prevê apenas uma limpeza avançada (utilizando máquinas de lavar) a cada ano.¹³¹

O motivo para esse número diminuto de lavagens é fato de os equipamentos usados por bombeiros possuir alto custo e do processo de lavagem danificar as fibras dos trajes em função do atrito sofrido. De acordo com a *Spring Valley Volunteer Fire Department*¹⁵², o custo de um equipamento completo (uniforme, balaclava, capacete, luvas, botas, rádio e equipamento autônomo de respiração) pode chegar a US\$12.000. Apenas entre os uniformes, o preço varia de US\$ 3.000 a US\$ 9.400.

Recentemente, Fent *et al.*¹³¹ avaliaram três métodos de descontaminação, alternativos às máquinas de lavar, para remoção de resíduos de combustão em trajes usados: i) escova a seco; ii) ar-comprimido; e iii) sabão e água. No primeiro, uma escova industrial foi utilizada para raspar a superfície interna e externa dos trajes usados. No segundo, um jato de ar comprimido foi passado por todo o traje. Por último, os trajes foram submersos em uma mistura de água e detergente neutro, esfregado e enxaguado até a total remoção de espuma. Após análises de CG/EM e HPLC/UV, os resultados demonstraram que o terceiro método foi o mais eficiente, com uma redução média de 85% dos resíduos, seguido do ar-comprimido (23%) e escova a seco (2%).

Apesar dos resultados positivos, até o momento não existem alternativas de descontaminação que forneçam um método a seco, rápido, eficiente e sem danos físicos aos materiais. Nesse contexto, armários de ozonização tem atraído a atenção de comunidades de bombeiros, embora não exista comprovações científicas de sua eficiência e segurança. Tampouco sabe-se se o uso da ozonólise degrada os trajes propriamente ditos.

3.3. Ozonólise e os armários de ozonização

3.3.1. Propriedades físico-químicas

O ozônio é um gás de coloração azulada e cheiro característico, gerado tipicamente através de O_2 em contato com uma descarga elétrica.¹⁵³ Sua principal característica é o alto potencial oxidativo, capaz de romper insaturações, oxidar metais e atuar como bactericida. A **Tabela 2** mostra os potenciais de oxidação do O_3 e de alguns oxidantes fortes.¹⁵⁴ Como um dos mais poderosos agentes oxidantes ($E^\circ = 2,07$ V), o O_3 é amplamente empregado na desinfecção e descontaminação em diversas locais, como indústria, comércio e, até mesmo, em ambientes domésticos.¹⁵⁴⁻¹⁵⁶ Na atmosfera, o ozônio possui um tempo de meia vida de 12 horas, enquanto em água apenas 165 min.^{154,155} Entretanto, é altamente solúvel em água e este é um dos principais fatores que favorecem seu uso na descontaminação.¹⁵⁷

Tabela 2. Tabela de potencial de oxidação de diferentes compostos (adaptado de Parsons *et al.*¹⁵⁸).

Oxidante	Potencial padrão de oxidação (V)
F_2	3,03
$OH\cdot$	2,80
O_3	2,07
H_2O_2	1,78
Cl_2	1,36

3.3.2. Reações de ozonólise

Os produtos formados em reações com O_3 podem variar em função do tipo dos compostos a serem oxidados, do meio de reação (líquido ou gás), do pH, da temperatura, etc., tornando um desafio a identificação, tanto dos produtos formados quanto dos mecanismos de reação.¹⁵⁹ A **Figura 7** sumariza os mecanismos de ozonólise, tanto em fase líquida como em fase gasosa. Segundo a literatura, em ambas as fases o primeiro passo é a formação de um ozonido primário seguido de um intermediário de Criegee. Em solução, existe uma maior probabilidade de que intermediário de Criegee se recombine, formando um ozonido secundário (1,2,4-trioxolano). Dessa forma, a sucessão de reações de condensação favorecem a produção seletiva de aldeídos e cetonas. Na presença de H_2O_2 , a reação também pode formar ácidos carboxílicos.^{160,161}

As reações em fase gasosa possuem maiores possibilidades de rota. Após a formação do ozonido primário e o intermediário de Criegee, a probabilidade de formação de um

ozonido secundário é baixa. Logo, parte das moléculas intermediárias se decompõem formando ácidos carboxílicos, cetonas e CO₂. O intermediário, altamente oxidante, também pode reagir com outras substâncias presentes na fase gasosa (reagentes, produtos, subprodutos, *etc.*), formando inúmeros produtos secundários. Por fim, dependendo da umidade no ar, o intermediário pode reagir com H₂O formando diretamente ácidos carboxílicos.^{160,162}

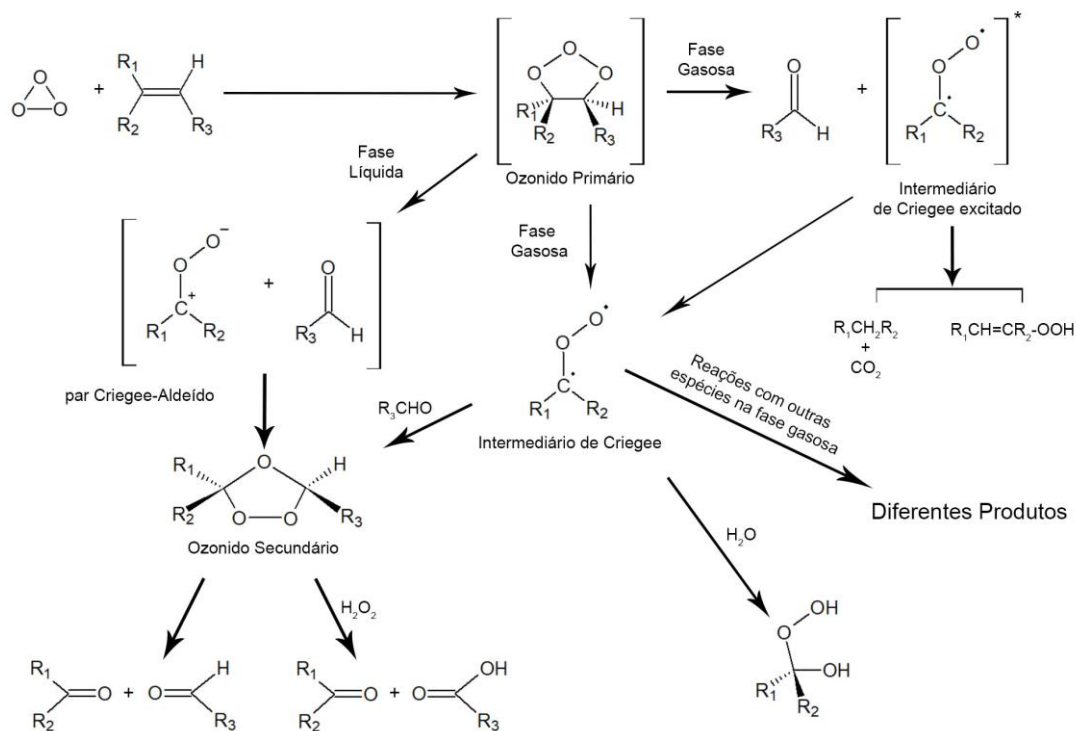


Figura 6. Esquema de reações do O₃ com alquenos, em fase líquida e gasosa (adaptado de Wadia *et al.*¹⁶⁰).

As reações em estado gasoso são conhecidas na literatura por apresentar desafios na identificação de mecanismos e produtos.^{163,164} Por exemplo, Neeb *et al.*¹⁶³ relatam a decomposição de eteno (H₂C=CH₂) através de ozônio em meio gasoso. Os resultados estimam 14 reações e ao menos 10 espécies diferentes identificadas (*e.g.* CO, CO₂, OH[•], HCOOH, H₂CO, H₂C(OH)-O-CHO, *etc.*). Os autores também destacam que os produtos de reações com radicais OH[•], formados através do O₃ e O₂, foram omitidos dos resultados o que ilustra a complexidade de sistemas gasosos. O estudo conclui que aldeídos H₂CO são as espécies mais favorecidas nessa decomposição do eteno.

Adicionalmente, a literatura também descreve reações de ozonólise em grupos azo, comumente observados em corantes.^{165,166} Nesse caso, a reação envolve um ataque eletrofílico do O₃ ao nitrogênio, rompimento da dupla ligação, e a produção de O₂, como mostrado na **Figura 7**. Nessas reações foram identificadas a formação predominante de grupos nitroso (R-N=O), aldeídos e cetonas.

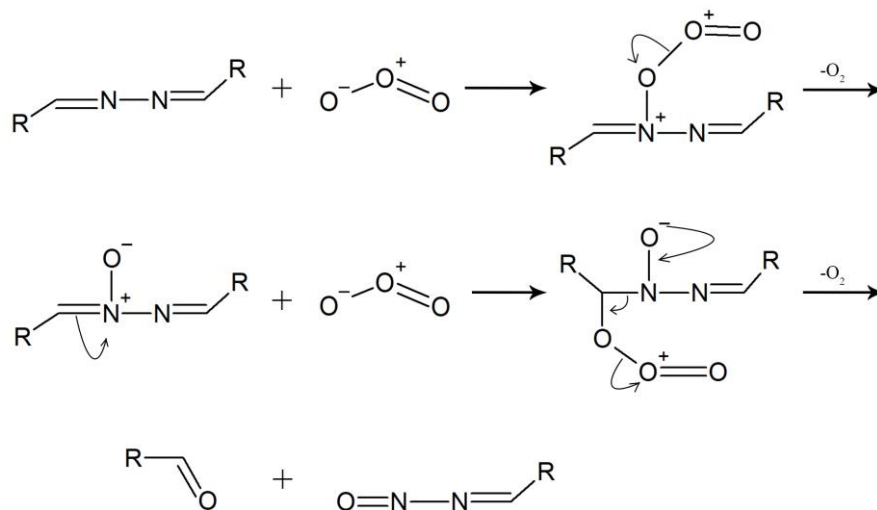


Figura 7. Esquema da reação entre ozônio e grupos azo (adaptado de Miller *et al.*¹⁶⁶).

Não obstante, o número de produtos possíveis nas reações de ozonólise pode aumentar drasticamente em função do tamanho e número de insaturações da molécula orgânica. Em estudo publicado por Yao *et al.*¹⁶⁷, uma solução aquosa contendo 5 mmol/L de pireno foi insuflada por O₃ por aproximadamente 15-30 segundos. Após análises de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM), os resultados mostraram a presença de 14 espécies, representadas na **Figura 8**. Entre os produtos identificados, as espécies III e X apresentaram a maior concentração. Os autores também destacam os problemas da formação de aldeídos como subprodutos, uma vez que esses compostos podem apresentar propriedades tóxicas equivalentes ou superiores a espécie inicial.

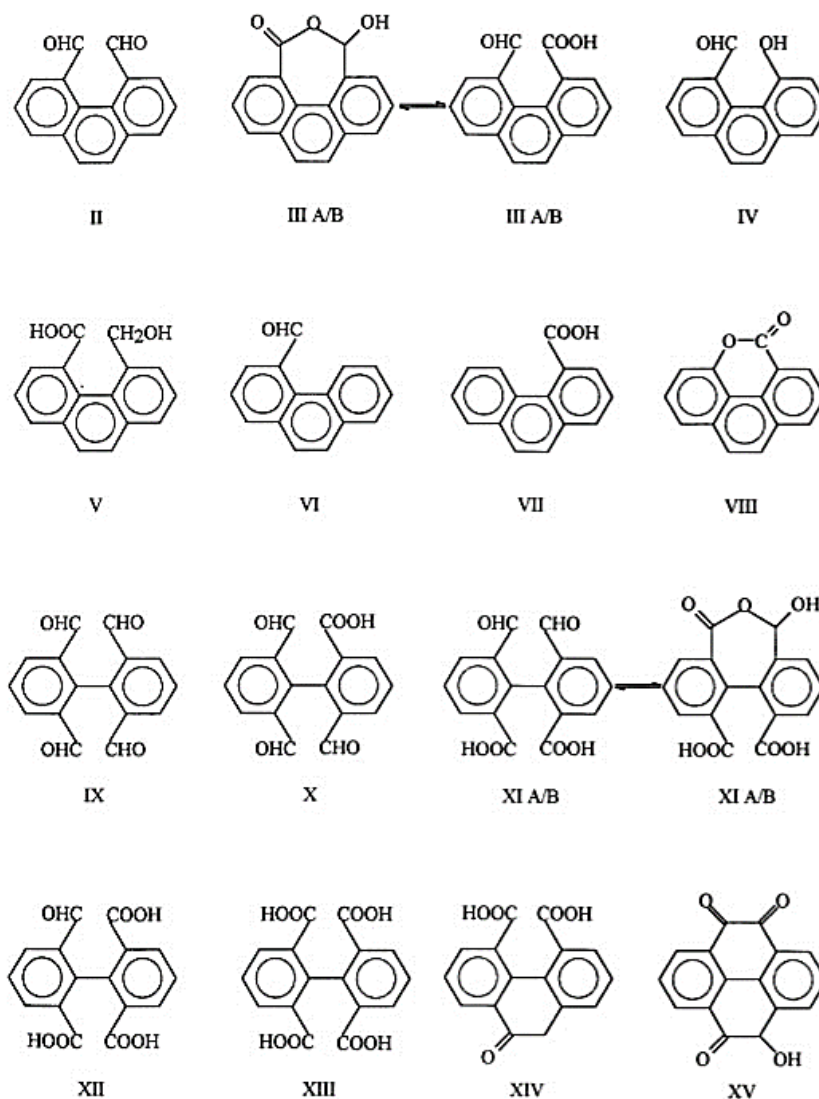
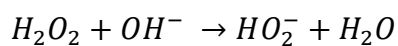
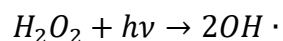
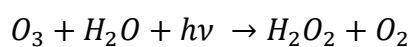


Figura 8. Produtos identificados por CG/MS da reação do ozônio com pireno em solução aquosa (adaptado de Yao *et al.*¹⁶⁷).

Muitos estudos de reações de ozonólise associados ao uso de luz ultravioleta (UV) são descritos na literatura.¹⁶⁸⁻¹⁷¹ A irradiação de luz UV (tipicamente 254 nm) induz a fotólise do par O_3/H_2O , formando H_2O_2 e radicais $OH\cdot$ ($E^\circ = 2,80$ V). Consequentemente, a luz UV favorece uma rota indireta de degradação, através da oxidação das moléculas por radicais $OH\cdot$. Geralmente, essas reações fotoquímicas ocorrem em meio alcalino como descrito nas equações:



Como resultado, espera-se que reações de ozonização na presença de luz UV , forneça um aumento de eficiência na degradação de compostos orgânicos.

3.3.3. Ozônio e os Malefícios à Saúde

Apesar de suas características interessantes para descontaminação de resíduos orgânicos, o ozônio possui uma extensa literatura abordando os efeitos deletérios da inalação desse composto.¹⁷²⁻¹⁷⁴ A exposição aguda, entre 5 min e 6 horas, provocam a diminuição da capacidade pulmonar, do fluxo de inalação, da atividade dos brônquios, *etc.* Entre os principais sintomas observados após uma exposição prolongada estão dores fortes no peito e o encurtamento da respiração. Essas mudanças podem ser atribuídas a contrações dos alvéolos pulmonares devido a irritação provocado pelo ataque do O₃ as paredes celulares dos pulmões.¹⁷⁵

Paralelamente, os produtos das reações de ozonização também costumam apresentar malefícios. Segundo estudo publicado por Weschler¹⁷³, equipamentos de ozonização domésticos tem sido comercializados para limpeza de ar em residências. Entretanto, a reação do ozônio com determinados substratos (tapetes, plásticos, roupas, látex, produtos de limpeza, *etc.*) produz diferentes substâncias, como formaldeído, decanal, pinonaldeído, hexanal, propanal, hexanal, benzaldeído, entre outros. Esses produtos são amplamente conhecidos por apresentar efeitos adversos a saúde. Por exemplo, formaldeído foi designado como um agente carcinogênico pela IARC.¹⁷⁶

Dado esse panorama, uma maior atenção deve ser adereçada a equipamentos de ozonização para descontaminação, uma vez que a exposição rotineira ao O₃ ou aos produtos de ozonólise podem ser tão deletérios para saúde quanto os resíduos de incêndio *in natura*.

4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1. Reagentes

Foram usados três moléculas modelo para os ensaios de degradação: tartrazina (85%, *Sigma Aldrich*[®]), Pireno (98%, *Alpha Aesar*[®]) e 9-metilantraceno (99%, *Alpha Aesar*[®]). Como solventes, foram empregados diclorometano (CH₂Cl₂, 99,8% *Labkem*[®]) e acetonitrila (CH₃CN, 99% *Labkem*[®]).

4.2. Equipamentos e Métodos

Todos os equipamentos usados nesse trabalho foram disponibilizados pelo *Universidad de Alcalá* em colaboração com o *Cuerpo de Bomberos de Madrid*. O fluxo de ozônio gasoso empregado nos testes foi obtido através de um armário ozonizador *Safy Seguridad*[®] (**Figura 9**), desenvolvido e comercializado para descontaminação de trajes de bombeiros.



Figura 9. Armário ozonizador utilizado no trabalho.

Espectro de UV-vis foram obtidos com um espectrofotômetro *Shimadzu*, modelo *MultiSpec 1501*, nos intervalos de comprimento de onda: 200-500 nm (tartrazina), 200-350 nm (pireno) e 260-400 nm (9-metilantraceno). As porcentagens de descoloração foram obtidas a partir da área integrada total do espectro, usando a seguinte equação:

$$Red(\%) = (A_i - A_f) / A_0 \times 100\%$$

Onde, A_i e A_f são as áreas integradas dos espectros de absorção antes e depois da ozonização (no tempo t), respectivamente. Adicionalmente, todos os experimentos foram realizados em triplicata.

Espectros de massa, de forma qualitativa, foram adquiridos em um espectrômetro de massas *Agilent*[®] 6210 TOF-MS, com média de intensidade obtida a partir de 16 espectros. A fonte de ionização adotado foi o APCI (do inglês, *atmospheric pressure chemical ionization*) operando com voltagem de capilar a -2500 V e descarga de corona a 5 μ A0. O fluxo de N₂ foi mantido a 3 bar para nebulização, enquanto as temperaturas foram mantidas em 250°C para evaporação e 450°C para vaporização, com fluxo constante de 7 L/min. As amostras foram diretamente injetadas no equipamento, sem uso de coluna cromatográfica, usando uma bomba de seringa (*KD Scientific, Holliston, MA, USA*) configurada com uma taxa de fluxo de 100 μ L/min. Os espectros de massa foram obtidos no intervalo m/z de 0 a 255.

Uma lampada UV *Analytic*[®] de comprimento de ondas 254 nm/365nm foi utilizada nos testes com tartrazina.

4.3. Experimentos de Degradação das Moléculas Modelo

4.3.1. Experimentos com Tartrazina

4.3.1.1 Em Solução:

Os experimentos foram realizados seguindo a metodologia adaptada de Rodriguez-Lopez *et al.*¹⁷⁷ Como mostrado na **Figura 10a**, modificações foram feitas no armário ozonizador usando mangueiras e tubos para que o fluxo de O₃ fosse direcionado para um recipiente menor (béquero) onde foram conduzidas as reações. Um fluxômetro acoplado a saída de ar (**Figura 10b**) manteve o fluxo de ozônio fixo entre 1,0 e 1,5 L/min. Uma solução de tartrazina (0,1 M) com volume de 500 mL foi colocada em um béquer enquanto O₃ foi insuflado durante 20 min (**Figure 10c**). A cada 5 min, uma alíquota de 2 mL da solução foi coletada e analisada por espectroscopia UV-vis.

Posteriormente, os experimentos em solução foram repetidos com a presença de luz UV 254 nm, como mostra a **Figura 10d**.

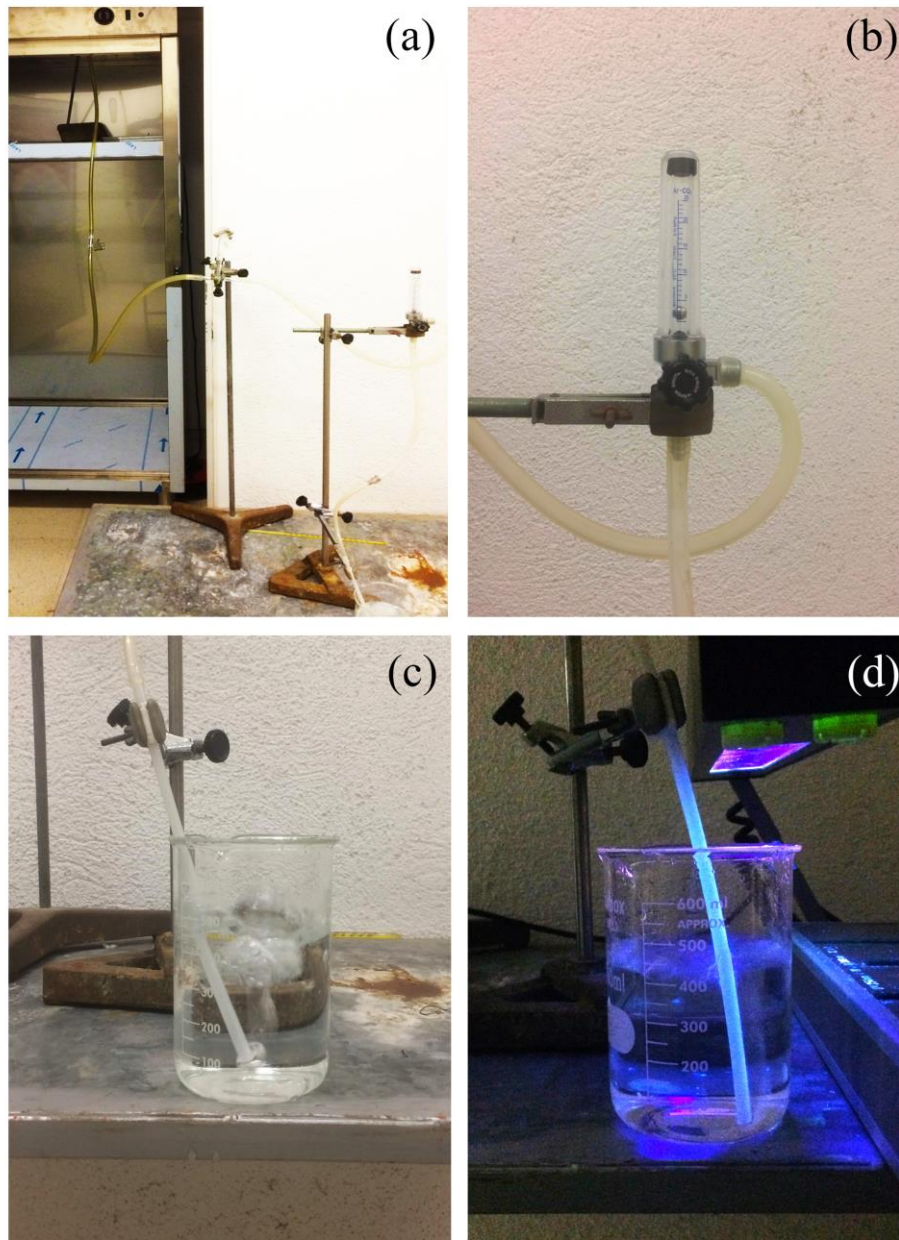


Figura 10. (a) adaptações com tubos realizada no armário ozonizador; (b) fluxômetro; e bquer insuflado na (a) ausência e (b) presença de luz UV (254 nm).

4.3.1.2. Em Fase Gasosa

Utilizando diretamente o O_3 gasoso, procurou-se reproduzir as mesmas condições recomendadas pelo fabricante para descontaminação dos trajes de bombeiros. Para isso, o armário ozonizador foi utilizado diretamente. Discos de algodão (diâmetro $\approx 3,5$ cm, espessura ≈ 3 mm) foram usados simulando os tecidos dos trajes. Os discos foram colocados sobre uma tela e $300 \mu\text{L}$ de uma solução aquosa de tartrazina (0,1 M) foram

gotejadas vagarosamente no centro dos discos de algodão (**Figura 11a**). Os discos foram secos por 24 h em uma estufa a 60 °C e pendurados por cliques dentro do armário ozonizador, de modo a permitir que o fluxo de O₃ entrasse em contato com todo o material (**Figura 11b**). Os discos foram então submetidos a ozonização nos tempos: 0, 30 e 60 min.

Para extração dos compostos, os discos foram colocados em um tubo de ensaio (15 mL) contendo 10 mL de H₂O Milli-Q ultrapura (18,2 Ω cm) e foram sonicados por 20 min. Espectros de absorção UV/VIS foram obtidos das soluções de extração e os valores de descoloração foram calculados.

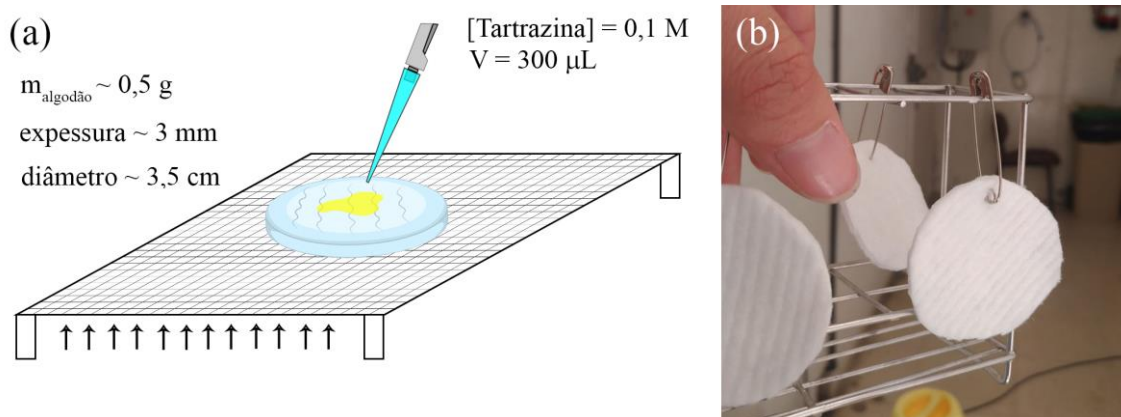


Figura 11. Desenho esquemático do processo de deposição de solução de tartrazina nos discos de algodão e (b) discos de algodão pendurados para início do processo de ozonização.

Os experimentos em fase gasosa foram repetidos adicionando dois novos parâmetros:

- *Luz UV*: Com o auxílio de uma lâmpada os discos de algodão foram irradiados por luz UV (254 nm) por tempos de 0, 30 e 60 min.
- *Umidade*: 5 min antes de iniciar a reação de ozonólise, aproximadamente 10 mL de H₂O Milli-Q ultrapura foi borrifada em ambas as faces dos discos de algodão. Para isso, utilizou-se um borrifador comercial e uma balança de precisão foi usada para medir a massa de água depositada. Ao final, os discos foram borrifados 5 vezes de cada lado do algodão, totalizando aproximadamente 10 mL H₂O.

Foram realizados 4 experimentos em fase gasosa com tartrazina em diferentes cenários: (i) sem água /sem luz UV, (ii) sem água /com luz UV, (iii) com água /sem luz UV e (iv) com água /com luz UV.

4.3.2. Experimentos com Pireno e 9-Metilantraceno

Após os experimentos exploratórios com tartrazina, foram feitas as simulações com as moléculas modelo apolares, pireno e 9-metilantraceno, seguindo a metodologia anteriormente descrita com algumas adaptações:

- O pireno e o metilantraceno foram solubilizados em triclorometano (0,1 M);
- Os discos de algodão foram substituídos por pedaços de trajes, obtidos em cooperação com o *Cuerpo de Bomberos de Madrid*.
- A extração dos compostos dos discos após a ozonização foi realizada com 20 mL de acetonitrila;
- Os tempos de exposição foram usados: 0, 15, 30 e 60 min;

Doados pelo *Cuerpo de Bomberos de Madrid*, pedaços de trajes foram usados nos experimente, constituídos de 3 camadas: (1) tecido externo, (2) barreira impermeável e (3) linha de proteção térmica. Para isso, os pedaços de traje foram costurados como mostrado na **Figura 12b** e as soluções contendo os compostos foram depositadas na camada externa dos trajes. Os demais parâmetros dos experimentos de simulação foram repetidos como citado anteriormente.

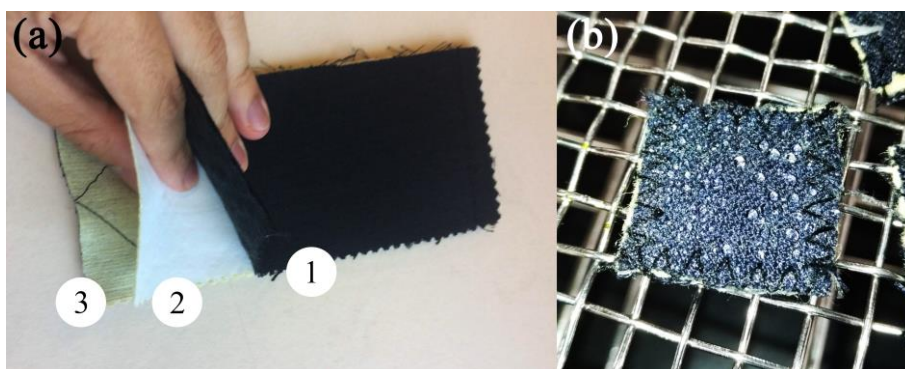


Figura 12. (a) Tecidos usados nos experimentos e diferentes camadas (1 – camada externa, 2 – barreira impermeável e 3 – linha de proteção térmica) e (b) pedaços de tecido costurados para testes de simulação.

Após a realização das reações de ozonólise, foi obtido o espectro de massa para algumas amostras. Para obtenção dos espectros, dois procedimentos foram realizados. No primeiro, 100 mL de solução de acetonitrila contendo 0,1 M de pireno ou 9-metilantraceno foram insuflados com O_3 por 60 min. A mistura resultante foi injetada diretamente no APCI/MS. No segundo procedimento, as soluções de extração dos trajes de bombeiros após 60 min de ozonização (obtidas na seção 4.3.3) foram injetadas no

equipamento para obtenção dos espectros. Em ambos os experimentos, também foram injetadas amostras que não foram submetidas ao processo de ozonólise para comparação.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A priori, as investigações do presente trabalho foram pautadas pelos resultados obtidos por Chico *et al.*¹³⁵, que encontraram diferentes resíduos orgânicos persistentes em trajes/equipamentos de bombeiros. Entre as moléculas encontradas, destacam-se E,E-1,4-dimetil-1,4-difenil-1,3-butadieno, 7,9-ditert-butil-1-oxaspiro[4,5]deca-6,9-dieno-2,8-diona, 5-metil-7-fenil-6H-1,4-diazepina-2,3-dicarbonitrilo e 9-butil-1,2,3,4-tetrahidrobutilantraceno (estruturas nas **Figura 1**). Estas moléculas contém grupos funcionais susceptíveis a reação de ozonólise, como insaturações (duplas ligações) e anéis aromáticos.

Os trajes de bombeiros contaminados podem ser entendidos como uma matriz bastante complexa, contendo diversos compostos orgânicos como HPA, ou constituintes do traje como Klevar[®], Nomex[®], e Teflon, *etc.* Desta forma, para melhor compreender os processos da ozonólise, foram escolhidos compostos modelo que apresentassem esses mesmos grupos funcionais. Trabalhando com sistemas mais simples é mais fácil compreender os fenômenos envolvidos, para em um segundo momento passar a estudar os trajes contaminados propriamente ditos. Assim, as **Figuras 13a, 13b e 13c** mostram as estruturas químicas das moléculas modelo escolhidas para esse trabalho: tartrazina, pireno e 9-metilantraceno, respectivamente.

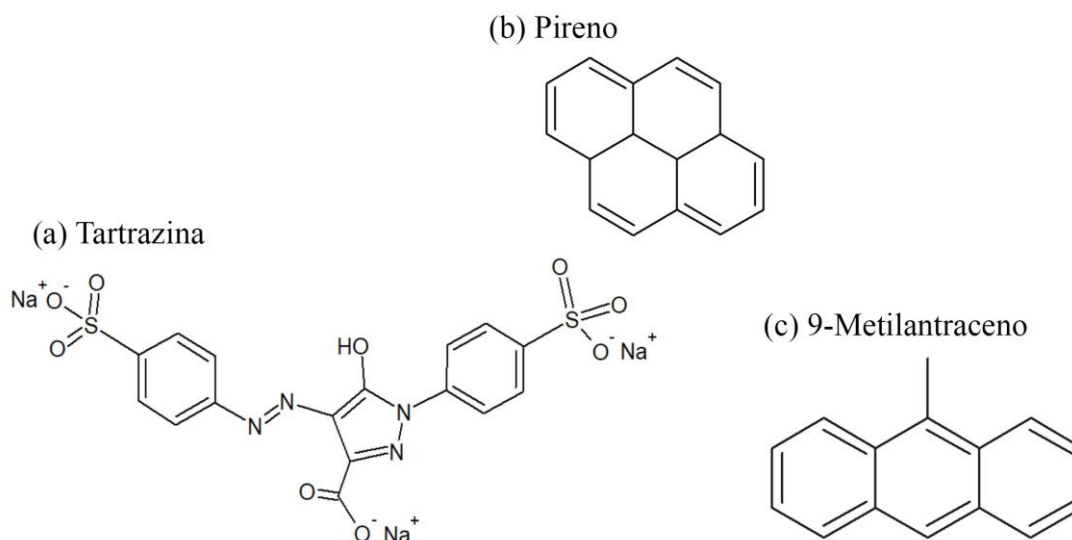


Figura 13. Estruturas químicas das moléculas modelo (a) Tartrazina, (b) Pireno e (c) 9-metilantraceno.

Foram adquiridos os espectros UV-vis das moléculas modelos. Como mostrado na **Figura 14**, o espectro de absorção da tartrazina apresenta duas bandas largas: a primeira, centrada em 428 nm, foi associada a transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$ do grupo cromóforo N=N responsáveis pela cor laranja característica do composto^{178,179}; A segunda banda centrada em 257 nm foi associada a transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ das ligações conjugadas dos anéis aromáticos (**Figura 14a**).^{180,181} Com relação ao pireno (**Figuras 14b**), foram observadas bandas de transições singleto-singleto referentes aos estados S_3 e S_2 nos intervalos 250-287 nm e 288-350 nm, respectivamente,¹⁸² enquanto o 9-metilantraceno (**Figuras 14c**) apresentou bandas associadas as transições $S_1 \rightarrow S_0$, observadas no intervalo de 300 nm a 400 nm.¹⁸³

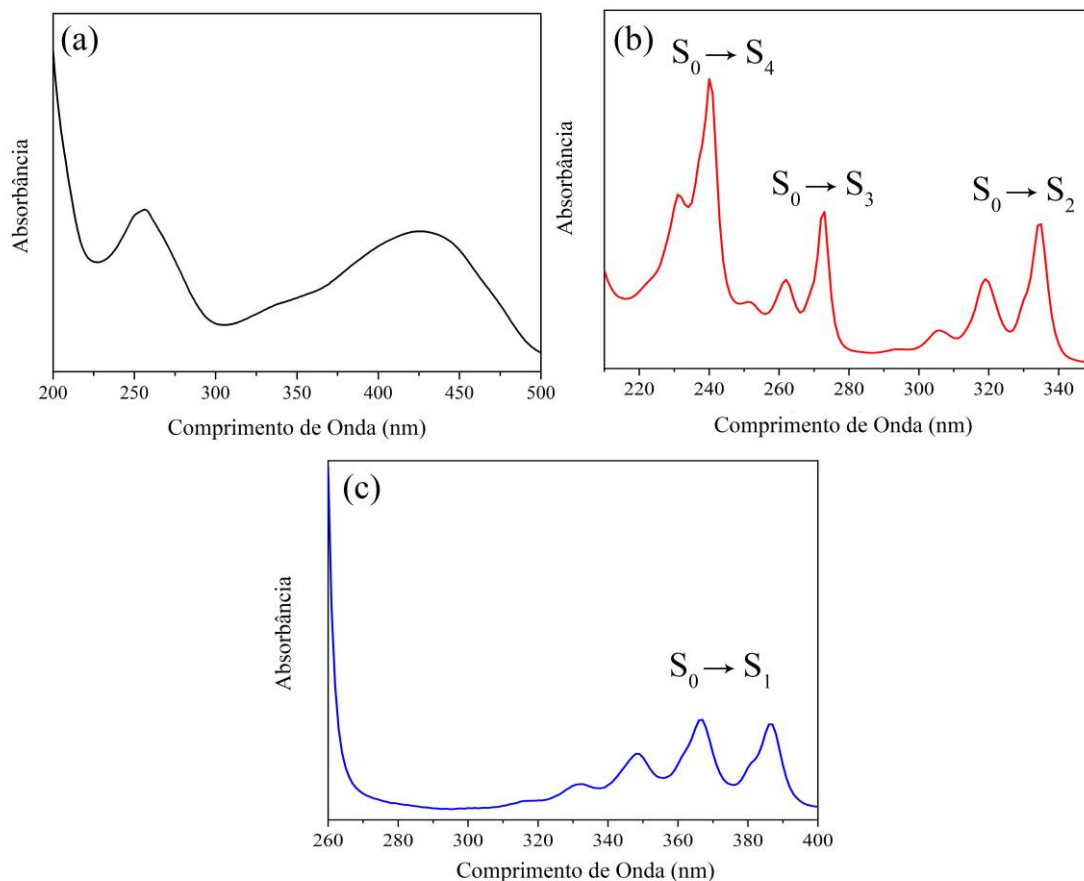


Figura 14. Espectros de absorção das moléculas modelo (a) tartrazina, (b) Pireno e (c) 9-metilantraceno.

As bandas características observadas para cada molécula modelo estão relacionadas aos grupos funcionais mais susceptíveis a reação de ozonólise (C=C e N=N). Logo, é correto afirmar que a diminuição dessas bandas é um forte indicativo de rompimentos na estrutura química dos modelos.

5.1. Experimentos em Solução

Primeiramente, as investigações foram direcionadas para a tartrazina devido a alta disponibilidade comercial e baixo custo do reagente. Outro fator decisivo para escolha desse composto é a sua intensa coloração laranja, proveniente dos grupos cromóforos. Com o rompimento do grupo N=N (em 428 nm) ou das duplas ligações dos anéis aromáticos (em 257 nm) por conta da ação do O₃, espera-se que o composto perca a coloração, facilitando o acompanhamento da degradação, tanto visualmente como por espectrofotometria.

Como mostrado na **Figura 15a**, os espectros de absorção da tartrazina mostram diminuições de intensidade nas bandas em função do aumento do tempo de ozonização. O mesmo pode ser observado para os experimentos na presença de luz UV, como mostra a **Figura 15b**. A redução da banda em 257 nm indica o rompimento de duplas ligações e abertura dos anéis aromáticos^{184,185}, enquanto a redução da banda em 428 nm indica a fragmentação da molécula devido ao rompimento do grupo N=N.^{180,181,186,187} Setas nas **Figuras 15a e 15b** destacam uma banda secundária centrada em 345 nm, que aparece após a ozonização, sugerindo a formação de um produto que absorve nesta região. Em outras palavras, o aparecimento dessa banda sugere que não há uma degradação completa desta molécula e sim a fragmentação da tartrazina. Com o passar do tempo os grupos preferenciais são consumidos e esses produtos passam também a ser oxidados, como indica a redução da banda em 345 nm. O gráfico de degradação na **Figura 15c** mostra altas porcentagens de degradação à 20 min, com valores de $81 \pm 1\%$ e $83,1 \pm 0,9\%$ na ausência e presença de lampada UV, respectivamente. Observa-se também que após 20 min o gráfico de percentual de degradação, mostra uma mudança de comportamento, sugerindo que a reação se aproxima do ponto máximo de degradação.

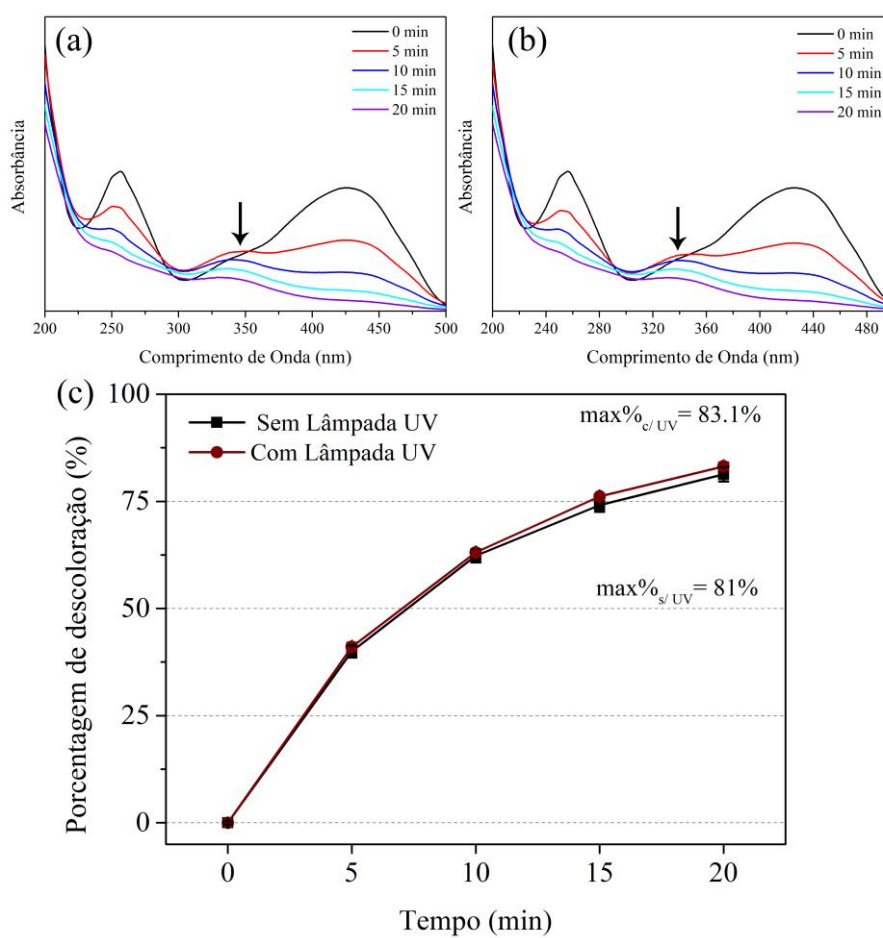


Figura 15. Espectros de absorção da tartrazina após diferentes tempos de ozonização na (a) ausência e (b) presença de luz UV (254 nm); (c) Porcentagem de degradação em função do tempo de ozonização observada nos testes em solução (número de replicatas = 3).

5.2. Experimentos em fase gasosa

Após os experimentos mostrando a eficiência das reações de ozonólise na degradação de tartrazina em solução, buscou-se reproduzir as condições de operação do armário de ozonólise para descontaminação dos trajes de bombeiros. Sendo assim, discos de algodão foram escolhidos como substitutos ao tecido dos trajes, isso porque o algodão é composto majoritariamente por celulose (**Figura 16a**) que não apresenta duplas ligações e é, teoricamente, inerte na presença de O_3 . Além disso, os discos apresentam baixo custo e alta disponibilidade, que permite realizar uma maior quantidade de experimentos (visto que o acesso a amostras dos tecidos dos trajes de bombeiro é bastante limitado). Por fim, o algodão branco destaca a coloração característica da tartrazina, permitindo sua identificação visual de maneira fácil (**Figura 16b**).

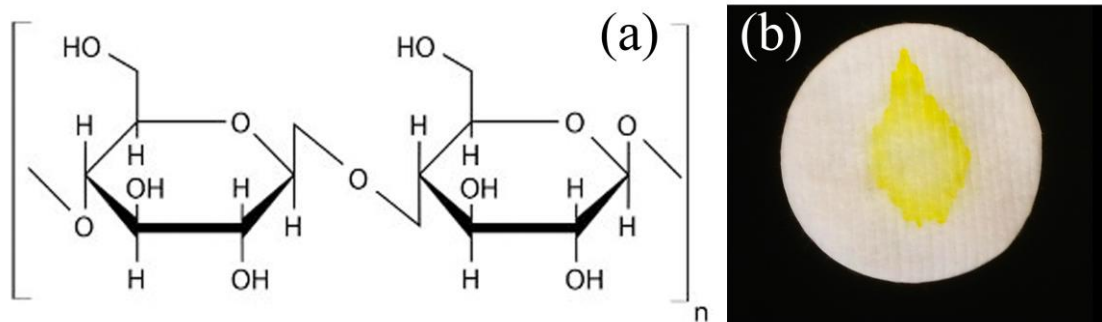


Figura 16. (a) Estrutura química da celulose e (b) mancha de solução de tartrazina em um disco de algodão.

Algodões contendo solução de tartrazina foram colocados para ozonização em quatro cenários possíveis: **(i)** sem água/sem luz UV, **(ii)** sem água/com luz UV, **(iii)** com água /sem luz UV e **(iv)** com água /com luz UV. A **Figura 17** mostra imagens dos discos de algodão em todos os experimentos, nos tempos 0 min, 30 min e 60 min. Nitidamente, não foram observadas mudanças significativas de coloração nos discos seco, independente da presença de luz UV (cenários **i** e **ii**). Por outro lado, as amostras que foram borrifadas com água (cenários **iii** e **iv**) mostraram significantes reduções de coloração a partir 30 min, indicando que a água apresenta um papel fundamental para a eficiência da degradação. Segundo a literatura, reações de ozonólise em solução favorecem a formação dos intermediários molozonido e ozonido, o que tornam reações nesse meio mais eficientes.¹⁶⁰ Portanto, é necessário considerar a hipótese de que talvez seja necessário umedecer os trajes de bombeiro para que a ozonólise seja uma alternativa possível à sua descontaminação.

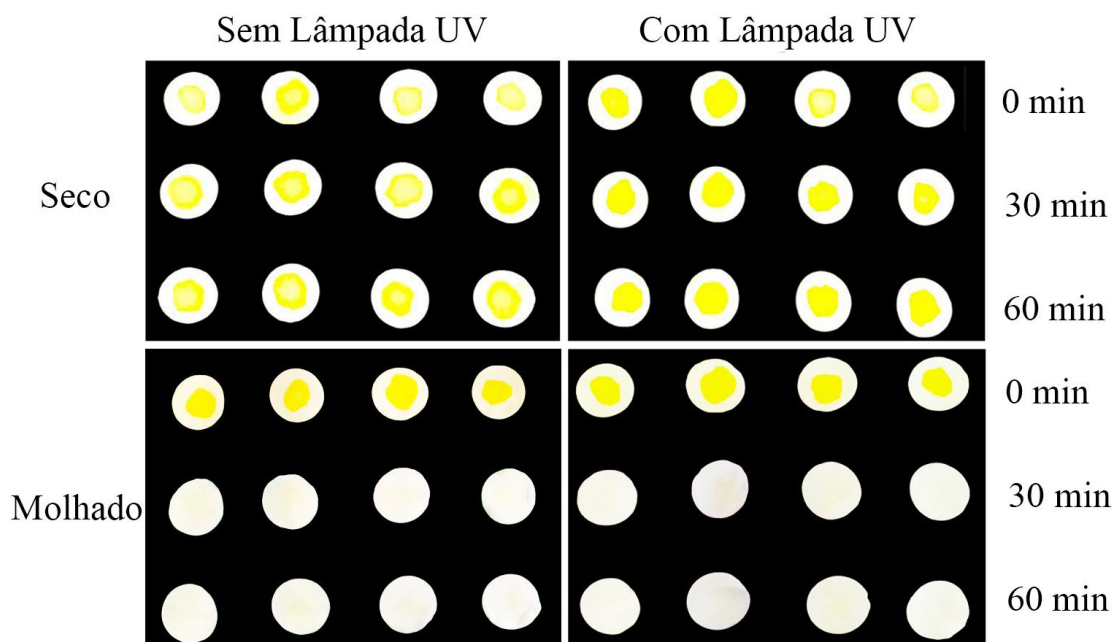


Figura 17. Imagens dos discos de algodão submetidos a: diferentes tempos de ozonização; secos e molhados; na ausência e presença de luz UV (254 nm).

Posteriormente, os algodões foram lavados com água para extrair os produtos da reação de ozonólise. Espectros UV/VIS foram obtidos e os valores de porcentagem de degradação, bem como o desvio padrão (número de replicatas, $n = 3$), foram sumarizados na **Figura 18**. Assim como constatado pelo aspecto visual dos algodões, os experimentos feitos com o algodão seco apresentaram baixas porcentagens de degradação mesmo após 60 min, com valores de $5 \pm 3\%$ e $6 \pm 1\%$, na ausência e presença de luz UV, respectivamente. Paralelamente, os experimentos realizados com o algodão úmido apresentaram porcentagens de degradação muito maiores, com valores de $51 \pm 1\%$ e $53 \pm 4\%$ na ausência e presença de Luz UV, respectivamente.

Com relação aos cenários **iii** e **iv** (na presença de água), é possível observar que existe apenas uma pequena diferença nos valores de degradação obtidos a 30 min e 60 min. Isso indica que a reação está próxima do máximo de eficiência e que a reação está alcançando o equilíbrio. Portanto, é razoável inferir que, nestas condições, apenas 50% da tartrazina pode ser degradada no armário de ozonólise. Esta limitação pode estar associada à superfície de contato do algodão. Como um material poroso, é possível que a parte interna do algodão não esteja em contato com o O_3 , o que limita a técnica de descontaminação.

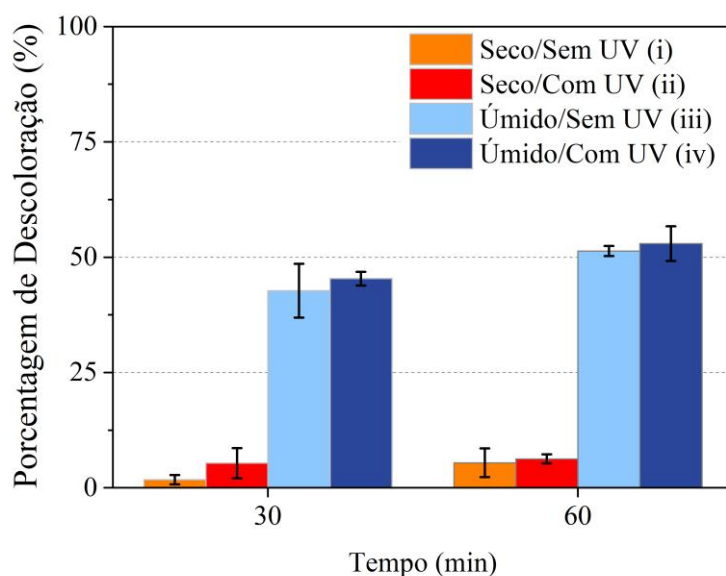


Figura 18. Porcentagens de descoloração obtidas nos experimentos de ozonização com a tartrazina nos discos de algodão nos tempos 30 e 60 min em diferentes cenários (i = Seco/sem UV; ii = Seco/com UV; iii = Úmido/sem UV; iv = Úmido /com UV).

A literatura indica que a luz UV pode aumentar a eficácia em reações de ozonólise em meio aquoso, devido a formação de radicais $\text{OH}\cdot$.¹⁶⁸⁻¹⁷¹ Porém, os resultados obtidos nos experimentos não demonstraram um aumento de eficácia em função da presença de UV. Isto pode estar associado ao fato de substâncias com alta absorvidade molar, como tartrazina e corantes, não permitem a formação de radicais $\text{OH}\cdot$ em solução devido ao bloqueio da radiação incidente.^{168,188}

5.2.1. Pireno e 9-Metilantraceno

Nos experimentos com pireno e 9-metilantraceno foi utilizado o tecido dos trajes de bombeiro como suporte para a reação. As soluções contendo as moléculas alvo foram depositadas na superfície dos tecidos, sob a camada externa. Após secos, as amostras de tecido foram submetidas a ozonização. Após o processo de ozonização nos tempos 0, 15, 30 e 60 min, foram realizadas extrações dos resíduos (seção 4.3.2) e obtidos seus espectros de absorção. (**Figura 19**). Tanto nos ensaios realizados a seco, quanto aqueles na presença de umidade, observou-se uma pequena redução de intensidade nas bandas de absorção típicas do pireno e do 9-metilantraceno. Apenas as bandas centradas em 250 nm do pireno e em 275 nm do 9-metilantraceno sofreram um aumento de intensidade com o passar do tempo de reação. Este aumento foi mais significativo para o 9-metilantraceno.

Isso está associado a formação de novos produtos após a ação do O₃ na molécula alvo. Para evitar que esse fenômeno afetasse os cálculos de degradação, a área de integração usada para os HPA foram restritas as bandas características do pireno e metilantraceno em regiões de maiores λ : S₀→S₂ (300-350 nm) e S₀→S₁ (300-400 nm), respectivamente.

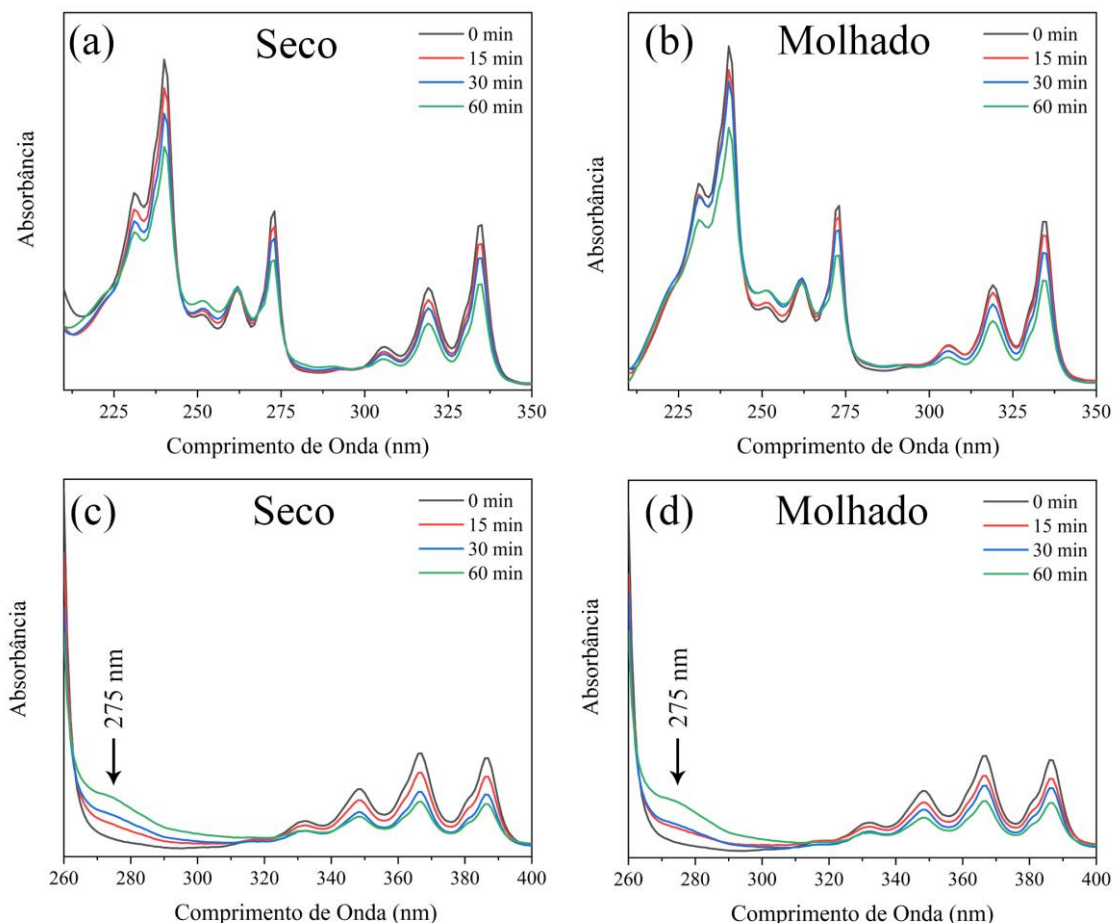


Figura 19. Espectros de absorção obtidos nos experimentos de simulação com as moléculas modelo (a-b) pireno e (c-d) 9-metilantraceno, secos e molhados.

A **Tabela 3** e a **Figura 20** resumam as porcentagens de degradação calculadas para os experimentos realizados com o pireno e 9-metilantraceno. Diferentemente da tartrazina, o pireno e o 9-metilantraceno não mostraram diferença na degradação a seco ou na presença de umidade, contudo estes valores são baixos (14% e 36% de porcentagem de degradação, respectivamente). Esse comportamento pode estar associado a baixa solubilidade dos HPA em água. Além disso, os trajes apresentam camadas e proteções impermeáveis que dificultam a difusão do líquido entre as tramas do tecido.

O 9-metilantraceno apresentou valores de degradação maiores que o pireno. Segundo a regra dos sextetos, o 9-metilantraceno possui apenas um sexteto de elétrons π , dividido por três anéis (inserção na **Figura 20a**), tornando sua estrutura menos aromática. Por outro lado, o pireno possui em sua estrutura dois sextetos que fornecem maior estabilidade e menor reatividade (inserção na **Figura 20b**). Logo, essa menor aromaticidade do 9-metilantraceno o torna mais reativo e por isso a ozonização é mais eficiente, comparado ao pireno (mais estável).¹⁸⁹

Em comparação com as recomendações do fabricante do armário¹⁴⁰, observou-se que o tempo máximo de 14 min não se aplica a todos os HPA. Isso indica que as recomendações do fabricante não são acuradas e não condizem com a realidade dos bombeiros.

Tabela 3. Percentagens de degradação obtidas nos experimentos de ozonização com o pireno e 9-metilantraceno nos pedaços de traje nos tempos 15, 30 e 60 min (n = 3).

Tempo (min)	Pireno				Antraceno			
	Seco		Molhado		Seco		Molhado	
	Média (%)	DP	Média (%)	DP	Média (%)	DP	Média (%)	DP
15	5.51	0.05	5	3	11	3	15	5
30	8.1	0.7	7	3	32	2	27	3
60	14	5	14	1	36	3	36	3

* n = número de replicatas

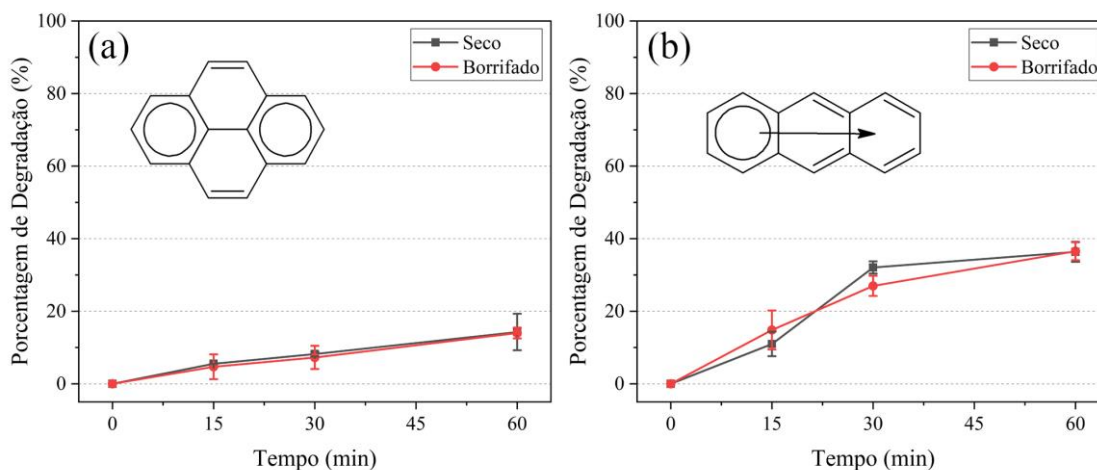


Figura 20. Gráficos de percentagem de degradação em função do tempo de ozonização para os experimentos de simulação com os pedaços de traje e (a) pireno e (b) 9-metilantraceno. (inserções são as estruturas químicas das moléculas modelo mostrando os sextetos).

Na literatura, Fent *et al.*¹³¹ observaram uma remoção de aproximadamente 85% de resíduos de incêndio de trajes de bombeiros utilizando uma simples lavagem com sabão e água. Os resultados de descontaminação obtidos nos experimentos com o armário ozonizador não apresentou os mesmos níveis de remoção (todos abaixo de 55%). Isso

indica que o uso de armários ozonizadores para o corpo de bombeiros podem não ser viável em custo/benefício, já que os armários necessitariam de muito mais tempo para remoção dos resíduos. Além disso, faz-se necessários um estudo aprofundado dos efeitos do ozônio nos trajes de bombeiros, que apresentam várias insaturações devido aos polímeros que o compõem (*e.g.* Nomex e Kevlar).

Buscando melhor compreender a decomposição do pireno e 9-metilantraceno, medidas de APCI/MS foram empregadas para identificar os principais produtos da ozonólise. Primeiramente, espectros dos reagentes puros (sem ozonólise) foram obtidos. Em seguida, para evitar perder amostras voláteis, as reações de ozonólise foram realizadas em solução de acetonitrila (insuflada por 60 min). A solução resultante foi injetada diretamente no equipamento. É importante destacar que o método de identificação utilizado não é indicado para análises quantitativas e que as intensidades dos picos não refletem as proporções de cada composto.

Os espectros de massas dos reagentes puros mostram picos em m/z 193 (**Figura 21a**) e 203 (**Figura 21b**) que foram associados às formas protonadas do pireno e 9-metilantraceno, respectivamente. Adicionalmente, na **Figura 21b** também é possível observar picos em m/z 178 e 207 associados às estruturas protonadas do antraceno e 9-antracencaldeído.

Na amostra de pireno insuflada com O₃ durante 60 min (**Figura 21c**), novos picos foram observados em m/z 191, 205, 221 e 235. Estes picos foram associados às espécies protonadas 4-metilfenantreno, 4-fenantrenocarbaldeído, ácido 4-fenantrenocarboxílico e 4,5-fenantrenocarbaldeído, respectivamente (estruturas inseridas na **Figura 21c**). Como demonstrado por Yao *et al.*¹⁶⁷, essas são espécies tipicamente identificadas na ozonização do pireno, com exceção do 4-metilfenantreno. Com relação a esse produto, não foram encontrados na literatura possíveis mecanismos para sua formação. Entretanto, é importante se destacar que os mecanismos de ozonização não são totalmente compreendidos e a alta complexidade da reação pode formar novos produtos.^{163,164}

Não foram identificadas espécies com m/z menor que 180, como o formaldeído (m/z 31), glioxal (m/z 59), ácido fórmico (m/z 47), ácido acético (m/z 61), *etc.* Essas moléculas de menor m/z são tipicamente formadas quando o precursor é degradado totalmente. A ausência desses picos indica que a reação não foi eficaz em degradar totalmente as moléculas.

Já as amostras de 9-metilantraceno tratadas com O₃ por 60 min (**Figura 21d**) apresentaram novos picos em *m/z* 225 e 241, associadas às estruturas químicas 3-propanaldeído-4-metilnaftaleno-2-carbaldeído e ácido 3-propanaldeído-4-metilnaftaleno-2-carboxílico (estruturas inseridas na **Figura 21d**). Como observado, as duplas ligações dão lugar a grupos aldeídos e ácidos carboxílicos, como descrito na literatura.^{160,163}

Na **Figura 22** é mostrado o mecanismo de reação proposto para a formação dos produtos 4,5-fenantrenocarbaldeído (P1), 4-fenantrenocarbaldeído (P2) e ácido 4-fenantrenocarboxílico (P3), baseado nos trabalhos de Yao *et al.*¹⁶⁷ e Cochran *et al.*¹⁹⁰ por outro lado, não foram encontradas na literatura os mecanismos para a ozonólise do 9-metilantraceno, porém, utilizou-se diferentes referências para propor um mecanismo para reação. Assim, a **Figura 23** mostra a rota de reação proposta para a formação do 3-propanaldeído-4-metilnaftaleno-2-carbaldeído (A1) e ácido 3-propanaldeído-4-metilnaftaleno-2-carboxílico (A2).

Analogamente ao pireno, não foram identificados picos em *m/z* menores que 180, indicando que nos dois modelos o processo de 60 min de ozonização não foi capaz de degradar mais que uma insaturação. Como observado, as duplas ligações dão lugar a grupos aldeídos e ácidos carboxílicos, como descrito na literatura.^{160,163} Analogamente ao pireno, não foram identificados picos em *m/z* menores que 180, indicando que nos dois modelos o processo de 60 min de ozonização não foi capaz de degradar mais que uma insaturação.

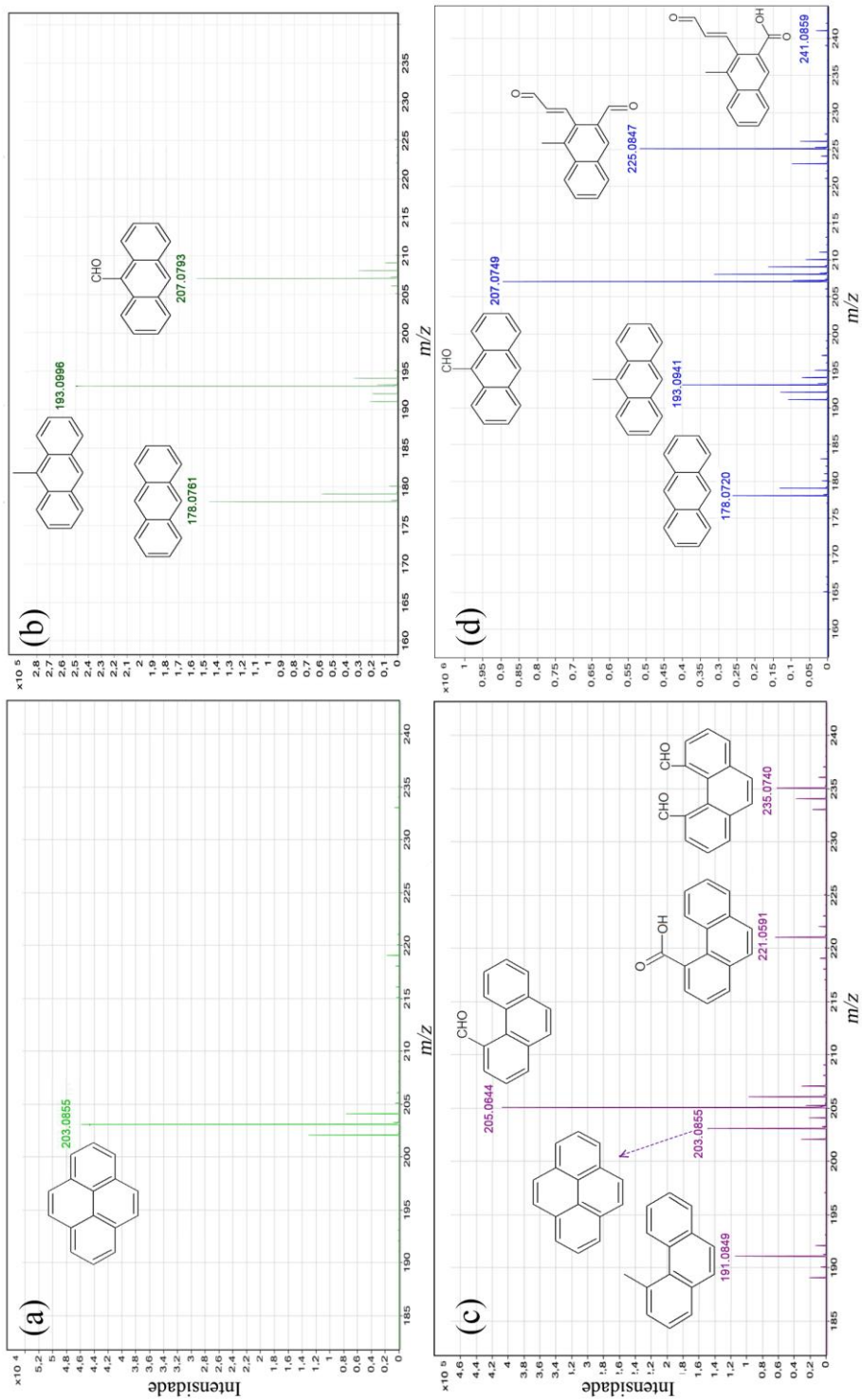


Figura 21. Espectros de massas dos reagentes puros (a) pireno e (b) 9-metilantraceno; e espectros de massas das soluções após 60 min de ozonólises contendo (c) pireno e (d) 9-metilantraceno.

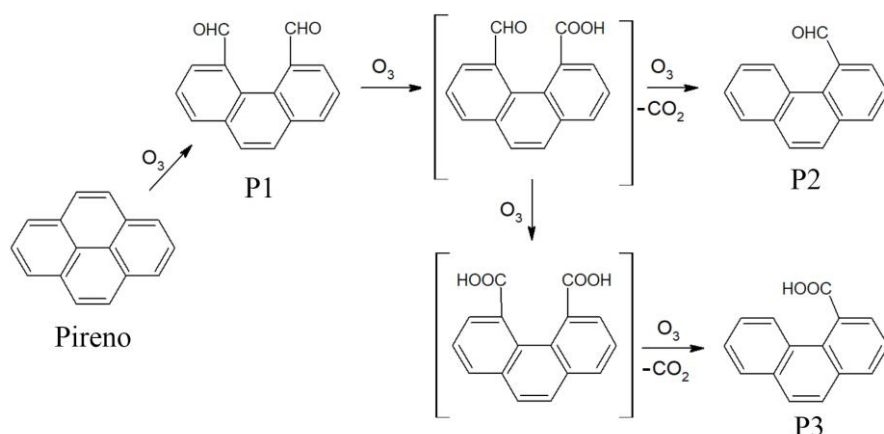


Figura 22. Proposta de mecanismo de degradação do pireno por ozonólise (P1 = 4,5-fenantrenocarbaldeído, P2 = 4-fenantrenocarbaldeído, P3 = ácido 4-fenantrenocarboxílico).

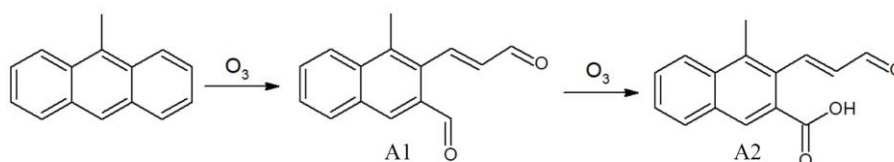


Figura 23. Proposta de mecanismo de degradação do 9-metilantraceno por ozonólise (A1 = 3-propanaldeído-4-metilnaftaleno-2-carbaldeído, A2 = ácido 3-propanaldeído-4-metilnaftaleno-2-carboxílico).

A posteriori, análises de APCI/MS foram realizadas das soluções extraídas dos trajes obtidas no procedimento da seção 4.3.2. Primeiro, amostras foram extraídas de pedaços de traje que não foram submetidos a ozonização e injetadas no equipamento. Na **Figura 24a e 24b** são mostrados os espectros de massas das amostras sem tratamento com O_3 . Assim como nos experimentos em solução, observam-se picos referentes as formas protonadas do pireno (m/z 203) e 9-metilantraceno (m/z 193), bem como os picos das espécies antraceno e 9-antracencabaldeído em m/z 178 e 207, respectivamente. Todavia, novos picos foram observados nos m/z 199, 207, 214 e 226. Esses picos foram associados a compostos orgânicos próprios do traje, possivelmente resíduos de polímeros oriundos da fabricação do equipamento.

Na **Figura 24c e 24d** são apresentadas os espectros de massas das extrações dos trajes submetidos a 60 min de ozonólise. Observa-se que os picos associados aos resíduos do traje (em m/z 199, 207, 214 e 226) permanecem mesmo após a ozonização, indicando que esses compostos não sofreram degradação. Já os picos em m/z 205, 221 e 235 foram associados aos produtos da ozonização do pireno (**Figura 24c**) 4-metilfenantreno, 4-fenantrenocarbaldeído, ácido 4-fenantrenocarboxílico e 4,5-fenantrenocarbaldeído,

também encontrados nas amostras em solução. Esse resultado indica que não houve mudança no mecanismo de reação em fase gasosa.

Adicionalmente, também não foram observados subprodutos de menor carga massa ($m/z < 180$), corroborando com as evidências de que 60 min de ozonólise não são suficientes para a descontaminação total dos trajes. Com isso, as recomendações de operação dos armários ozonizadores pelo fabricante aparentam não ser suficiente para descontaminação de HPA nos trajes de bombeiros. Não foram observadas evidências de que o tecido do traje sofreu alguma decomposição devido a exposição ao ozônio. Entretanto, a literatura mostra indícios de essas reações podem ocorrer e novas pesquisas seriam necessárias para investigar o efeito da ozonização nos trajes.

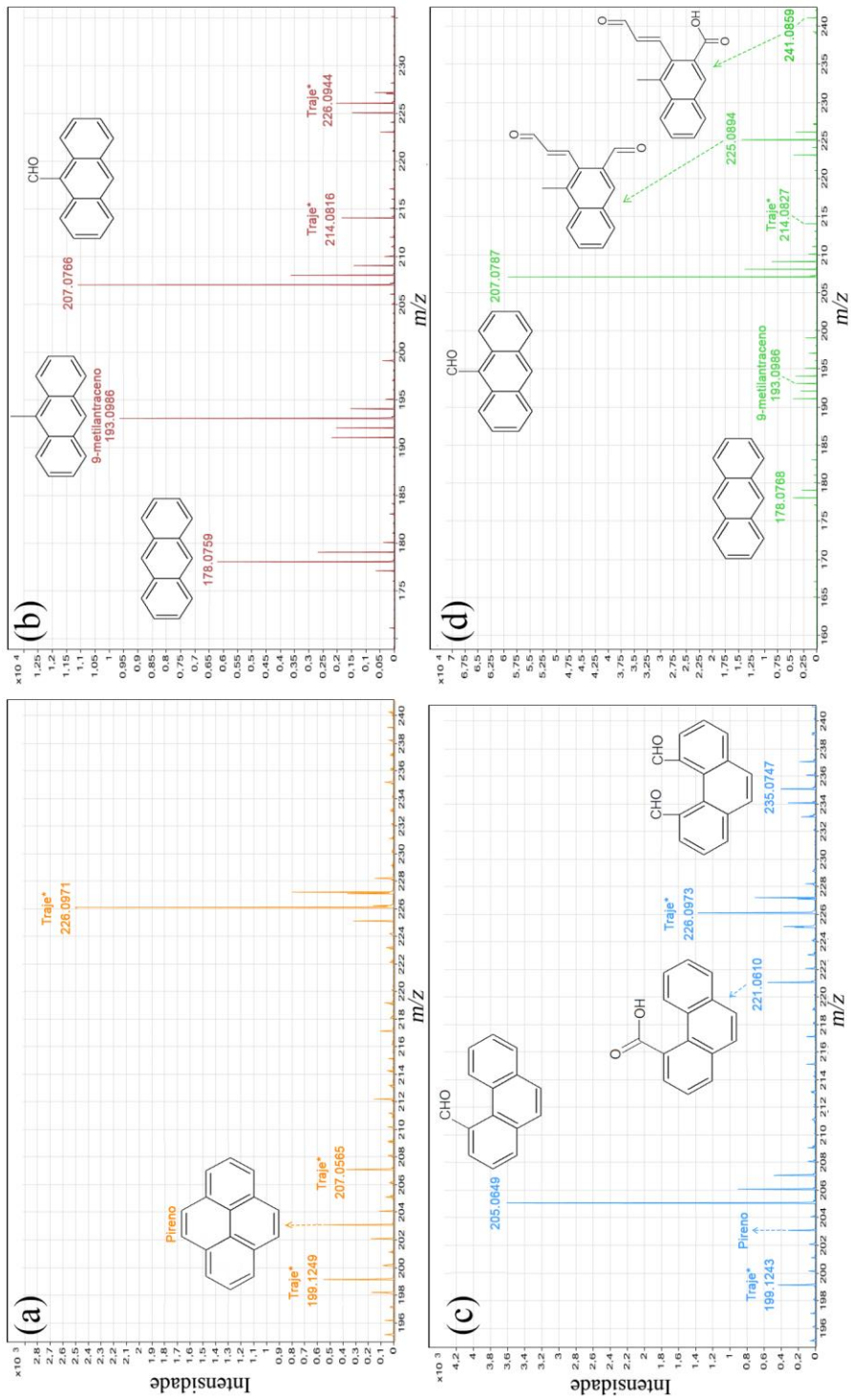


Figura 24. Espectros de massas das soluções extraídas dos trajes sem ozonólise para o (a) pireno e (b) 9-metilantraceno; e espectros de massas das soluções extraídas dos trajes após 60 min de ozonólises contendo (c) pireno e (d) 9-metilantraceno.

6. CONCLUSÕES

Nesse trabalho foi feita uma primeira avaliação da eficácia da ozonólise, nas condições de uso de armários ozonizadores, para descontaminação de trajes de bombeiros. Três moléculas modelo foram usadas nos experimentos: tartrazina, pireno e 9-metilantraceno. Em solução insuflada por O₃, a tartrazina mostrou uma alta porcentagem de descoloração, com 81±1% após 20 min. Contudo, quando a reação se passou em meio seco, foi observado apenas 5±3% de descoloração, após 20 min. Quando os discos de algodão foram umedecidos (com borrifadores), uma degradação de 42±6% de descoloração após 20 min foi observado, evidenciando a importância da água no processo. Também foram realizados experimentos de descoloração de tartrazina na presença de lampada UV (254 nm), porém, não foram observadas mudanças significativas na eficiência do processo.

Posteriormente, o pireno e 9-metilantraceno foram testados, pois apresentam estrutura mais próxima dos contaminantes de interesse (hidrocarbonetos poliaromáticos). Nesses testes, procurou-se também avaliar a influência dos trajes de bombeiro no processo. Para isso, solução contendo as moléculas modelo foram depositadas sobre pedaços de trajes de bombeiros, os quais foram submetidos a ozonização em fase gasosa (meio seco). Os resultados mostraram porcentagens de degradação de 14±6% e 36±3%, respectivamente (após 60 min). Ao contrário dos testes com tartrazina, a presença de umidade nos pedaços de trajes não aumentou a eficiência da degradação, provavelmente devido a insolubilidade dos compostos e da impermeabilidade dos tecidos. Somado a isso, análises qualitativas de APCI/MS mostraram a formação das espécies 4-metilfenatreno, 4-fenantrenocarbaldeído, ácido 4-fenantrenocarboxílico e 4,5-fenantrenocarbaldeído na ozonólise do pireno; e 3-propanaldeído-4-metilnaftaleno-2-carbaldeído e ácido 3-propanaldeído-4-metilnaftaleno-2-carboxílico na ozonólise do 9-metilantraceno. Não foram encontradas espécies de *m/z* menor que 180, sugerindo que a decomposição dos modelos não estão formando moléculas menores e voláteis, como mencionado pelo fabricante dos armários.

Em suma, os resultados mostraram porcentagens de degradação não satisfatórias, visto que metodologias da literatura mostraram maior eficiência. Conclui-se que os armários ozonizadores, dentro das condições estudadas, não são indicados para a descontaminação de resíduos de incêndio em trajes de bombeiros e que a tecnologia

necessita de mais estudos antes de sua aplicação em larga escala. Adicionalmente, estudos precisam ser realizados para verificar a toxicidade dos compostos formados na ozonólise e o quanto a ozonólise afeta os constituintes dos trajes, pois se houver degradação dos trajes isto pode representar um risco ainda maior para os bombeiros.

Capítulo IV :

Considerações Finais

Neste trabalho foram abordados três problemas distintos de interesse para pesquisadores e profissionais da química forenses. O primeiro deles tratou da avaliação de sensores luminescentes para a detecção de nitroaromáticos. O segundo foi um estudo sistemático de possíveis interferentes presentes em materiais de coleta para resíduos de explosivos. E por fim, foi avaliada a eficácia da reação de ozonólise para a descontaminação de trajes de bombeiros. Em todos esses trabalhos contribuições foram alcançadas para áreas da química e forense. Paralelamente, esses trabalhos também trazem questionamentos a conhecimentos estabelecidos na literatura.

Como evidenciado no capítulo I, a revisão e avaliação da literatura, muitas vezes negligenciada, pode ser uma importante ferramenta de avanços tecnológicos. *A priori*, resultados “negativos” são indesejados em uma pesquisa. Entretanto, futuros trabalhos podem utilizar esses conhecimentos para aprimorar seus sistemas e desenvolver novas tecnologias. Assim, o capítulo I contribui para o desenvolvimento tecnológico de sensores luminescentes, ajudando pesquisadores a evitar equívocos e identificar corretamente os mecanismos de supressão. Adicionalmente, esses resultados abre perspectivas de desenvolvimento de novos sensores luminescentes que possuam mecanismos de supressão seletivos e adequados a detecção de nitroaromáticos.

Posteriormente, o capítulo II demonstrou que íons interferentes estão presentes em vários materiais de coleta, sendo eles desenvolvidos para uso forense ou não. Esse trabalho tem impacto direto na rotina de peritos, especialmente brasileiros, que precisam evitar prováveis fontes de contaminação em análises de cromatografia iônica. Além de alertar para a necessidades de analisar amostras de “branco” dos materiais de coleta, esse trabalho também fornece uma metodologia alternativa para remoção de íons contaminantes, aumentando a confiabilidade das análises. Esse trabalho também abre questionamentos sobre protocolos de coleta de explosivos e futuros trabalhos serão desenvolvidos para determinar maneiras mais eficientes para coletar esses resíduos.

Por fim, o capítulo III apresentou os primeiros resultados sobre a eficiência de armários de ozonização para a descontaminação de trajes de bombeiros. Apesar de incipiente, essa pesquisa afeta diretamente profissionais que atuam em áreas de incêndio, sejam eles atuantes diretamente no combate ao fogo ou na perícia. Logo, os estudos desenvolvidos nesse capítulo trarão benefícios a saúde e maior segurança laboral aos

profissionais que atuam nessas áreas de risco. Entretanto, essa pesquisa inicial será ampliada para identificar o efeito do O₃ na fibra dos trajes. Esse questionamento é importante pois o método de descontaminação não pode danificar o tecido ou promover a formação de resíduos tóxicos devido a ozonólise. Futuros trabalhos também podem explorar novos métodos químicos de descontaminação como os processos oxidativos avançados, empregando diferentes métodos como Fenton, foto-Fenton, entre outros.

Referências

- (1) Das, P.; Sarkar, D.; Makris, K. C.; Datta, R. Urea-Facilitated Uptake and Nitroreductase-Mediated Transformation of 2, 4, 6-Trinitrotoluene in Soil Using Vetiver Grass. *J. Environ. Chem. Eng.* **2015**, 3 (1), 445–452.
- (2) Liu, L.-L.; Chen, J.; Yu, C.-X.; Lv, W.-X.; Yu, H.-Y.; Cui, X.-Q.; Liu, L. A Novel Ag (I)-Calix [4] Arene Coordination Polymer for the Sensitive Detection and Efficient Photodegradation of Nitrobenzene in Aqueous Solution. *Dalt. Trans.* **2017**, 46 (1), 178–185.
- (3) Yew, Y. T.; Ambrosi, A.; Pumera, M. Nitroaromatic Explosives Detection Using Electrochemically Exfoliated Graphene. *Sci. Rep.* **2016**, 6.
- (4) Pichtel, J. Distribution and Fate of Military Explosives and Propellants in Soil: A Review. *Appl. Environ. Soil Sci.* **2012**, 2012.
- (5) Nagarkar, S. S.; Desai, A. V; Ghosh, S. K. Engineering Metal–Organic Frameworks for Aqueous Phase 2,4,6-Trinitrophenol (TNP) Sensing. *CrystEngComm* **2016**, 18 (17), 2994–3007.
- (6) Chen, S.; Song, Y.; Shi, F.; Liu, Y.; Ma, Q. Sensitive Detection of Picric Acid Based on Creatinine-Capped Solid Film Assembled by Nitrogen-Doped Graphene Quantum Dots and Chitosan. *Sensors Actuators, B Chem.* **2016**, 231, 634–640.
- (7) Thorne, P. G.; Jenkins, T. F. A Field Method for Quantifying Ammonium Picrate and Picric Acid in Soil. *F. Anal. Chem. Technol.* **1997**, 1 (3), 165–170.
- (8) Singh, S. Sensors—An Effective Approach for the Detection of Explosives. *J. Hazard. Mater.* **2007**, 144 (1), 15–28.
- (9) Caygill, J. S.; Davis, F.; Higson, S. P. J. Current Trends in Explosive Detection Techniques. *Talanta.* 2012, pp 14–29.
- (10) Junqueira, J. R. C.; De Araujo, W. R.; Salles, M. O.; Paixão, T. R. L. C. Flow Injection Analysis of Picric Acid Explosive Using a Copper Electrode as Electrochemical Detector. *Talanta* **2013**, 104, 162–168.
- (11) Horning, E. C.; Carroll, D. I.; Dzidic, I.; Haegele, K. D.; Horning, M. G.; Stillwell, R. N. Liquid Chromatograph—Mass Spectrometer—Computer Analytical Systems: A Continuous-Flow System Based on Atmospheric Pressure Ionization Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* **1974**, 99, 13–21.
- (12) Marshall, M.; Oxley, J. C. *Aspects of Explosives Detection*; Elsevier Science, 2011.

- (13) Banerjee, D.; Hu, Z.; Li, J. Luminescent Metal-Organic Frameworks as Explosive Sensors. *Dalt. Trans.* **2014**, 43 (28), 10668–10685.
- (14) Williams, D. E.; Shustova, N. B. Metal–Organic Frameworks as a Versatile Tool to Study and Model Energy Transfer Processes. *Chem. Eur. J.* **2015**, 21 (44), 15474–15479.
- (15) Zhang, S.-R.; Du, D.-Y.; Qin, J.-S.; Li, S.-L.; He, W.-W.; Lan, Y.-Q.; Su, Z.-M. 2D Cd(II)–Lanthanide(III) Heterometallic–Organic Frameworks Based on Metalloligands for Tunable Luminescence and Highly Selective, Sensitive, and Recyclable Detection of Nitrobenzene. *Inorg. Chem.* **2014**, 53 (15), 8105–8113.
- (16) Ye, J.; Wang, X.; Bogale, R. F.; Zhao, L.; Cheng, H.; Gong, W.; Zhao, J.; Ning, G. A Fluorescent Zinc-Pamoate Coordination Polymer for Highly Selective Sensing of 2,4,6-Trinitrophenol and Cu²⁺ Ion. *Sensors and Actuators B-Chemical* **2015**, 210, 566–573.
- (17) Gole, B.; Bar, A. K.; Mukherjee, P. S. Fluorescent Metal–Organic Framework for Selective Sensing of Nitroaromatic Explosives. *Chem. Commun.* **2011**, 47 (44), 12137.
- (18) Sun, W.; Wang, J.; Liu, H.; Chang, S.; Qin, X.; Liu, Z. A Luminescent Terbium Metal-Organic Framework for Selective Sensing of Nitroaromatic Compounds in High Sensitivity. *Mater. Lett.* **2014**, 126 (0), 189–192.
- (19) Gong, Y.-N.; Huang, Y.-L.; Jiang, L.; Lu, T.-B. A Luminescent Microporous Metal–Organic Framework with Highly Selective CO₂ Adsorption and Sensing of Nitro Explosives. *Inorg. Chem.* **2014**, 53 (18), 9457–9459.
- (20) Wu, Z.-F.; Tan, B.; Feng, M.-L.; Du, C.-F.; Huang, X.-Y. A Magnesium-Carboxylate Framework Showing Luminescent Sensing for CS₂ and Nitroaromatic Compounds. *J. Solid State Chem.* **2015**, 223, 59–64.
- (21) Zhou, X.; Li, H.; Xiao, H.; Li, L.; Zhao, Q.; Yang, T.; Zuo, J.; Huang, W. A Microporous Luminescent Europium Metal–Organic Framework for Nitro Explosive Sensing. *Dalt. Trans.* **2013**, 42 (16), 5718.
- (22) Zhu, M.; Song, X.-Z.; Song, S.; Zhao, S.; Meng, X.; Wu, L.; Wang, C.; Zhang, H. A Temperature-Responsive Smart Europium Metal-Organic Framework Switch for Reversible Capture and Release of Intrinsic Eu³⁺ Ions. *Adv. Sci.* **2015**, 2 (4), 1500012.
- (23) Tian, D.; Chen, R.-Y.; Xu, J.; Li, Y.-W.; Bu, X.-H. A Three-Dimensional Metal–

- Organic Framework for Selective Sensing of Nitroaromatic Compounds. *APL Mater.* **2014**, *2* (12), 124111.
- (24) Qin, J.; Ma, B.; Liu, X.-F.; Lu, H.-L.; Dong, X.-Y.; Zang, S.-Q.; Hou, H. Aqueous- and Vapor-Phase Detection of Nitroaromatic Explosives by a Water-Stable Fluorescent Microporous MOF Directed by an Ionic Liquid. *J. Mater. Chem. A* **2015**, *3* (24), 12690–12697.
- (25) Nagarkar, S. S.; Desai, A. V.; Samanta, P.; Ghosh, S. K. Aqueous Phase Selective Detection of 2,4,6-Trinitrophenol Using a Fluorescent Metal–Organic Framework with a Pendant Recognition Site. *Dalt. Trans.* **2015**, *44* (34), 15175–15180.
- (26) Ghosh, P.; Saha, S. K.; Roychowdhury, A.; Banerjee, P. Recognition of an Explosive and Mutagenic Water Pollutant, 2,4,6-Trinitrophenol, by Cost-Effective Luminescent MOFs. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2015**, *2015* (17), 2851–2857.
- (27) Qin, J.-H.; Ma, B.; Liu, X.-F.; Lu, H.-L.; Dong, X.-Y.; Zang, S.-Q.; Hou, H. Ionic Liquid Directed Syntheses of Water-Stable Eu– and Tb–Organic-Frameworks for Aqueous-Phase Detection of Nitroaromatic Explosives. *Dalt. Trans.* **2015**, *44* (33), 14594–14603.
- (28) Nagarkar, S. S.; Joarder, B.; Chaudhari, A. K.; Mukherjee, S.; Ghosh, S. K. Highly Selective Detection of Nitro Explosives by a Luminescent Metal–Organic Framework. *Angew. Chemie* **2013**, *125* (10), 2953–2957.
- (29) Nguyen, T.; Hamad, W. Y.; MacLachlan, M. J. CdS Quantum Dots Encapsulated in Chiral Nematic Mesoporous Silica: New Iridescent and Luminescent Materials. *Adv. Funct. Mater.* **2014**, *24* (6), 777–783.
- (30) Tu, R.; Liu, B.; Wang, Z.; Gao, D.; Wang, F.; Fang, Q.; Zhang, Z. Amine-Capped ZnS–Mn²⁺ Nanocrystals for Fluorescence Detection of Trace TNT Explosive. *Anal. Chem.* **2008**, *80* (9), 3458–3465.
- (31) Wang, Y.; Zou, W. 3-Aminopropyltriethoxysilane-Functionalized Manganese Doped ZnS Quantum Dots for Room-Temperature Phosphorescence Sensing Ultratrace 2,4,6-Trinitrotoluene in Aqueous Solution. *Talanta* **2011**, *85* (1), 469–475.
- (32) Ma, Y.; Li, H.; Peng, S.; Wang, L. Highly Selective and Sensitive Fluorescent Paper Sensor for Nitroaromatic Explosive Detection. *Anal. Chem.* **2012**, *84* (19), 8415–8421.
- (33) Deshmukh, S. C.; Rana, S.; Shinde, S. V.; Dhara, B.; Ballav, N.; Talukdar, P.

- Selective Sensing of Metal Ions and Nitro Explosives by Efficient Switching of Excimer-to-Monomer Emission of an Amphiphilic Pyrene Derivative. *ACS Omega* **2016**, *1* (3), 371–377.
- (34) Shaligram, S.; Wadgaonkar, P. P.; Kharul, U. K. Fluorescent Polymeric Ionic Liquids for the Detection of Nitroaromatic Explosives. *J. Mater. Chem. A* **2014**, *2* (34), 13983–13989.
- (35) Hikal, W. M.; Weeks, B. L. Determination of Sublimation Rate of 2, 4, 6-Trinitrotoluene (TNT) Nano Thin Films Using UV-Absorbance Spectroscopy. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2011**, *110* (2), 955–960.
- (36) Borissevitch, I. E. More about the Inner Filter Effect: Corrections of Stern–Volmer Fluorescence Quenching Constants Are Necessary at Very Low Optical Absorption of the Quencher. *J. Lumin.* **1999**, *81* (3), 219–224.
- (37) Puchalski, M. M.; Morra, M. J.; Von Wandruszka, R. Assessment of Inner Filter Effect Corrections in Fluorimetry. *Fresenius. J. Anal. Chem.* **1991**, *340* (6), 341–344.
- (38) He, H.; Li, H.; Mohr, G.; Kovacs, B.; Werner, T.; Wolfbeis, O. S. Novel Type of Ion-Selective Fluorosensor Based on the Inner Filter Effect: An Optrode for Potassium. *Anal. Chem.* **1993**, *65* (2), 123–127.
- (39) Zheng, M.; Xie, Z.; Qu, D.; Li, D.; Du, P.; Jing, X.; Sun, Z. On–off–on Fluorescent Carbon Dot Nanosensor for Recognition of Chromium (VI) and Ascorbic Acid Based on the Inner Filter Effect. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2013**, *5* (24), 13242–13247.
- (40) Cayuela, A.; Soriano, M. L.; Valcárcel, M. Reusable Sensor Based on Functionalized Carbon Dots for the Detection of Silver Nanoparticles in Cosmetics via Inner Filter Effect. *Anal. Chim. Acta* **2015**, *872*, 70–76.
- (41) Sun, L.-N.; Peng, H.; Stich, M. I. J.; Achatz, D.; Wolfbeis, O. S. PH Sensor Based on Upconverting Luminescent Lanthanide Nanorods. *Chem. Commun.* **2009**, No. 33, 5000–5002.
- (42) Gabor, G.; Walt, D. R. Sensitivity Enhancement of Fluorescent PH Indicators by Inner Filter Effects. *Anal. Chem.* **1991**, *63* (8), 793–796.
- (43) Yang, X.-F.; Liu, P.; Wang, L.; Zhao, M. A Chemosensing Ensemble for the Detection of Cysteine Based on the Inner Filter Effect Using a Rhodamine B Spirolactam. *J. Fluoresc.* **2008**, *18* (2), 453–459.

- (44) Long, Q.; Fang, A.; Wen, Y.; Li, H.; Zhang, Y.; Yao, S. Rapid and Highly-Sensitive Uric Acid Sensing Based on Enzymatic Catalysis-Induced Upconversion Inner Filter Effect. *Biosens. Bioelectron.* **2016**, *86*, 109–114.
- (45) Tanwar, A. S.; Hussain, S.; Malik, A. H.; Afroz, M. A.; Iyer, P. K. Inner Filter Effect Based Selective Detection of Nitroexplosive-Picric Acid in Aqueous Solution and Solid Support Using Conjugated Polymer. *ACS Sensors* **2016**, *1* (8), 1070–1077.
- (46) Tanwar, A. S.; Patidar, S.; Ahirwar, S.; Dehingia, S.; Iyer, P. K. “Receptor Free” Inner Filter Effect Based Universal Sensors for Nitroexplosive Picric Acid Using Two Polyfluorene Derivatives in the Solution and Solid States. *Analyst* **2019**, *144* (2), 669–676.
- (47) Tanwar, A. S.; Adil, L. R.; Afroz, M. A.; Iyer, P. K. Inner Filter Effect and Resonance Energy Transfer Based Attogram Level Detection of Nitroexplosive Picric Acid Using Dual Emitting Cationic Conjugated Polyfluorene. *ACS Sensors* **2018**, *3* (8), 1451–1461.
- (48) Shanmugaraj, K.; John, S. A. Inner Filter Effect Based Selective Detection of Picric Acid in Aqueous Solution Using Green Luminescent Copper Nanoclusters. *New J. Chem.* **2018**, *42* (9), 7223–7229.
- (49) Chen, S.; Yu, Y.-L.; Wang, J.-H. Inner Filter Effect-Based Fluorescent Sensing Systems: A Review. *Anal. Chim. Acta* **2018**, *999*, 13–26.
- (50) Rong, M.; Lin, L.; Song, X.; Zhao, T.; Zhong, Y.; Yan, J.; Wang, Y.; Chen, X. A Label-Free Fluorescence Sensing Approach for Selective and Sensitive Detection of 2, 4, 6-Trinitrophenol (TNP) in Aqueous Solution Using Graphitic Carbon Nitride Nanosheets. *Anal. Chem.* **2014**, *87* (2), 1288–1296.
- (51) Shanmugaraju, S.; Joshi, S. A.; Mukherjee, P. S. Fluorescence and Visual Sensing of Nitroaromatic Explosives Using Electron Rich Discrete Fluorophores. *J. Mater. Chem.* **2011**, *21* (25), 9130.
- (52) Pesenti, A.; Taudte, R. V.; McCord, B.; Doble, P.; Roux, C.; Blanes, L. Coupling Paper-Based Microfluidics and Lab on a Chip Technologies for Confirmatory Analysis of Trinitro Aromatic Explosives. *Anal. Chem.* **2014**, *86* (10), 4707–4714.
- (53) Taudte, R. V.; Beavis, A.; Wilson-Wilde, L.; Roux, C.; Doble, P.; Blanes, L. A Portable Explosive Detector Based on Fluorescence Quenching of Pyrene Deposited on Coloured Wax-Printed MPADs. *Lab Chip* **2013**, *13* (21), 4164.

- (54) Zhu, H.; Zhang, H.; Xia, Y. Planar Is Better: Monodisperse Three-Layered MoS₂ Quantum Dots as Fluorescent Reporters for 2,4,6-Trinitrotoluene Sensing in Environmental Water and Luggage Cases. *Anal. Chem.* **2018**, *90* (6), 3942–3949.
- (55) Wang, L.; Bi, Y.; Hou, J.; Li, H.; Xu, Y.; Wang, B.; Ding, H.; Ding, L. Facile, Green and Clean One-Step Synthesis of Carbon Dots from Wool: Application as a Sensor for Glyphosate Detection Based on the Inner Filter Effect. *Talanta* **2016**, *160*, 268–275.
- (56) Niu, Q.; Gao, K.; Lin, Z.; Wu, W. Amine-Capped Carbon Dots as a Nanosensor for Sensitive and Selective Detection of Picric Acid in Aqueous Solution via Electrostatic Interaction. *Anal. Methods* **2013**, *5* (21), 6228.
- (57) Xu, H.; Liu, F.; Cui, Y.; Chen, B.; Qian, G. A Luminescent Nanoscale Metal–Organic Framework for Sensing of Nitroaromatic Explosives. *Chem. Commun.* **2011**, *47* (11), 3153.
- (58) Xiao, J.-D.; Qiu, L.-G.; Ke, F.; Yuan, Y.-P.; Xu, G.-S.; Wang, Y.-M.; Jiang, X. Rapid Synthesis of Nanoscale Terbium-Based Metal–Organic Frameworks by a Combined Ultrasound-Vapour Phase Diffusion Method for Highly Selective Sensing of Picric Acid. *J. Mater. Chem. A* **2013**, *1* (31), 8745.
- (59) Olley, D. A.; Wren, E. J.; Vamvounis, G.; Fernee, M. J.; Wang, X.; Burn, P. L.; Meredith, P.; Shaw, P. E. Explosive Sensing with Fluorescent Dendrimers: The Role of Collisional Quenching†. *Chem. Mater.* **2010**, *23* (3), 789–794.
- (60) Lakowicz, J. R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 3rd ed.; Lakowicz, J. R., Ed.; Springer US: Boston, MA, 2006.
- (61) Fraiji, L. K.; Hayes, D. M.; Werner, T. C. Static and Dynamic Fluorescence Quenching Experiments for the Physical Chemistry Laboratory. *J. Chem. Educ* **1992**, *69* (5), 424.
- (62) Webber, S. E. The Role of Time-Dependent Measurements in Elucidating Static Versus Dynamic Quenching Processes. *Photochem. Photobiol.* **1997**, *65* (1), 33–38.
- (63) Wang, J.; Wang, D.; Moses, D.; Heeger, A. J. Dynamic Quenching of 5-(2'-Ethyl-Hexyloxy)-p-Phenylene Vinylene (MEH-PPV) by Charge Transfer to a C60 Derivative in Solution. *J. Appl. Polym. Sci.* **2001**, *82* (10), 2553–2557.
- (64) Zheng, M.; Bai, F.; Li, F.; Li, Y.; Zhu, D. The Interaction between Conjugated Polymer and Fullerenes. *J. Appl. Polym. Sci.* **1998**, *70* (3), 599–603.

- (65) Schmehl, R. H.; Whitten, D. G. Photoinduced Redox Reactions in Aqueous Micelles. Quenching, Back-Reaction, and Competing Processes for Tetraanionic Porphyrins with Alkylviologens. *J. Phys. Chem.* **1981**, *85* (23), 3473–3480.
- (66) Molina-Bolívar, J. A.; Ruiz, C. C.; Galisteo-González, F.; Medina-O, M.; Parra, A. Simultaneous Presence of Dynamic and Sphere Action Component in the Fluorescence Quenching of Human Serum Albumin by Diphthaloylmaslinic Acid. *J. Lumin.* **2016**.
- (67) Eftink, M. R.; Ghiron, C. A. Exposure of Tryptophanyl Residues in Proteins. Quantitative Determination by Fluorescence Quenching Studies. *Biochemistry* **1976**, *15* (3), 672–680.
- (68) Sun, X.; Wang, Y.; Lei, Y. Fluorescence Based Explosive Detection: From Mechanisms to Sensory Materials. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44* (22), 8019–8061.
- (69) Gingras, A.; Sarette, J.; Shawler, E.; Lee, T.; Freund, S.; Holwitt, E.; Hicks, B. W. Fluorescent Proteins as Biosensors by Quenching Resonance Energy Transfer from Endogenous Tryptophan: Detection of Nitroaromatic Explosives. *Biosens. Bioelectron.* **2013**, *48*, 251–257.
- (70) Qi, W.; Xu, M.; Pang, L.; Liu, Z.; Zhang, W.; Majeed, S.; Xu, G. Electrochemiluminescence Detection of TNT by Resonance Energy Transfer through the Formation of a TNT–Amine Complex. *Chem. Eur. J.* **2014**, *20* (16), 4829–4835.
- (71) Sabherwal, P.; Shorie, M.; Pathania, P.; Chaudhary, S.; Bhasin, K. K.; Bhalla, V.; Suri, C. R. Hybrid Aptamer-Antibody Linked Fluorescence Resonance Energy Transfer Based Detection of Trinitrotoluene. *Anal. Chem.* **2014**, *86* (15), 7200–7204.
- (72) Zou, W.-S.; Zou, F.-H.; Shao, Q.; Zhang, J.; Wang, Y.-Q.; Xie, F.-Z.; Ding, Y. A Selective Fluorescent Resonance Energy Transfer Quenching and Resonance Light Scattering Enhancement Dual-Recognition Probe for 2, 4, 6-Trinitrotoluene. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **2014**, *278*, 82–88.
- (73) Deng, X.; Huang, X.; Wu, D. Förster Resonance-Energy-Transfer Detection of 2, 4, 6-Trinitrophenol Using Copper Nanoclusters. *Anal. Bioanal. Chem.* **2015**, *407* (16), 4607–4613.
- (74) Parker, C. A.; Rees, W. T. Correction of Fluorescence Spectra and Measurement of Fluorescence Quantum Efficiency. *Analyst* **1960**, *85* (1013), 587.

- (75) Joarder, B.; Desai, A. V.; Samanta, P.; Mukherjee, S.; Ghosh, S. K. Selective and Sensitive Aqueous-Phase Detection of 2,4,6-Trinitrophenol (TNP) by an Amine-Functionalized Metal–Organic Framework. *Chem. – A Eur. J.* **2015**, *21* (3), 965–969.
- (76) Weber, I. T.; de Melo, A. J. G.; Lucena, M. A. de M.; Rodrigues, M. O.; Alves Junior, S. High Photoluminescent Metal–Organic Frameworks as Optical Markers for the Identification of Gunshot Residues. *Anal. Chem.* **2011**, *83* (12), 4720–4723.
- (77) Weber, I. T.; Terra, I. A. A.; Melo, A. J. G. de; Lucena, M. A. de M.; Wanderley, K. A.; Paiva-Santos, C. de O.; Antonio, S. G.; Nunes, L. A. O.; Paz, F. A. A.; Sa, G. F. de; et al. Up-Conversion Properties of Lanthanide–Organic Frameworks and How to Track Ammunitions Using These Materials. *RSC Adv.* **2012**, *2* (7), 3083–3087.
- (78) Lucena, M. A. de M. Novos Marcadores Luminescentes Para Identificação de GSR - Síntese e Aplicações Das MOFs [Eu(BTC)] e [Tb(BTC)(H₂O)₆] e Avaliação Da Toxicidade Aguda Do Marcador ZnAl₂O₄:TR³⁺, Universidade Federal de Pernambuco, 2015.
- (79) Lan, A.; Li, K.; Wu, H.; Olson, D. H.; Emge, T. J.; Ki, W.; Hong, M.; Li, J. A Luminescent Microporous Metal–Organic Framework for the Fast and Reversible Detection of High Explosives. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2009**, *48* (13), 2334–2338.
- (80) Gurtovyi, R. I.; Tsymbal, L. V.; Shova, S.; Lampeka, Y. D. Effect of the Structure of Aromatic Nitro Compounds on the Efficiency of Luminescence Quenching of the Metal–Organic Framework of Zinc (II) 4, 4'-Diphenyldicarboxylate. *Theor. Exp. Chem.* **2016**, *52* (1), 44–50.
- (81) Ma, Y.; Wang, S.; Wang, L. Nanomaterials for Luminescence Detection of Nitroaromatic Explosives. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2015**, *65* (0), 13–21.
- (82) Freeman, R.; Finder, T.; Bahshi, L.; Gill, R.; Willner, I. Functionalized CdSe/ZnS QDs for the Detection of Nitroaromatic or RDX Explosives. *Adv. Mater.* **2012**, *24* (48), 6416–6421.
- (83) Goldman, E. R.; Medintz, I. L.; Whitley, J. L.; Hayhurst, A.; Clapp, A. R.; Uyeda, H. T.; Deschamps, J. R.; Lassman, M. E.; Mattoussi, H. A Hybrid Quantum Dot–Antibody Fragment Fluorescence Resonance Energy Transfer-Based TNT Sensor. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (18), 6744–6751.
- (84) Zhang, K.; Zhou, H.; Mei, Q.; Wang, S.; Guan, G.; Liu, R.; Zhang, J.; Zhang, Z.

- Instant Visual Detection of Trinitrotoluene Particulates on Various Surfaces by Ratiometric Fluorescence of Dual-Emission Quantum Dots Hybrid. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133* (22), 8424–8427.
- (85) Xia, Y.; Song, L.; Zhu, C. Turn-On and Near-Infrared Fluorescent Sensing for 2,4,6-Trinitrotoluene Based on Hybrid (Gold Nanorod)–(Quantum Dots) Assembly. *Anal. Chem.* **2011**, *83* (4), 1401–1407.
- (86) Campos, B. B.; Contreras-Cáceres, R.; Badosz, T. J.; Jiménez-Jiménez, J.; Rodríguez-Castellón, E.; Esteves da Silva, J. C. G.; Algarra, M. Carbon Dots as Fluorescent Sensor for Detection of Explosive Nitrocompounds. *Carbon N. Y.* **2016**, *106*, 171–178.
- (87) Yan, X.; Li, H.; Han, X.; Su, X. A Ratiometric Fluorescent Quantum Dots Based Biosensor for Organophosphorus Pesticides Detection by Inner-Filter Effect. *Biosens. Bioelectron.* **2015**, *74*, 277–283.
- (88) Liu, M. L.; Chen, B. Bin; Liu, Z. X.; Huang, C. Z. Highly Selective and Sensitive Detection of 2, 4, 6-Trinitrophenol by Using Newly Developed Blue–Green Photoluminescent Carbon Nanodots. *Talanta* **2016**, *161*, 875–880.
- (89) Lv, X.-J.; Qi, L.; Gao, X.-Y.; Wang, H.; Huo, Y.; Zhang, Z.-Q. Selective Detection of 2,4,6-Trinitrophenol Based on a Fluorescent Nanoscale Bis(8-Hydroxyquinoline) Metal Complex. *Talanta* **2016**, *150*, 319–323.
- (90) Chen, B. Bin; Liu, Z. X.; Zou, H. Y.; Huang, C. Z. Highly Selective Detection of 2, 4, 6-Trinitrophenol by Using Newly Developed Terbium-Doped Blue Carbon Dots. *Analyst* **2016**, *141* (9), 2676–2681.
- (91) Ahmad, A.; Kurkina, T.; Kern, K.; Balasubramanian, K. Applications of the Static Quenching of Rhodamine B by Carbon Nanotubes. *ChemPhysChem* **2009**, *10* (13), 2251–2255.
- (92) Murphy, S.; Huang, L.; Kamat, P. V. Charge-Transfer Complexation and Excited-State Interactions in Porphyrin-Silver Nanoparticle Hybrid Structures. *J. Phys. Chem. C* **2011**, *115* (46), 22761–22769.
- (93) Kotkowiak, M.; Dudkowiak, A. Multiwavelength Excitation of Photosensitizers Interacting with Gold Nanoparticles and Its Impact on Optical Properties of Their Hybrid Mixtures. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2015**, *17* (41), 27366–27372.
- (94) CONTRASP; Contraf-CUT. Nova Pesquisa Nacional de Ataques a Bancos 2017-2018 <https://contrafcut.com.br/wp-content/uploads/2019/04/Nova-Pesquisa->

- Nacional-de-Ataques-a-Bancos-e-outras-2017-2018-2.pdf (accessed May 29, 2019).
- (95) European Association for Secure Transactions (EAST). ATM Explosive Attacks surge in Europe <https://www.association-secure-transactions.eu/atm-explosive-attacks-surge-in-europe/>.
- (96) EUPOL. *Terrorism Situation and Trend Report*; 2017.
- (97) Kuila, D. K.; Chakraborty, A.; Sharma, S. P.; Lahiri, S. C. Composition Profile of Low Explosives from Cases in India. *Forensic Sci. Int.* **2006**, *159* (2–3), 127–131.
- (98) Dicinoski, G. W.; Shellie, R. A.; Haddad, P. R. Forensic Identification of Inorganic Explosives by Ion Chromatography. *Anal. Lett.* **2006**, *39* (4), 639–657.
- (99) Agrawal, J. P. *High Energy Materials: Propellants, Explosives and Pyrotechnics*; Wiley, 2010.
- (100) Akhavan, J. *The Chemistry of Explosives*, Second.; Royal Society of Chemistry, 2011.
- (101) Hodgson, J. P. A. R. D. *Organic Chemistry of Explosives*; John Wiley & Sons Ltda, 2007.
- (102) Urbanski, T. *Chemistry and Technology of Explosives*; Panstwowe Wydawnictwo Naukowe Pwn, 1967; Vol. 3.
- (103) Kelly, P. F.; Slawin, A. M. Z.; Williams, D. J.; Woollins, J. D. Caged Explosives: Metal-Stabilized Chalcogen Nitrides. *Chem. Soc. Rev.* **1992**, *21* (4), 245.
- (104) Kubota, N. *Propellants and Explosives*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, Germany, 2015.
- (105) Stierstorfer, J.; Klapötke, T. M. High Energy Materials. Propellants, Explosives and Pyrotechnics. By Jai Prakash Agrawal. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2010**, *49* (36), 6253–6253.
- (106) Russell, M. S. *The Chemistry of Fireworks*; Royal Society of Chemistry, 2009.
- (107) Conkling, J. A.; Mocella, C. *Chemistry of Pyrotechnics: Basic Principles and Theory*; Chemical Industries Series; Taylor & Francis, 1985.
- (108) Müller, A.; Krebs, B. *Sulfur: Its Significance for Chemistry, for the Geo-, Bio-, and Cosmosphere and Technology*; Elsevier, 2016; Vol. 5.
- (109) Lemos, E. Quadrilha Especializada Em Explosão de Caixa Eletrônica é Presa Antes de Explodir Agência Em Balsas. *Diário de Balsas*. Balsas, MG 2017.
- (110) Polícia Do DF Prende 5 Suspeitos de Explodir Caixas Eletrônicos. *Folha GO*.

- 2017.
- (111) Mauricio, F. G. M.; Pralon, A. Z.; Talhavini, M.; Rodrigues, M. O.; Weber, I. T. Identification of ANFO: Use of Luminescent Taggants in Post-Blast Residues. *Forensic Sci. Int.* **2017**, *275*, 8–13.
- (112) Hernandez, V. V.; Franco, M. F.; Santos, J. M.; Melendez-Perez, J. J.; Morais, D. R. de; Rocha, W. F. de C.; Borges, R.; de Souza, W.; Zacca, J. J.; Logrado, L. P. L.; et al. Characterization of ANFO Explosive by High Accuracy ESI(±)–FTMS with Forensic Identification on Real Samples by EASI(–)–MS. *Forensic Sci. Int.* **2015**, *249*, 156–164.
- (113) Sickler, R. A. *Explosive Principles: An Essential Guide to Understanding Explosives and Detonations*; Paladin Press, 1992.
- (114) Mauricio, F. G. B. Marcação de Explosivos Baseado Na Fotoluminescência Para Codificar e Identificar Resíduos de Pós-Explosão, Universidade de Brasília: UnB, 2014.
- (115) Ribeiro, C. Carga de 5,7 Toneladas de Explosivos Foi Roubada Há Duas Semanas. *O POVO*. 2019.
- (116) Chromatography. In *IUPAC Compendium of Chemical Terminology*; IUPAC: Research Triangle Park, NC.
- (117) Braithwaite, A.; Smith, F. J. *Chromatographic Methods*; Springer Netherlands: Dordrecht, 1999.
- (118) MARQUES, M. N. Cromatografia de Íons Aplicada Na Especificação de Crômio Hexavalente Em Amostras de Interesse Ambiental, UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 1999.
- (119) Torres, J. The Basics of Running a Chromatography Column <https://bitesizebio.com/29947/basics-chromatography-column/%0D> (accessed Aug 8, 2019).
- (120) Pacheco, S.; Borguini, R. G.; Santiago, M. C. P. A.; Nascimento, L. S. M. do; Godoy, R. L. O. History of Liquid Chromatography. *Rev. Virtual Química* **2015**, *7* (4), 1225–1271.
- (121) McCord, B. R.; Hargadon, K. A.; Hall, K. E.; Burmeister, S. G. Forensic Analysis of Explosives Using Ion Chromatographic Methods. *Anal. Chim. Acta* **1994**, *288* (1–2), 43–56.
- (122) Johns, C.; Shellie, R. A.; Potter, O. G.; O'Reilly, J. W.; Hutchinson, J. P.; Guijt,

- R. M.; Breadmore, M. C.; Hilder, E. F.; Dicoski, G. W.; Haddad, P. R. Identification of Homemade Inorganic Explosives by Ion Chromatographic Analysis of Post-Blast Residues. *J. Chromatogr. A* **2008**, *1182* (2), 205–214.
- (123) MENG, H.; WANG, T.; GUO, B.; HASHI, Y.; GUO, C.; LIN, J. Simultaneous Determination of Inorganic Anions and Cations in Explosive Residues by Ion Chromatography. *Talanta* **2008**, *76* (2), 241–245.
- (124) DeTata, D. A.; Collins, P. A.; McKinley, A. J. A Comparison of Common Swabbing Materials for the Recovery of Organic and Inorganic Explosive Residues. *J. Forensic Sci.* **2013**, *58* (3), 757–763.
- (125) Shrivastava, A.; Gupta, V. Methods for the Determination of Limit of Detection and Limit of Quantitation of the Analytical Methods. *Chronicles Young Sci.* **2011**, *2* (1), 21.
- (126) Carlson, J.; Wysoczanski, A.; Voigtman, E. Limits of Quantitation — Yet Another Suggestion. *Spectrochim. Acta Part B At. Spectrosc.* **2014**, *96*, 69–73.
- (127) Cote, A. E.; Linville, J. L. *Manual de Protección Contra Incendios*; Fundación MAPFRE, Ed.; Madrid, Espanha, 1993.
- (128) Secretaría de Salud Laboral de CCOO de Madrid. *Exposición de Las Bomberas y Los Bomberos a Sustancias Cancerígenas Durante El Trabajo*; Madrid, Espanha, 2019.
- (129) *Volatile Organic Compounds in the Atmosphere*; Koppmann, R., Ed.; Blackwell Publishing Ltd: Oxford, UK, 2007.
- (130) Ahmed, T. M.; Ahmed, B.; Aziz, B. K.; Bergvall, C.; Westerholm, R. Native and Oxygenated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Ambient Air Particulate Matter from the City of Sulaimaniyah in Iraq. *Atmos. Environ.* **2015**, *116*, 44–50.
- (131) Fent, K. W.; Alexander, B.; Roberts, J.; Robertson, S.; Toennis, C.; Sammons, D.; Bertke, S.; Kerber, S.; Smith, D.; Horn, G. Contamination of Firefighter Personal Protective Equipment and Skin and the Effectiveness of Decontamination Procedures. *J. Occup. Environ. Hyg.* **2017**, *14* (10), 801–814.
- (132) Stec, A. A.; Dickens, K. E.; Salden, M.; Hewitt, F. E.; Watts, D. P.; Houldsworth, P. E.; Martin, F. L. Occupational Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Elevated Cancer Incidence in Firefighters. *Sci. Rep.* **2018**, *8* (1), 2476.
- (133) Pukkala, E.; Martinsen, J. I.; Weiderpass, E.; Kjaerheim, K.; Lynge, E.; Tryggvadottir, L.; Sparén, P.; Demers, P. A. Cancer Incidence among Firefighters:

- 45 Years of Follow-up in Five Nordic Countries. *Occup. Environ. Med.* **2014**, *71* (6), 398–404.
- (134) International Agency for Research On Cancer (IARC). *Painting, Firefighting, and Shiftwork*; IARC Press, International Agency for Research on Cancer: Geneva, Switzerland, 2010; Vol. 98.
- (135) Chico, I. M. Estudio Preliminar de Residuos Tóxicos de Combustión En Equipamiento de Bomberos, Universidad de Alcalá, 2018.
- (136) Hobrand Algebra. Fire Fighting Clothing <https://www.hobrand-algebra.com/en/webshop/fire-fighting-clothing> (accessed Jul 4, 2019).
- (137) Rubio-Clemente, A.; Torres-Palma, R. A.; Peñuela, G. A. Removal of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Aqueous Environment by Chemical Treatments: A Review. *Sci. Total Environ.* **2014**, *478*, 201–225.
- (138) Kasprzyk-Hordern, B.; Ziółek, M.; Nawrocki, J. Catalytic Ozonation and Methods of Enhancing Molecular Ozone Reactions in Water Treatment. *Appl. Catal. B Environ.* **2003**, *46* (4), 639–669.
- (139) Trelu, C.; Mousset, E.; Pechaud, Y.; Huguenot, D.; van Hullebusch, E. D.; Esposito, G.; Oturan, M. A. Removal of Hydrophobic Organic Pollutants from Soil Washing/Flushing Solutions: A Critical Review. *J. Hazard. Mater.* **2016**, *306*, 149–174.
- (140) Moreno, S. P.; Jiménez, B. O. *Tratamiento de COVs En Aire Mediante Ozonización*; Madrid, Espanha, 2018.
- (141) *Combustion*; Springer Berlin Heidelberg, 2006.
- (142) Fabian, T. Z.; Borgerson, J. L.; Gandhi, P. D.; Baxter, C. S.; Ross, C. S.; Lockey, J. E.; Dalton, J. M. Characterization of Firefighter Smoke Exposure. *Fire Technol.* **2014**, *50* (4), 993–1019.
- (143) Peng, N.; Li, Y.; Liu, Z.; Liu, T.; Gai, C. Emission, Distribution and Toxicity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) during Municipal Solid Waste (MSW) and Coal Co-Combustion. *Sci. Total Environ.* **2016**, *565*, 1201–1207.
- (144) Kim Oanh, N. T.; Dung, N. T. Emission of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Particulate Matter from Domestic Combustion of Selected Fuels. *Environ. Sci. Technol.* **1999**, *33* (16), 2703–2709.
- (145) Abdel-Shafy, H. I.; Mansour, M. S. M. A Review on Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Source, Environmental Impact, Effect on Human Health and

- Remediation. *Egypt. J. Pet.* **2016**, 25 (1), 107–123.
- (146) Corpo de Bombeiros Militar de São Paulo. *Coletânea de Manuais Técnicos de Bombeiros*, 1a Edição.; 2006.
- (147) Mark, J. E. *Physical Properties of Polymers Handbook*; Springer New York, 2007.
- (148) Kirby, R. K. Thermal Expansion of Polytetrafluoroethylene (Teflon) From– 190° To+ 300° C. *J. Res. Natl. Bur. Stand. (1934)*. **1956**, 57 (2), 91–94.
- (149) El Aidani, R.; Dolez, P. I.; Vu-Khanh, T. Effect of Thermal Aging on the Mechanical and Barrier Properties of an E-PTFE/Nomex® Moisture Membrane Used in Firefighters' Protective Suits. *J. Appl. Polym. Sci.* **2011**, 121 (5), 3101–3110.
- (150) ELLIOTTS. Structural Firefighting Clothing <http://elliotts.net/structural-firefighting-2> (accessed Jul 12, 2019).
- (151) Corpo de Bombeiros Militar. *Manual Operacional de Bombeiros - Combate a Incêndio Urbano*, II.; 2017.
- (152) Spring Valley Volunteer Fire Department. Cost to equip a Firefighter <http://www.svvfd.org/cost.php> (accessed Sep 28, 2019).
- (153) Bocci, V. Physical-Chemical Properties of Ozone – Natural Production of Ozone: The Toxicology of Ozone. In *OZONE*; Springer Netherlands: Dordrecht, 2010; pp 1–4.
- (154) Escalé, M. M. Ozonation of Wastewater for Water Reuse, University of Barcelona.
- (155) von Sonntag, C.; von Gunten, U. *Chemistry of Ozone in Water and Wastewater Treatment*; IWA Publishing, 2012.
- (156) Ikehata, K.; Jodeiri Naghashkar, N.; Gamal El-Din, M. Degradation of Aqueous Pharmaceuticals by Ozonation and Advanced Oxidation Processes: A Review. *Ozone Sci. Eng.* **2006**, 28 (6), 353–414.
- (157) Rosa, E. V. C. da. Ozonólise de Efluentes Texteis - Estudo Da Eficiência e Da Toxicidade Ambiental Atraves de Biotestes, Universidade Federal de Santa Catarina, 1999.
- (158) Parsons, S. Advanced Oxidation Processes for Water and Wastewater Treatment. *Water Intell. Online* **2015**, 4, 9781780403076–9781780403076.
- (159) Oliveira, A. R. M.; Wosch, C. L. Ozonólise: A Busca Por Um Mecanismo. *Quim. Nova* **2012**, 35 (7), 1482–1485.
- (160) Wadia, Y.; Tobias, D. J.; Stafford, R.; Finlayson-Pitts, B. J. Real-Time Monitoring

- of the Kinetics and Gas-Phase Products of the Reaction of Ozone with an Unsaturated Phospholipid at the Air–Water Interface. *Langmuir* **2000**, *16* (24), 9321–9330.
- (161) Silva, L. M. da; Jardim, W. F. Trends and Strategies of Ozone Application in Environmental Problems. *Quim. Nova* **2006**, *29* (2), 310–317.
- (162) Poppendieck, D. G.; Hubbard, H. F.; Weschler, C. J.; Corsi, R. L. Formation and Emissions of Carbonyls during and Following Gas-Phase Ozonation of Indoor Materials. *Atmos. Environ.* **2007**, *41* (35), 7614–7626.
- (163) Neeb, P.; Horie, O.; Moortgat, G. K. The Ethene–Ozone Reaction in the Gas Phase. *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102* (34), 6778–6785.
- (164) Langlais, B.; Reckhow, D. A.; Brink, D. R. *Ozone in Water Treatment: Application and Engineering*; Routledge, 2019.
- (165) Tizaoui, C.; Grima, N. Kinetics of the Ozone Oxidation of Reactive Orange 16 Azo-Dye in Aqueous Solution. *Chem. Eng. J.* **2011**, *173* (2), 463–473.
- (166) Miller, R. E. Ozonation of Azo and Azomethine Double Bonds. *J. Org. Chem.* **1961**, *26* (7), 2327–2330.
- (167) Yao, J.-J.; Huang, Z.-H.; Masten, S. J. The Ozonation of Pyrene: Pathway and Product Identification. *Water Res.* **1998**, *32* (10), 3001–3012.
- (168) Contreras, S.; Rodríguez, M.; Chamarro, E.; Esplugas, S. UV- and UV/Fe(III)-Enhanced Ozonation of Nitrobenzene in Aqueous Solution. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **2001**, *142* (1), 79–83.
- (169) Rosenfeldt, E. J.; Linden, K. G.; Canonica, S.; von Gunten, U. Comparison of the Efficiency of OH Radical Formation during Ozonation and the Advanced Oxidation Processes O₃/H₂O₂ and UV/H₂O₂. *Water Res.* **2006**, *40* (20), 3695–3704.
- (170) Gurol, M. D.; Vatistas, R. Oxidation of Phenolic Compounds by Ozone and Ozone + u.v. Radiation: A Comparative Study. *Water Res.* **1987**, *21* (8), 895–900.
- (171) Latifoglu, A.; Gurol, M. D. The Effect of Humic Acids on Nitrobenzene Oxidation by Ozonation and O₃/UV Processes. *Water Res.* **2003**, *37* (8), 1879–1889.
- (172) Lippmann, M. HEALTH EFFECTS OF OZONE A Critical Review. *JAPCA* **1989**, *39* (5), 672–695.
- (173) Weschler, C. J. Ozone’s Impact on Public Health: Contributions from Indoor Exposures to Ozone and Products of Ozone-Initiated Chemistry. *Environ. Health*

- Perspect.* **2006**, *114* (10), 1489–1496.
- (174) Brunekreef, B.; Holgate, S. T. Air Pollution and Health. *Lancet* **2002**, *360* (9341), 1233–1242.
- (175) Hazucha, M. J.; Bates, D. V.; Bromberg, P. A. Mechanism of Action of Ozone on the Human Lung. *J. Appl. Physiol.* **1989**, *67* (4), 1535–1541.
- (176) Coglianò, V. J.; Grosse, Y.; Baan, R. A.; Straif, K.; Secretan, M. B.; Ghissassi, F. El. Meeting Report: Summary of IARC Monographs on Formaldehyde, 2-Butoxyethanol, and 1-Tert-Butoxy-2-Propanol. *Environ. Health Perspect.* **2005**, *113* (9), 1205–1208.
- (177) D. Rodriguez-Lopez, A.; Garcia-Garrido, J.; Perez-Ramiro, C.; M. Garcia-Castello, E. Discoloration on Methylene Blue Solutions by Direct and Catalytic Ozonation. *J. Mater. Sci. Chem. Eng.* **2013**, *01* (05), 33–38.
- (178) Modirshahla, N.; Abdoli, M.; Behnajady, M. A.; Vahid, B. Decolourization of Tartrazine from Aqueous Solutions by Coupling Electrocoagulation with ZnO Photocatalyst. *Environ. Prot. Eng.* **2013**, *39* (1).
- (179) Santos, L. M.; Amorim, K. P. de; Andrade, L. S.; Batista, P. S.; Trovó, A. G.; Machado, A. E. H. Dye Degradation Enhanced by Coupling Electrochemical Process and Heterogeneous Photocatalysis. *J. Braz. Chem. Soc.* **2015**.
- (180) Oancea, P.; Meltzer, V. Photo-Fenton Process for the Degradation of Tartrazine (E102) in Aqueous Medium. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* **2013**, *44* (6), 990–994.
- (181) Oancea, P.; Meltzer, V. Kinetics of Tartrazine Photodegradation by UV/H₂O₂ in Aqueous Solution. *Chem. Pap.* **2014**, *68* (1).
- (182) Duhamel, J. Internal Dynamics of Dendritic Molecules Probed by Pyrene Excimer Formation. *Polymers (Basel)*. **2012**, *4* (1), 211–239.
- (183) Lindon, J. C.; Tranter, G. E.; Koppelaar, D. *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*; Academic Press, 2016.
- (184) Feng, X.; Zhu, S.; Hou, H. Photolytic Degradation of Organic AZO Dye in Aqueous Solution Using Xe-Excimer Lamp. *Environ. Technol.* **2006**, *27* (2), 119–126.
- (185) Tanaka, K.; Padermpole, K.; Hisanaga, T. Photocatalytic Degradation of Commercial Azo Dyes. *Water Res.* **2000**, *34* (1), 327–333.
- (186) Georgiou, D.; Melidis, P.; Aivasidis, A.; Gimouhopoulos, K. Degradation of Azo-Reactive Dyes by Ultraviolet Radiation in the Presence of Hydrogen Peroxide.

- Dye. Pigment.* **2002**, *52* (2), 69–78.
- (187) Jiménez, S.; Velásquez, C.; Mejía, F.; Hormaza, A. Removal of the Mixture of Azo Dyes Allura Red - Tartrazine by Adsorption onto Corncob; 2017.
- (188) Adams, C. D.; Fusco, W.; Kanzelmeyer, T. Ozone, Hydrogen Peroxide/Ozone And UV/Ozone Treatment Of Chromium- And Copper-Complex Dyes: Decolorization And Metal Release. *Ozone Sci. Eng.* **1995**, *17* (2), 149–162.
- (189) Nielsen, T. Reactivity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons towards Nitrating Species. *Environ. Sci. Technol.* **1984**, *18* (3), 157–163.
- (190) Cochran, R. E.; Jeong, H.; Haddadi, S.; Fisseha Derseh, R.; Gowan, A.; Beránek, J.; Kubátová, A. Identification of Products Formed during the Heterogeneous Nitration and Ozonation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Atmos. Environ.* **2016**, *128*, 92–103.

Anexo I



Luminescent sensors for nitroaromatic compound detection: Investigation of mechanism and evaluation of suitability of using in screening test in forensics

Filipe Gabriel Martinez Mauricio^a, José Yago Rodrigues Silva^b, Márcio Talhavin^d, Severino Alves Júnior^{b,c}, Ingrid Távora Weber^{a,b,*}

^aLaboratory of Inorganic and Materials, University of Brasília, 70910-000, Asa Norte, Brasília, DF, Brazil ^bMaterials Science Program, Federal University of Pernambuco, 50670-901 Recife, PE, Brazil ^cFundamental Department of Chemistry, Federal University of Pernambuco, 50670-901 Recife, PE, Brazil ^dNational Institute of Criminalistics, Brazilian Federal Police, SAIS Quadra 07 Lote 23, 70610-200 Brasília, Brazil



ARTICLE INFO

Keywords:

Luminescent sensors
 Photoinduced electron transfer
 Inner filter effect
 Nitroaromatic compounds Explosive screening test

ABSTRACT

Environmental and safety concerns have obliged efforts to detect nitroaromatic compounds (NACs), including the use of luminescent sensors. Photoinduced Electron Transfer (PET) has been generally accepted as the main sensing mechanism which would imply its use in highly selective sensors. However, the contribution of different mechanisms, such as the Inner Filter Effect (IFE), which can also play a very important role in these sensors, has been neglected. The proposal of this work is to provide a survey of some luminescent sensors, addressing their quenching mechanisms and the misconceptions related to them. In addition, these sensors were tested for forensic screening to see if they are suitable for primary detection of explosives in cases of suspicion of explosive handling. For this purpose, three luminescent sensors, which have been claimed to be selective and have PET, were tested and used as probes: amine capped CDot (**1S**), [Eu₂(BDC)₃(H₂O)₂](H₂O)₂ (**2S**), and [Tb(BTC)]_n (**3S**). UV/vis and time-dependent measurements, as well as corrected Stern Volmer plots, were used to demonstrate that the PET is not the main quenching mechanism in the **1S**. Besides, simple experiments (using a 1 mm cuvette and two cuvettes) proved that the IFE is the main mechanism responsible for quenches quenching the luminescence in all three sensors. Finally, the suitability of these sensors for use in a screening test to detect explosives was evaluated, where false positive results are not desirable. We observed that common products, such as cosmetics, may cause those false positives results. One interferer in particular reduced luminescence of all sensors by about 55%. Consequently, these systems cannot be considered suitable to be used as a screening test for explosive handling.

7. 1. Introduction

Nitroaromatic compounds (NACs) have a highly explosive nature, as well as being an important pollutant. The development of a high-performance NACs sensor is of great interest for forensic investigation and for environmental

instance, Nagarkar et al. [18] reported selective sensing of PA based on the luminescent [Cd(NDC)_{0.5}(PCA)] · G_x (G = guest molecules; NDC = 2,6naphthalenedicarboxylic acid; PDC = 4-pyridinecarboxylic acid). The authors found about 78% of luminescence quenching of PA (0.10 mM) was able to detect PA even in a mixture of different NACs. Dutta and coauthors [19]

* Corresponding author at: LIMA, Chemistry Institute, University of Brasília — UnB, P.O. Box 04478, 70904-970 Brasília, Brazil. E-mail address: itweber@unb.br (I.T. Weber).

<https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104037>

Received 8 December 2018; Received in revised form 21 June 2019; Accepted 23 June 2019
 Available online 24 June 2019

0026-265X/ © 2019 Published by Elsevier B.V.

protection. Recently, luminescent sensors for NACs have been reported [1–9]. According to the authors, these sensors are expected to be highly sensitive and selective, low cost and present a short response time. Picric acid (PA), a typical NAC, has received special attention as analyte due to its highly explosive nature and mutagenic potential. Several probes, such as luminescent metal-organic frameworks (LMOF), Quantum Dots, Carbon Dots, organic dyes, and conjugated polymers have been reported for use in selective sensing of NACs [10–17], especially focusing on the detection of PA. For

detected PA using a polymer capped CdTe/ZnS quantum dot. In their experiments, PA was detected in concentrations as low as 0.65 nM, but a non-selective response was observed when different NACs, such as nitrobenzene, 2-nitrophenol, 4-nitrophenol, 1,4-dinitrobenzene, and nitromethane, were added.

One potential application for this kind of sensor in forensic science is the development of screening tests for the presence or handling of

explosives. This is of great relevance in the investigation of terrorist acts or robbery employing explosives, such as in ATM attacks [20–23]. To be used in these screening tests, sensors must be highly sensitive, selective, robust, reliable and easy to handle. Both false-negative and false-positive results must be avoided. However, false-positive results are considered worse in forensic science because they may lead to accusation of innocent people [24]. Therefore when considering the development of screening test for forensic use, interferers must be carefully addressed.

Currently, photoinduced electron transfer (PET) is designated as the main mechanism associated with NAC detection, *i.e.*, the sensor's luminescence is expected to be quenched in the presence of NAC because there is an electron transfer from the excited state of the fluorophore (sensor) to the LUMO of the electron-deficient nitrocompound (analyte) [12,13,25–40]. The PET mechanism can occur exclusively in two ways: First, *via* molecular collisions (so-called dynamic quenching) and, second, through the formation of complexes that exhibit a non-emitting state (so-called static quenching) [41]. Both mechanisms depend on effective transfer of electrons to the LUMO of the analyte, which makes these systems quite selective [1,28,42]. Further, this would avoid interference from analog molecules and thus avoid false-positive responses.

Although PET is considered the main mechanism in sensors in reports in the literature, the inner filter effect (IFE) also needs to be carefully considered. The IFE leads to a decrease in luminescence, not requiring any link between the fluorophore and the analyte. This effect is due to the absorption of the incident light before the excitation of the fluorophore (primary IFE) or by the re-absorption of the emitted light (secondary IFE) [43–45]. Recently, some sensors based on IFE have been proposed and in all of them, selectivity is the main issue. [43,46–48]

In this paper, we revisit some luminescent sensors for the detection of NACs in order to investigate closely the mechanism of luminescence intensity reduction and differentiate PET quenching from that of IFE. Further, we tested these sensors for a specific forensic purpose — screening for the presence or handling of explosives in suspects. We have tried to establish if, presenting IFE, these sensors would be useful in this forensic scenario. We carried out this investigation in two main steps: (i) three NAC luminescent sensors were used as probes to investigate the reason for decrease in luminescence (PET or IFE) and (ii) the IFE-based sensors were evaluated for NAC selectivity with respect to the effect of different interferers — aiming to examine their efficiency in detecting explosives in forensic screening tests.

8. 2. Materials and methods

9. 2.1. Materials and characterization

Citric acid ($\geq 99\%$), urea ($\geq 99\%$), cetyltrimethylammonium bromide (CTAB, $\geq 99\%$), 1-hexanol ($\geq 99\%$), isooctane ($\geq 99\%$), $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ($\geq 99\%$), terephthalic acid (H_2BDC , $\geq 99\%$), $\text{Tb}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ($\geq 99\%$), benzenetricarboxylic acid (H_3BTC , $\geq 99\%$), *N,N*-dimethylformamide (DMF, $\geq 99\%$), and triethylamine (TEA, $\geq 99\%$) were purchased from Sigma-Aldrich and were used to synthesize the sensors. The sensing response was evaluated employing picric acid (PA), 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) and 4-nitroaniline (NA), purchased from SigmaAldrich. Microwave syntheses were performed in an Anton Paar Monowave-300. XRD powder patterns were obtained using a Bruker D8 Advanced. UV/vis spectra were obtained using a Varian UV–VIS–NIR Carry 5000. FTIR measurements were recorded on a Varian 640 IR. Fluorescence emission spectra were measured using a Horiba Jobin Yvon FluoroLog spectrophotometer FL3-22 with a continuous 450 W Xenon lamp, collected by a CCD array detector. Time-dependent measurements were obtained using a 365 nm “NanoLed” (Horiba Jobin Yvon) and R928P photomultiplier. The time-dependent measurements were performed in triplicate. The lifetime curves were acquired in this equipment, operating in the time-correlated single photon counting mode (TCSPC) and using a pulsed NanoLED-340 (pulses at 339 nm) as the excitation source. Instrumental function response for the NanoLED340 was obtained by

use of a Ludox (colloidal silica) scattering water solution. Fluorescence decay analysis software, DAS6, was used to fit the model functions to the experimental data.

10. 2.2. Synthesis of the sensors

We chose 3 sensors which had been previously designated in the literature as presenting a PET quenching mechanism.

11. 2.2.1. Carbon dot (1S)

The water-soluble amine-capped carbon dot was synthesized according to Niu and co-authors [49]. An aqueous solution (10 mL) containing citric acid (300 mg) and urea (300 mg) was heated for 15 min at 150 °C in a microwave oven (750 W). The resulting dark-brown aqueous solution was then centrifuged at 12,000 rpm and dried at 60 °C overnight under vacuum.

12. 2.2.2. $[\text{Eu}_2(\text{BDC})_3(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot (\text{H}_2\text{O})_2$ (2S)

It was prepared using the microemulsion route proposed by Xu et al. [50]. A mixture containing cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) (0.9 g), 1-hexanol (3 mL) and isooctane (45 mL) was stirred for 30 min. A second aqueous mixture containing $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (5.8 mg) and terephthalic acid (3.4 mg) was also stirred until it became transparent. The two solutions were mixed to form a microemulsion, which was then stirred vigorously for 2 h at room temperature. The resulting microemulsion was centrifuged (12,000 rpm) and dried at 60 °C overnight under vacuum, producing a white powder.

13. 2.2.3. $[\text{Tb}(\text{BTC})]_n$ (3S)

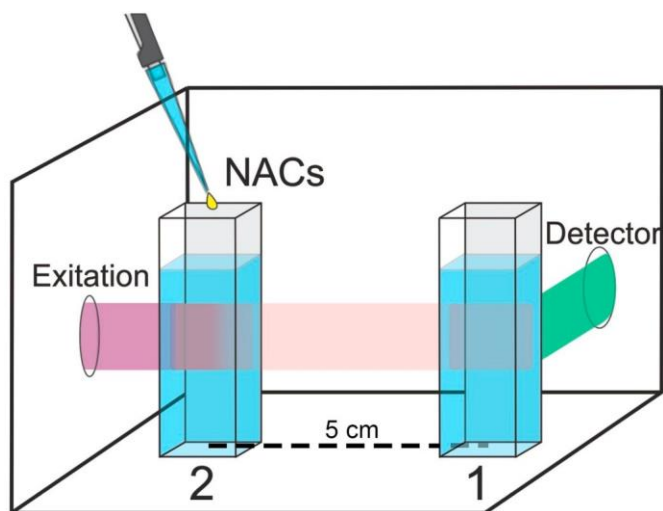
It was synthesized according to Xiao et al. [51] using a combined ultrasound-vapor phase diffusion method. A mixture of $\text{Tb}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (126 mg), benzenetricarboxylic acid (H_3BTC) (20 mg), *N,N*-dimethylformamide (4.0 mL), ethanol (4 mL) and H_2O (3.2 mL) was stirred in a beaker for 4 h until complete solubilization (transparent solution). Then, the vapor phase was introduced using a second vial (10 mL) containing triethylamine (TEA, 0.2 mL) and H_2O (0.3 mL) that was then placed into the beaker containing the initial mixture. The system was sealed with PVC film and sonicated for 30 min at a frequency of 50 kHz. The white precipitate was centrifuged, washed with ethanol several times and dried at 60 °C overnight.

14. 2.3. Sensing tests

To keep the reproducibility, the sensors were solubilized/dispersed following the specifications of the authors. Thus, the 1S was solubilized in water (3 mL) at 0.06 g/L, whereas 2S and 3S were dispersed in ethanol (3 mL) at 0.15 g/L and 0.50 g/L, respectively. Stern-Volmer plots were obtained in the linear region of absorption of each NAC. For this, the maximum concentration used was: $4.4 \cdot 10^{-5}$ M for PA, $7.2 \cdot 10^{-5}$ M for NA, and $43.9 \cdot 10^{-5}$ M for TNT. Fluorescence measurements were conducted under the same conditions in all of the experiments. The excitation wavelengths used were 360, 315, and 324 nm for 1S, 2S, and 3S, respectively, as set out in previous papers [51–53]. The slit widths of emission and excitation were set to 1 nm, integration time was set to 3 s, with recording ranges of 375–630 nm, 500–750 nm, and 450–710 nm, for 1S, 2S, and 3S, respectively. The NAC's molar extinction coefficients (ϵ) were obtained from the slopes of fitted plots derived from absorption measurements in different concentrations. The time-resolved measurements were obtained by recording the lifetime for different amounts of NAC.

15. 2.3.1. One-cuvette or 1-cm cuvette experiments (standard setup)

For sensing experiments, fluorescence spectra were acquired after



Scheme 1. Two-cuvette experiment: schematic illustration of the experiment setup.

the addition of different amounts of NACs into a 1-cm standard cuvette containing 3 mL of either a solution or dispersion of the sensor. The fluorescence spectra were measured using a Horiba Jobin Yvon FluoroLog spectrophotometer.

Analogous experiments were also conducted using a cuvette with 1mm pathlength and 200 μL of solution/dispersion.

16. 2.3.2. Two-cuvette experiment

This experiment was conducted by adapting the one-cuvette setup. While the first cuvette (1) was kept centered with respect to the excitation/detector, a second cuvette (2) was put through the excitation beam at a distance of 5 cm, center-to-center (Scheme 1). Then, 3 mL of the sensor solution/dispersion was added to cuvette 1. Emission spectra were recorded with different concentrations of NAC in cuvette 2.

17. 2.3.3. Evaluation of suitability of sensors to be used in explosive screening tests (selectivity test)

Different interferers were used to evaluate the selectivity of the sensors. To simulate a routine screening analysis for explosives in suspects (for example, suspect of handling explosives), ordinary commercial cosmetics were used. Information about the cosmetic labels used (name and brand) is available in the supporting information (Table S1). For this experiment, the interferers were added to a cuvette containing 2 mL of the sensor solution (the final concentration of the interferers was 0.05 g/L) and fluorescence spectra were recorded.

18. 3. Results and discussion

19. 3.1. Sensors characterization

In Fig. S1a, the FTIR spectrum of the sensor **1S** shows broadband ranging from 3100 to 3500 cm^{-1} that was assigned to NeH bonding. Fluorescence measurement of **1S** presented a broad emission band centered at 460 nm, that could be associated with the strong blue emission (Fig. S1b). A broad absorption region also could be seen in the UV-Vis spectrum of **1S** with the maximum centered at 272, 341, and 402 nm (Fig. S1c). All spectroscopic data are in accordance with what has already been reported [49]. For the sensors **2S** (Fig. S2a) and **3S** (Fig. S3a), diffraction patterns were consistent with the literature [50,51]. Emission spectra of **2S** (Fig. S2b) and **3S** (Fig. S3b) exhibited narrow peaks corresponding to the Eu^{3+} (${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_j$) and Tb^{3+} (${}^5\text{D}_4 \rightarrow {}^7\text{F}_j$) transitions, respectively. Altogether, this characterization data strongly indicated that sensors **1S**, **2S**, and **3S** were structurally compatible with previous reports [49–51].

20. 3.2. Investigation of fluorescence intensity reduction

The sensor **1S** was chosen as a model system to address the emission reduction mechanism. This sensor presents some features such as low scattering in luminescence measurements that make it appropriate for investigation. The experiment was carried out by monitoring the emission intensity when different amounts of NAC were added into a cuvette containing the **1S** solution (one-cuvette experiment). Firstly, the reduction of the fluorescence emission (%) for PA, NA, and TNT was observed for the concentration of $4 \cdot 10^{-5}$ M (Fig. 1a). In the presence of TNT, the sensor presented only $0.65 \pm 0.1\%$ decrease in luminescence intensity. On the other hand, PA and NA provoked a luminescence reduction of $52.3 \pm 1.6\%$ and $38.1 \pm 2.1\%$, respectively. It is important to note that in ref. [49], the NA was not tested, because NA provokes an important reduction in emission intensity. The fitted Stern-Volmer plots upon different concentrations of NACs and quenching constants (K) are displayed in Fig. 1b, c, and d. As seen, the PA exhibits a remarkable decrease of luminescence followed by a K of 0.25 M^{-1} . Besides this, TNT shows a slight response and a K of only 0.002 M^{-1} . Both were considered close to the value reported in Ref. [49] (0.33 M^{-1} and 0.006 M^{-1} , respectively). However, the most interesting response is related to NA which exhibited a reduction of fluorescence emission, comparable with the PA and a K of 0.16 M^{-1} .

Previously, this sensor had been assigned to be selective for PA because quenching has been reported to occur through a strong electrostatic interaction between PA and the sensor (complex formed through a hydrogen bond between the free amines of the sensor and the hydroxyl functional group of the PA) [35,49,52–54]. Because of the assumptions about this interaction, the sensor **1S** was expected to be selective for PA. However, it was observed that NA caused a similar reduction, even without hydroxyl groups. Thus, the existence of a phenyl ring or a hydroxyl group seems not to be necessary to decrease the intensity of the emission. This sensor was also not selective only for PA.

To investigate the quenching mechanism underlying the **1S** more thoroughly, we studied each separate mechanism that could be responsible for the decrease in luminescence: static quenching, dynamic quenching as well as the possibility of IFE. Another possible mechanism, the Resonance Energy Transfer (RET), arises from the energy transfer between the donor (sensor/fluorophore) and the acceptor (analyte) instead of the electron transfer, as in PET [55]. However, in all tested systems (including **2S** and **3S**) the emission band of **1S** (donor) was placed at lower energy than the absorption band of the analytes (acceptor), which made RET very unlikely as a mechanism (Fig. S4) [1,45].

Static quenching is more often found than the dynamic one. Previous works have named static quenching as the reason for changes or band shifts in the absorption spectrum, strongly indicating the formation of new ground-states and/or complexes [56–58]. In Fig. 2a, we can observe that the sum of the **1S** spectrum and PA spectrum (dot line) fit well to the actual spectrum of the mixture **1S** + PA (black line). The same behavior can be observed for NA and TNT (Figs. 2b and c). These results suggest that no complex is formed between the sensor and these NACs, also suggesting an absence of static quenching.

To evaluate if there dynamic quenching had occurred, the lifetime of the sensor was measured in the presence of different concentrations of NACs. Mono-exponential decay was observed in all measurements. For pure **1S**, the lifetime was 9.97 ns and this value was changed little by the addition of PA, NA or TNT (Fig. S5). Experiments with a 1-mm cuvette were also performed. Since the absorbance is proportional to the pathlength, this experiment reduced the IFE dependence, allowing only the quenching mechanism to be observed in fluorescence measurements.

Fig. 2d–f show Stern-Volmer plots obtained in the standard set up (using one cuvette of 1-cm length), one cuvette of 1-mm length (to withdraw IFE contribution) and also $\tau^0/\tau \times [\text{NAC}]$ plot. All curves presented linear behavior

(360 nm) for PA, NA, and TNT were 16,730, 15,504, and 404 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$, respectively, which are high values if compared to the ϵ values at the emission (460 nm): 651, 516, and 180 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$, respectively. These results indicate that

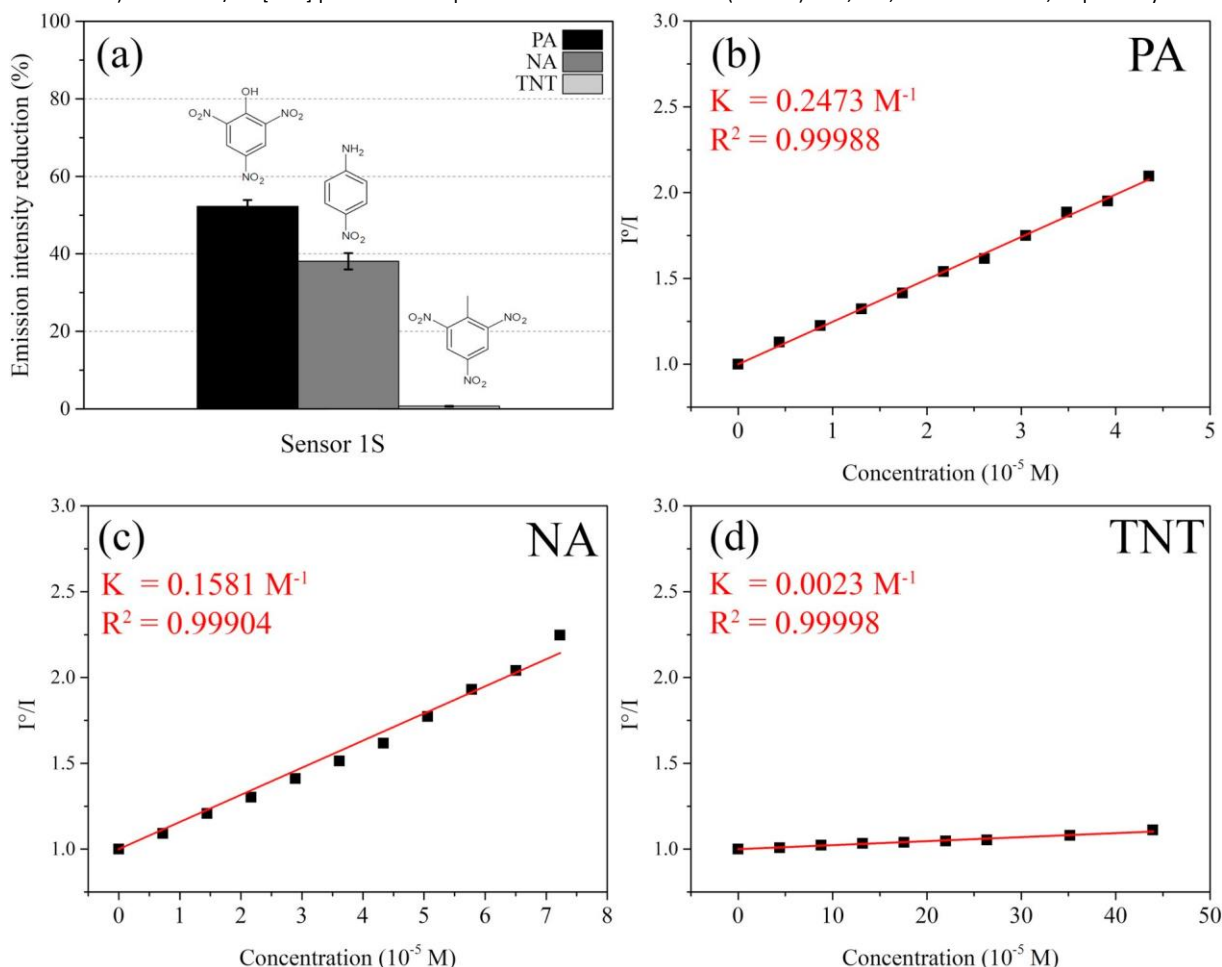


Fig. 1. (a) Reduction of the fluorescence emission (%) observed for **1S** in aqueous solution ($4 \cdot 10^{-5} \text{ M}$) towards different NACs and comparison of Stern-Volmer plots draws for (b) PA, (c) NA, and (d) TNT. The insets at (a) show the chemical structure of the NACs tested (slit of 1 nm width).

Moreover, the 1-cm cuvette and 1-mm cuvette present very different values of K for PA and NA, except for TNT. In addition, K obtained from lifetime and 1-mm cuvette experiments, exhibited similar values (PA: 0.009 M^{-1} and 0.005 M^{-1} ; NA: 0.002 M^{-1} and 0.003 M^{-1} ; TNT: 0.002 M^{-1} and 0.002 M^{-1} , respectively). These results strongly suggest that IFE is the main mechanism responsible for the decrease in luminescence intensity for PA and NA and dynamic quenching plays only a secondary role in this process. More specifically, for PA, which presents a slightly higher value of K , dynamic quenching is a bit more relevant, but due to low values of K , it still plays a secondary role.

Since dynamic and static PET were seen to be unlikely for luminescence, a closer study of IFE was undertaken. For this, we used the Parker factor [44,55,59] to correct the Stern-Volmer curves of **1S** and eliminate the IFE from the total quenching. The correction factor for both primary and secondary IFE could be calculated following the equation [44]:

$$= \frac{2.3 d A_{ex}}{d A_{ex} \times 10} \times \frac{g A_{em}}{2.3 s A_{em}}$$

wherein A_{ex} and A_{em} are the absorptions at the excitation and emission wavelength, respectively; d is the pathlength of the cuvette; g and s are the slit of the emission/excitation beam defined in Fig. S6. It is possible to simplify this equation in cases where the A_{em} is very small, i.e., when the secondary IFE is negligible [60]. We observed that absorption bands of the NACs (Fig. S7) did not overlap significantly with the monitored emission of **1S** (460 nm). Moreover, the molar absorptivities (ϵ) of the NACs at the excitation

the A_{em} had little influence on the correction factor and implies that the secondary IFE is not significant for the reduction of fluorescence emission. So, the following simplified equation could be used in the experiments:

$$= \frac{2.1. \ 2.3 A_{dex}}{1 \ 10} \quad (2)$$

Thus, the corrected Stern-Volmer equation is described as:

$$I_{cor} = I \cdot \quad (3)$$

wherein I^0 and I are the integrated area of fluorescence intensity in absence and presence of quencher, respectively, K is the quenching constant and $[A]$ is the quencher concentration. With the corrected Stern-Volmer equation we were able to eliminate the IFE contribution in the reduction of emission fluorescence. The concentrations, data points, values, and absorbance of the analytes, that were used to calculate the corrected Stern-Volmer plot are available in Tables S1, S2, and S3. The corrected and uncorrected plots are compared in Fig. 3a, b, and c. As result, the corrected slopes (K_{cor}) exhibit values of 0.002 M^{-1} (PA), 0.004 M^{-1} (NA), and 0.002 M^{-1} . As well as in experiments of lifetime and 1-mm cuvette (Fig. 2), the new constants K_{cor} presented quite low values after correction in comparison with the uncorrected. When the IFE component was removed from the Stern-Volmer curves,

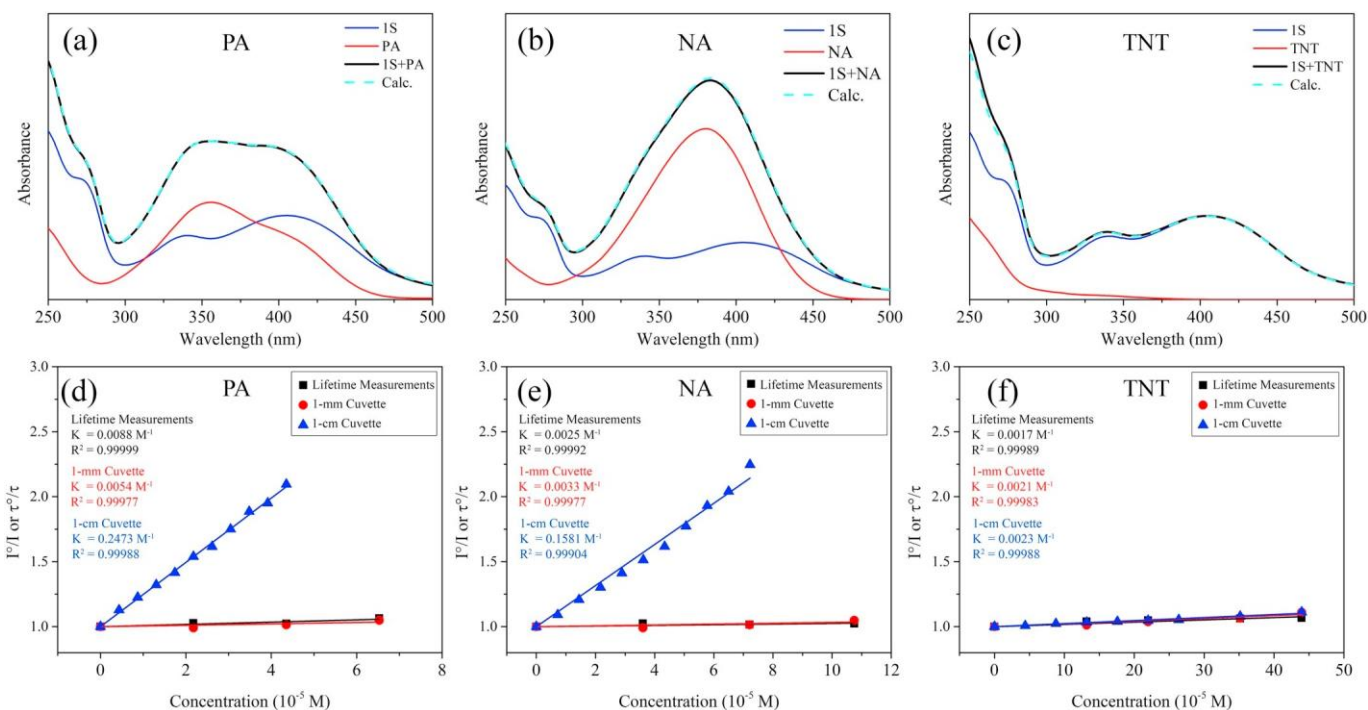


Fig. 2. Absorption spectra of **1S** in aqueous solution towards (a) PA, (c) NA, and (d) TNT ($4 \cdot 10^{-5}$ M) — dotted lines shows the linear combination of **1S** with the respective NAC. Stern-Volmer plots from lifetime (τ^0/τ), 1-mm cuvette, and one-cuvette (I^0/I) experiment for (d) PA, (e) NA, and (f) TNT (1 nm slit width).

the I^0/I remained unchanged even after increasing the concentration of NAC. So, the IFE was assumed to be main responsible for the emission intensity reduction.

As mentioned before, IFE does not depend on effective interaction between the fluorophore and the quencher. To verify this, we conducted an extremely simple test based on two-cuvette measurements to verify the contribution of

the IFE. The first cuvette (1), containing the sensor solution, was placed facing the detector, while the second cuvette (2) was placed in front of the excitation beam. The NAC was gradually added to cuvette 2, while the luminescence of cuvette 1 was being measured. In this case, any reduction in luminescence intensity could be undoubtedly associated to IFE, since it would indicate that the

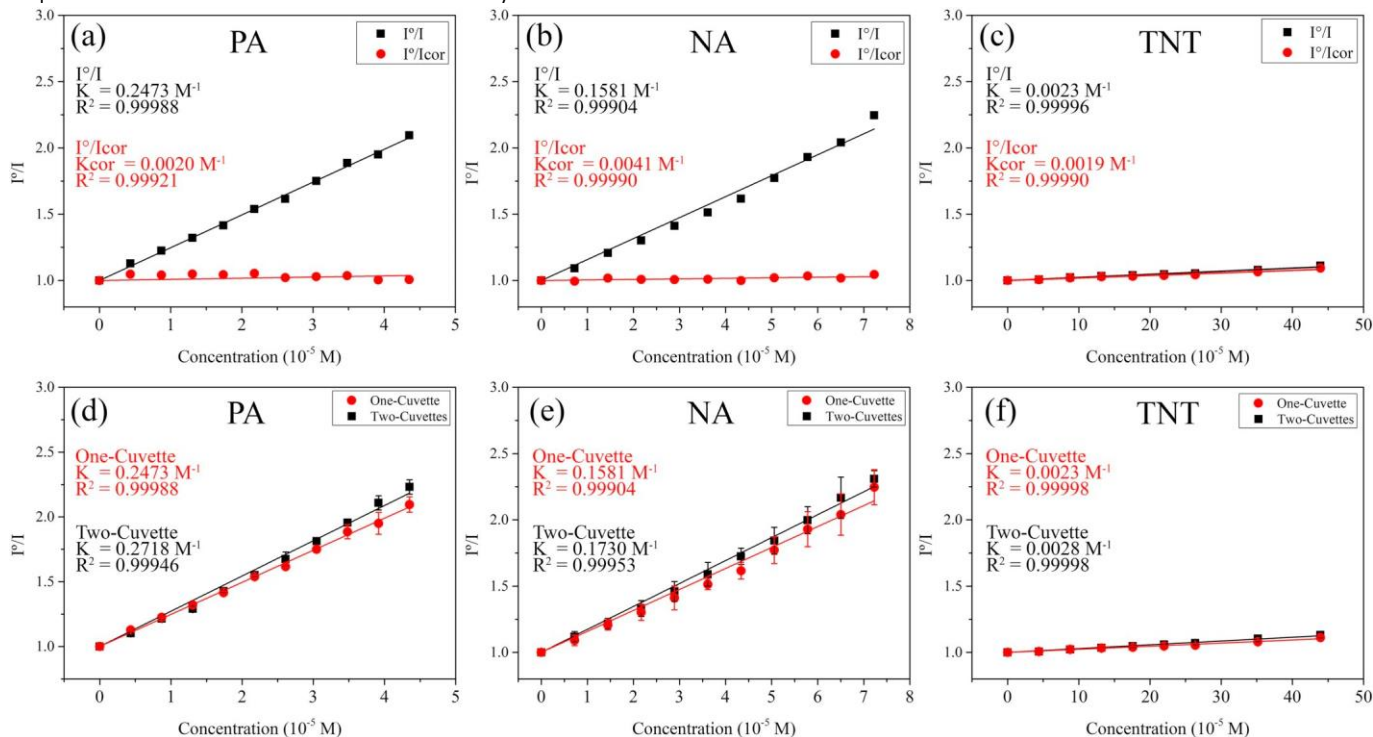


Fig. 3. (a–c) Comparison between one-cuvette corrected and uncorrected Stern-Volmer plots for **1S** in aqueous solution towards (a) PA, (b) NA, and (c) TNT; and (d–f) comparison between Stern-Volmer plots for aqueous solution of **1S** obtained in one-cuvette and two-cuvette experiments for different concentrations of (d) PA, (e) NA, and (f) TNT. ($n = 3$, n — number of replicates; 1 nm slit width).

Table 1

Reduction of the fluorescence emission (%) of **1S** aqueous solution for different NACs ($4 \cdot 10^{-5}$ M) obtained for one- and two-cuvettes experiments.

Experiment	Reduction of fluorescence emission (mean % and SD)								
1S	2S			3S					
	PA	NA	TNT	PA	NA	TNT	PA	NA	TNT
One-Cuvette	52.3 ± 1.6	38.1 ± 2.1	0.69 ± 0.1	15.4 ± 2.1	12.6 ± 2.5	8.41 ± 1.9	19.3 ± 2.5	16.6 ± 2.4	6.2 ± 1.9
Two-Cuvettes	55.2 ± 2.0	42.0 ± 1.5	0.65 ± 0.1	17.1 ± 2.9	10.9 ± 3.0	9.21 ± 1.1	19.5 ± 1.9	17.1 ± 2.2	7.0 ± 1.5

All data were measured upon $4 \cdot 10^{-5}$ M of NAC; SD — standard deviation; $n = 3$ (n — number of replicates).

sensor was no longer excited (and obviously there was no interaction between the sensor and the NAC since they were in separate cuvettes). Fig. S8 shows images of the two-cuvettes before and after the addition of NAC. Stern-Volmer plots of one-cuvette and two-cuvette experiments (Fig. 3d, e, and f) demonstrate a high correlation between their points and the fitted curves presented $R^2 > 0.999$. Although there was a small increase of K regarding two-cuvettes, very close values were observed between the experiments, such as 0.25 M^{-1} and 0.27 M^{-1} (PA); 0.16 M^{-1} and 0.17 M^{-1} (NA); 0.002 M^{-1} and 0.003 M^{-1} (TNT), assigned to be one-cuvette and two-cuvettes, respectively. For instance, the reduction of the fluorescence emission in both experiments was compared at the NAC concentration of $4 \cdot 10^{-5}$ M. Whereas one-cuvette presented responses of $52.3 \pm 1.6\%$, $38.1 \pm 2.1\%$, and $0.69 \pm 0.1\%$ for PA, NA, and TNT, respectively, the two-cuvettes exhibited close values of $55.2 \pm 2.0\%$, $42.0 \pm 1.5\%$, and $0.65 \pm 0.1\%$, respectively (Table 1). So, there are strong indications that the IFE played the main role in the reduction of fluorescence emission in this system.

After a proof-of-concept regarding the luminescence quenching mechanism of the 1S had been conducted, the experiments with one and two-cuvettes were extended to the sensors 2S and 3S. Both experiments were performed by measuring before and after the addition of NAC ($4 \cdot 10^{-5}$ M). Similar to the 1S sensor, the profile of reduction in luminescence intensity of sensors 2S and 3S in the two-cuvettes experiment was quite close to the profiles observed in the one-cuvette experiment (Table 1).

In Fig. 4a and b, the UV-Vis spectra of the NACs ($4 \cdot 10^{-5}$ M) shows that they present an absorption band coinciding with the excitation range of the sensors. The higher the absorption of the analyte at the excitation wavelength (λ_{exc}), the greater the decrease in luminescence. This inference could be clearly observed in the PA and NA, which have a suitable overlap with the excitation of the sensors and, also, the highest responses. The molar extinction

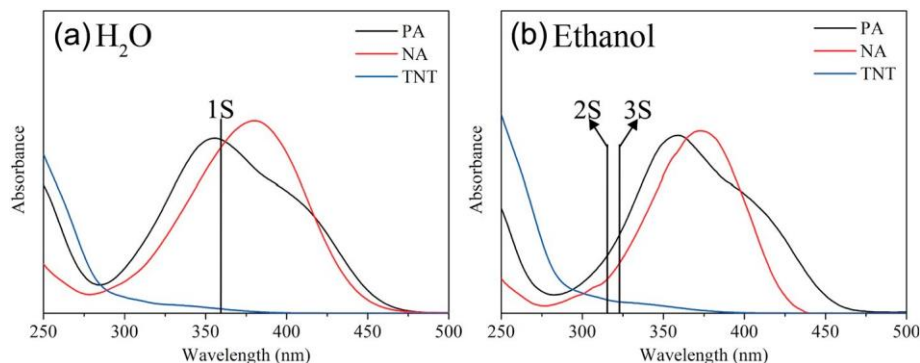


Fig. 4. Absorption spectra of PA, NA, and TNT ($4 \cdot 10^{-5}$ M) in (a) water and (b) ethanol. The vertical lines represent the excitation wavelength of the sensors 1S (360 nm), 2S (315 nm), and 3S (324 nm).

coefficients (ϵ) for PA at the excitation of the sensors (Table 2) were $16,730 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, $8728 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, and $11,606 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, while NA were $15,504 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, $4880 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, and $6735 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (for 1S, 2S, and 3S, respectively). The low efficiency of the sensors in the presence of TNT could be associated with its low ϵ , ranging from 404 to

Table 2

Molar extinction coefficients at different wavelength for PA, NA, and TNT.

Sensor	Wavelength (nm)	Molar extinction coefficients ($\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)		
		PA	NA	TNT
2S	315	8728	4880	11,606
3S	324	6735	859	
1S	360	16,730	15,504	404

$1040 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Furthermore, the higher sensitivity of 2S towards TNT was due to the increase of the ϵ at 315 nm. Considering all results together, we have no doubt that the IFE, rather than PET, had principal responsibility for luminescence decrease.

3.3. Evaluation of suitability of sensors used in explosive screening tests 22. (selectivity test)

The fact of being governed by IFE does not impair the use of the sensor. Indeed, some works have already reported the use of IFE based sensors for NAC detection [15,43,46,47,61–68], including explosive screening testing [69–72]. Thus, we would like to evaluate the suitability of these sensors for application in screening tests to identify explosives in suspects. A sensor for detecting explosives on a person suspected of handling explosives cannot respond to common products that are found on the general public. This would generate false-positive results, which in forensics corresponds to a serious mistake, possibly leading to the blame of an innocent person.

Aiming to evaluate the potentialities of the sensors 1S, 2S, and 3S to be used for screening test for explosives, we selected five products used by the general public, such as sunblock (c-1), make-up (c-2) and moisturizing cream (c-3, c-4 and c-5) to be tested as interferers (c-1 to c-5 are detailed in Table S1). These

products were chosen due to the high probability of finding them on a suspect. It is known that sunblock creams are designed to absorb UV radiation; they can be considered as an interferer because they would be very likely to be found on the hands, skin or even clothes of an average person.

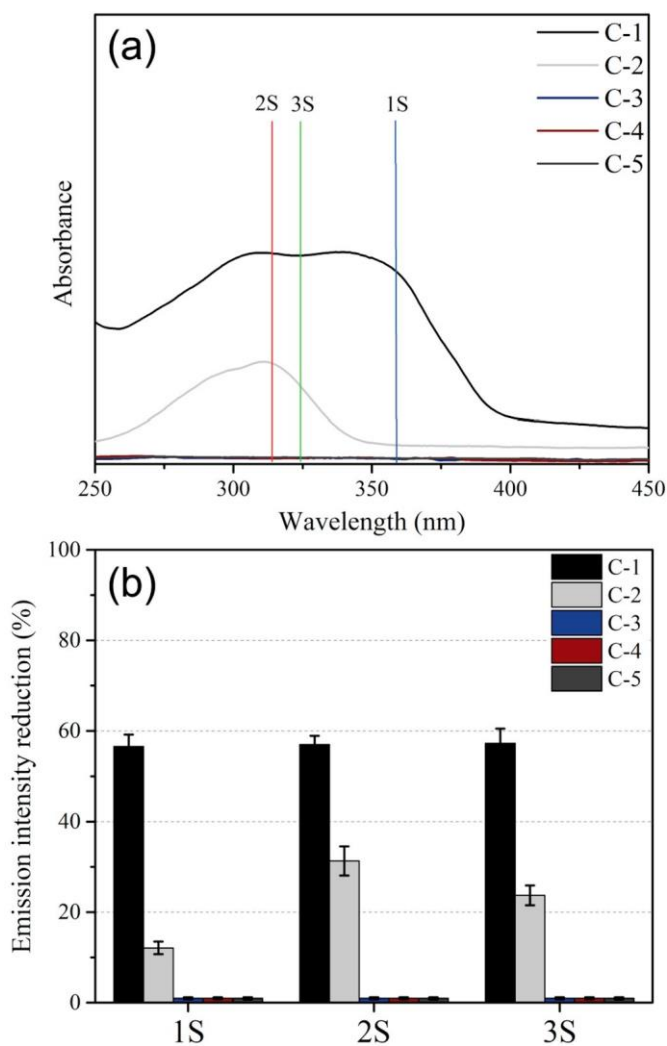


Fig. 5. (a) Absorption spectra of the interferers (The vertical lines represent the excitation wavelength of the sensors **1S** (360 nm), **2S** (315 nm), and **3S** (324 nm)) and (b) reduction of the fluorescence emission (%) observed for each sensor (**1S** in H₂O; **2S** and **3S** in ethanol) towards different interferers (0.05 g/L).

UV-vis spectra of **c-1** and **c-2** (Fig. 5a) showed high absorption from 250 to 400 nm, exactly at the sensor's excitation wavelength (vertical lines). Therefore, even at low concentrations (0.05 g/L), **c-1** and **c-2** provoked a remarkable decrease in luminescence (Fig. 5b). For instance, sensors **1S**, **2S** and **3S** showed luminescence reduction of $56.6 \pm 2.6\%$, $57.0 \pm 1.9\%$, and $57.3 \pm 3.2\%$ for sunblock (**c-1**), and $12.1 \pm 1.4\%$, $31.3 \pm 3.2\%$, and $23.7 \pm 2.2\%$ for make-up (**c-2**), respectively. This draws attention to the fact that make-up, which is not designed to absorb UV as sunblock and is also very likely to be found on a person, promotes a significant reduction in luminescence. Comparing with NACs in an analogous concentration (0.05 g/L), **c-1** and **c-2** offered a considerable reduction in luminescence, which could be easily confused with a target analyte (Fig. S9). So, considering the aimed application, these sensors did not present the selectivity required to be used in detecting explosives.

23. 4. Conclusion

In this work, we have closely investigated the quenching mechanism of three systems in the presence of NACs. We have demonstrated that PET is not the main mechanism for the reduction of the fluorescence emission. Instead, the IFE plays a very important role in luminescence decrease for the sensors **1S**,

2S, and **3S**. Furthermore, we tested these sensors for forensic screening. Specifically, we evaluated if they could be suitable for preliminary detection of explosive in cases of suspicion of explosive handling. We observed that ordinary products, such as cosmetics, induced the same effect of luminescence decreasing. As a consequence, ordinary cosmetics used by someone could be confused with a target analyte. So, these systems did not exhibit the required selectivity to be used as sensors in explosive screening test.

The results indicate that more attention must be paid to the investigation of the quenching mechanism in a luminescent sensor, especially when a specific application is intended. We concluded that many papers in the literature have not presented an adequate investigation of their systems, which could lead to misunderstandings. Thus, the results of this work make an effective contribution to the development of luminescent sensors and open a discussion about the feasibility of some of them.

24. Acknowledgements

This work was supported by CNPq and CAPES (Núcleo de Estudos em Química Forense — NEQUIFOR/PROFORENSES). We thank the National Institute of Criminalistics — Brazilian Federal Police (NIC/ BFP) for research collaboration. The English text of this paper has been revised by Sidney Pratt, Canadian, MAT (The Johns Hopkins University), RSAdip — TESL (Cambridge University).

25. Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at [https://](https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104037)

doi.org/10.1016/j.microc.2019.104037. **References**

- [1] S.S. Nagarkar, A.V. Desai, S.K. Ghosh, Engineering metal-organic frameworks for aqueous phase 2,4,6-trinitrophenol (TNP) sensing, *CrystEngComm* 18 (2016) 2994–3007, <https://doi.org/10.1039/C6CE00244G>.
- [2] Y. Ma, S. Wang, L. Wang, Nanomaterials for luminescence detection of nitroaromatic explosives, *TrAC Trends Anal. Chem.* 65 (2015) 13–21, <https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.09.007>.
- [3] V. Sathish, A. Ramdass, M. Velayudham, K.-L. Lu, P. Thanasekaran, S. Rajagopal, Development of luminescent sensors based on transition metal complexes for the detection of nitroexplosives, *Dalton Trans.* 46 (2017) 16738–16769, <https://doi.org/10.1039/C7DT02790G>.
- [4] S. Zhang, D. Du, J. Qin, S. Bao, S. Li, W. He, Y. Lan, P. Shen, Z. Su, A fluorescent sensor for highly selective detection of nitroaromatic explosives based on a 2D, extremely stable, metal-organic framework, *Chem. Eur. J.* 20 (2014) 3589–3594, <https://doi.org/10.1002/chem.201304692>.
- [5] B.-X. Dong, Y.-M. Pan, W.-L. Liu, Y.-L. Teng, An ultrastable luminescent metal-organic framework for selective sensing of nitroaromatic compounds and nitroimidazole-based drug molecules, *Cryst. Growth Des.* 18 (2017), <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.7b01430>.
- [6] T. Xia, F. Zhu, Y. Cui, Y. Yang, Z. Wang, G. Qian, Highly selective luminescent sensing of picric acid based on a water-stable europium metal-organic framework, *J. Solid State Chem.* 245 (2017) 127–131, <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2016.10.016>.
- [7] H.-Y. Mi, J.-L. Liu, M.-M. Guan, Q.-W. Liu, Z.-Q. Zhang, G.-D. Feng, Fluorescence chemical sensor for determining trace levels of nitroaromatic explosives in water based on conjugated polymer with guanidinium side groups, *Talanta* 187 (2018) 314–320, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.05.036>.
- [8] X.-L. Hu, X.-L. Wang, Z.-M. Su, A metal-organic framework based on nanosized hexagonal channels as fluorescent indicator for detection of nitroaromatic explosives, *J. Solid State Chem.* 258 (2018) 781–785, <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2017.12.010>.
- [9] K. Li, R.H. Yu, C.M. Shi, F.R. Tao, T.D. Li, Y.Z. Cui, Electrospun nanofibrous membrane based on AIE-active compound for detecting picric acid in aqueous solution, *Sensors Actuators B Chem.* 262 (2018) 637–645, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.02.032>.
- [10] K.S. Asha, K. Bhattacharyya, S. Mandal, Discriminative detection of nitro aromatic explosives by a luminescent metal-organic framework, *J. Mater. Chem. C* 2 (2014) 10073–10081, <https://doi.org/10.1039/C4TC01982B>.
- [11] X.-J. Hong, Q. Wei, Y.-P. Cai, S.-R. Zheng, Y. Yu, Y.-Z. Fan, X.-Y. Xu, L.-P. Si, 2-fold interpenetrating bifunctional Cd-metal-organic frameworks: highly selective adsorption for CO₂ and sensitive luminescent sensing of nitro aromatic 2,4,6-trinitrophenol, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 9 (2017) 4701–4708, <https://doi.org/10.1021/acsami.6b14051>.
- [12] R. Tu, B. Liu, Z. Wang, D. Gao, F. Wang, Q. Fang, Z. Zhang, Amine-capped ZnS-Mn²⁺ nanocrystals for fluorescence detection of trace TNT explosive, *Anal. Chem.* 80 (2008) 3458–3465, <https://doi.org/10.1021/ac800060f>.
- [13] Y. Wang, W. Zou, 3-Aminopropyltriethoxysilane-functionalized manganese doped ZnS quantum dots for room-temperature phosphorescence sensing ultratrace

- 2,4,6-trinitrotoluene in aqueous solution, *Talanta* 85 (2011) 469–475, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.04.014>.
- [14] M. Kaur, S.K. Mehta, S.K. Kansal, Nitrogen doped graphene quantum dots: efficient fluorescent chemosensor for the selective and sensitive detection of 2,4,6-trinitrophenol, *Sensors Actuators B Chem.* 245 (2017) 938–945, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.02.026>.
- [15] C. Zhang, S. Zhang, Y. Yan, F. Xia, A. Huang, Y. Xian, Highly fluorescent polyimide covalent organic nanosheets as sensing probes for the detection of 2,4,6-trinitrophenol, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 9 (2017) 13415–13421, <https://doi.org/10.1021/acsami.6b16423>.
- [16] N. Sang, C. Zhan, D. Cao, Highly sensitive and selective detection of 2,4,6-trinitrophenol using covalent-organic polymer luminescent probes, *J. Mater. Chem. A* 3 (2015) 92–96, <https://doi.org/10.1039/C4TA04903A>.
- [17] X. Tian, H. Peng, Y. Li, C. Yang, Z. Zhou, Y. Wang, Highly sensitive and selective paper sensor based on carbon quantum dots for visual detection of TNT residues in groundwater, *Sensors Actuators B Chem.* 243 (2017) 1002–1009, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.12.079>.
- [18] S.S. Nagarkar, B. Joarder, A.K. Chaudhari, S. Mukherjee, S.K. Ghosh, Highly selective detection of nitro explosives by a luminescent metal-organic framework, *Angew. Chem.* 125 (2013) 2953–2957, <https://doi.org/10.1002/ange.201208885>.
- [19] P. Dutta, D. Saikia, N.C. Adhikary, N. Sen Sarma, Macromolecular systems with MSA-capped CdTe and CdTe/ZnS core/shell quantum dots as superselective and ultrasensitive optical sensors for picric acid explosive, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 7 (2015) 24778–24790, <https://doi.org/10.1021/acsami.5b07660>.
- [20] V.V. Hernandez, M.F. Franco, J.M. Santos, J.J. Melendez-Perez, D.R. de Moraes, W.F. de C. Rocha, R. Borges, W. de Souza, J.J. Zacca, L.P.L. Logrado, M.N. Eberlin, D.N. Correa, Characterization of ANFO explosive by high accuracy ESI(±)–FTMS with forensic identification on real samples by EASI(–)–MS, *Forensic Sci. Int.* 249 (2015) 156–164, <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2015.01.006>.
- [21] F.G.M. Mauricio, A.Z. Pralon, M. Talhavi, M.O. Rodrigues, I.T. Weber, Identification of ANFO: use of luminescent taggants in post-blast residues, *Forensic Sci. Int.* 275 (2017) 8–13, <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2017.02.029>.
- [22] European Association for Secure Transactions (EAST), ATM Explosive Attacks Surge in Europe, <https://www.association-secure-transactions.eu/atm-explosive-attacksurge-in-europe/>, (2016).
- [23] European Association for Secure Transactions, European Payment Terminal Crime Report, <https://www.association-secure-transactions.eu/>, (2017).
- [24] M. Du, Analysis of errors in forensic science, *J. Forensic Sci. Med.* 3 (2017) 139, https://doi.org/10.4103/jfsm.jfsm_8_17.
- [25] M. Zhu, X.-Z. Song, S. Song, S. Zhao, X. Meng, L. Wu, C. Wang, H. Zhang, A temperature-responsive smart europium metal-organic framework switch for reversible capture and release of intrinsic Eu³⁺ ions, *Adv. Sci.* 2 (2015) 1500012, <https://doi.org/10.1002/advsc.201500012>.
- [26] S.-R. Zhang, D.-Y. Du, J.-S. Qin, S.-L. Li, W.-W. He, Y.-Q. Lan, Z.-M. Su, 2D Cd(II)–lanthanide(III) heterometallic-organic frameworks based on metalloligands for tunable luminescence and highly selective, sensitive, and recyclable detection of nitrobenzene, *Inorg. Chem.* 53 (2014) 8105–8113, <https://doi.org/10.1021/ic5011083>.
- [27] J. Ye, X. Wang, R.F. Bogale, L. Zhao, H. Cheng, W. Gong, J. Zhao, G. Ning, A fluorescent zinc-pamoate coordination polymer for highly selective sensing of 2,4,6-trinitrophenol and Cu²⁺ ion, *Sensors Actuators B Chem.* 210 (2015) 566–573, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.12.132>.
- [28] B. Gole, A.K. Bar, P.S. Mukherjee, Fluorescent metal-organic framework for selective sensing of nitroaromatic explosives, *Chem. Commun.* 47 (2011) 12137, <https://doi.org/10.1039/c1cc15594f>.
- [29] W. Sun, J. Wang, H. Liu, S. Chang, X. Qin, Z. Liu, A luminescent terbium metalorganic framework for selective sensing of nitroaromatic compounds in high sensitivity, *Mater. Lett.* 126 (2014) 189–192, <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2014.04.042>.
- [30] Y.-N. Gong, Y.-L. Huang, L. Jiang, T.-B. Lu, A luminescent microporous metal-organic framework with highly selective CO₂ adsorption and sensing of nitro explosives, *Inorg. Chem.* 53 (2014) 9457–9459, <https://doi.org/10.1021/ic501413r>.
- [31] Z.-F. Wu, B. Tan, M.-L. Feng, C.-F. Du, X.-Y. Huang, A magnesium-carboxylate framework showing luminescent sensing for CS₂ and nitroaromatic compounds, *J. Solid State Chem.* 223 (2015) 59–64, <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2014.06.018>.
- [32] X. Zhou, H. Li, H. Xiao, L. Li, Q. Zhao, T. Yang, J. Zuo, W. Huang, A microporous luminescent europium metal-organic framework for nitro explosive sensing, *Dalton Trans.* 42 (2013) 5718, <https://doi.org/10.1039/c3dt00055a>.
- [33] D. Tian, R.-Y. Chen, J. Xu, Y.-W. Li, X.-H. Bu, A three-dimensional metal-organic framework for selective sensing of nitroaromatic compounds, *APL Mater.* 2 (2014) 124111, <https://doi.org/10.1063/1.4904879>.
- [34] J. Qin, B. Ma, X.-F. Liu, H.-L. Lu, X.-Y. Dong, S.-Q. Zang, H. Hou, Aqueous- and vapor-phase detection of nitroaromatic explosives by a water-stable fluorescent microporous MOF directed by an ionic liquid, *J. Mater. Chem. A* 3 (2015) 12690–12697, <https://doi.org/10.1039/C5TA00322A>.
- [35] S.S. Nagarkar, A.V. Desai, P. Samanta, S.K. Ghosh, Aqueous phase selective detection of 2,4,6-trinitrophenol using a fluorescent metal-organic framework with a pendant recognition site, *Dalton Trans.* 44 (2015) 15175–15180, <https://doi.org/10.1039/C5DT00397K>.
- [36] T. Nguyen, W.Y. Hamad, M.J. MacLachlan, CdS quantum dots encapsulated in chiral nematic mesoporous silica: new iridescent and luminescent materials, *Adv. Funct. Mater.* 24 (2014) 777–783, <https://doi.org/10.1002/adfm.201302521>.
- [37] Y. Ma, H. Li, S. Peng, L. Wang, Highly selective and sensitive fluorescent paper sensor for nitroaromatic explosive detection, *Anal. Chem.* 84 (2012) 8415–8421, <https://doi.org/10.1021/ac302138c>.
- [38] S.C. Deshmukh, S. Rana, S.V. Shinde, B. Dhara, N. Ballav, P. Talukdar, Selective sensing of metal ions and nitro explosives by efficient switching of excimer-tomonomer emission of an amphiphilic pyrene derivative, *ACS Omega* 1 (2016) 371–377, <https://doi.org/10.1021/acsomega.6b00136>.
- [39] H. He, Y. Song, F. Sun, N. Zhao, G. Zhu, Sorption properties and nitroaromatic explosives sensing based on two isostructural metal-organic frameworks, *Cryst. Growth Des.* 15 (2015) 2033–2038, <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.5b00229>.
- [40] P. Ghosh, S.K. Saha, A. Roychowdhury, P. Banerjee, Recognition of an explosive and mutagenic water pollutant, 2,4,6-trinitrophenol, by cost-effective luminescent MOFs, *Eur. J. Inorg. Chem.* 2015 (2015) 2851–2857, <https://doi.org/10.1002/ejic.201500233>.
- [41] S. Doose, H. Neuweiler, M. Sauer, Fluorescence quenching by photoinduced electron transfer: a reporter for conformational dynamics of macromolecules, *ChemPhysChem* 10 (2009) 1389–1398, <https://doi.org/10.1002/cphc.200900238>.
- [42] D. Tian, Y. Li, R.-Y. Chen, Z. Chang, G.-Y. Wang, X.-H. Bu, A luminescent metal-organic framework demonstrating ideal detection ability for nitroaromatic explosives, *J. Mater. Chem. A* 2 (2014) 1465–1470, <https://doi.org/10.1039/C3TA13983B>.
- [43] A.S. Tanwar, S. Patidar, S. Ahirwar, S. Dehingia, P.K. Iyer, “Receptor free” inner filter effect based universal sensors for nitroexplosive picric acid using two polyfluorene derivatives in the solution and solid states, *Analyst* 144 (2019) 669–676, <https://doi.org/10.1039/C8AN01970C>.
- [44] T.D. Gauthier, E.C. Shane, W.F. Guerin, W.R. Seitz, C.L. Grant, Fluorescence quenching method for determining equilibrium constants for polycyclic aromatic hydrocarbons binding to dissolved humic materials, *Environ. Sci. Technol.* 20 (1986) 1162–1166, <https://doi.org/10.1021/es00153a012>.
- [45] J.R. Lakowicz, Principles of Fluorescence Spectroscopy, 3rd ed., Springer US, Boston, MA, 2006, <https://doi.org/10.1007/978-0-387-46312-4>.
- [46] P. Sam-ang, D. Raksasorn, M. Sukwattanasinitt, P. Rashatasakhon, A nitroaromatic fluorescence sensor from a novel triphenyl truxene, *RSC Adv.* 4 (2014) 58077–58082, <https://doi.org/10.1039/C4RA11407H>.
- [47] A.S. Tanwar, S. Hussain, A.H. Malik, M.A. Afroz, P.K. Iyer, Inner filter effect based selective detection of nitroexplosive-picric acid in aqueous solution and solid support using conjugated polymer, *ACS Sens.* 1 (2016) 1070–1077, <https://doi.org/10.1021/acssensors.6b00441>.
- [48] K. Shanmugaraj, S.A. John, Inner filter effect based selective detection of picric acid in aqueous solution using green luminescent copper nanoclusters, *New J. Chem.* 42 (2018) 7223–7229, <https://doi.org/10.1039/C8NJ00789F>.
- [49] Q. Niu, K. Gao, Z. Lin, W. Wu, Amine-capped carbon dots as a nanosensor for sensitive and selective detection of picric acid in aqueous solution via electrostatic interaction, *Anal. Methods* 5 (2013) 6228, <https://doi.org/10.1039/c3ay41275j>.
- [50] H. Xu, F. Liu, Y. Cui, B. Chen, G. Qian, A luminescent nanoscale metal-organic framework for sensing of nitroaromatic explosives, *Chem. Commun.* 47 (2011) 3153, <https://doi.org/10.1039/c0cc05166g>.
- [51] J.-D. Xiao, L.-G. Qiu, F. Ke, Y.-P. Yuan, G.-S. Xu, Y.-M. Wang, X. Jiang, Rapid synthesis of nanoscale terbium-based metal-organic frameworks by a combined ultrasound-vapour phase diffusion method for highly selective sensing of picric acid, *J. Mater. Chem. A* 1 (2013) 8745, <https://doi.org/10.1039/c3ta11517h>.
- [52] B. Joarder, A.V. Desai, P. Samanta, S. Mukherjee, S.K. Ghosh, Selective and sensitive aqueous-phase detection of 2,4,6-trinitrophenol (TNP) by an amine-functionalized metal-organic framework, *Chem. Eur. J.* 21 (2015) 965–969, <https://doi.org/10.1002/chem.201405167>.
- [53] S. Shanmugaraju, C. Dabadie, K. Byrne, A.J. Savyasachi, D. Umadevi, W. Schmitt, J.A. Kitchen, T. Gunnlaugsson, A supramolecular Tröger’s base derived coordination zinc polymer for fluorescent sensing of phenolic-nitroaromatic explosives in water, *Chem. Sci.* 8 (2017) 1535–1546, <https://doi.org/10.1039/C6SC04367D>.
- [54] B. Wang, Y. Mu, C. Zhang, J. Li, Blue photoluminescent carbon nanodots prepared from zeolite as efficient sensors for picric acid detection, *Sensors Actuators B Chem.* 253 (2017) 911–917, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.07.046>.
- [55] A.S. Tanwar, L.R. Adil, M.A. Afroz, P.K. Iyer, Inner filter effect and resonance energy transfer based attogram level detection of nitroexplosive picric acid using dual emitting cationic conjugated polyfluorene, *ACS Sens.* 3 (2018) 1451–1461, <https://doi.org/10.1021/acssensors.8b00093>.
- [56] A. Ahmad, T. Kurkina, K. Kern, K. Balasubramanian, Applications of the static quenching of rhodamine B by carbon nanotubes, *ChemPhysChem* 10 (2009) 2251–2255, <https://doi.org/10.1002/cphc.200900246>.
- [57] S. Murphy, L. Huang, P.V. Kamat, Charge-transfer complexation and excited-state interactions in porphyrin-silver nanoparticle hybrid structures, *J. Phys. Chem. C* 115 (2011) 22761–22769, <https://doi.org/10.1021/jp205711x>.
- [58] M. Kotkowiak, A. Dudkowiak, Multiwavelength excitation of photosensitizers interacting with gold nanoparticles and its impact on optical properties of their hybrid mixtures, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 17 (2015) 27366–27372, <https://doi.org/10.1039/C5CP04459F>.
- [59] C.A. Parker, W.T. Rees, Correction of fluorescence spectra and measurement of fluorescence quantum efficiency, *Analyst* 85 (1960) 587, <https://doi.org/10.1039/an9608500587>.
- [60] I.E. Borissévitch, More about the inner filter effect: corrections of Stern–Volmer fluorescence quenching constants are necessary at very low optical absorption of the quencher, *J. Lumin.* 81 (1999) 219–224, [https://doi.org/10.1016/S00222313\(98\)00063-5](https://doi.org/10.1016/S00222313(98)00063-5).

[61] N. Xiao, S.G. Liu, S. Mo, N. Li, Y.J. Ju, Y. Ling, N.B. Li, H.Q. Luo, Highly selective detection of p-nitrophenol using fluorescence assay based on boron, nitrogen co-

- doped carbon dots, *Talanta* 184 (2018) 184–192, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.02.114>. [67] D. Peng, L. Zhang, F.-F. Li, W.-R. Cui, R.-P. Liang, J.-D. Qiu, Facile and green approach to the synthesis of boron nitride quantum dots for 2,4,6-trinitrophenol detection, *Talanta* 184 (2018) 184–192, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.02.114>.
- [62] Jigyasa, J.K. Rajput, "ON-OFF" novel fluorescent chemosensors based on nanoaggregates of triaryl imidazoles for superselective detection of nitro-explosive trinitrophenol in multiple solvent systems, *Sensors Actuators B Chem.* 259 (2018) 990–1005, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.12.145>. [68] C. Li, F. Zhang, X. Li, G. Zhang, Y. Yang, A luminescent Ln-MOF thin film for highly sensitive and selective detection of nitroimidazoles in aqueous solutions based on inner filter effect, *J. Lumin.* 205 (2019) 23–29, <https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2018.08.069>.
- [63] X.-J. Lv, L. Qi, X.-Y. Gao, H. Wang, Y. Huo, Z.-Q. Zhang, Selective detection of trinitrophenol based on a fluorescent nanoscale bis(8-hydroxyquinoline) metal complex, *Talanta* 150 (2016) 319–323, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.12.053>. [69] S. Shanmugaraju, S.A. Joshi, P.S. Mukherjee, Fluorescence and visual sensing of complex, *Talanta* 150 (2016) 319–323, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.12.053>. [70] A. Pesenti, R.V. Taudte, B. McCord, P. Doble, C. Roux, L. Blanes, Green synthesis of fluorescent hydrophobic carbon quantum dots and their use for 2,4,6-trinitrophenol detection, *RSC Adv.* 5 (2015) 93360–93363, <https://doi.org/10.1039/C5RA19029K>.
- [64] F. Cheng, X. An, C. Zheng, S. Cao, Green synthesis of fluorescent hydrophobic carbon quantum dots and their use for 2,4,6-trinitrophenol detection, *RSC Adv.* 5 (2015) 93360–93363, <https://doi.org/10.1039/C5RA19029K>. [71] R.V. Taudte, A. Beavis, L. Wilson-Wilde, C. Roux, P. Doble, L. Blanes, A portable sensitive sensing of 2,4,6-trinitrophenol via an inner filtering effect, *Spectrochim. Acta B* 133 (2018) 221–226, <https://doi.org/10.1016/j.sbsbs.2018.07.006>. [72] H. Zhu, H. Zhang, Y. Xia, Planar is better: monodisperse three-layered MoS₂ nanoclusters with strong fluorescence emission as a sensing platform for sensitive quantum dots as fluorescent reporters for 2,4,6-trinitrotoluene sensing in environmental water and luggage cases, *Anal. Chem.* 90 (2018) 3942–3949, <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b04893>.

Anexo II

Accepted Manuscript

Title: Evaluation of Interferers in Sampling Materials Used in Explosive Residue Analysis by Ion Chromatography

Authors: Filipe G.M. Mauricio, Victoria R.M. Abritta,
Ricardo de Lacerda Aquino, Joao Carlos Laboissiere~
Ambrosio, L´ucio Paulo Lima Logrado, Ingrid T. Weber´

PII: S0379-0738(19)30320-2

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2019.109908>

Article Number: 109908

Reference: FSI 109908

To appear in: *FSI*

Received date: 1 April 2019

Revised date: 19 June 2019

Accepted date: 29 July 2019

Please cite this article as: Mauricio FGM, Abritta VRM, de Lacerda Aquino R, Ambrosio JCL, Logrado LPL, Weber IT, Evaluation of Interferers in Sampling´

Materials Used in Explosive Residue Analysis by Ion Chromatography, *Forensic Science International* (2019), <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2019.109908>

This is a PDF file of an unedited manuscript that has been accepted for publication. As a service to our customers we are providing this early version of the manuscript. The manuscript will undergo copyediting, typesetting, and review of the resulting proof before it is published in its final form. Please note that during the production process errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.



**Evaluation of Interferers in Sampling Materials Used in Explosive Residue
Analysis by Ion Chromatography**

Filipe G. M. Mauricio ^a, Victória R. M. Abritta ^a, Ricardo de Lacerda Aquino ^a,

João Carlos Laboissiere Ambrósio ^b, Lúcio Paulo Lima Logrado ^b, Ingrid T.

Weber ^{a,c*}

^aLaboratory of Inorganic and Materials, University of Brasília, 70910 -000, Asa
Norte, Brasília, DF, Brazil.

^bNational Institute of Criminalistics, Brazilian Federal Police, SAIS Quadra 07
Lote 23, 70610 -200 Brasília, Brazil.

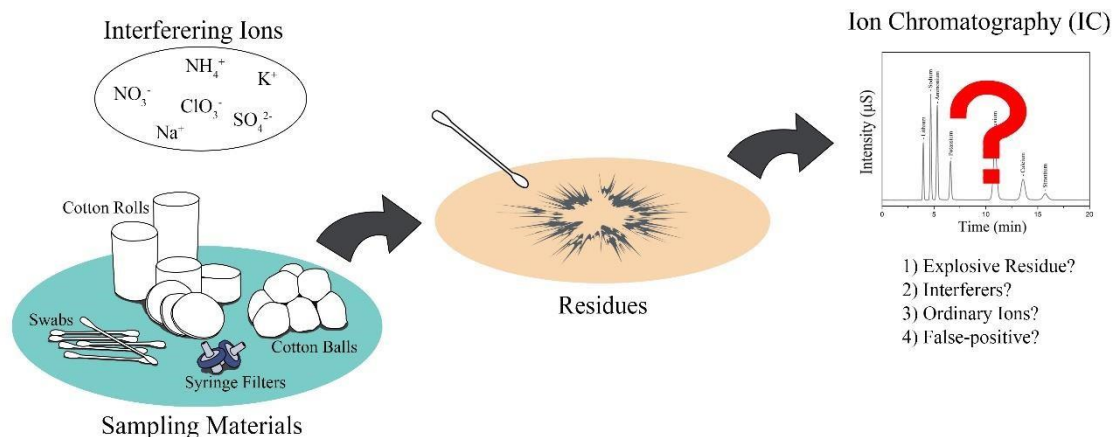
^cFundamental Department of Chemistry, Federal University of Pernambuco,
50670 -901, Recife, PE, Brazil.

*Corresponding Author: itweber@unb.br

Address: LIMA, Chemistry Institute, University of Brasília – UnB, P.O. Box

04478, 70904 -970, Brasília, Brazil. Phone: +55 61 3107 3898

Graphical Abstract



Highlights

- Interfering ions can lead to misinterpretation of post-blast residues analysis
- Inconclusive /false -positive results can be achieved by the presence of interferers
- Sampling materials can be an unexpected source of interferers, such as K^+ and NO_3^-
- Even materials designed for forensic purposes showed to be source of interferers
- It is imperative to perform prior analysis of any sampling material before collecting

Abstract

Analysis of explosive residues is of special interest in forensic science. It can be crucial for investigating acts of terrorism or robberies. Ion Chromatography (IC) is a standard technique used by many forensic labs in these cases. Due to the common nature of many explosives and the inherent dirtiness of samples from explosion scenes, sometimes inconclusive or false positive results are obtained by IC, making the identification of interferers extremely important. One possible source of interferer can be the sampling materials themselves,

as investigated in this work. First of all, interferers from forensic swabs and syringe filters were evaluated, as these are commonly employed in explosive residue IC analysis. Among the 6 tested samples, only two syringe filters were considered free of interferers. Significant amounts (> 0.2 mg/L) of Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- , and SO_4^{2-} were found in all forensic swabs and two syringe filters. Then, some ordinary commercial materials, such as cotton swabs, cotton balls, and cotton discs were also tested, as they are often employed in a forensic routine, also. These also showed significant amounts (> 0.2 mg/L) of Na^+ , K^+ , Cl^- , NO_3^- , and SO_4^{2-} . However, the total concentration of interferers in ordinary commercial materials was lower than in the forensic swabs. Then the effectiveness of removing interferers by washing sampling (swabs, and cotton balls, rolls and disk) and pre-processing (syringe filters) materials was evaluated. This revealed that the interferers could be removed with at least three washes. The results indicated that the sampling materials used for explosion scene analysis should be carefully addressed in forensic analysis. First, by making a previous analysis of the sampling material, preferably prior to use, to evaluate the presence of interferers to ensure that only material free of interferers is used. When it is not possible to perform a prior analysis of sampling materials, they should be analyzed concomitantly with the samples from the post-blast residue in order to estimate the presence of interferers. This would reduce the risk of false positives. Additionally, when interferers are detected, washing can be employed for more reliable routine analysis. We suggest at least 3 wash cycles. This method could be used for ordinary commercial materials, which are cheap and easily obtained.

Keywords: interferers, sampling materials, explosive, ion chromatography

26. Introduction

Identification of explosives is of special interest in forensic chemistry. Identifying unused explosives (pre-blast analysis) is a key point in counterterrorism and public security. On the other hand, detection of post-blast residues enables investigators to distinguish between criminal and accidental explosion and to establish relations between suspects, and crime scenes.[1–4] The collection and interpretation of these residues, however, is not a trivial task, difficult in many aspects: The first one is to

guarantee a representative sampling since the amount of sample available may be very small. Second one, composition changes from one case to another and different matrices can be quite complex; finally, explosion is a non-controlled and heterogeneous phenomenon.[5] Third one, especially inorganic explosives has interpretation problems because they are composed of ordinary ions, which are released by materials of daily use.[3]

These problems can lead to inconclusive, false negative or false positive results. Although all three aspects represent issues in forensics, the worst case is a false response that may lead to accusation of an innocent person.[6] In the analysis of inorganic explosives, an extra problem arises from the composition (**Table 1**) of explosives and post blast residues, which are mainly ordinary ions commonly released by materials of daily use (*e.g.* sodium, potassium, ammonium, chloride or nitrate).[7] These ions are highly available, at least at low background levels, contrary to organic explosive whose components are more selective. Thus, in inorganic explosive analysis, it is extremely important to prevent any source of contamination or interferer that could make results even harder to be interpreted. This source of interferers that is often neglected are the sampling materials.

For inorganic explosives analysis, one of the most well-established techniques is ion chromatography (IC). This technique has high sensibility, high selectivity and relative simplicity and is implemented in many forensic laboratories.[3,7–10] Despite all the positive features, IC is, of course, liable to provide a false positive response in the case of contamination of the sample or presence of interferers. Thus, this present study aims to evaluate possible interferers in sampling materials which may cause false positive or inconclusive results in inorganic explosive residue analysis. First of all, interferers were evaluated in forensic swabs (sampling material) and syringe filters (preprocessing material), commonly employed in explosive analysis by IC. As some of the samples presented ions such as Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- , and SO_4^{2-} , the possibility of cleaning up these materials by washing was then evaluated. Alternatively, some ordinary commercial sampling materials, such as cotton balls, cotton discs, and cotton rolls, were also evaluated.

27. Materials and Methods

2.1. Reactants

Standard solutions were prepared containing all ions currently analyzed by Brazilian Federal Police. The prepared solutions and stock solution presented fixed concentration of 1000 mg/mL. Some anionic standard solutions were prepared from sodium salts (chloride, phosphate, tartrate (Vetec Ltd.), fluoride, chlorite, perchlorate, nitrite, citrate (Sigma-Aldrich Ltd.), sulphate (Cinética

Ltd.), thiosulphate (Carlo Erba Ltd.), nitrate (QEEL Ltd.), and chlorate (Baker Ltd.)); while others were prepared from potassium salts (bromide, thiocyanate, chromate (Vetec[®]), cyanate, phthalate (Sigma-Aldrich Ltd.), oxalate (QEEL Ltd.)). A stock solution (Thermo Scientific[®]) was used as cationic standard, containing lithium chloride, sodium chloride, potassium chloride, calcium chloride, magnesium chloride, ammonium chloride, and strontium chloride. All standards and extracted samples were prepared using ultrapure water (18.2 M Ω cm at 25°C) obtained from a Millipore Direct-Q5 purification system.

2.2. Instrumentation and Parameters

Ion chromatography was performed with the Thermo Scientific Dionex

ICS-5000 Ion Chromatography System with self-regenerating electrolytic suppression and AS-AP Autosampler. The anion separations were performed in a Dionex IonPac[™] AS19 column (2 x 250 mm) using a EGC eluent generator configured with a potassium hydroxide (KOH) eluent cartridge, operating in multi-step gradient mode, starting from 10 mM (0 min) to 45 mM (40 min), whereas the suppressor current was set to 28 mA. For cation separations, a

Dionex IonPac[™] CS12A column (2 x 250 mm) was operated under an isocratic condition, 20 mM methanesulfonic acid (MSA) generated on-line from reagent water with EGC eluent generator using an MSA cartridge, and the suppressor current was set to 15 mA. The temperatures of the column and detector cell were held at 30°C and 25°C, respectively. The total retention time was 45 min, loop size of 10 μ L, and constant flow rate of 0.25 mL/min. After each run, approximately 2 mL of pure milli-Q water (18.2 M Ω cm at 25°C) was pumped into the column to avoid cross contamination. Instrument control and data acquisition were performed using Chromeleon[®] software.

Two calibration curves were used, one for low concentrations (ranging from 0.01 to 1 mg/L) and another for higher concentrations (ranging from 1 to 20 mg/L), both made up in triplicate of six levels. Only linear correlation coefficients (R^2) over 0.999 were used. The limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) were calculated through linear regression method, using the equation[11]:

$$LOD \text{ or } LOQ = \frac{F \times SD}{b}$$

Where F are the factors 3.3 or 10 for LOD or LOQ, respectively; SD is the standard deviation of the blank, standard deviation of the ordinate intercept, or residual standard deviation of the linear regression; and b is the slope of the regression line. Finally, the resolutions were calculated directly by the Chromeleon[®] software, according with the equation:

$$R = 2 \times \left| \frac{t_{ref \text{ peak}} - t_r}{BW_{ref \text{ peak}} + BW_r} \right|$$

Where $t_{ref \text{ peak}}$ is the retention time of the reference peak for the resolution; t_r is the retention time of the current peak; $BW_{ref \text{ peak}}$ and BW_r are the widths of the two peaks.

2.3. Sampling and Pre-processing Material

Different materials were tested, totaling 15 samples: 2 forensic cotton swabs (FS), 4 syringe filters (SF), 2 commercial cotton swabs (CS), 2 cotton discs (CD), 3 cotton rolls (CR), and 2 cotton balls (CB). The materials were used without any additional treatment and the washing procedures were performed in triplicate. The specific labels and brands of each material are shown in **Table 2**.

2.4. Washing Procedures

2.4.1. Cotton Swabs and Cotton Discs/Rolls/Balls

To extract the inorganic ions (inherent contaminants), the swabs were placed in a 10 mL test tube containing 3 mL of Milli-Q water and shaken in a vortex for 30 seconds. Further, 1.5 mL of the resulting solution was placed into a 10 mL polystyrene sample vial. The remaining solution in the syringe was discarded and the washing process was repeated. This procedure was carried out four times for each sample.

Regarding the cotton discs/rolls/balls, the same procedure used for the swabs was employed. Further, 1.00 ± 0.05 g of cotton was weighted and used in the extraction procedures.

2.4.2. Syringe Filters

The samples were prepared adding 10 mL of Milli-Q water to a polystyrene syringe and passed through an $0.45 \mu\text{m}$ syringe filter. The first 1.5 mL aliquot ejected was collected in a sample vial. The remaining solution was discarded and the extraction process was repeated. This procedure was carried out four times for each syringe filter.

28. Results and Discussion

In **Figure 1**, the chromatograms of standard solutions containing a mixture of 7 cations and 18 anions (5 mg/L each) shows that both cations and anions could be properly differentiated. The typical components of inorganic explosives and their decomposition products comprised a set of 5 target cations (Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Mg^{2+} , and Ca^{2+}) and 10 anions (Cl^- , ClO_2^- , ClO_3^- , ClO_4^- , NO_2^- ,

NO_3^- , SO_4^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, CN^- , and SCN^-). These ions were identified in **Figure 1** and

Table 3. This target set contained the ordinary ion residues used to identify inorganic explosives, such nitrate, chlorate and perchlorate based explosives, as, for example, black powder, fireworks, fire crackers, explosive emulsions and ANFO.[7] Figures of merit only of the ions of interest were calculated and displayed in **Table 3**.

There is no standard cut-off value for IC analysis of explosives. For this study, we assumed 0.2 mg/L as cut-off value for all ions, because it corresponded to the highest LOQ observed (NH_4^+). Thus, any ion concentration lower than 0.2 mg/L was not considered.

First, the forensic swabs (FS) and syringe filters (SF) were evaluated. The mean concentration and standard deviation obtained from IC are shown in **Table S1** (cations) and **Table S2** (anions). Regarding FS, negligible values of most of ions were observed. However, Na^+ and Mg^{2+} were detected for FS-1 (4.6 ± 0.6 mg/L and 0.8 ± 0.3 mg/L, respectively) and FS-2 (16 ± 3 mg/L and 1.1 ± 0.5 mg/L, respectively). FS-1 also showed ions such as SO_4^{2-} (6.0 ± 0.8 mg/L), Cl^- (2.0 ± 0.3 mg/L), K^+ (1.4 ± 0.2 mg/L) and Ca^{2+} (0.51 ± 0.09 mg/L). This illustrates the relatively high concentration of target ions found in swabs designed for forensic analysis, especially FS-1. Concerning syringe filters, the samples SF-2 and SF-3 did not present significant concentrations of any ion and were considered as clean material. However, the sample SF-1 presented significant concentrations of Cl^- , Na^+ , and K^+ (4 ± 1 , 1.5 ± 0.8 , and 1.2 ± 0.2 mg/L, respectively), while SF-4 presented only SO_4^{2-} (0.6 ± 0.3 mg/L).

It is important to note that in samples SF-1 (**Figure 2a**) and FS-1 (**Figure 2b**) there were appreciable concentrations of both Cl^- and K^+/Na^+ ; or SO_4^{2-} and K^+/Na^+ . The presence of more than one characteristic ion strongly suggests explosive residues in forensic routine (**Table 1**). Thus, materials which present these combinations are considered inappropriate for sampling or pre-processing since they run the chances of presenting a false positive. In a real situation, it is not difficult to confuse peaks of contaminants with actual residues. This can lead to misinterpretations and/or inconclusive or false positive results.[12] This indicates that the as-purchased samples FS-1, FS-2, SF-1, and SF-4 do not meet the requirements for sampling/pre-processing material. Only after the washing process, these materials become usable for sampling purposes.

Once the presence of interferers was confirmed in all FS and in two SF materials, we evaluated the possibility of cleaning these samples by washing. As observed in **Tables S1** and **S2**, all FS and SF materials suffered reduction of their ion concentration in the washing cycles. In **Figure 2a**, a 3D bar graph shows the ion concentration vs. cleaning (number of washes) of the sample SF1. The figure shows that the ion concentration was drastically reduced after the second wash and became irrelevant after the third one. This trend was also observed for samples FS-2, SF-2, SF-3, and SF-4. Their respective 3D bar graphs are available in **Figures S1**, **S2**, **S3** and **S4**. Sample FS-1 (**Figure 2b**), however, presented a persistent concentration of K^+ , even after four washes, ranging from 1.4 ± 0.2 mg/L after the first wash to 0.5 ± 0.1 mg/L after the fifth.

This sample also presented the ions Na^+ (0.69 ± 0.07 mg/L), SO_4^{2-} (0.6 ± 0.1 mg/L), and Cl^- (0.4 ± 0.2 mg/L) after the second wash. After the third wash, these ion amounts become negligible. So, FS-1 seems not to be appropriate for sampling explosive residues, even after washing. Additionally, **Figures 3** shows images of the washed FS-2 samples after drying, compared to their as-purchased materials. The washing cycles made the FS-2 inappropriate for use due to the loss of shape and compression of the cotton. FS-1 retained its main features but continued to present K^+ .

In routine analysis, it is often necessary to improvise and use ordinary sampling materials, such as cotton swabs or cotton discs. So, some commercial brands of cotton swabs (CS), cotton discs (CD), cotton rolls (CR) and cotton balls (CB) were also analyzed. These materials are commonly available, not expensive and, consequently, used by experts to collect vestiges. However, it is plausible to think that ordinary commercial materials for sampling can also be a secondary source of contamination.

We tested nine ordinary commercial materials for sampling (2 of CS, 2 of CD, 3 of CR, and 2 of CB). Mean concentration and standard deviation obtained for them are available in **Table S1** (cations) and **Table S2** (anions). All samples showed intense peaks of Na^+ , with values ranging from 1.05 ± 0.09 mg/L (CS-2) to 3.7 ± 0.5 mg/L (CS-1). Some samples also showed relevant concentrations of

K^+ : CR-1 (2.3 ± 0.8 mg/L), CR-2 (1.4 ± 0.2 mg/L), CD-2 (1.1 ± 0.1 mg/L), and CB2 (0.5 ± 0.2 mg/L). Significant concentrations of Cl^- and SO_4^{2-} were observed in samples CB-1 (1.01 ± 0.04 and 0.70 ± 0.04 mg/L), CD-1 (0.41 ± 0.04 and 0.43 ± 0.03 mg/L), and CS-1 (0.49 ± 0.04 and 0.36 ± 0.07 mg/L). Special attention was attracted by high relative concentrations of NO_3^- that was founded in samples CR-1 (8 ± 2 mg/L), CR-2 (4.2 ± 0.6 mg/L), CD-2 (3.4 ± 0.4 mg/L), CB-2 (1.5 ± 0.7 mg/L), CB-1 (0.52 ± 0.03 mg/L), and CS-1 (0.34 ± 0.04 mg/L). We observed that almost all samples presented oxidizing ions (such as nitrate, sulfate, etc.) which in combination to ordinary cations, like K^+ or Na^+ , can be confused with postblast residues (**Table 1**). So, the use of these sampling materials as-purchased can induce a misinterpretation, leading to inconclusive or false positive results.

Like FS and SF materials, the commercial materials were submitted to the wash process up to four times. Almost all samples can be considered adequately clean after the second wash. For instance, **Figure 4a** shows the 3D graph bar of the sample CR-1, which presented the highest concentration of NO_3^- , so it was considered free of

interferers after the second wash. The only exception was CS1, which presented Na⁺ traces until the fourth extraction (3.7 ± 0.5 , 0.7 ± 0.2 ,

0.41 ± 0.06 , and 0.30 ± 0.06 mg/L, respectively from 1st to 4th extraction).

Although this is not indicative of explosive residues. In **Figure 4b**, sample CS2 had the lowest concentration of interferers among all sampling materials tested, even those designed for forensic purposes (FS-1 and FS-2). The 3D graph bar of CS-1, CD-1, CD-2, CR-2, CR-3, CB-1, and CB-2 are displayed in

Figures S5, S6, S7, S8, S9, S10, and S11, respectively. Similarly to FS-2, the samples CS-1 and CS-2 lost their shapes or became too compact after several washings, making them inappropriate for sampling (**Figure 4c**). On the other hand, the wash process was suitable for all samples of cotton discs (CD), cotton balls (CB), and cotton rolls (CR), since they did not present significant changes in their structure after the process (**Figure 4d**).

The total concentration of interferers was calculated by the sum the concentration of each ion from the first extraction (**Figure 5**). This made it possible to infer that the most contaminated samples were FS-2 and FS-1. The less contaminated sampling materials were ordinary commercial cotton materials (CS-2, CR-3 and CD-1). Most SFs (except SF-1) appear at the bottom of the list. Considering the total contaminants in all samples tested, the following decreasing sequence could be made: FS-2 > FS-1 > CR-1 > CR-2 > SF-1 > CD-2 > CS-1 > CB-1 > CB-2 > CD-1 > CR-3 > CS-2 > SF-4 > SF-2 > SF-3.

29. Conclusion

This study indicated that many sampling materials present non-negligible levels of interferers ions (> 0.2 mg/L). Only samples SF-2 and SF-3 did not present any significant amount of interferer ion. The two samples designated for forensic purposes (FS-1 and FS-2) showed the highest concentrations of interfering ions. Regarding ordinary commercial materials, all presented at least one interferer ion. On the other hand, one cotton swab, one cotton roll and one cotton disc presented the lowest total

concentration of interferers among the tested materials. Special attention should be given to samples which present both oxidizing ion and ordinary cations (*e.g.* K⁺ or Na⁺), which could be confused with post-blast residues. These results should be carefully addressed by experts in order to avoid inconclusive results or false positives

Most of tested materials became appropriate for use after a washing process. Only the samples FS-1, CS-1, and CS-2 became inappropriate after washing due to lose of shape and compaction. Furthermore, three washing cycles was sufficient to remove interferers from sample materials (except FS-1 and CS-1).

Considering the results, we concluded that sampling and pre-processing material for explosion scene analysis must be carefully evaluated. First, it is highly recommended that sampling materials are analyzed. It is preferred that they are analyzed prior to their use in order to guarantee that only materials free of interferers are used. When is not possible to perform a prior analysis of sampling material, it should be analyzed concomitantly with the samples in order to estimate the presence of interferers. We also recommend washing sampling materials prior to use, whenever it is possible. This would reduce the risk of false positives.

Funding: This work was supported by CAPES (Núcleo de Estudos em Química Forense – NEQUIFOR/PROFORENSES).

Acknowledgments: We thank to National Institute of Criminalistics – Brazilian Federal Police (NIC/BFP) for research collaboration. The English text of this paper has been revised by Sidney Pratt, Canadian, MAT (The Johns Hopkins University), RSAdip - TESL (Cambridge University).

30. References

- [1] R. Borusiewicz, G. Zadora, J. Zieba-Palus, Chemical analysis of post explosion samples obtained as a result of model field experiments, *Talanta*. 116 (2013) 630–636. doi:10.1016/j.talanta.2013.07.050.
- [2] M.S. Beardah, S.P. Doyle, C.E. Hendey, Effectiveness of contamination prevention procedures in a Trace Explosives Laboratory, *Sci. Justice*. 47 (2007) 120–124. doi:10.1016/j.scijus.2006.10.002.

- [3] G.W. Dicoski, R.A. Shellie, P.R. Haddad, Forensic Identification of Inorganic Explosives by Ion Chromatography, *Anal. Lett.* 39 (2006) 639–657. doi:10.1080/00032710600609735.
- [4] F.G.M. Mauricio, A.Z. Pralon, M. Talhavini, M.O. Rodrigues, I.T. Weber, Identification of ANFO: Use of luminescent taggants in post-blast residues, *Forensic Sci. Int.* 275 (2017) 8–13. doi:10.1016/j.forsciint.2017.02.029.
- [5] N. Abdul-Karim, C.S. Blackman, P.P. Gill, E.M.M. Wingstedt, B.A.P. Reif, Post-blast explosive residue – a review of formation and dispersion theories and experimental research, *RSC Adv.* 4 (2014) 54354–54371. doi:10.1039/C4RA04195J.
- [6] M. Du, Analysis of errors in forensic science, *J. Forensic Sci. Med.* 3 (2017) 139. doi:10.4103/jfsm.jfsm_8_17.
- [7] C. Johns, R.A. Shellie, O.G. Potter, J.W. O'Reilly, J.P. Hutchinson, R.M. Guijt, M.C. Breadmore, E.F. Hilder, G.W. Dicoski, P.R. Haddad, Identification of homemade inorganic explosives by ion chromatographic analysis of post-blast residues, *J. Chromatogr. A.* 1182 (2008) 205–214. doi:10.1016/j.chroma.2008.01.014.
- [8] A. Beveridge, *Forensic Investigation of Explosions*, CRC Press, 1998. doi:10.4324/9780203483510.
- [9] L. Barron, E. Gilchrist, Ion chromatography-mass spectrometry: A review of recent technologies and applications in forensic and environmental explosives analysis, *Anal. Chim. Acta.* 806 (2014) 27–54. doi:10.1016/j.aca.2013.10.047.
- [10] G.A. Blanco, Y.H. Nai, E.F. Hilder, R.A. Shellie, G.W. Dicoski, P.R.

Haddad, M.C. Breadmore, Identification of Inorganic Improvised Explosive Devices Using Sequential Injection Capillary Electrophoresis and Contactless Conductivity Detection, *Anal. Chem.* 83 (2011) 9068– 9075. doi:10.1021/ac2020195.

[11] A. Shrivastava, V. Gupta, Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods, *Chronicles Young Sci.* 2 (2011) 21. doi:10.4103/2229-5186.79345.

[12] J. Namieśnik, Trace Analysis — Challenges and Problems, *Crit. Rev. Anal. Chem.* 32 (2002) 271–300. doi:10.1080/10408340290765579.

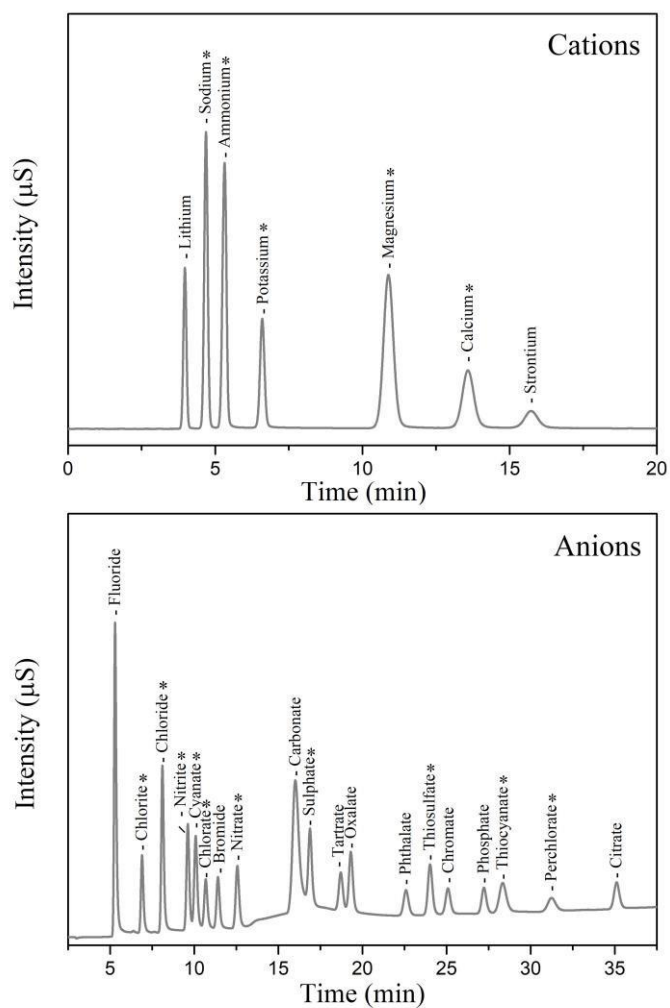


Figure 1. Chromatogram of the cationic (above) and anionic (below) standards at 5 mg/L on the Dionex CS12A and AS19 columns, respectively. (*) ions of interest in post-blast residues analysis is.

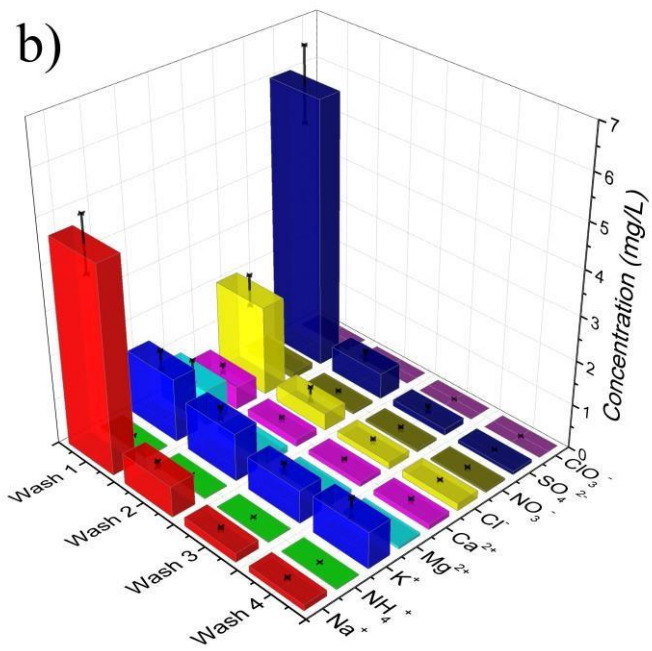
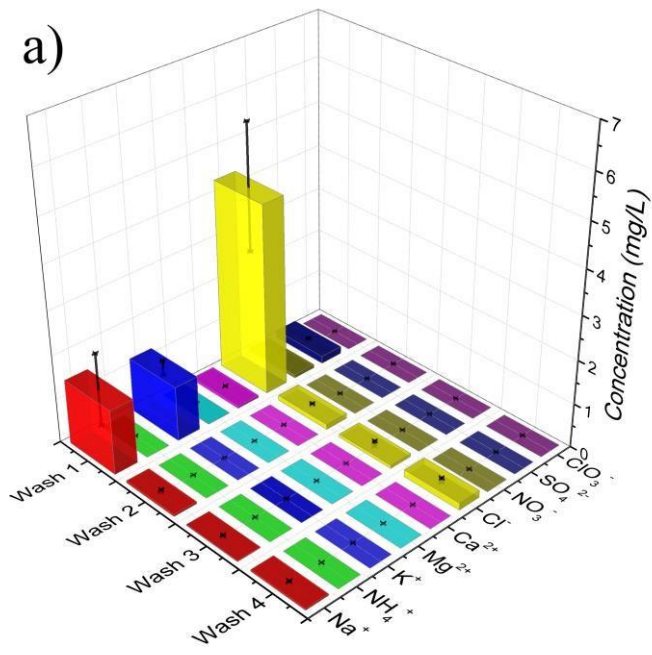


Figure 2. Graph bar of the concentration of interferer ions after several extractions for samples (a) SF-1 and (b) FS-1.

ions after several



Figure 3. Forensic cotton swabs FS -2 before (left) and after (Right) being submitted to the wash process (consisting of five cycles).

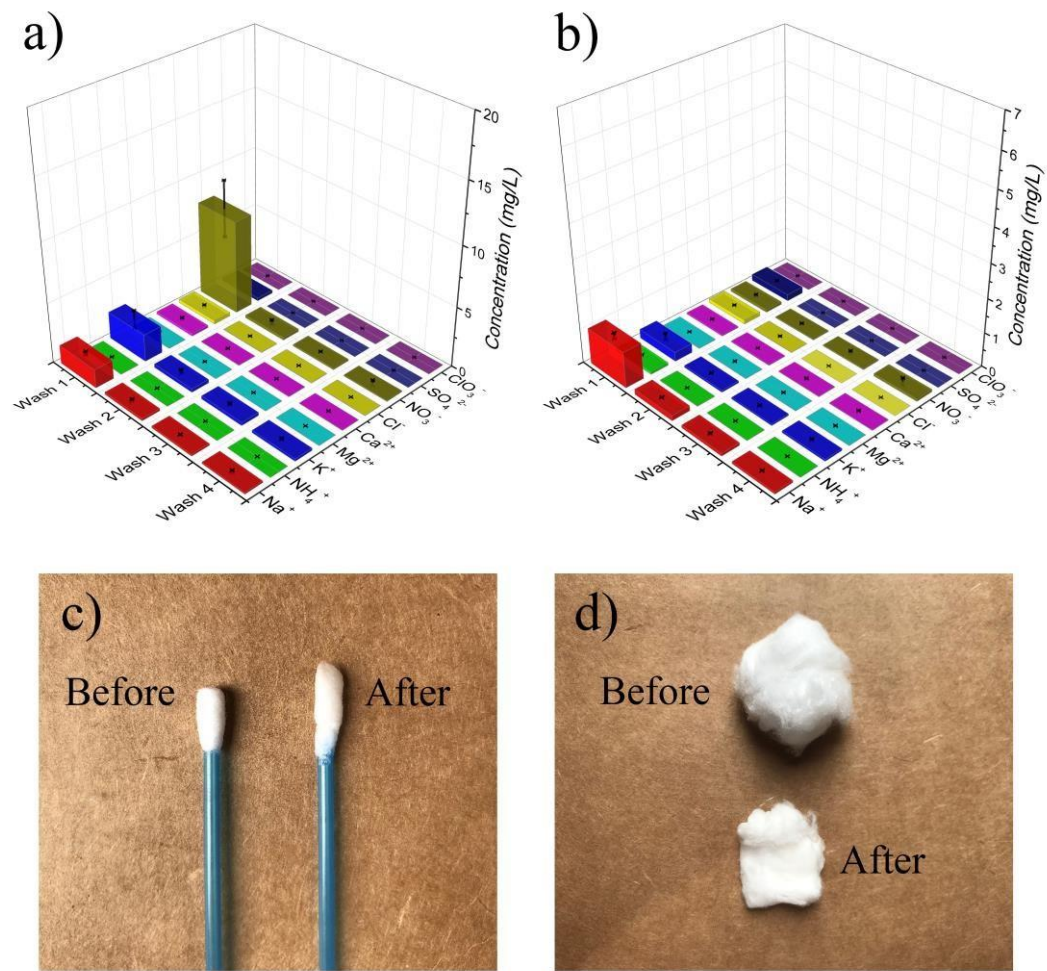


Figure 4. Graph bar of the concentrations of ion interferers after several extractions for samples (a) CR-1 and (b) CS-2. (c) Cotton swabs CS-1 and (d) commercial cotton before and after being submitted to the wash process (consisting of five cycles)

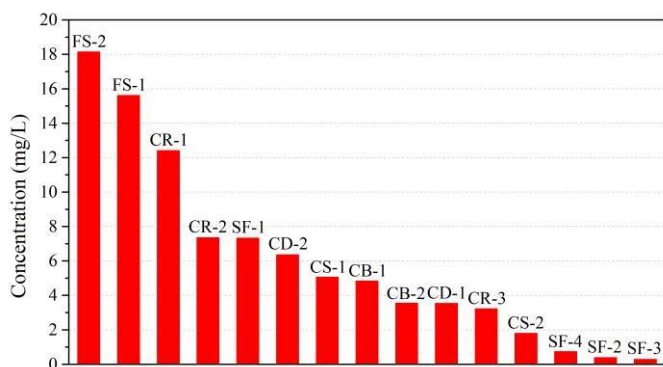


Figure 5 . Total concentration of ions measured for each tested material.

Explosive Type	Composition	Characteristic Anions	Characteristic Cations
ANFO	Ammonium nitrate, Fuel oil	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺

Black Powder	Nitrate Salts, Sulfur, Charcoal	NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , OCN ⁻ , SCN ⁻	Na ⁺ , K ⁺
Flash Powder	Chlorate Salts, Sulfur, Al	ClO ₃ ⁻ , ClO ₄ ⁻ , Cl ⁻ , SO ₄ ²⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , OCN ⁻ , SCN ⁻	Na ⁺ , K ⁺
Chlorate/Sugar	Chlorate Salts, Sugar	ClO ₃ ⁻ , ClO ₄ ⁻ , Cl ⁻	Na ⁺ , K ⁺
Perchlorate/Sugar	Perchlorate Salts, Sugar	ClO ₃ ⁻ , ClO ₄ ⁻ , Cl ⁻	Na ⁺ , K ⁺

Table 1. Typical inorganic explosives and major target analytes in post-blast

residues.[7,8]

Table 2. Relation of materials used in the tests and their respective coding.

Type	Brand	Codin g
Forensic Swab	Agilent [®] (wooden rod)	FS-1
	Zaragatoa [®] (plastic rod)	FS-2
Cotton Swab	York [®] (plastic rod)	CS-1
	Topz [®] (plastic rod)	CS-2
Cotton Disk	Apolo [®]	CD-1
	Topz [®]	CD-2
Cotton Roll	Needs [®]	CR-1
	Cremer [®]	CR-2
	York [®]	CR-3
Cotton Ball	Needs [®]	CB-1
	Cremer [®]	CB-2
Syringe Filters	Whatman [®]	SF-1
	Agilent [®]	SF-2
	Millipore [®]	SF-3
	Analítica [®]	SF-4

Table 3. Figures of merit from anion and cation of interest standard samples.

Analyte	Retention Time (n = 6)		Peak Area	Resolution	LOD (mg/L)	LOQ
	Mean	%RSD				
Anions						
Cl ⁻	7.851	0.06	4.4867	5.02	0.0129	0.0392
ClO ₂ ⁻	6.734	0.06	1.8202	2.81	0.0264	0.0801
ClO ₃ ⁻	10.240	0.07	1.4764	2.05	0.0262	0.0794
ClO ₄ ⁻	29.204	0.06	1.3852	5.89	0.0243	0.0736
NO ₂ ⁻	9.279	0.06	2.5246	1.35	0.0186	0.0563
NO ₃ ⁻	11.986	0.07	2.4037	7.28	0.0103	0.0312
SO ₄ ⁻	16.161	0.06	3.0612	4.26	0.0268	0.0813
S ₂ O ₃ ²⁻	22.679	0.06	2.3811	2.02	0.0293	0.0887
CN ⁻	9.723	0.06	1.6299	1.55	0.0365	0.1105
SCN ⁻	26.597	0.06	1.9093	3.32	0.0180	0.0545
Cations						
Na ⁺	4.711	0.08	3.5523	2.27	0.0124	0.0375
NH ₄ ⁺	5.373	0.08	1.9165	3.84	0.0697	0.2113
K ⁺	6.626	0.06	2.0909	2.64	0.0423	0.1281
Mg ²⁺	10.849	0.04	6.2244	3.65	0.0257	0.0777
Ca ²⁺	13.559	0.03	4.3559	2.59	0.0337	0.1020

n = number of replicates.