

**Universidade Federal Minas Gerais**  
**Instituto de Ciências Exatas**  
**Departamento de Química**

**Adriana Rocio Vargas Prieto**

**Avaliação de Acelerantes de Incêndio Empregando Espectrometria de  
Massas com Ionização *Paper-Spray* e Ferramentas Quimiométricas**

**Belo Horizonte**  
**2017**

**UFMG/ICEx/DQ. 1.187<sup>a</sup>**

**D. 650<sup>a</sup>**

**Adriana Rocio Vargas Prieto**

**Avaliação de Acelerantes de Incêndio Empregando Espectrometria de  
Massas com Ionização *Paper-Spray* e Ferramentas Quimiométricas**

Dissertação apresentada ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Química – Química Analítica.

**Belo Horizonte**

**2017**

V297a Vargas Prieto, Adriana Rocio  
2017 Avaliação de acelerantes de incêndio empregando  
D espectrometria de massas com ionização paper-spray e  
ferramentas quimiométricas [manuscrito] / Adriana  
Rocio Vargas Prieto. 2017.  
79 f. : il.

Orientadora: Clésia Cristina Nascentes.  
Coorientadora: Letícia Malta Costa.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de  
Minas Gerais - Departamento de Química.  
Inclui bibliografia.

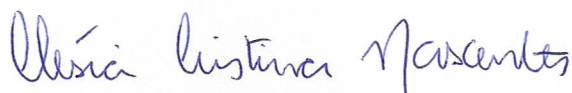
1. Química analítica - Teses 2 Química legal -  
Teses 3. Espectrometria de massa - Teses 4.  
Cromatografia de gás - Teses 5. Incêndios - Teses 6.  
Incêndio culposo - Teses I. Nascentes, Clésia  
Cristina, Orientadora II. Costa, Letícia Malta,  
Coorientadora III. Título.

CDU 043

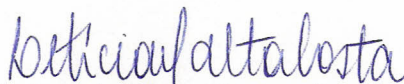
**"Avaliação de Acelerantes de Incêndio Empregando Espectrometria de Massas com Ionização *Paper-Spray* e Ferramentas Quimiométricas"**

**Adriana Rocio Vargas Prieto**

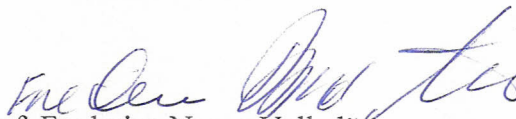
Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:



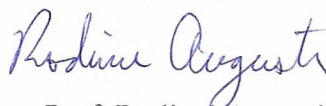
Profa. Clésia Cristina Nascentes - Orientadora  
UFMG



Profa. Leticia Malta Costa - Coorientadora  
UFMG



Prof. Frederico Nunes Valladão  
Inst. Criminalística da Polícia Civil-MG



Prof. Rodinei Augusti  
UFMG

Belo Horizonte, 20 de janeiro de 2017.

***Com muito amor dedico:  
aos meus pais Ricardo e Yolanda e aos  
meus irmãos Ricardo, Mauricio e Luis.***

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à Deus por seus cuidados, amor e presença em todos os momentos difíceis e de solidão, longe da minha família e do meu país. Ele foi a minha fortaleza e meu guia todo o tempo.

Aos meus pais, irmãos, cunhadas e sobrinhos pelo apoio, amor, compreensão, ajuda e, sobretudo, porque não me deixaram fraquejar, os amo com todo meu coração, pois foram minha fonte de inspiração e perseverança. À minha tia Sandra e à minha prima Jeannette que tiveram a vontade sempre de ligar ou enviar mensagens de força para mim.

Ao meus amigos Paulo Victor Nascimento Martins e Sebastian David Peña pelo apoio, carinho e por guiar meu caminhar por este belo país. À minha grande amiga Deissy Quijano que me escutou diversas vezes minhas dificuldades e também meus triunfos. Nunca deixou de me ligar e de cuidar de mim.

Às professoras, Clésia Nascentes e Leticia Malta por todo o seu apoio, pela confiança e contribuição neste trabalho para que eu pudesse conseguir um bom resultado tanto profissional como pessoal.

Aos meus professores das disciplinas Ângelo Fátima, Maria Helena Araujo, Marcelo Martins de Sena, Rodinei Augusti, Adriana Ferreira Faria, Guilherme Dias Rodrigues, Dayse Carvalho da Silva Martins. Os melhores professores que eu poderia ter, vocês são excelentes!

Aos meus colegas do laboratório e de Química Analítica: Edinilton, Roberta, Mariana, Luisa, Gabrielle, Adão, Cassiano, Marina, Camila, Herbert, Leandro, Henrique e Natalia vocês são os melhores, vou ter saudade de vocês. Foi um prazer conhece-los e trabalhar com vocês. À Victoria, eu te agradeço demais, você deu um impulso muito grande a minha dissertação, você é uma mulher sensacional. Deus os abençoe sempre.

Aos funcionários de Química da Polícia Civil de Minas Gerais por emprestar os equipamentos e por toda sua colaboração para finalizar esse trabalho.

Aos meus amigos e companheiros do departamento de química da UFMG: Carlos, Nahum, Shirley, Eduard e Norma. Aprendemos muitas coisas juntos. Obrigada por ser parte desta espetacular experiência em minha vida. Levarei todos vocês em meu coração.

À Organização dos Estados Americanos (OEA), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a todo o DQ/UFMG pós-graduação, especialmente para todos os funcionários da secretaria do DQ-pós-graduação por tão maravilhosa oportunidade, atenção, disposição e colaboração em tudo.

A todos vocês meus mais sinceros agradecimentos, essa conquista não somente minha, ela também é de vocês, pois fizeram parte dela.

*“Muitas são, Senhor meu Deus, as maravilhas que tens operado para conosco, e os teus pensamentos não se podem contar diante de ti; se eu os quisera anunciar, e deles falar, são mais do que se podem contar” Salmos 40:5*

# RESUMO

As perícias de incêndios são muito complexas, devido à destruição de evidências pelo fogo. Essas perícias têm como objetivo classificar o incêndio em acidental ou intencional. Assim, determinar a presença de um solvente orgânico nos vestígios de incêndio permite gerar uma hipótese de que aquele incêndio foi intencional ou não. No decorrer dos anos, as análises de resíduos de incêndio (ARI) têm sido ampliadas pelos diferentes avanços na tecnologia pelo desenvolvimento da ciência, a qual evoluiu no mesmo tempo com as ciências forenses. No caso dos incêndios, a técnica mais utilizada é a cromatografia gasosa acoplada com espectrometria de massas, no entanto, encontrando ainda uma quantidade de variáveis dificilmente controláveis, que vão desde localizar os vestígios, coletar e armazenar as amostra em tempo adequado, preparar a amostra, empregar uma técnica analítica sensível e interpretar os resultados para diferenciar os tipos de líquido combustível utilizado para provocar o incêndio. Portanto, as pesquisas em incêndios são complexas e envolvem muitas variáveis, necessitando ainda de muito desenvolvimento na área.

Deste modo, nesse trabalho foi utilizada uma nova técnica analítica desenvolvida na última década conhecida como espectrometria de massas com ionização *Paper Spray* (PS-MS), visando ampliar a aplicabilidade desta técnica nas análises de resíduos de incêndio de amostras de gasolina, óleo diesel e querosene, combinando as vantagens das ferramentas quimiométricas como classificações não supervisionadas (Análises de componentes principais-PCA) e supervisionadas (Análise discriminante por mínimos quadrados parciais-PLS-DA). Foram avaliadas três formas para análise dos combustíveis: amostras líquidas dos combustíveis, amostras evaporadas e as obtidas por meio de uma simulação de incêndio. Observaram-se nos espectros de massas da gasolina íons  $[M+H]^+$ , consistentes com íons de moléculas nitrogenadas. Os espectros de massas obtidos das amostras foram complexos devido ao grande número de componentes e sua natureza em cada um dos líquidos

combustíveis analisados. Na quimiometria foram utilizadas 49 amostras entre líquidas, evaporadas e simulações de incêndios em três diferentes materiais (concreto, madeira e solo). O modelo classificatório selecionado foi o modelo supervisionado PLS2-DA. Para validar a metodologia aplicada no preparo das amostras e na técnica analítica utilizada, foram calculadas as figuras de mérito (FOM), as quais permitiram estabelecer taxas de sensibilidade e seletividade acima de 85%. A técnica e a metodologia de extração das moléculas voláteis residuais nos vestígios de incêndio apresentou grande potencial como alternativa de baixo custo nos laboratórios forenses, no entanto, este é um trabalho inovador e mais estudos precisam ser realizados.

**Palavras Chave:** Incêndios, espectrometria de massas, Paper Spray, análises de resíduos de incêndio, química forense, quimiometria.

# **ABSTRACT**

The forensic analysis of fires is very complex since the evidences are destroyed by the fire itself. The analysis is intended to classify fires as accidental or intentional. The development of modern technology allows one to use physics and chemistry in this difficult task. Thus, the determination of the presence of an organic solvent in the fire residues allows the formulation of a hypothesis about the nature of the fire (accidental or arson). Historically the basis of this analysis has been the determination of the presence or absence of an ignitable liquid in the fire debris. Throughout the years the analysis of ignitable liquids (IL) in fire debris has changed as the technology and as the forensic sciences advances. The most used technique now a days is gas chromatography coupled to mass spectrometry. This technique is related to a serious of variables that are difficult to control: Finding debris fire keys, collecting and storing the samples in a timely manner, preparing the sample, employ a sensitive analytical technique and interpret the results to differentiate the types of ignition liquid used to cause the fire. Therefore, fire research is complex and involves many variables, requiring a lot of development in the area.

In this work, a new analytical technique developed in the last decade known as Paper Spray Ionization Mass Spectrometry (PS-MS) was used, aiming to find applicability of this technique in the analysis of fire residues combining the advantages of the chemometric tools as unsupervised classifications (Principal Component Analysis-PCA) and supervised (Partial least squares discriminant analysis-PLS-DA). Thus, in this work, three forms were evaluated for fuels analysis: liquid samples, evaporated and those obtained by means of a fire simulation. Mass spectra of gasoline were obtained ions  $[M + H]^+$  consistent with ions of nitrogenated molecules. The mass spectra obtained from the samples were complex due to the large number of components and their nature in each of the analyzed ignition liquids. In the chemometry, 49 samples were taken between liquid, evaporated and fire simulations in three materials (concrete, wood and soil). The classification

model selected was the supervised model PLS2-DA. To validate the methodology applied in the preparation of the samples and the analytical technique, figures of merit (FOM) were calculated, which allowed to establish as sensitivity and selectivity rate above 85%. The technique and methodology for the extraction of the residual volatile molecules in the traces of fire presented great potential as a low cost alternative in forensic laboratories, however, this is an innovative work and more studies need to be carried out.

**Keywords:** Fires, mass spectrometry, Paper Spray, fire residue analysis, forensic chemistry, chemometrics

# LISTA DE ABREVIATURAS

ACO	Acordância
APCI	Ionização Química a pressão atmosférica ( <i>Atmospheric-pressure chemical ionization</i> )
ARI	Análise de Resíduos de Incêndio
CI	Ionização Química ( <i>Chemical Ionization</i> )
CONC	Concordância
CP	Componente Principal
DART	Análises Direita em Tempo Real ( <i>Direct Analysis Real Time</i> )
DESI	Ionização por desorção electrospray ( <i>Desortion Electrospray Ionization</i> )
EI	Impacto Eletrônico ( <i>Electron Ionization</i> )
FAB	Bombardeamento por átomos rápidos
FAME	Ésteres metílicos de ácidos graxos ( <i>Fatty Acid Methyl Ester</i> )
FOM	Figuras de Merito ( <i>Figure of Merit</i> )
iPLS	Mínimos quadrados Parciais em intervalos ( <i>Partial Least Squares</i> )
MALDI	Ionização por Dessorção a Laser Assistido por Matriz
MIR	Infravermelho Médio ( <i>Mean Infrared</i> )
MS	Espectrometria de massas ( <i>Mass Spectrometry</i> )
NAS	Vetor Sinal Analítico Líquido
NFPA	National Fire Protection Association
NIR	Infravermelho Próximo ( <i>Near Infrared</i> )
NVL	Número de Variáveis Latentes
OPS	Método de seleção dos preditores ordenados ( <i>Orderd Predictor Selection</i> )
PSI ou OS	Ionização Paper Spray ( <i>Paper Spray Ionization</i> )
PCA	Análise de componentes principais ( <i>Principal Component Analysis</i> )

PLS-DA	Análise discriminante por mínimos quadrados parciais ( <i>Partial Least Squares Discriminant Analysis</i> )
R <sub>CV</sub>	Coeficiente de correlação da validação cruzada ( <i>Cross Validation Correlation</i> )
RMSECV	Raiz quadrada do erro quadrático médio da validação cruzada ( <i>Root Mean Square Error of Cross Validation</i> )
SIMS	Espectrometria de massas com Ionização Secundária ( <i>Secondary Ion Mass Spectrometry</i> )
siPLS	Mínimos quadrados parciais em intervalos sinérgicos ( <i>Synergic Operating Characteristic Curve</i> )
SPME	Microextração em fase sólida ( <i>Solid Phase Microextraction</i> )
TFN	Taxa de falsos negativos
TFP	Taxa de falsos positivos
VIP	Vetor importância da variável na projeção ( <i>Variable Importance in Projection Vector</i> )

# SÚMARIO

<b>CAPITULO 1</b> .....	<b>1</b>
<b>INTRODUÇÃO E OBJETIVOS</b> .....	<b>1</b>
1.1 Introdução.....	2
1.2 Objetivos .....	4
<b>CAPITULO 2</b> .....	<b>6</b>
<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>6</b>
2.1 Análises de Resíduos de Incêndio .....	7
2.1.1 Química e Física do Fogo .....	9
2.1.2 Substâncias derivadas do Petróleo .....	12
2.2 Espectrometria de massas .....	16
2.2.1 Métodos de Ionização.....	18
2.2.2 Analisador de massas.....	22
2.2.3 Detector .....	23
2.2.4 Impressão digital química .....	23
2.3 Quimiometria .....	24
2.1.1 Análises de Componentes Principais (PCA) .....	25
2.1.2 Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais PLS-DA ...	27
<b>CAPITULO 3</b> .....	<b>32</b>
<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>32</b>
3.1 Reagentes, materiais e soluções .....	33
3.2 Instrumentação .....	33
3.3 Preparo das amostras .....	35
3.3.1 Amostras Líquidas .....	36
3.3.2. Amostras evaporadas .....	36

3.3.3 Amostras simuladas.....	37
3.4 Procedimentos das análises .....	39
3.4.1 Otimização das condições operacionais .....	39
3.4.2 Análise das amostras.....	39
3.5 Tratamento de dados por métodos quimiométricos .....	40
<b>CAPITULO 4.....</b>	<b>42</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>42</b>
4.1. Otimização das condições experimentais .....	43
4.2 Resultados do tratamento de dados por quimiometria. ....	54
4.2.1 Análise de componentes principais (PCA) .....	54
4.2.2 Análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS2-DA). 58	
<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>65</b>
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>67</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>72</b>
Anexo I .....	73
Anexo II .....	76

# LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Triângulo do Fogo.....	10
Figura 2 Tetraedro de fogo .....	11
Figura 3 Temperaturas de obtenção dos derivados do petróleo .....	13
Figura 4 Principais componentes de um espectrômetro de massas.....	17
Figura 5 Representação esquemática da ionização eletrospray (ESI) ..	20
Figura 6 Diagrama da montagem de Ionização Paper Spray .....	21
Figura 7 Representação gráfica da matriz X.....	26
Figura 8 Descrição do funcionamento do método de seleção de variáveis OPS (21).....	29
Figura 9 Espectrômetro de massas Thermo LCQ Fleet (UFMG).....	34
Figura 10 Montagem Paper Spray (Equipamento UFMG).....	34
Figura 11 Diagrama dos tipos de preparo de amostras para analisar por PS-MS .....	35
Figura 12 (a) Diagrama do triangulo e o clip, (b) Forma de colocar a amostra líquida ou solvente .....	36
Figura 13 Preparo de amostras evaporadas.....	37
Figura 14 Montagem para extração da amostra de líquido combustível (gasolina) residual em material concreto. ....	38
Figura 15 Representação gráfica de uma codificação usada para as três classes de combustíveis .....	41
Figura 16 PS(+)-MS. Modo <i>full scan</i> . Faixa de massas: 80-100 <i>m/z</i> . Amostra: gasolina líquida. Solvente de Ionização: A) metanol, B) acetonitrila. Temperatura do capilar: 350° C; Voltagem no <i>Paper Spray</i> : 4,0 kV.....	44
Figura 17 PS(+)-MS. Modo <i>full scan</i> . Faixa de massas: 80-100 <i>m/z</i> . Voltagem no <i>Paper Spray</i> : 4,0 kV. Amostra: gasolina líquida. Solvente de Ionização: adição de 0,1 % de ácido fórmico a A) metanol, B) acetonitrila e C) acetonitrila.....	45
Figura 18 PS(+)-MS. Modo <i>full scan</i> . Faixa de massas: 80-100 <i>m/z</i> . Voltagem no <i>Paper Spray</i> : 4,0 kV. Amostra: diesel líquido. Solvente de	

Ionização: adição de 0,1 % de ácido fórmico a A) acetoneitrila, B) metanol e C) metanol. ....	48
Figura 19 PS(+)-MS. Modo full scan. Faixa de massas: 80-100 <i>m/z</i> . Parâmetros otimizados. Amostras líquidas A) gasolina, B) diesel e C) querosene.....	50
Figura 20 ESI(+)-MS (esquerda) e PS(+)-MS (direita). Amostra de diesel líquido .....	52
Figura 21 ESI(+)-MS (esquerda) e PS(+)-MS (direita). Amostra de gasolina líquida.....	52
Figura 22 ESI(+)-MS (esquerda) e PS(+)-MS (direita). Amostra de querosene líquido .....	52
Figura 23 Alguns espectros de massas de amostras evaporadas A) diesel, B) gasolina e C) querosene.....	53
Figura 24 Escores PCA. a) Escores PC1 vs. PC2. b) Escores PC1 vs. PC2.....	55
Figura 25 Determinação de amostras anómalas: Valores de Hotelling $T^2$ vs. Resíduos Q das amostras.....	56
Figura 26 Pesos (loadings) das componentes principais do modelo PCA. a) PC1, b) PC2 e c) PC3.....	57
Figura 27 PLS2-DA Valores previstos. a) Diesel b) Gasolina e c) Querosene .....	59
Figura 28 VIP escores do modelo PLS2-DA. a) Diesel, b) Gasolina e c) Querosene .....	61

# ***LISTA DE TABELAS***

Tabela 1 Íons presentes na maioria dos líquidos combustíveis e inflamáveis-ASTM E1618:2014 .....	14
Tabela 2 Classificação do líquidos combustíveis pelo guia ASTM E1618:14 .....	15
Tabela 3 Configuração da tabela de contingência adaptada de Trullols et.al.(31, 32).....	30
Tabela 4 Experimentos realizados com amostras simuladas. ....	38
Tabela 5 Íons reportados na literatura (35, 37).....	46
Tabela 6 Estruturas moleculares detectadas e reportadas na literatura	47
Tabela 7 Parâmetros otimizados para a ionização por PS(+)-MS. ....	49
Tabela 8 Figuras de Mérito para métodos de análise qualitativos. ....	62
Tabela 9 Comparação entre a o Modelo original do diesel e o modelo com seleção de variáveis OPS .....	64

***CAPITULO 1***  
***INTRODUÇÃO E OBJETIVOS***

## 1.1 Introdução

A *química analítica* é conhecida como uma das áreas da Química responsável pela caracterização da matéria. Os métodos analíticos qualitativos informam sobre a identidade das espécies atômicas e moleculares da amostra ou dos grupos funcionais que fazem parte dela; além disso, existem métodos analíticos quantitativos que aportam informação sobre a quantidade de um ou vários componentes da amostra. O desenvolvimento destes métodos de análise são aplicáveis a diferentes campos como a medicina, indústria, arqueologia, ciências forenses, entre outros (1).

As ciências forenses por mais de 70 anos tem sido apoiadas pela Química com o desenvolvimento de novas técnicas analíticas, auxiliando a criminalística moderna esclarecer crimes (2). Neste contexto, os avanços científicos surgem constantemente e são fundamentais para atender as demandas da área forense.

Na área forense, o interesse dos cientistas na área forense, em casos que envolvem incêndios tem aumentado e isso tem provocado o aperfeiçoamento dos métodos para determinar as substâncias ou materiais (normalmente líquidos combustíveis residuais), que permitam ao investigador criminal concluir se os incêndios são ou não acidentais com a melhor veracidade possível.

Em 2015, a CTS (Collaborative Testing Services, Inc. Serving Forensic Laboratories Worldwide) divulgou que aproximadamente 309 laboratórios químicos participaram de testes de proficiência (realizado anualmente) relacionados à resíduos de líquidos combustíveis em incêndios. Eles reportaram que todos os participantes utilizaram como técnica instrumental a cromatografia gasosa. A maioria dos laboratórios participantes usou como detector o espectrômetro de massas (MS), embora tenham relatado também a utilização do detector por ionização de chama (FID), ou de ambas as técnicas. No entanto, além da técnica para identificar o líquido combustível (Ignition Liquid-IL), também é importante ter um procedimento adequado para a extração dos voláteis. Nesta etapa, a maioria dos laboratórios utilizou carvão

ativado e a minoria SPME (microextração em fase sólida) para o processo de extração de voláteis da amostra.

Neste trabalho, apresenta-se outra alternativa para análise dos vestígios de um incêndio empregando a técnica espectrometria de massas com o método de ionização conhecido como *Paper Spray*, que tem potencial para analisar misturas complexas, gerando informação sobre massas moleculares e estruturas químicas dos analitos ou, em outros casos gerando uma impressão digital (*fingerprint*). Do ponto de vista forense, é importante identificar o líquido combustível usado para gerar um incêndio. A detecção de alguns dos líquidos combustíveis nos vestígios de incêndio, indicaria que este poderia ter sido provocado, e catalogar-se como um ato criminoso.

A análise dos vestígios de incêndio tem muitas variáveis que dificultam a interpretação dos resultados e podem levar à conclusão de falsos positivos ou falsos negativos. Os falsos positivos podem ocorrer devido à quantidade de componentes de interferência que pode apresentar o material coletado para a análise no laboratório. Esses interferentes, também os chamados “produtos de pirólise”, são produzidos quando um material sólido é exposto a altas temperaturas. Estes podem dificultar a interpretação dos espectros prejudicando a determinação da presença de um líquido combustível. As habilidades e conhecimentos da química analítica são de vital importância para a interpretação dos espectros e dos resultados obtidos. Além disso, algumas ferramentas quimiométricas podem ser úteis na avaliação mais criteriosa desse conjunto de dados obtidos dos espectros de massas.

O mais importante numa investigação de incêndios é o trabalho de campo onde o perito deve coletar todos os vestígios, considerando as diferentes hipóteses para o fato ocorrido. A partir da coleta e análise destas amostras (vestígios) pode-se inferir se o incêndio foi intencional ou acidental. Mas neste trabalho, o foco será somente a determinação qualitativa dos líquidos combustíveis residuais presentes nos vestígios de incêndio.

Concluir em uma investigação se um incêndio foi intencional (criminoso) é função exclusiva do operador de direto, baseado nas evidências encontradas

e análises realizadas. Portanto, o perito deve avaliar, por meio de métodos de análise confiáveis, se os vestígios entregues ao laboratório tem resíduos de algum líquido combustível. Assim, neste trabalho será apresentada uma alternativa de análise para detectar a presença de líquidos combustíveis nos vestígios de incêndios.

Este trabalho propõe novas estratégias para a análise de materiais pós incêndio por uma técnica rápida e potencialmente sensível para baixas concentrações. O emprego da quimiometria permite saber se é possível diferenciar os tipos de líquidos combustíveis mais comumente usados para provocar incêndios com intenção criminosa, que são tipificados sob o código penal brasileiro, no título VIII “Dos Crimes Contra a Incolunidade Pública”, Artigo 250: “Causar incêndio, expondo a perigo a vida, a integridade física ou o patrimônio de outrem: Pena - reclusão, de 3 (três) a 6 (seis) anos, e multa. Além disso, dependendo das circunstâncias do incêndio criminoso, a pena pode ser aumentada. Se o incêndio for culposo a pena é de detenção, de 6 (seis) meses a 2 (dois) anos”.

## **1.2 Objetivos**

### Objetivo Geral

Desenvolver um método para identificação de líquidos combustíveis residuais empregando a técnica espectrometria de massas com ionização *Paper Spray* (PS-MS) e ferramentas quimiométricas

Os objetivos específicos são:

1. Otimizar as condições para extração dos componentes da gasolina, querosene e diesel utilizados como acelerantes em incêndios criminosos.
2. Otimizar as condições instrumentais para análise das amostras de combustíveis encontrados em resíduos de incêndios.

3. Determinar as impressões digitais (*fingerprint*) dos combustíveis em estado líquido, evaporado e em simulações de incêndios
4. Aplicar ferramentas quimiométricas para a interpretação dos dados.

***CAPITULO 2***  
***REVISÃO BIBLIOGRÁFICA***

## 2.1 Análises de Resíduos de Incêndio

As análises de resíduos de incêndio (ARI) permitem detectar e/ou identificar líquidos combustíveis residuais nas amostras coletadas em local de incêndio. Stauffer et al. (2008), reporta que a análise de resíduos de incêndio é baseada na ciência objetiva pelo uso de técnicas analíticas gerando algum tipo de resultado e uma avaliação subjetiva pela interpretação destes resultados (2).

A necessidade deste tipo da análise surge por imposição legal e social, pois as causas de um incêndio devem ser conhecidas para determinar responsabilidades e/ou estabelecer indenizações (3).

Os incêndios podem ser naturais ou artificiais. Diz-se que os incêndios naturais são aqueles que não têm intervenção humana direta ou indiretamente; estes podem ocorrer por fatos da natureza e podem ser de origem física, biológica ou físico-química. Os incêndios artificiais não tem origem da natureza e estes podem ser de caráter acidental ou intencional com intervenção direta ou indireta do homem (3).

Os incêndios intencionais estão tipificados na legislação brasileira, e em concordância com a legislação de outros países como Estados Unidos, Colômbia, entre outros.

Uma das substâncias mais utilizadas para provocar os incêndios é a gasolina por seu baixo preço, fácil aquisição, fácil transporte e fácil ignição. Outros solventes de fácil acesso como querosene e diesel também são utilizados. Portanto, este trabalho está focado na avaliação das três substâncias mais utilizadas e de mais fácil aquisição para produzir incêndios intencionais: gasolina, querosene e diesel.

Neste contexto é importante conhecer a terminologia utilizada para este tipo de análise que acompanha a legislação judicial dos países nomeados anteriormente.

Segundo o guia NFPA (*National Fire Protection Association*) 921, uma substância acelerante é um combustível ou oxidante, normalmente em estado

líquido usado para iniciar o fogo ou acrescentar a velocidade de propagação ou intensidade do incêndio. Nos fatos de ordem criminosa, o acelerante é a substância utilizada para gerar um incêndio. Portanto, nem todo líquido combustível encontrado num incêndio é acelerante, e nem todo acelerante usado para provocar um incêndio é líquido, por exemplo, o papel pode ser usado como acelerante, se é usado para causar um incêndio. Nestes casos, o trabalho do perito é identificar o líquido combustível residual nos vestígios coletados no local do incêndio (2).

No livro de Stauffer et al., (2008), intitulado “*Debris Fire Analysis*” tem-se uma excelente descrição da história e evolução das ARI. Seu início com o uso de migalhas de pão fresco (~1910), o uso do olfato (~1950), o uso da cromatografia (~1960) e atualmente o uso da espectrometria de massas; descrevendo como foi se tornando uma análise complexa devido ao desenvolvimento de materiais de construção e demais utensílios de casa feitos com polímeros modernos derivados do petróleo, que obviamente contêm componentes orgânicos voláteis.

Existem relatos de identificação de líquidos combustíveis em resíduos de incêndio desde 1911, no livro de H. Rethoret em 1945, que descreve a detecção destes por meio de migalhas de pão fresco que eram saboreados pelos investigadores. Pouco tempo depois empregaram o armazenamento dos vestígios em frascos de vidros tampados hermeticamente os quais eram logo destampados e por meio do odor determinavam o tipo de combustível usado. Nos anos 60 o uso da cromatografia permitiu um avanço significativo nestas análises. No entanto, estas foram-se tornando mais complexas devido ao fato do consumo de derivados do petróleo. A extração dos traços de combustível por destilação era muito demorada e complexa e assim surgiu a extração por meio de carvão ativado de modo “*headspace*” e posteriormente retirando os hidrocarbonetos do carvão por meio de solventes orgânicos como dissulfeto de carbono, dietileter ou pentano. Finalizando a década de 90 o uso de fibras de polimetilsiloxano (PDMS) como método de microextração em fase sólida permitiu um aumento na sensibilidade da análise, mas apresentou várias desvantagens como seu alto custo e frequente contaminação por compostos que não são de interesse. Portanto, a maioria dos laboratórios forenses

retornam ao uso de fitas de carvão ativado com posterior extração por solventes antes nomeados e que são altamente tóxicos (2).

Para melhor compreender as análises de resíduos de incêndio é necessário conhecer alguns aspectos da química e física do fogo e dos destilados do petróleo.

### 2.1.1 Química e Física do Fogo

O fogo é um processo químico complexo e é necessário entender os princípios químicos e físicos básicos que ocorrem. O fogo pode ser entendido como o resultado de uma reação química exotérmica autossustentada, envolvendo combustíveis sólidos, líquidos e gasosos, comumente associados a oxidação desses combustíveis pelo oxigênio atmosférico, acompanhada da emissão de energia na forma de calor (3). O guia NFPA 921 define o fogo como um processo de oxidação rápida, a qual representa uma reação química (combustão) que tem como resultando a evolução da luz ou calor variando suas intensidades. Nestes termos o fogo é a resultante visível de uma reação química de combustão (3). Os incêndios definem-se como o processo de propagação do fogo.

Aragão et al. (2010), descrevem a combustão como rápidas reações químicas de oxirredução que ocorrem entre o combustível e o comburente, com liberação de calor, sob certas condições de pressão e temperatura (3).

Existem vários modelos que descrevem o processo de combustão, mas duas teorias tem sido as mais aceita pela comunidade forense. Uma delas é a teoria chamada triangulo de fogo que consiste na interação complexa entre um combustível, comburente ou oxidante ( $O_2$ ) e energia térmica ou fonte de calor (2).

O triângulo representa os três elementos básicos do fogo, o que significa que o fogo não pode ocorrer sem a presença destes.

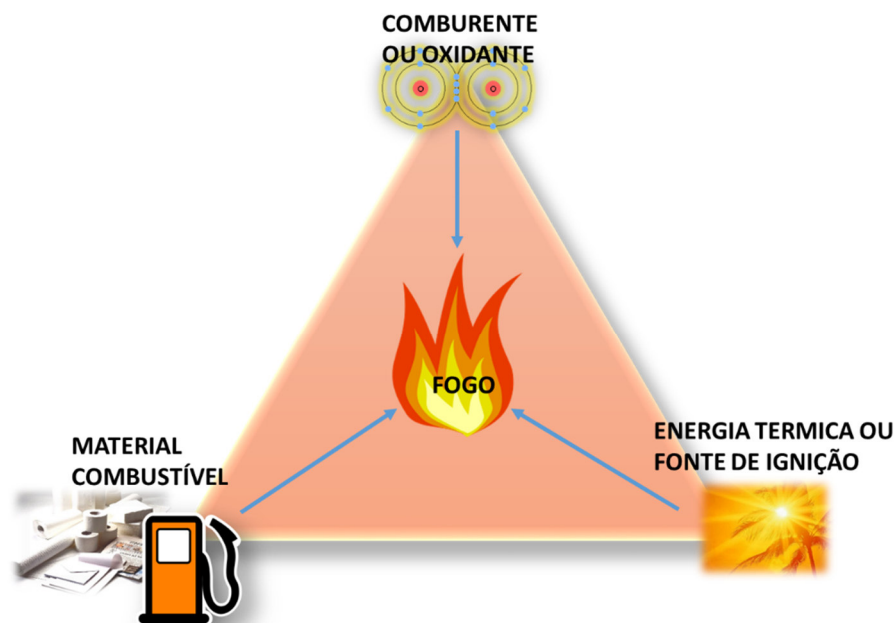


Figura 1 Triângulo do Fogo

A partir da Figura 1, define-se:

**Material Combustível:** é um material que pode manter a combustão sob condições ambientais específicas (guia NFPA 921). Os combustíveis podem ser gasosos, sólidos ou líquidos. Podem ser orgânicos ou inorgânicos. Simples ou complexos como misturas (2).

**Oxidantes:** o oxidante mais comum é o oxigênio ( $O_2$ ) presente no ar e normalmente atua como oxidante nos incêndios. Existem outros oxidantes como os halogênios que são menos usados (2).

**Energia térmica ou fonte de ignição:** é a energia suficiente e adequada para completar o triângulo do fogo.

A outra teoria aceita sobre o fogo é conhecida como o tetraedro do fogo. A diferença consiste em um quarto elemento adicional aos três do triângulo do fogo. O quarto elemento é a reação em cadeia e pode-se ser observado na figura 2. A reação em cadeia fornece o calor necessário para manter o fogo (Guia NFPA 921).

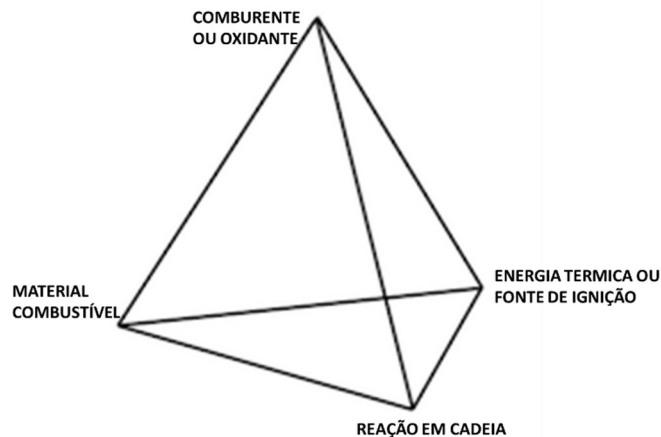
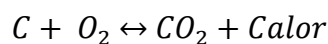
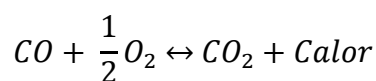
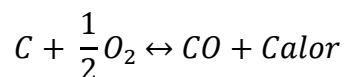


Figura 2 Tetraedro de fogo

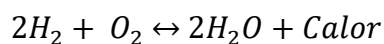
O processo de combustão é muito complexo e envolve a formação de múltiplas espécies químicas por meio de diferentes mecanismos de reação. Existem reações de combustão incompletas e completas. A combustão incompleta é realizada com insuficiência de oxigênio, produzindo grande quantidade de produtos oxidados, tal como CO e CO<sub>2</sub> e, muitas vezes, a matéria combustível não é queimada. A combustão completa se processa com quantidade estequiométrica de oxigênio, suficiente para oxidar completamente o material combustível. Assim, no caso dos hidrocarbonetos a combustão completa levará à formação de gases ou vapores como CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, e SO<sub>2</sub>. Todavia, isto ocorre raramente numa situação real. Os combustíveis e oxidantes nunca são perfeitamente misturados ou estão presentes em proporções estequiométricas para que a reação de oxidação ocorra até finalizar. Portanto, normalmente pode-se encontrar reações de combustão incompleta (2, 3)

A seguir apresenta-se as reações de combustão mais importantes (3):

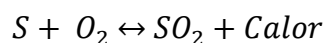
#### 1. Combustão do Carbono



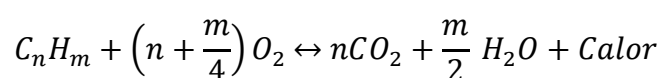
## 2. Combustão do Hidrogênio



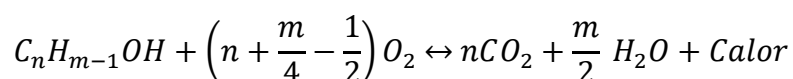
## 3. Combustão do Enxofre



## 4. Combustão dos hidrocarbonetos



## 5. Combustão dos álcoois



## 2.1.2 Substâncias derivadas do Petróleo

O petróleo é obtido pela decomposição de material fóssil e é constituído em sua maioria por hidrocarbonetos e em minoria por compostos contendo heteroátomos como O, S, N, V, Ni ou Fe (4).

Os hidrocarbonetos podem ser subdivididos nos seguintes grupos (4):

- a) Alcanos alicíclicos (parafinas), ramificados ou lineares,
- b) Alcanos cíclicos (naftenos) podem ser mono-naftenos ou polinaftenos. Alguns deles podem ter ligadas cadeias parafínicas. Em sua estrutura podem ter entre cinco ou seis átomos de carbono nos anéis.
- c) Alcenos (Olefinas), ramificados, lineares ou cíclicos.
- d) Aromáticos, pelo menos na estrutura tem um anel de benzeno. Alguns deles, podem ter ligados um ou mais componentes parafínicos ou naftenos.

Os compostos contendo heteroátomos são classificados de acordo com o heteroátomo na estrutura (4).

- a) Compostos sulfurados: Estes estão presentes em altas concentrações em comparação com outros compostos contendo heteroátomos. Tióis (mercaptanas)  $R-S-H$ . R pode ser uma alquila. Sulfidos  $R-S-R'$ . Tiofenos  $R-C_4H_3S$  e benzonaftotiofenos  $R-C_{16}H_9S$ .
- b) Compostos nitrogenados: Alguns deles estão presentes em baixas concentrações: básicos (piridinas, quinolinas, benzoquinolinas e azacabazois), neutros ou de baixa basicidade (pirróis, indois, carbozois, amidas e componentes tipo porfirina).
- c) Compostos oxigenados: Existem cinco grupos de componentes oxigenados que podem estar presentes (ácidos naftenicos, fenóis, ácidos graxos, furanos, e fenilcetonas)

No processo de destilação do petróleo pode-se obter entre temperaturas de 40 a 200 °C a gasolina, entre 175 a 325 °C o querosene e 250 a 400 °C o diesel (Figura 3).

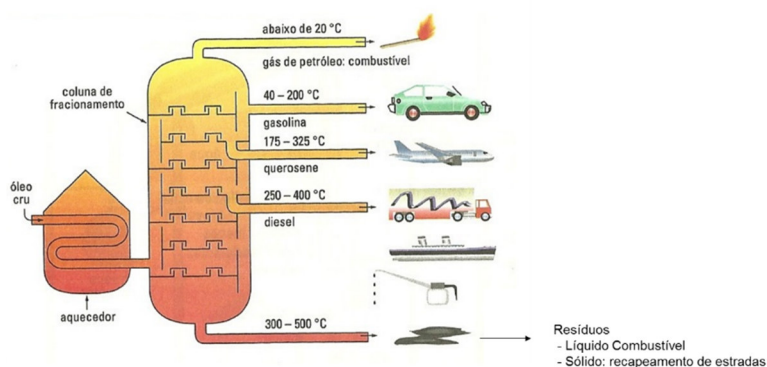


Figura 3 Temperaturas de obtenção dos derivados do petróleo  
(<http://www.ebah.com.br/content/ABAAABvagAC/trabalho-quimica-inorganica>)

A gasolina é uma das substâncias mais utilizadas para produzir incêndios. É uma mistura de muitos hidrocarbonetos aromáticos de baixo peso molecular e baixo ponto de ebulição e apresenta em menor proporção hidrocarbonetos lineares (alcanos) entre C<sub>4</sub> – C<sub>12</sub> (ASTM E1618:2014).

A sociedade americana para testes e materiais (American Society for Testing and Materials – ASTM) é uma das organizações de desenvolvimento de normas internacionais mais importante do mundo. Ela tem guias para determinar a presença de líquidos combustíveis residuais nos vestígios de incêndio, classificando os líquidos combustíveis de acordo com seus componentes e usos.

Na tabela 1 são apresentados os íons mais comuns nos espectros de massas para líquidos combustíveis e inflamáveis, de acordo com o guia ASTM E1618:14.

Tabela 1 Íons presentes na maioria dos líquidos combustíveis e inflamáveis-ASTM E1618:2014

<b>Tipo de componente</b>	<b><i>m/z</i></b>
Alcanos	43, 57, 71, 85
Cicloalcanos e alcenos	55, 69
n-alkilciloalcanos	82, 83
Aromaticos - Alquilbenzenos	91, 105, 119; 92, 106, 120
Indanos	117, 118; 131, 132
Alquilnaftalenos (condensados em anéis aromáticos)	128, 142, 156, 170
Alquilestirenos	104, 117, 118, 132, 146
Alquilantracenos	178, 192, 206
Alquilbifenis/acenaftenos	154, 168, 182, 196
Monoterpenos	93, 136
Cetonas	43, 58, 72, 86
Alcoois	31, 45

A tabela 2 apresenta a classificação dos líquidos combustíveis de acordo os usos:

Tabela 2 Classificação do líquidos combustíveis pelo guia ASTM E1618:14

Classe	Leve (C <sub>4</sub> -C <sub>9</sub> )	Médio (C <sub>8</sub> -C <sub>13</sub> )	Pesado (C <sub>9</sub> -C <sub>20+</sub> )
<b>Gasolina, todas as marcas incluindo gasohol e E85.</b>	A gasolina fresca está tipicamente na faixa C <sub>4</sub> – C <sub>12</sub>		
<b>Destilados de petróleo (Incluído de-aromatizados)</b>	Éter de Petróleo Alguns fluídos de isqueiros	Alguns thinners de pintura Alguns solventes de lavagem à seco	Querosene Diesel Combustível para avião
<b>Produtos Isoparafínicos</b>	Gás de aviação Alguns solventes especiais	Alguns toners de copiadora Alguns thinners de pintura	Alguns solventes especiais comerciais
<b>Produtos aromáticos</b>	Algumas pinturas e verniz Removedores Alguns líquidos para limpeza de partes de automóveis Produtos baseados em toluenos e xilenos.	Alguns líquidos para limpeza de partes de automóveis Solventes de limpeza especiais Alguns inseticidas para veículos Alguns combustíveis aditivos	Alguns inseticidas para veículos Solventes de limpeza industrial
<b>Produtos parafínicos-nafténicos</b>	Baseados em ciclohexano Solventes-Produtos	Alguns óleos para lâmpadas Alguns inseticidas para veículos	Solventes industriais Alguns inseticidas para veículos Alguns óleos para lâmpadas
<b>Produtos de alquenos normais</b>	Solventes Pentano Hexano Heptano	Alguns óleos de vela Alguns toners de copiadora	Alguns óleos de vela Alguns toners de copiadora
<b>Solvente oxigenados</b>	Álcoois Cetonas Alguns thinners para laca Alguns combustíveis aditivos Alguns solventes para a preparação de superfícies	Alguns thinners para laca Alguns solventes industriais Líquidos de limpeza ou lustro de metais	
<b>Outras misturas</b>	Produtos de componentes simples Alguns produtos misturados Alguns redutores de esmalte	Produtos terebintina Alguns produtos misturados Alguns produtos especiais	Alguns produtos misturados Alguns produtos especiais
Estes são alguns exemplos de usos comerciais de líquidos combustíveis. Estes exemplos não tem incluído todos os líquidos combustíveis (Ignition Liquid-IL).			

Em geral a norma descreve como pode-se reconhecer a presença dos líquidos combustíveis. Como o foco deste trabalho é a gasolina, o querosene e o diesel, algumas características relacionadas à composição de cada um destes líquidos combustíveis será descrita. Apesar da norma será feita para as análises de resíduos de incêndio por cromatografia gasosa com detector massas, é importante conhecer as composições e distribuição dos hidrocarbonetos nos líquidos combustíveis usados neste trabalho.

**Gasolina:** A maioria de componentes são aromáticos de baixo peso molecular. A gasolina contém também uma mínima quantidade de hidrocarbonetos entre lineares, ramificados e cíclicos saturados (alcanos, isoalcanos e cicloalcanos) caracterizados por conter um número de carbonos entre C<sub>4</sub>-C<sub>9</sub>. Ainda pode-se detectar a presença de naftalenos, embora algumas vezes estes podem estar ausentes em gasolinas, e os compostos indanos que usualmente estão presentes nas gasolinas em baixas concentrações.

**Querosene e Diesel:** No querosene a presença de aromáticos é maior que no diesel. Os compostos presentes no querosene estão na faixa de C<sub>8</sub>-C<sub>13</sub> e no diesel de C<sub>8</sub>-C<sub>20+</sub>. No Brasil o diesel é misturado com 8% de biodiesel segundo a Lei 13.263 de 2016. Portanto, são encontrados também ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) (5).

## 2.2 Espectrometria de massas

A espectrometria de massas (*do inglês Mass Spectrometry – MS*) é uma técnica analítica que apresenta características como alta seletividade e sensibilidade, fornecendo informações sobre massas moleculares e estrutura química dos analitos, posicionando-se como uma poderosa ferramenta para a identificação de compostos presentes em amostras complexas (6-8).

A espectrometria de massas se baseia no processo de ionização da molécula. Seus mecanismos podem ser vários, por exemplo: a subtração ou adição de um elétron, reações de recarga, protonação ou desprotonação, adição eletrofílica ou subtração nucleofílica e formação de *clusters*, entre alguns outros processos de formação de íons (9).

Desde os primeiros estudos de J.J. Thomsom (1912) a espectrometria de massas tem sido objeto de incontáveis melhorias. Em 1958, a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas revolucionou a análise de compostos voláteis. Na década de 1980, aconteceu outra revolução pelo desenvolvimento e uso de técnicas de ionização para moléculas não voláteis, complexas e de pesos moleculares altos por meio do uso de novas técnicas de

ionização ambiente, que permitem a análise direta ou o mínimo preparo da amostra (10). A espectrometria de massas, tornou-se uma técnica indispensável em várias áreas por sua fácil manutenção e pela introdução de instrumentos comerciais com menor custo. Na indústria de biotecnologia, a espectrometria de massa é utilizada para analisar proteínas, oligonucleótidos e polisacáridos. Na indústria farmacêutica, usa-se em todo o processo de desenvolvimento de fármacos (descoberta de compostos, análise estrutural, desenvolvimento sintético e química combinatória, dentre outros) (11).

Os principais componentes de um espectrômetro de massas são apresentados na Figura 4.

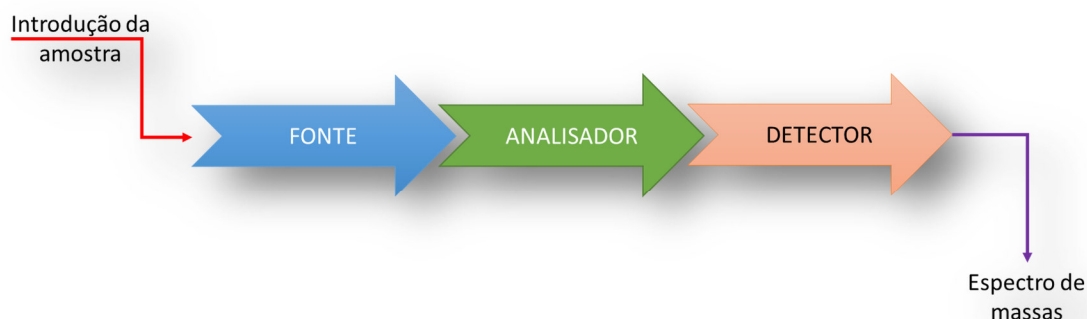


Figura 4 Principais componentes de um espectrômetro de massas

Na figura 4, apresenta-se a forma mais simples de um espectrômetro de massas. O primeiro componente é o dispositivo para introdução da amostra que encontra-se em condições ambientais. A fonte de ionização é a responsável pela produção de íons dos analitos para inseri-los no analisador de massas, que é responsável pela separação dos íons em função da sua razão massa-carga ( $m/z$ ); os íons são então levados ao detector que se encarrega de medir a sua abundância por meio da conversão dos íons em sinais elétricos. O resultado é gráfico de barras que apresenta no eixo x as razões massa-carga ( $m/z$ ) e no eixo y as abundâncias (A), conhecido como espectro de massas (6, 9, 12).

### 2.2.1 Métodos de Ionização

Existem diversos tipos de fontes de ionização, como por exemplo: ionização por elétrons (EI), ionização química (CI), Ionização e dessorção a laser assistida por matriz (MALDI), ionização por eletrospray (ESI) e mais recentemente o desenvolvimento de ionização *Paper Spray* (PS). Essas últimas três fontes foram desenvolvidas devido à necessidade de analisar amostras de alta complexidade.

A EI se baseia na emissão de um feixe de elétrons de alta energia a partir de um filamento aquecido a altas temperaturas. Esses elétrons atingem o fluxo de moléculas, e a colisão entre os elétrons e as moléculas retira um elétron da molécula, criando um cátion. Uma placa repelente, num potencial elétrico positivo, direciona os íons recém formados por uma série de placas aceleradoras até chegar em uma ou mais fendas colimadoras que geram um feixe uniforme de íons (11).

Na CI, as moléculas da amostra colidem com um gás reagente pré-ionizado, e são ionizadas por vários mecanismos (transferências de prótons, transferência de elétrons e formação de adutos). Os gases mais usados como reagentes ionizantes são o metano, amônia, isobutano e metanol. Normalmente, observa-se a formação de espécies protonadas (modo positivo) ou desprotonadas (modo negativo). Os íons por CI são menos energéticos que os íons gerados por EI (11, 13).

Outras técnicas de ionização são espectrometria de massas de íons secundários (SIMS), bombardeamento por átomos rápidos (FAB) e ionização por dessorção a laser assistido por matriz (MALDI). Normalmente, nestas técnicas a amostra a ser analisada é dissolvida ou dispersa numa matriz e colocada num caminho de um feixe de íons de energia alta, no caso SIMS entre 1 a 10 –keV, no caso de FAB de átomos neutros e no caso de MALDI de fótons de alta intensidade (11).

No caso de soluções complexas, normalmente utiliza-se ionização eletrospray (ESI) ou ionização química a pressão atmosférica (APCI), no entanto, para sólidos é mais comum utilizar ionização por dessorção a laser assistida por matriz (MALDI). As técnicas de ionização ambiente incluindo a

dessorção por ionização eletrospray (DESI), análise direta em tempo real (DART) e outros, têm sido desenvolvidos recentemente, com a finalidade de otimizar os tempos de análise em termos de rapidez e minimizar os requerimentos do preparo da amostra. O desenvolvimento de técnicas com esta mesma filosofia tem sido proposto e aplicado amplamente. Neste contexto o acoplamento de espectrometria de massas com ionização *Paper Spray* tem-se mostrado como uma das técnicas mais atrativas na geração de íons em espectrometria de massa (8).

#### 2.2.1.2 Ionização Eletrospray

É uma técnica de ionização útil para macromoléculas não voláteis. Na década dos 80 foi desenvolvida essa fonte de ionização, por John Fenn ganhador do Prêmio Nobel em Química no ano de 2002 (14). ESI é produzido pela aplicação de um forte campo elétrico, sob pressão atmosférica. Uma solução passa através de um tubo capilar com fluxo entre 1-10  $\mu\text{l min}^{-1}$  até ser borrifada na ponta do tubo capilar. Isso ocorre devido à diferença de potencial aplicado sobre o tubo capilar que permite o deslocamento da amostra até a ponta do mesmo, formando pequenas gotículas carregadas que são impelidas para dentro da câmara de ionização. O gás de secagem (normalmente nitrogênio) é injetado coaxialmente com uma baixa velocidade de fluxo, permitindo a evaporação das moléculas do solvente nas gotículas. Esse processo, consegue aumentar a densidade de cargas das gotículas até que as forças repulsivas eletrostáticas excedam a tensão superficial da gotícula. Assim, cada gotícula divide-se em gotículas menores. O objetivo é que os íons da amostra, livres de solvente, sejam deixados na fase gasosa (11, 12). Assim é importante a escolha do solvente de acordo com as características do analito.

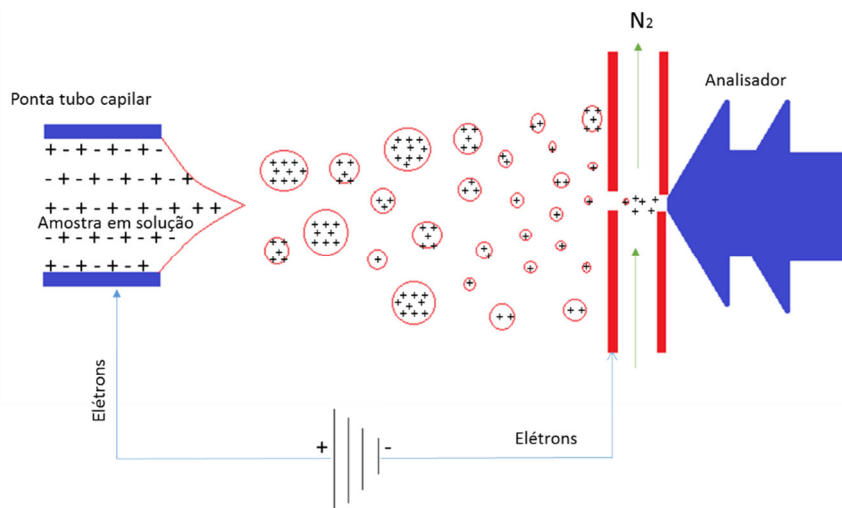


Figura 5 Representação esquemática da ionização eletrospray (ESI)

### 2.2.1.3 Ionização Paper Spray

Cooks et al. em 2010, descreveram a nova técnica de ionização, conhecida como *Paper Spray*. Esta técnica apresenta características do sistema ESI e de outras técnicas de ionização sob condições ambientais. *Paper Spray* tem sido usado para análises qualitativas e quantitativas de misturas complexas, como por exemplo, amostras biológicas para determinar drogas de uso terapêutico ou algumas proteínas como a hemoglobina em uma matriz complexa como sangue (7). A aplicação desta técnica no campo forense nas áreas de grafologia (caracterização de tintas de caneta), em toxicologia (drogas de abuso em sangue), dentre outras, tem sido de muito sucesso (15). Assim, a ionização *Paper Spray* tornou-se útil na obtenção de *fingerprint* de amostras diversas e faz-se atrativo por apresentar procedimentos simples e rápidos para análises de compostos em matrizes complexas (6).

O princípio desta ionização é transportar o analito por meio dos poros do papel com uma ponta macroscopicamente afiada, utilizando um campo elétrico para fornecer a ionização. Para isso, uma alta voltagem é aplicada ao papel úmido cortado na forma de triângulo, que é posicionado com a ponta na entrada do espectrômetro de massas (8) (Figura 6).

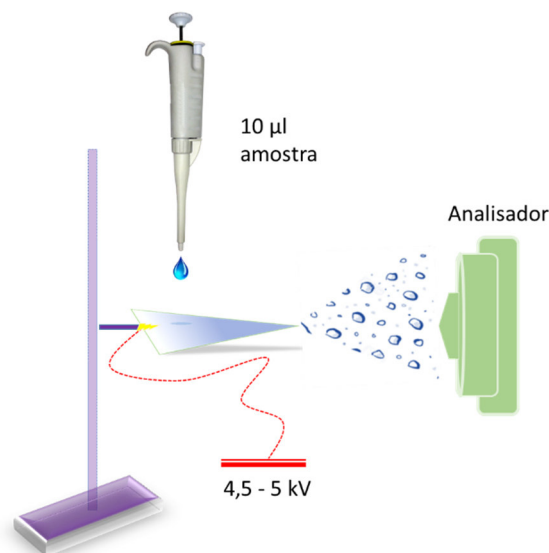


Figura 6 Diagrama da montagem de Ionização *Paper Spray*

O papel cortado em triângulo pode ser de vários tipos, e é suscetível a diferentes modificações em sua composição, permitindo uma adequada separação ou permeabilidade química das amostras, com a finalidade de desenvolver novas aplicações baseadas nesta técnica analítica (7).

Normalmente o *Paper Spray* trabalha com os seguintes parâmetros e condições: 3-5 kV para gerar a alta voltagem, 0,2-20 µl da amostra líquida ou 1-10 mg da amostra sólida, e 10-30 µl do solvente para formar o spray. A escolha do solvente é importante, porque este permite fazer uma extração e ionização do analito de forma muito eficiente, sendo normalmente usados o metanol e a acetonitrila (16). Naccarato et. al. (2013) apresentou à comunidade científica experimentos com misturas de metanol/água e adição de ácido fórmico, permitindo melhorar a intensidade dos sinais dos analitos com cadeias carbônicas muito longas e a reprodutibilidade dos espectros (17).

O PS é descrito em três passos: o primeiro inicia-se com a extração do analito desde o momento em que o solvente é depositado sobre a amostra no papel cortado em triângulo com aplicação da alta voltagem. No segundo passo, os componentes dissolvidos são transportados para a ponta do triângulo através da estrutura do papel e pela aplicação da voltagem. E no terceiro passo ocorre a geração de um eletrospray como processo de ionização, resultando na formação de gotículas carregadas (16).

Existem dois tipos de procedimento para depositar amostras no papel e gerar o spray e a ionização. A primeira consiste na preparação de uma solução da amostra em metanol ou acetonitrila, para depois depositar alguns microlitros sobre o papel cortado em triângulo e aplicar a voltagem gerando assim o spray. A segunda forma é depositar alguns microlitros da amostra líquida diretamente sobre o papel, aplicar a voltagem e imediatamente colocar sobre amostra o solvente (normalmente metanol ou acetonitrila). A escolha do procedimento depende das propriedades da amostra de interesse. O segundo processo normalmente é utilizado quando a amostra não pode ser solubilizada pelo solvente.

### 2.2.2 Analisador de massas

Depois que a amostra é ionizada, o feixe de íons é acelerado por um campo elétrico, e em seguida entra no analisador de massa. Nesta zona, os íons são separados de acordo com suas razões massa/carga ( $m/z$ ). Existem diversos tipos de analisadores de massas; os mais comumente conhecidos são os quadrupolos, aprisionamento de íons (*ion trap*) e tempo de voo (*time of flight-TOF*) (11, 13).

Os analisadores quadrupolos são formados por quatro barras sólidas (eletrodos) paralelas na direção do feixe de íons. Uma voltagem de corrente contínua e uma radiofrequência são aplicadas às barras, gerando um campo eletrostático oscilante entre as barras. Isso permite estabilizar ou desestabilizar seletivamente os íons, enquanto passam pelo quadrupolo, de acordo com a razão  $m/z$ . Isso permite que os íons de diferentes valores de  $m/z$  cheguem ao detector e, desta forma, podem ser diferenciados (11, 18). Apesar de usualmente ser operado em resolução baixa (tipicamente  $R= 1.000$ ), esta pode ser aumentada em condições favoráveis para valores superiores a 4.000. Sua exatidão de massas encontra-se, geralmente, entre 0,1 e 0,2 unidades de massa atômica (u.m.a., a.m.u. ou Dalton), e a faixa de massas usualmente entre 10 e 4.000 u.m.a. (14).

O analisador *ion trap* é muito popular e o preço é comparável com o quadrupolo. O princípio do *ion trap*, é muito similar ao quadrupolo e por isso é chamado quadrupolo tridimensional. A diferença está no fato de que os íons

não descrevem uma trajetória através do ambiente quadrupolar, apenas são aprisionados dentro dele. Existe um campo elétrico no interior do *ion trap* que permite manter os íons em uma órbita estável em seu interior. Um potencial de radiofrequência é aplicado e os íons são desestabilizados e expelidos para fora do analisador de acordo com os valores de  $m/z$  (18). Sua resolução é similar à do quadrupolo linear (unitária), podendo ser aumentada empregando-se varreduras mais lentas em uma faixa de massas menor. Nestas condições, resoluções próximas de 5.000 podem ser obtidas. As aplicações típicas deste analisador são similares às aquelas do quadrupolo (14).

Os analisadores de tempo de voo baseiam-se no fato de que as velocidades de dois íons, criados no mesmo instante, com a mesma energia cinética, variarão conforme a massa dos íons; o íon mais leve será mais rápido; assim, o tempo necessário do íon atravessar o tubo é proporcional à massa, uma vez que a distância entre a formação do íon e o detector é fixa (11, 13). A grande desvantagem do analisador TOF é sua baixa resolução, mas o desenvolvimento do refletor de íons (na região do caminho livre do espectrômetro o refletor se comporta como um espelho de íons) permite ter uma resolução de massa na casa dos milhares (11).

### 2.2.3 Detector

O detector registra a corrente produzida quando um íon atravessa uma superfície ou atinge sua superfície. No caso de um equipamento que possa efetuar uma varredura de massas, o sinal produzido no detector durante uma varredura em função da razão  $m/z$  ou posição do íon na varredura, irá gerar um espectro de massas. Assim, um espectro de massas é um registro dos íons detectados em função da razão  $m/z$ . O tipo de detector mais usado nos espectrômetros de massa são as eletromultiplicadoras (EM) (14).

### 2.2.4 Impressão digital química

A impressão digital química, *fingerprint*, do inglês, é um método baseado na obtenção do perfil químico que permite identificar a autenticidade, diferenciar e avaliar a qualidade de substâncias ou produtos com características similares. Normalmente, este método é de grande utilidade nas

ciências forenses, para a identificação e individualização de evidências como no caso de explosivos, pinturas de automóveis, fibras de tecidos têxteis ou substâncias de abuso (10).

Os combustíveis mencionados no trabalho são altamente complexos e alguns deles podem apresentar compostos similares em sua composição, o que faz com que a identificação de todos os componentes presentes nas amostras por Espectrometria de Massas com ionização por *Paper Spray* é muito complexo. Neste caso, é fundamental considerar um perfil químico (*chemical fingerprint*) para cada um dos combustíveis líquidos para identificação e diferenciação de possíveis acelerantes utilizados nos incêndios.

### **2.3 Quimiometria**

A quimiometria nasceu formalmente na metade dos anos 70, mas foi amplamente disseminada quando computadores mais robustos invadiram os centros de pesquisa (19). Adicionalmente, o avanço tecnológico na área instrumental ocorrido nos últimos 50 anos atingiu todas as áreas da ciência, dentre elas a química. Espectrômetros e cromatógrafos começaram a ser utilizados em laboratórios analíticos para análises de rotina, gerando uma grande quantidade de informação. Assim, surgiu a necessidade de agrupar e observar o comportamento dessa informação por meio de métodos matemáticos e estatísticos, ou seja, quimiométricos, para extrair o máximo de informação dos dados químicos (20).

Atualmente, experimentos empregando espectroscópios infravermelho e espectrômetros de massas podem produzir muita informação, como por exemplo as centenas de relações de massa-carga ou de comprimentos de onda obtidos nos espectros. Estes resultados, anteriormente tratados de forma univariada, podem ser resolvidos empregando-se ferramentas quimiométricas capazes de planejar e selecionar condições ótimas de medidas para classificar, calibrar e fazer numerosas aplicações na área da química analítica (19, 20).

A quimiometria pode ser dividida em diversas frentes de pesquisa como: planejamento e otimização de experimentos, análise exploratória e de

classificação, calibração multivariada, processamento de imagens, inteligência artificial, dentre outras (21).

A aquisição de dados em instrumentos computadorizados possibilitam o armazenamento de uma grande quantidade deles, tornando a quimiometria uma estratégia favorável para o maior entendimento do problema químico, extraindo a maior quantidade de dados significativos. Desta forma, métodos de análise exploratória por reconhecimento de padrões permitem a classificação ou agrupamento dos conjuntos de dados extraindo o máximo de informação. (19, 20).

Os métodos quimiométricos utilizados para análise exploratória e classificação podem ser divididos em dois grupos: os métodos “supervisionados” e os “não supervisionados”. Os métodos supervisionados derivam de uma classe pré-estabelecida para cada amostra, que é utilizada durante a análise dos dados e na construção dos modelos de classificação. Os modelos não supervisionados não precisam dessa informação e, portanto, não requerem nenhum reconhecimento prévio para classificação da amostra. Elas são agrupadas com base na informação contida nos dados experimentais (20).

### 2.1.1 Análises de Componentes Principais (PCA)

A PCA, introduzido por Karl Pearson em 1901, é um método de classificação não supervisionado utilizado para encontrar relações entre amostras e classificá-las em função de suas similaridades. Consiste em um conjunto de dados com certo número de objetos (amostras, espectros, compostos, etc.) descritos por determinado número de variáveis (características próprias do objeto). A análise exploratória é usada para detectar padrões de associação no conjunto de dados, estabelecendo relações de similaridades entre as amostras e as variáveis (19, 20).

O objetivo da PCA é reduzir a dimensão dos dados iniciais para um conjunto de novas variáveis, decompondo a matriz de dados em vetores de escores e pesos (*loadings*). Estes vetores são ordenados em função da porcentagem de variância acumulada e a combinação desse par de vetores é denominada componente principal (CP), que são variáveis não

correlacionadas e ortogonais entre si, permitindo a visualização de características multivariadas dos dados, através de uma projeção de dados sobre um espaço de menores dimensões, maximizando a variância, sem perda de informação relevante (19, 20).

A matriz  $\mathbf{X}$  é o conjunto de dados obtido a partir das análises das amostras em alguns dos instrumentos mencionados anteriormente

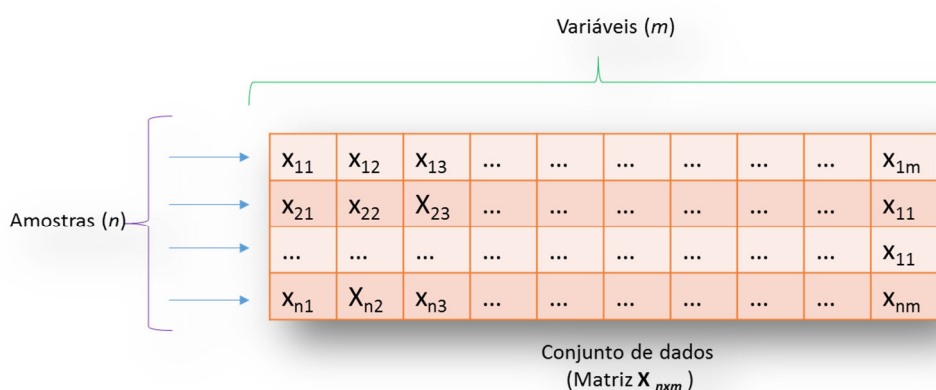


Figura 7 Representação gráfica da matriz  $\mathbf{X}$

Em termos matriciais, a PCA é um método para decompor a matriz  $\mathbf{X}$  em duas matrizes menores  $\mathbf{T}$  e  $\mathbf{P}$  mais uma matriz de resíduos. A equação para o método pode ser escrita como:

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

$\mathbf{P}$ : matriz dos pesos (*loadings*)

$^T$ : Símbolo é o operador da transposição da matriz

$\mathbf{T}$ : matriz dos escores

$\mathbf{E}$ : matriz dos resíduos

O modelo PCA apresenta quatro partes para visualizar: os dados, os escores, os pesos e os resíduos. Os escores permitem fazer relações entre as amostras e os pesos relações entre as variáveis.

A escolha do número adequado de CP é importante para o modelo PCA. A escolha é baseada na avaliação do gráfico de autovalores e deve ser feita quando o número de autovalores ficar constante e a variância explicada for

maior que o nível de ruído. A detecção de amostras anômalas também é importante e pode ser feita pela análise do gráfico de resíduos e alto Hotelling ( $T^2$ ). Amostras com altos resíduos foram mal modeladas e devem ser consideradas *outliers* (22).

O método PCA pode ser aplicado a diferentes tipos de dados, obtidos na forma de espectros ou após determinações espectrométricas empregando curva de calibração. A vantagem da redução da dimensionalidade dos dados permite uma melhor visualização das similaridades

### 2.1.2 Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais PLS-DA

PLS-DA é um método multivariado supervisionado para a classificação de amostras. No PLS-DA relaciona-se a matriz  $\mathbf{X}$  de dados (espectros) com um conjunto de dados onde só existem duas classes. Quando se tem apenas uma classe, ela é representada pelo vetor  $\mathbf{y}$ , que pode assumir os valores 0 (não pertence à classe) ou 1 (se pertence à classe); gerando o modelo PLS1-DA. Quando se tem mais de duas classes, a variável independente, já não é representado pelo vetor  $\mathbf{y}$  e sim pela matriz  $\mathbf{Y}$  (com número de colunas iguais ao número de classes); modelo denominado PLS2-DA (13).

Então a matriz  $\mathbf{X}$  e o vetor  $\mathbf{y}$  (ou matriz  $\mathbf{Y}$ ) são descompostos simultaneamente numa soma de variáveis latentes (VLs), de acordo com as equações 2 e 3. As VLs são combinações lineares das variáveis originais, que descrevem simultaneamente a maior parte das informações dos blocos de dados (13).

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP}' + \mathbf{E}$$

$$\mathbf{X} = \sum \mathbf{t}_k \mathbf{p}_k + \mathbf{E} \quad (2)$$

**P**: matriz dos pesos (*loadings*) do bloco  $\mathbf{X}$

**T**: matriz dos escores

**E**: matriz dos resíduos do bloco  $\mathbf{X}$

$$\mathbf{y} = \mathbf{Tq}' + \mathbf{f}$$

$$\mathbf{y} = \sum t_k \mathbf{q}'_k + \mathbf{f} \quad (3)$$

**T**: matriz dos escores

**f**: vetor de resíduos do bloco **Y**

**q**: matriz dos pesos (*loadings*) do bloco **Y**

Os modelos de classificação ou de calibração multivariada podem ser melhorados pela seleção de um número mínimo de variáveis que permite fazer a melhor predição do analito ou da classe. No caso dos espectros contínuos como UV/Visível, infravermelho próximo (NIR) ou médio (MIR), são utilizados métodos de seleção contínua de intervalos (iPLS) ou intervalos sinérgicos (siPLS) que melhoram a predição ou a classificação (23).

Nos espectros discretos ou não contínuos como os espectros de massa, é utilizado o método desenvolvido por Teófilo et al. (2008), conhecido como OPS (*Ordered Predictors Selection*- Seleção dos Preditores Ordenados) que tem como função determinar ou procurar variáveis que possam dar a melhor resposta com o erro mínimo na classificação ou predição (24).

#### 4.1.2.1 Algoritmo Kennard-Stone

Este algoritmo é utilizado para a escolha das amostras que serão utilizadas como conjunto de treinamento e das amostras utilizadas para o conjunto teste e escolhe duas amostras com maior distância euclidiana entre si, para em seguida fazer a escolha de uma outra amostra com a maior distância euclidiana das duas amostras selecionadas previamente. Este algoritmo assegura uma escolha sistemática de amostras para conformar o conjunto de treinamento e de teste, garantindo a melhor representatividade do modelo (25, 26).

#### 4.1.2.2 Seleção dos Preditores Ordenados - OPS

OPS permite visualizar gráficos de vetores informativos ou prognósticos para extrair informações desejadas em dados multivariados. Os vetores informativos são obtidos por meio de tratamentos matemáticos dos dados que permitem observar comportamentos de padrões das variáveis, sejam das independentes, das dependentes ou da relação entre as duas (24).

OPS usa vetores informativos que devem estar bem relacionados com a variável dependente. Assume-se que os elementos do vetor informativo contêm mais informação relevante da propriedade de interesse (variável dependente). Esse método permite identificar os vetores o sinal analítico líquido (Net Analyte Signal - NAS) que apresentam maior intensidade nas repostas e as variáveis do vetor que apresentam a melhor correlação são considerados como as mais informativas, dentro do método OPS. Para o método OPS, a matriz  $X$  (variáveis predictoras) e o vetor  $y$  (variável dependente), é necessário encontrar um subconjunto de variáveis que forneça o menor valor de RMSECV (raiz média quadrática dos erros de validação) durante a validação cruzada (20).

Este método pode ser resumido em cinco passos: 1. um vetor informativo ou a combinação de mais obtidos pelo modelo PLS, 2. as variáveis são diferenciadas de acordo com os valores absolutos no vetor informativo, 3. as variáveis são ordenadas de forma descendente, 4. o modelo de regressão é construído e avaliado usando validação cruzada, seleciona-se uma janela de variáveis iniciais a qual vai incrementando, e 5. o conjunto de variáveis selecionadas é comparado aos parâmetros de qualidade da validação cruzada (RMSECV) e ao coeficiente de correlação (27).

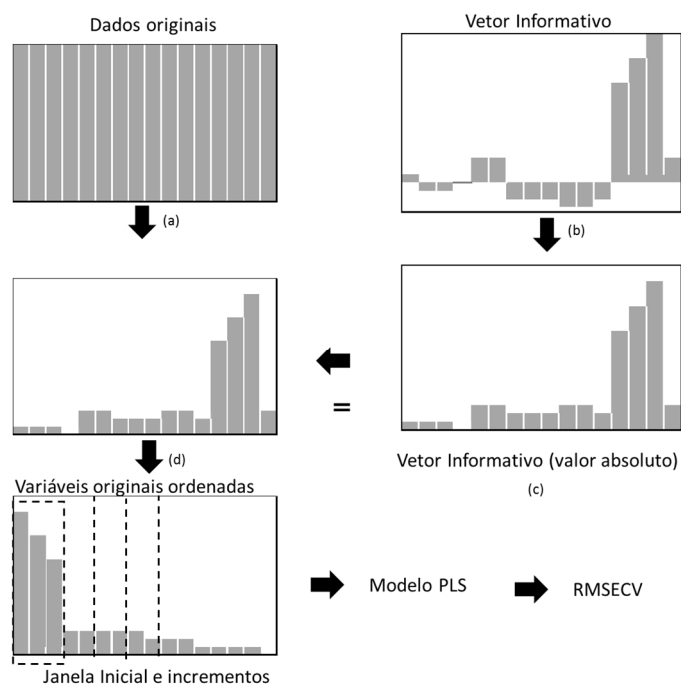


Figura 8 Descrição do funcionamento do método de seleção de variáveis OPS (20)

Desta forma será aplicado o método OPS para o conjunto de dados espectrais deste trabalho.

#### 4.1.2.3 Parâmetros de qualidade e confiabilidade

Esses parâmetros também são conhecidos como figuras de mérito (FOM-Figures of Merit). Estas são parâmetros que certificam se o procedimento proposto é confiável e atende às especificações impostas pela indústria ou por órgãos de fiscalização (28). A validação dos métodos analíticos é importante para garantir que os resultados obtidos são confiáveis para os fins aos quais se destinam (29). Trullols et al. descrevem em uma tabela de contingência as figuras de mérito aplicadas aos métodos de análises qualitativas. Esta tabela de contingência é baseada nos cálculos de probabilidade e é utilizada para duas categorias de classificação: positivos ou negativos. A partir desta tabela é possível determinar falsos positivos, falsos negativos, sensibilidade (*sen*) e especificidade (*esp*) (29-31).

Tabela 3 Configuração da tabela de contingência adaptada de Trullols et.al.(30, 31)

<b>Resultado do Teste</b>	<b>Detectado</b>	<b>Não detectado</b>	<b>Total</b>
<b>Positivo</b>	<i>TP</i>	<i>FP</i>	<i>TP+FP</i>
<b>Negativo</b>	<i>FN</i>	<i>TN</i>	<i>FN+TN</i>
<b>Total</b>	<i>TP+FN</i>	<i>FP+TN</i>	<i>N</i>

*FP = quantidade de resultados falso-positivos; FN = quantidade de resultados falso-negativos; TP = quantidade de resultados positivos corretos; TN = quantidade de resultados negativos corretos; N = TP+FP+FN+TN*

Com a tabela de contingência é possível estabelecer a exatidão (*Exa*), a taxa de falsos positivos (*TFP*), a taxa de falsos negativos (*TFN*), da taxa de sensibilidade (*Tsen*), a taxa de especificidade (*Tesp*) e a taxa de confiabilidade (*Tconf*) por meio das seguintes equações:

$$TFP = \frac{FP}{FP+TN} * 100 \quad (4)$$

$$TFN = \frac{FN}{FN+TP} * 100 \quad (5)$$

$$Tsen = \frac{TP}{TP+FN} * 100 \quad (6)$$

$$Exa = \frac{TP+TN}{TP+FN+FP+TN} * 100 \quad (7)$$

$$Tesp = \frac{TN}{TN+FP} * 100 \quad (8)$$

$$Tconf = 100 - TFP - TFN \quad (9)$$

Para estimar as medidas de precisão no caso de métodos analíticos qualitativos, utiliza-se os valores previstos para replicatas de uma amostra ou padrão em condições específicas de análise (29). Sabe-se que as figuras de mérito (FOM) repetibilidade e reprodutibilidade não se aplicam em métodos qualitativos, uma vez que estes resultados permitem somente identificar ou classificar se uma amostra pertence ou não a uma determinada classe (29, 32). Desta forma, Langtom et al. (2002) define a equivalência qualitativa de repetitividade como acordância (ACO); essa é a chance que duas amostras idênticas analisadas pelo mesmo laboratório sob condições padronizadas podem ter o mesmo resultado. Além disso, a equivalência de reprodutibilidade é concordância (CONC), que é a chance que duas amostras idênticas analisadas por diferentes laboratórios podem ter o mesmo resultado. Esses parâmetros são estimados por:

$$ACO = \frac{[k(k-1)+(n+k)(n-k-1)]}{n(n-1)} \quad (10)$$

Para ACO, o laboratório tem  $n$  resultados e  $k$  é o número de resultados positivos.

$$CONC = \frac{[2r(r-nL)+nb(nL-1)-ACO_m nL(n-1)]}{n^2 L(L-1)} \quad (11)$$

No caso de CONC,  $r$  é o número de resultados positivos,  $L$  o número de laboratórios e  $n$  o número de replicatas por laboratório.  $ACO_m$  é expressada como uma proporção (29, 32).

***CAPITULO 3***  
***MATERIAIS E MÉTODOS***

### 3.1 Reagentes, materiais e soluções

Alguns dos líquidos combustíveis usados neste trabalho (gasolina, querosene e diesel) foram fornecidos pelo Laboratório de Ensaio de Combustíveis da Universidade Federal de Minas Gerais Além disso, foram comprados gasolina comum e diesel S-10 em postos de abastecimento como Ipiranga, Shell e Petrobras e o querosene da marca King foi comprado no comércio local de Belo Horizonte.

Os reagentes utilizados no processo de ionização foram: metanol Lichrosolv LCMS, 99,9% de pureza (Merck), ácido fórmico 85% v/v PA ACS (Synth) e acetato de amônio (Sigma-Aldrich). Água deionizada (resistividade de 18,2 M $\Omega$  cm<sup>-1</sup>) foi obtida por um sistema Direct-Q (Millipore, Billerica, MA, USA) e utilizada no preparo de todas as soluções. Papel Filtro Quanty<sup>R</sup> JP42-Faixa azul, 12,5 cm de diâmetro, maioria dos poros de 8  $\mu$ m foi utilizado no sistema PS-MS. Foram preparadas várias soluções, utilizando os reagentes anteriores, para favorecer a ionização dos componentes dos combustíveis estudados, as quais serão descritas no procedimento.

### 3.2 Instrumentação

O equipamento utilizado foi da marca Thermo modelo LCQ Fleet (Termoelectron, San Jose, CA), com analisador *Ion Trap* (Figura 9). O software Xcalibur foi utilizado para o controle do equipamento e tratamento de dados. Uma plataforma *Paper Spray* (fonte de ionização) foi fabricada com movimentação nos planos x, y e z, o qual é operada manualmente (Figura 10).

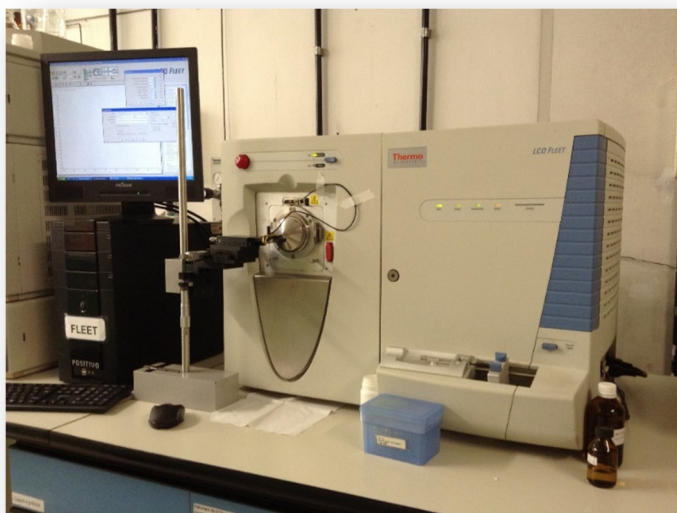


Figura 9 Espectrômetro de massas Thermo LCQ Fleet (UFMG)

As condições deste equipamento foram fonte *Paper Spray* (ajuste manual), os parâmetros da fonte e do espectrômetro foram ajustados para otimizar a ionização em termos de aumento na intensidade da sinal dos analitos. Os parâmetros utilizados foram: temperatura do capilar 150 °C, voltagem do capilar 55 V, voltagem do *tube lens* 25 V, a distância da ponta do papel filtro ao analisador do espectrômetro de massas foi de aproximadamente 5 mm. As varreduras foram realizadas numa faixa de massas de 80 a 1000  $m/z$  em modo positivo e em *full scan*.

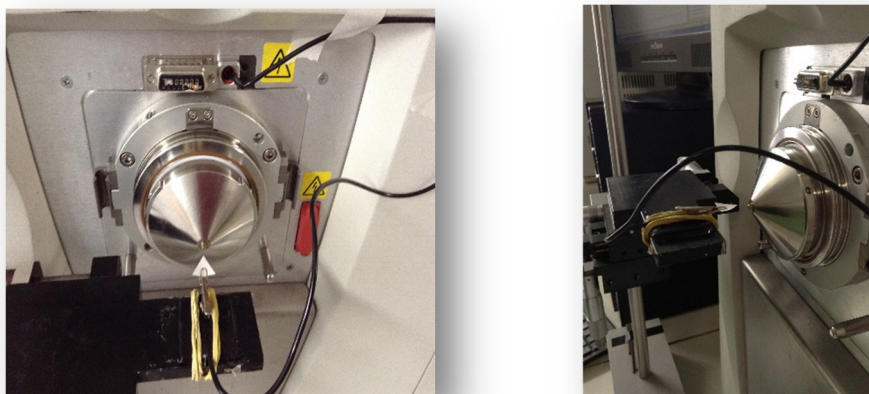


Figura 10 Montagem *Paper Spray* (Equipamento UFMG)

Para o preparo das amostras foi utilizada uma estufa marca Biomatic, Aparelhos Científico Ltda, que atinge temperaturas de até 300°C.

Utilizaram-se os softwares para tratamento de dado nos equipamentos Xcalibur (Thermo LCQFleet). Para o tratamento estatístico foram utilizados Excel 2010 e Matlab 7.9.0 com PLS\_Toolbox 5.2.2

### 3.3 Preparo das amostras

Neste trabalho foram avaliadas três formas para análise dos combustíveis: amostras líquidas, evaporadas e as obtidas por meio de uma simulação de incêndio (Figura 11).



Figura 11 Diagrama dos tipos de preparo de amostras para analisar por PS-MS

Em todas as análises utilizou-se triângulos de papel filtro com dimensões de 1 cm de base por 1,5 cm de altura. Para evitar a contaminação da garra jacaré utilizada para aplicar a alta voltagem no papel, cada triângulo de papel foi fixado em um clipe metálico como apresentado na Figura 12.

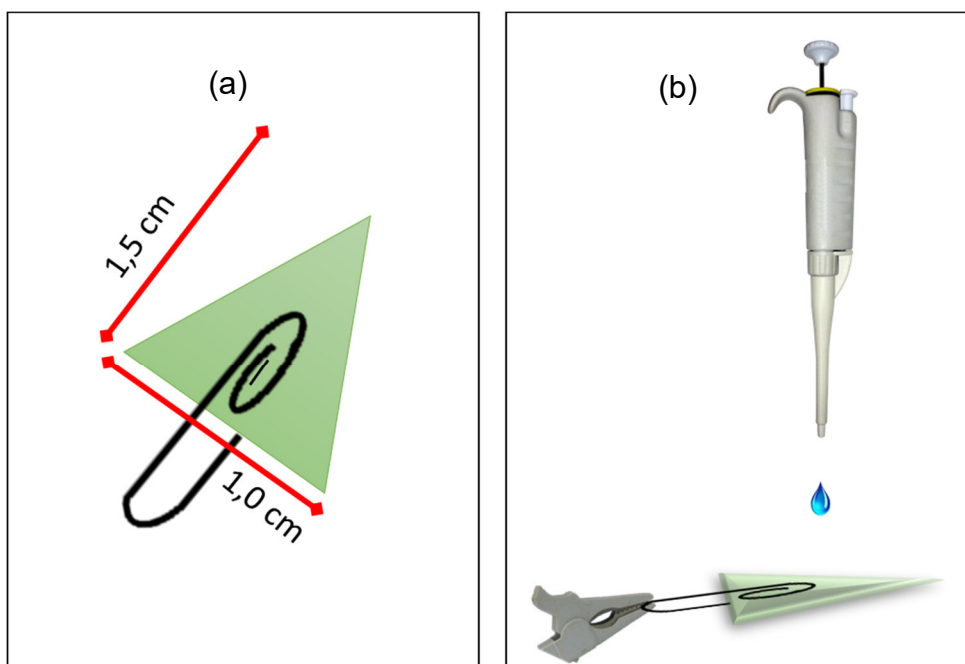


Figura 12 (a) Diagrama do triângulo e o clip, (b) Forma de colocar a amostra líquida ou solvente

### 3.3.1 Amostras Líquidas

No caso das amostras líquidas depositou-se 1  $\mu\text{l}$  do líquido combustível sobre o papel filtro, deixando secar por 1 minuto e depois aplicou-se o solvente para ionização. Ao todo foram analisadas 10 amostras distintas: 4 marcas de gasolina (Ipiranga, Shell, Petrobras e LEC), 4 marcas de Diesel (Ipiranga, Shell, Petrobrás e LEC) e 2 marcas de Querosene (King e LEC). Cada amostra foi analisada em triplicata, gerando 30 espectros.

### 3.3.2. Amostras evaporadas

As amostras evaporadas foram preparadas da seguinte forma: em um frasco de vidro fechado de aproximadamente 15 ml colocou-se um pedaço de papel de folha branca (1  $\text{cm}^2$ ), que foi impregnado com 30  $\mu\text{l}$  do líquido combustível. Inseriu-se o clip e o triângulo de papel filtro na tampa do frasco, formando um sistema para “*headspace*” (Figura 13). Os frascos foram então colocados dentro da estufa por 14 horas a 80 °C. Para realizar as triplicatas, em cada frasco de vidro inseriu-se três cliques, cada clip com um triângulo de papel filtro. Assim, e para cada marca de combustível (4 marcas de gasolina +

4 marcas de diesel + 2 marcas de querosene) foram preparados três frascos, totalizando 30 amostras independentes e 90 espectros, sendo um espectro para cada papel colocado dentro dos frascos no sistema *headspace*.

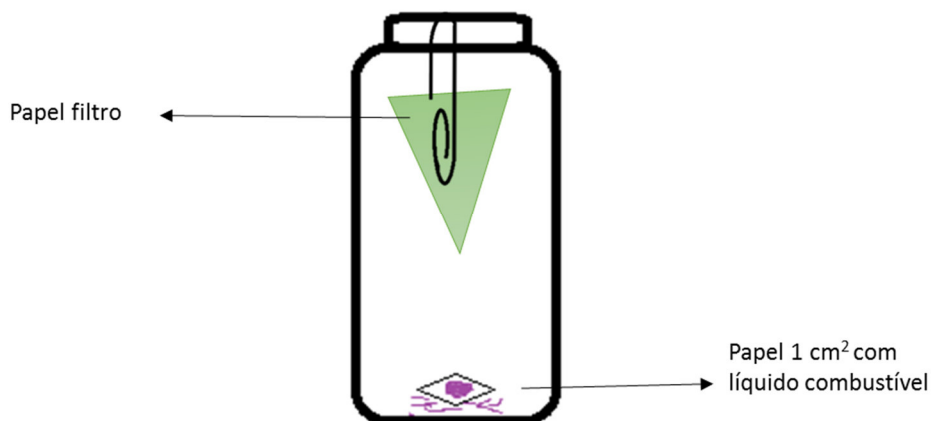


Figura 13 Preparo de amostras evaporadas.

### 3.3.3 Amostras simuladas

As amostras simuladas, foram preparadas com materiais que normalmente são encontrados em locais de incêndio, como concreto, solo e madeira. Colocou-se 150  $\mu\text{l}$  de líquido combustível sobre cada material (o tamanho do material foi selecionado para que não ultrapassasse aproximadamente mais do 40% da capacidade do frasco de vidro) e usando um fósforo como fonte de ignição, ateou-se fogo (incêndio simulado). Em seguida, a amostra pós-combustão foi colocada em frascos de vidro de aproximadamente 200 ml, onde adicionou-se água até cobrir pela metade o vestígio sólido, visando favorecer o equilíbrio térmico e conseqüentemente a análise por *headspace*. Cada frasco recebe então os 3 cliques com papel filtro nas dimensões antes descritas e são fechados com papel alumínio e elástico, para montagem do sistema *headspace* (Figura 14). Os recipientes foram colocados na estufa por 14 h a 80°C. Para cada combinação (material/combustível) foi montado um frasco, contendo 3 cliques com papel filtro. Desta forma, foram montados nove frascos, totalizando 27 espectros (Tabela 4).

Tabela 4 Experimentos realizados com amostras simuladas.

Material	Gasolina	Diesel	Querosene
<b>Solo</b>	1 frasco/3 papéis	1 frasco/3 papéis	1 frasco/3 papéis
<b>Concreto</b>	1 frasco/3 papéis	1 frasco/3 papéis	1 frasco/3 papéis
<b>Madeira</b>	1 frasco/3 papéis	1 frasco/3 papéis	1 frasco/3 papéis
Total de frascos	9		
Total de espectros	27		



Figura 14 Montagem para extração da amostra de líquido combustível (gasolina) residual em material concreto.

Portanto, se avaliaram 49 amostras entre líquidas, evaporadas e simulados de incêndio.

As amostras líquidas também foram analisadas por ESI-MS, sendo preparada uma mistura de 5  $\mu\text{l}$  do combustível e 995  $\mu\text{l}$  de solvente (metanol:acetonitrila 50:50 e 0,1% de ácido fórmico), que foi colocada em vials de vidro com capacidade de 2 ml. Foi realizada a diluição para impedir a contaminação do equipamento pelos líquidos combustíveis.

### 3.4 Procedimentos das análises

#### 3.4.1 Otimização das condições operacionais

Sendo *Paper Spray* uma técnica de ionização ambiente (suave) que pode ser atingida pela transferência de carga por meio da protonação ou desprotonação da molécula (na maioria dos casos); realizaram-se testes com metanol e acetonitrila e misturas com água, acetato de amônia e ácido fórmico (Anexo I).

Os parâmetros operacionais do equipamento também foram avaliados: modo positivo, modo negativo, temperatura do capilar, potencial do capilar, potencial das lentes. O potencial do *Paper Spray* foi testado entre 3,5 e 5 kV. Temperatura do capilar: 350, 250 e 150°C; Voltagem do capilar: 16 e 55 V; Voltagem das lentes: 80 e 25 V.

Após esta otimização, foram obtidos espectros em modo ESI (ionização electrospray) para confirmar os espectros e observar mudanças nos mesmos em comparação com *Paper Spray*. Os parâmetros e solventes usados foram iguais aos utilizados nas análises com ionização *Paper Spray*. Esse estudo foi realizado num vial de vidro para cromatografia de 2 ml contendo 995 µl de solvente e 5 µl do combustível. Em seguida a solução foi colocada em uma seringa para injetar a 15 µl/min.

Esses estudos de otimização e obtenção dos espectros por ESI-MS foram realizados com os combustíveis obtidos no LEC.

#### 3.4.2 Análise das amostras

Para verificar o *fingerprint* de cada um dos líquidos combustíveis, primeiro realizaram-se as análises a gasolina e diesel fornecidos pelo Laboratório de Ensaio de Combustíveis, tomando-os como referência. Na indústria de derivados do petróleo, o querosene é um combustível que é produzido em parâmetros intermediários de temperatura comparados com a gasolina e o diesel, assim, esse contém em sua composição misturas de compostos similares à gasolina e alguns conteúdos no diesel. Razão que a otimização foi só realizada para a gasolina e o diesel como extremos da

análise. Realizaram-se testes em diferentes dias e em triplicata para estabelecer os íons reprodutíveis do procedimento.

Após o preparo das amostras, os triângulos de papel filtro foram colocados de forma manual na plataforma *Paper Spray*, direcionando a ponta do papel ao analisador de massas. Depositou-se 1  $\mu\text{l}$  do líquido combustível sobre o triângulo de papel (1 minuto de secado), em seguida depositou-se o volume de solvente otimizado sobre o papel contendo a amostra.

No caso das amostras evaporadas, após o aquecimento por 14 horas a 80 °C, o papel foi colocado na plataforma *Paper Spray* para assim depositar sobre ele o solvente. Desta forma também foram realizadas as análises das amostras obtidas das simulações de incêndios. Para garantir os resultados foram realizados brancos do papel filtro e do analisador.

### 3.5 Tratamento de dados por métodos quimiométricos

Para o tratamento de dados por PCA os dados foram colocados no Excel para formar a matriz  $\mathbf{X}$  com 177 espectros das amostras nas linhas e 921 variáveis nas colunas. No software MATLAB foi aplicada a rotina para tirar as médias das triplicatas e formar uma matriz  $\mathbf{X}$  (49 x 921). Assim a matriz  $\mathbf{X}$  foi analisada pelo método PCA, sendo os dados centrados na média previamente, como forma de pré-processamento.

Além, de analisar os dados por PCA, estes também foram analisados por PLS-DA, e por tratar-se de três classes de combustíveis utilizou-se o modelo PLS2-DA. Neste caso, utilizou-se a mesma matriz  $\mathbf{X}$  (49 x 921) e se gerou uma matriz  $\mathbf{Y}$  com informação de codificação atribuída para cada classe de combustível. A seguir apresenta-se um exemplo gráfico de codificação para as  $n$  amostras dos três combustíveis da matriz  $\mathbf{Y}$ :

	Diesel	Gasolina	Queroseno
→	1	0	0
→	1	0	0
→	0	1	0
→	0	1	0
→	0	0	1
→	0	0	1

Codificação por classe de combustível  
(Matriz  $Y_{n \times 3}$ )

Figura 15 Representação gráfica de uma codificação usada para as três classes de combustíveis

Para construção do modelo utilizou-se o algoritmo Kennard – Stone, com o objetivo de selecionar sistematicamente 2/3 das amostras para o conjunto de treinamento e 1/3 para o conjunto de teste. Como pré-processamento dos dados, estes foram centrados na média e utilizou-se validação cruzada pelo método de subconjuntos aleatorizados.

Neste trabalho, foi utilizado OPS para avaliar o modelo obtido por PLS2-DA e o modelo obtido fazendo seleção de variáveis, visando otimizar o modelo com baixo valor na soma RMSECV, alto coeficiente de correlação ( $R_{cv}$ ) e um menor número de variáveis selecionadas (29).

No caso de acordância, realizou-se por triplicata amostras de diesel evaporado, gasolina evaporada e por duplicata amostras de querosene evaporado e testadas no modelo obtido. No entanto, no caso da concordância não foi possível realizar os cálculos devido que na literatura só utilizam este parâmetro para avaliar os resultados em diferentes laboratórios. Neste caso as análises foram só realizados no laboratório 173 do Departamento de química da Universidade Federal de Minas Gerais.

***CAPITULO 4***  
***RESULTADOS E DISCUSSÃO***

Os compostos contendo heteroátomos (enxofre, nitrogênio e oxigênio) são muito importantes a nível regulatório nos combustíveis derivados do petróleo, devido a sua contribuição para a instabilidade deles durante o armazenamento e seu aporte de NO<sub>x</sub> e SO<sub>x</sub> na poluição do ar, durante a combustão. Apesar dos tratamentos realizados durante o processamento do petróleo para eliminar estes compostos, é quase impossível remove-los completamente (33-35). No entanto, estes componentes são mais polares e permitem sua visualização por meio de uma técnica de ionização de alta sensibilidade como ESI e PS, tornando-se uma vantagem para as análises em questão. Sabe-se que os hidrocarbonetos saturados típicos não respondem bem a esta técnica de ionização por não apresentar sítios ácidos ou básicos que favoreçam a protonação ou desprotonação da molécula.

#### 4.1. Otimização das condições experimentais

As primeiras análises foram realizadas para os combustíveis gasolina, querosene e diesel na forma líquida. Estas amostras foram fornecidos pelo LEC/UFGM. Nestas análises otimizou-se as condições e parâmetros do espectrômetro de Massas Thermo LCQ Fleet com o sistema *Paper Spray*. Nesta otimização, observou-se que quando se trabalhava em modo positivo, a obtenção de íons era maior e visível. Portanto, todos os espectros foram adquiridos no modo positivo em *full scan* na faixa de 80-1000 *m/z*. Também foi possível detectar que a garra jacaré era facilmente contaminada pelo contato do papel impregnado com combustíveis. Portanto, colocou-se um clip metálico para cada triângulo de papel (Figura 13), minimizando assim a contaminação entre os combustíveis. Assim, otimizou-se para as amostras de combustível líquidas, o solvente (metanol, acetonitrila e suas misturas com água, ácido fórmico e acetato de amônio) e a voltagem aplicada ao triângulo para facilitar a formação de gotículas que permitam observar a maior formação de sinais (íons protonados [M+H]<sup>+</sup>) no espectrômetro.

Nos primeiros testes de otimização, observou-se que quando utilizava-se o metanol puro como solvente para gasolina líquida, o espectro obtido, apresentava alta intensidade para os íons *m/z* na faixa de 80 a 200 (pico base

$m/z$  182 com N.L.  $1.44E4$ ) e na faixa de  $m/z$  400 a 1000 observou-se a acumulação de sinais (Figura 16A).

Em seguida, utilizou-se como solvente acetonitrila pura e observou-se uma variação na ionização. Neste espectro, os sinais dos íons  $m/z$  na faixa de 80 a 200 diminuíram notavelmente, no entanto, apareceram outros íons com intensidades maiores com  $m/z$  210, 230, 244, 258, 272, 286, 300, 369, 495, 523 e 551 (pico base  $m/z$  551 com N.L.  $3.31E4$ ) (Figura 16B).

Na literatura, Adelhelm et al. (2008), Commodo et al. (2011), Wanderson et al. (2016), entre outros, reportaram a oxidação de algumas moléculas de hidrocarbonetos lineares, além da formação de dímeros de compostos nitrogenados e sulfonados na faixa 400-1000  $m/z$ , tornando o espectro muito complexo para interpretar visualmente.

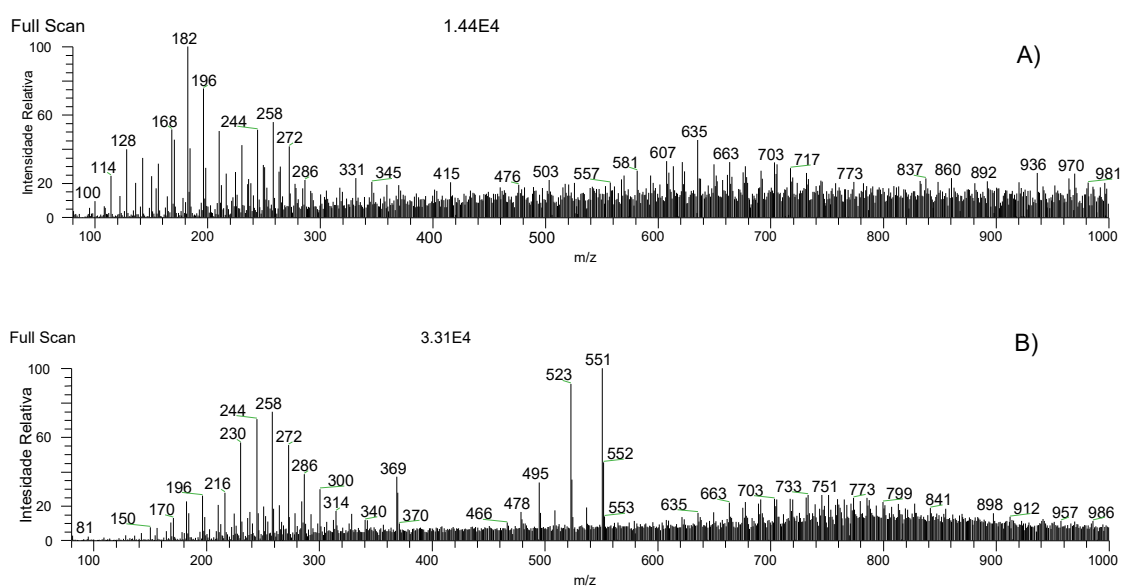
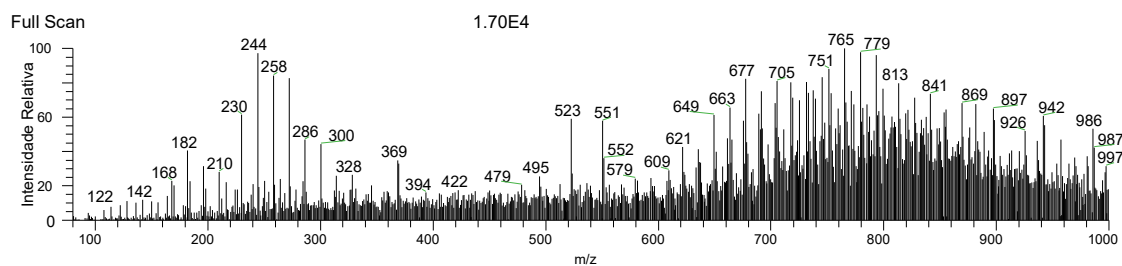


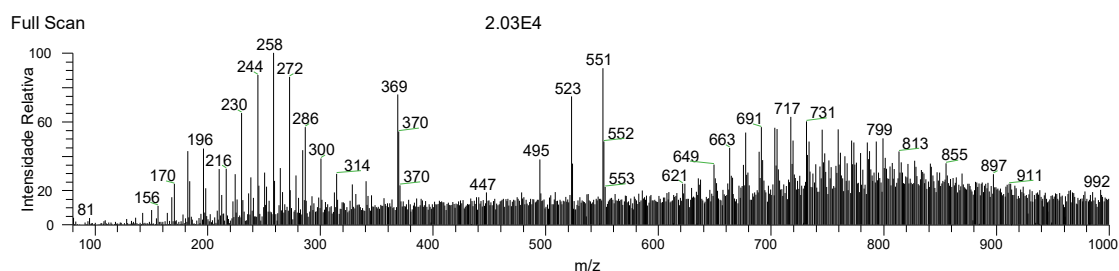
Figura 16 PS(+)-MS. Modo *full scan*. Faixa de massas: 80-100  $m/z$  Amostra: gasolina líquida. Solvente de ionização: A) metanol, B) acetonitrila. Temperatura do capilar:  $350^{\circ}\text{C}$ ; Voltagem no *Paper Spray*: 4,0 kV.

Para tentar melhorar a ionização dos componentes da gasolina, acrescentou-se com 0,1% ácido fórmico nos solventes metanol e acetonitrila, visando favorecendo a transferência de prótons na faixa de 500-1000  $m/z$ . Pode-se observar que os íons dessa faixa foram melhor visualizados, mas aumentou o ruído.

A) Temperatura do Capilar: 350 °C



B) Temperatura do Capilar: 350 °C



C) Temperatura do Capilar: 150 °C

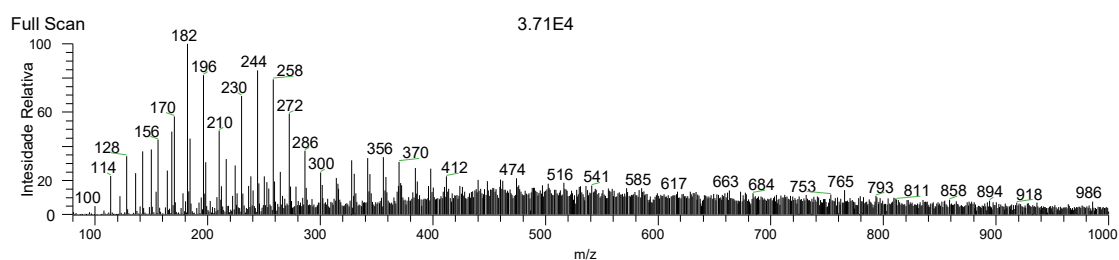


Figura 17 PS(+)-MS. Modo *full scan*. Faixa de massas: 80-100 *m/z*. Voltagem no *Paper Spray*: 4,0 kV. Amostra: gasolina líquida. Solvente de Ionização: adição de 0,1 % de ácido fórmico a A) metanol, B) acetonitrila e C) acetonitrila.

Nesta otimização do solvente para as amostras de gasolina, observou-se que a produção de íons positivos melhorou com o aumento da temperatura do capilar mais exatamente na faixa de *m/z* de 500 a 1000. Alguns espectros obtidos com outras misturas de solventes, que foram menos promissoras, são apresentados no Anexo I.

Portanto as melhores condições para a gasolina foram: temperatura do capilar de 350°C e voltagem do capilar de 16 V usando como solvente

acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico, por apresentar menos ruído e maior quantidade de íons na faixa de  $m/z$  500 -1000.

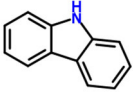
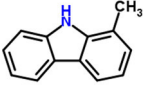
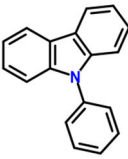
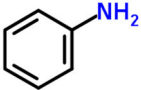
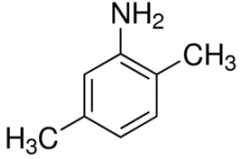

Na faixa de  $m/z$  80-400 os espectros da gasolina apresentam vários picos com uma diferença relativa de 14 unidades de massa. Estes picos tipicamente são atribuídos à diferença de  $\text{CH}_2$  de cadeias alquílicas para a mesma classe de componente. Assim, Commodo, et. al. (2011) e Jjunju et.al (2014) identificaram séries homólogas que foram reportadas em seus trabalhos e são apresentadas na tabela 5 (36).

Tabela 5 Íons reportados na literatura (34, 36)

<b>[M+H]<sup>+</sup></b>	<b>Números CH<sub>2</sub></b>
<b><u>Piridinas</u></b>	
108	C <sub>2</sub>
122	C <sub>3</sub>
136	C <sub>4</sub>
150	C <sub>5</sub>
<b><u>Carbazóis</u></b>	
168	C <sub>0</sub>
182	C <sub>1</sub>
196	C <sub>2</sub>
210	C <sub>3</sub>
<b><u>Fenil Carbazóis</u></b>	
<u>244</u>	C <sub>0</sub>
<u>258</u>	C <sub>1</sub>
<u>272</u>	C <sub>2</sub>
<u>286</u>	C <sub>3</sub>

Na tabela 6 são apresentadas algumas estruturas que foram destacadas por Jjunju et al. (2014) no petróleo utilizando DAPCI (dessorção por ionização química à pressão atmosférica), e que provavelmente são as moléculas encontradas nos espectros da gasolina.

Tabela 6 Estruturas moleculares detectadas e reportadas na literatura (37)

Nome	Estrutura molecular	$[M+H]^+$
Carbazol		168
N-metilcarbazol		182
N-fenilcarbazol		244
Anilina		94
2,5-dimetilanilina		122
Dibenzoquinolina		230

Estes compostos estão de acordo com as  $m/z$  observadas nos espectros da gasolina analisada neste trabalho e podem ser utilizados como íons marcadores para identificação da gasolina.

Após otimizar as condições de análise para a gasolina, aplicou-se inicialmente o mesmo procedimento para o diesel e querosene líquidos. Entretanto, observou-se que a temperatura do capilar de 350 °C não permitiu ver íons característicos do diesel nem do querosene, portanto, a temperatura do capilar foi ajustada novamente para 150°C e a voltagem do capilar de 55 V

favorecendo a ionização dos íons nas amostras de diesel líquido. No entanto, não foi possível ter bons resultados com acetonitrila para as amostras de diesel. Assim que, observou-se que as moléculas que fazem parte da composição do diesel foram melhor ionizadas com metanol e adição de 0,1% de ácido fórmico.

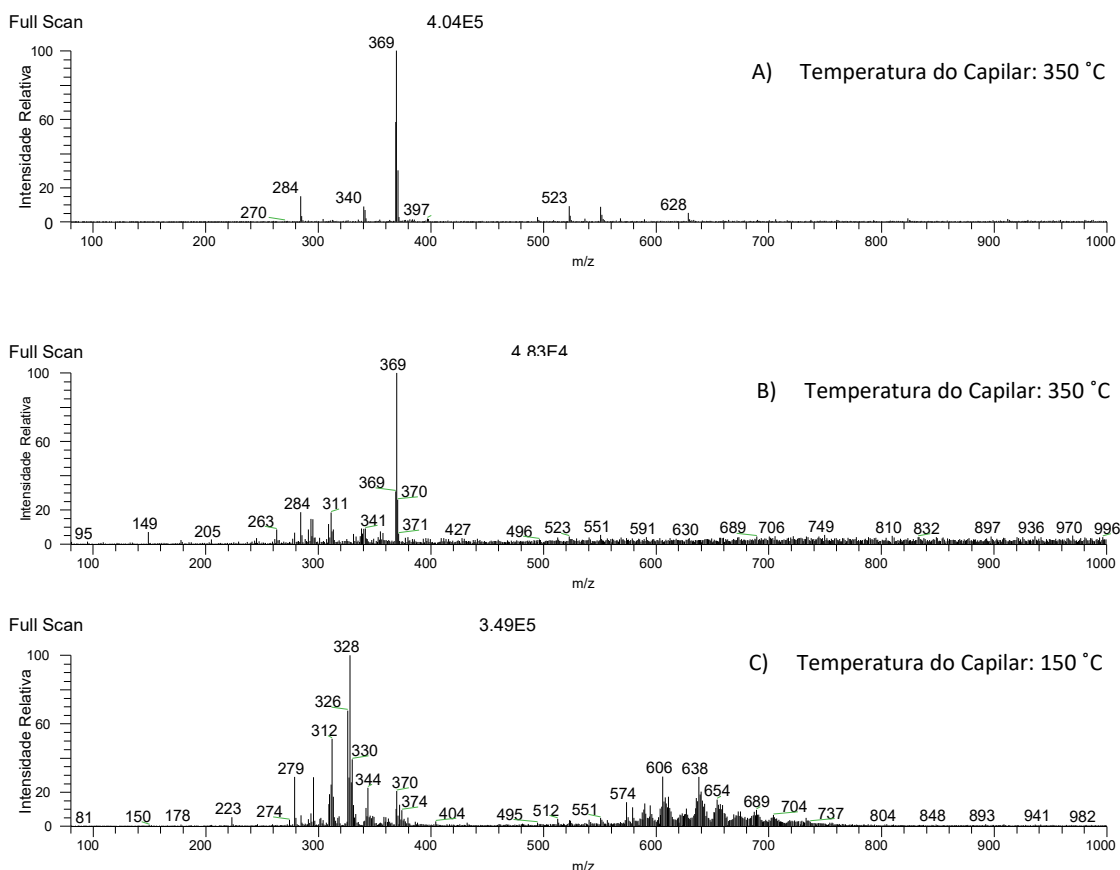


Figura 18 PS(+)-MS. Modo *full scan*. Faixa de massas: 80-100  $m/z$ . Voltagem no *Paper Spray*: 4,0 kV. Amostra: diesel líquido. Solvente de Ionização: adição de 0,1 % de ácido fórmico a A) acetonitrila, B) metanol e C) metanol.

Sabe-se que o diesel comercializado no Brasil, por legislação, contém entre 7% e 8% de biodiesel em sua composição, segundo a Lei 13.263 de 23 de março de 2016. Essa lei foi estabelecida devido ao compromisso do Governo para a redução na contaminação do ar, pela geração de  $NO_x$  e  $SO_x$  na combustão do diesel. A Sociedade Nacional de Agricultura num comunicado de 20 de julho de 2016 em sua página eletrônica (<http://sna.agr.br/consumo-e-producao-de-biodiesel-no-brasil-registram-queda-em-2016/>), reportou que o óleo de soja respondeu à média de janeiro e maio de 2016 por 78% de todo o

biodiesel fabricado em território brasileiro, seguido das gorduras animais (18%), óleo de algodão (1%) e óleo de fritura usado (1%).

Como os líquidos combustíveis utilizados como acelerantes são desconhecidos, foi necessário utilizar uma condição analítica de compromisso que fosse adequada para a análise de qualquer um dos 3 combustíveis estudados. Desta forma, avaliou-se uma mistura de metanol:acetonitrila (50:50) com 0,1% de ácido fórmico para analisar as amostras de incêndios, afim de identificar qualquer dos líquidos combustíveis nomeados aqui neste trabalho. Os parâmetros de voltagem do capilar, temperatura do capilar e voltagem das lentes foram escolhidos a partir dos espectros de massas obtidos para diesel, pois observou-se que altas temperaturas do capilar (350 °C) desfavorecem o trajeto dos íons formados a partir das amostras de diesel da ponta do triângulo à entrada do analisador. Assim optou-se por trabalhar com o capilar à temperatura 150 °C como condição de compromisso, ainda que para a gasolina, a formação de íons na faixa de  $m/z$  500-1000 tenha sido um pouco sacrificada. Então, neste trabalho para atender os três tipos de líquidos combustível escolheram-se os seguintes valores para os parâmetros instrumentais.

Tabela 7 Parâmetros otimizados para a ionização por PS(+)-MS.

<b>Parâmetros</b>	<b>Valor</b>
Voltagem do capilar	55 V
Temperatura do capilar	150 °C
Voltagem das lentes	25 V
Voltagem no <i>Paper Spray</i>	4 kV
Solvente	Metanol:Acetonitrila 50:50 com ácido fórmico 0,1%

A Figura 19 apresenta os espectros dos combustíveis estudados na condição de compromisso estabelecida neste trabalho.

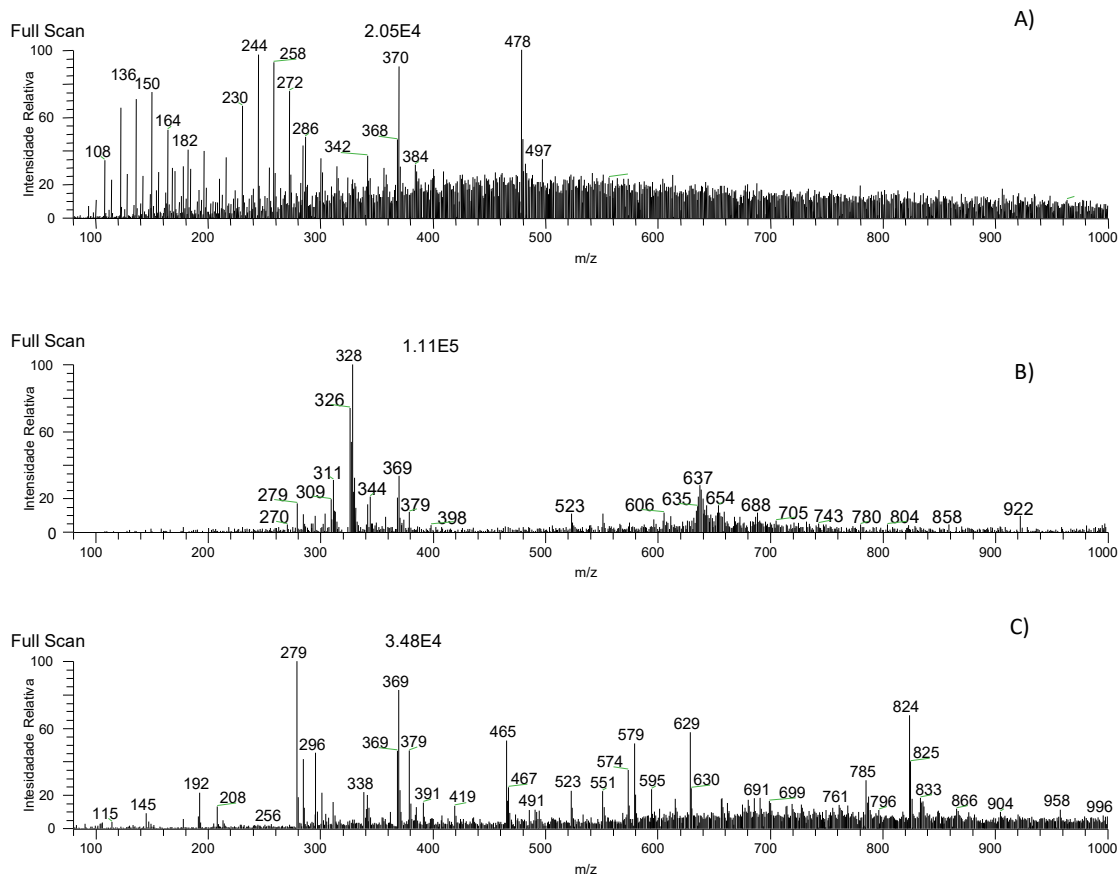


Figura 19 PS(+)-MS. Modo full scan. Faixa de massas: 80-100  $m/z$ . Parâmetros otimizados. Amostras líquidas A) gasolina, B) diesel e C) querosene.

A literatura descreve que os sinais observados nas faixas de  $m/z$  de 500 a 1000 se devem provavelmente à formação de dímeros de compostos nitrogenados ou de enxofre como os benzotiofenos, que podem formar adutos com sódio  $[M+Na]^+$  e dímeros de enxofre SO-SO ou SO-N (34).

Nos espectros de massas do diesel líquido (Figura 19B), pode-se observar íons na faixa de  $m/z$  200-400 e de  $m/z$  500-900. O diesel contém hidrocarbonetos lineares, entretanto estes compostos não são facilmente ionizados, principalmente utilizando técnicas de ionização ambiente, como é o caso de *Paper Spray*. No entanto, é possível a detecção de ácidos graxos na faixa de  $m/z$  de 200-400, compostos típicos do biodiesel. Esses estão presentes devido à atual mistura de 8% (B8) declarada na Lei 13,263 de março de 2016. Provavelmente, os íons positivos encontrados nos espectros das amostras enriquecidas com diesel são de ésteres metílicos de ácidos graxos que têm sido descritos na literatura e que podem variar de massa dependendo

da fonte de obtenção do biodiesel, ou seja, se o biodiesel é produzido a partir do óleo de soja, de palma, mamona, etc. Normalmente estes podem formar  $[M+H]^+$ ,  $[M+Na]^+$ ,  $[M+K]^+$  e dímeros entre eles  $[M_2+H]^+$ ,  $[M_3+H]^+$  ou mistura deles. No caso da ionização por PS ou ESI, o grau de transferência de carga (formação de íons com uma ou múltiplas cargas) tipicamente aumenta com o incremento da massa molecular. Normalmente, abaixo de 500 Da, as moléculas se caracterizam por íons protonados com uma única carga  $[M+H]^+$  (36). Outros compostos reportados que podem estar presentes nos espectros de massas do diesel são os monoglicérides e os diglicérides, compostos que fazem parte dos marcadores naturais do biodiesel.

Os espectros anteriores, obtidos por *Paper Spray* foram comparados com a ionização ESI no mesmo equipamento, sob as mesmas condições e parâmetros.

A seguir nas Figura 20, 21 e 22, apresenta-se alguns espectros de massas obtidos por ESI comparados com PSI, observa-se uma mudança nos íon produzidos pelos duas fontes de ionização. No caso do diesel, faz-se um aumento na faixa de  $m/z$  250-420. Ao observar detalhadamente nota-se que os íons com maior intensidade nos espectros obtidos por ESI são os íons mais representativos, com  $m/z$  311 e 333, e na PSI são  $m/z$  312 e 328. Assim, pode-se ver que para algumas moléculas do diesel o fato de ionizar no papel filtro pode gerar interações possivelmente com alguns grupos hidroxilas da celulose.

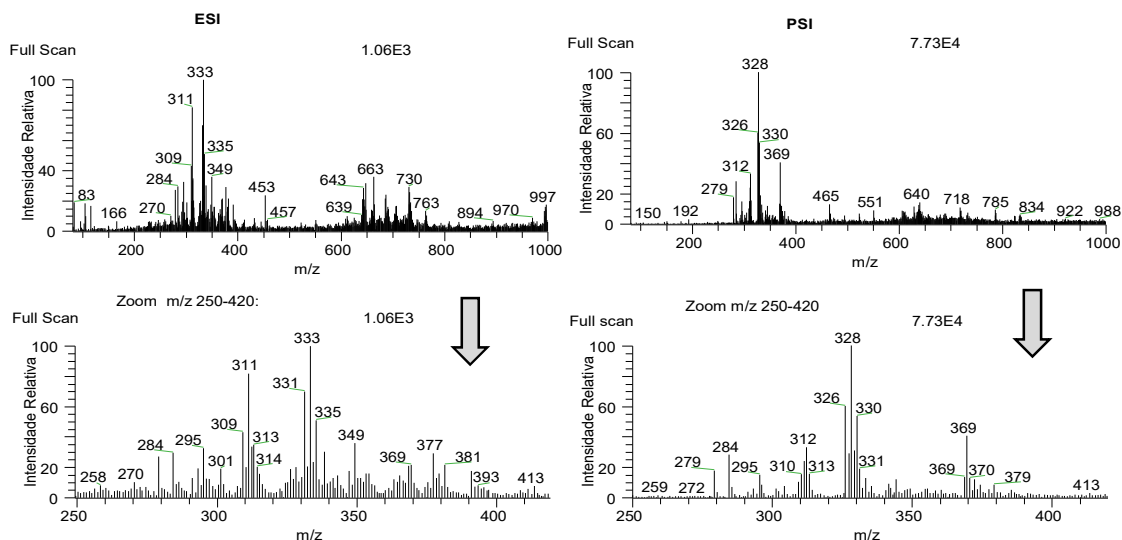


Figura 20 ESI(+)-MS (esquerda) e PS(+)-MS (direita). Amostra de diesel líquido

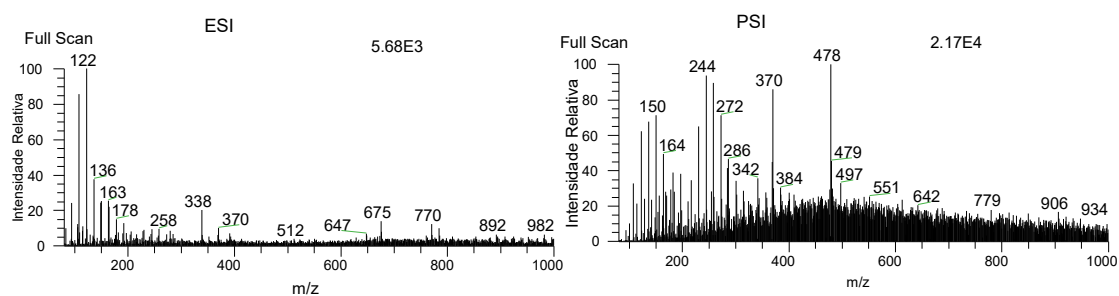


Figura 21 ESI(+)-MS (esquerda) e PS(+)-MS (direita). Amostra de gasolina líquida

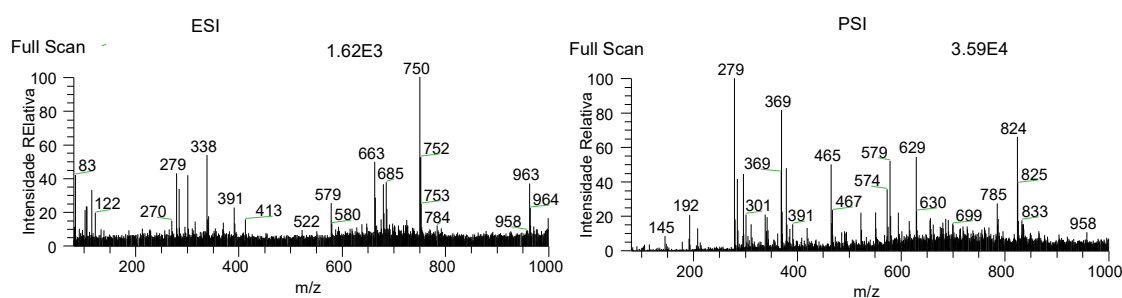


Figura 22 ESI(+)-MS (esquerda) e PS(+)-MS (direita). Amostra de querosene líquido

Neste estudo se realizaram vários experimentos para otimizar a mínima quantidade dos combustíveis que se poderia adicionar dentro do frasco, como apresentado na figura 13 e que resultasse em um espectro característico do combustível evaporado. Neste caso, utilizando 30  $\mu$ l de combustível e empregando o papel filtro no método “*headspace*” modo passivo, notou-se a

adsorção de moléculas voláteis dos combustíveis visíveis nos espectros de massas com comportamento similar aos obtidos nos líquidos, só que variando as abundâncias relativas, especialmente para as moléculas mais leves.

É importante frisar que as moléculas que aderem-se ao papel filtro são aquelas que interagem com os grupos hidroxilas da celulose (38) ou aquelas moléculas que sendo voláteis podem-se depositar nos poros do papel. Por essa razão é importante que as análises sejam realizadas no momento de retirar o triângulo de papel do frasco de vidro, pois algumas dessas moléculas voláteis podem se perder à temperatura ambiente ou degradar facilmente. Os espectros obtidos não são de fácil interpretação (Figura 23).

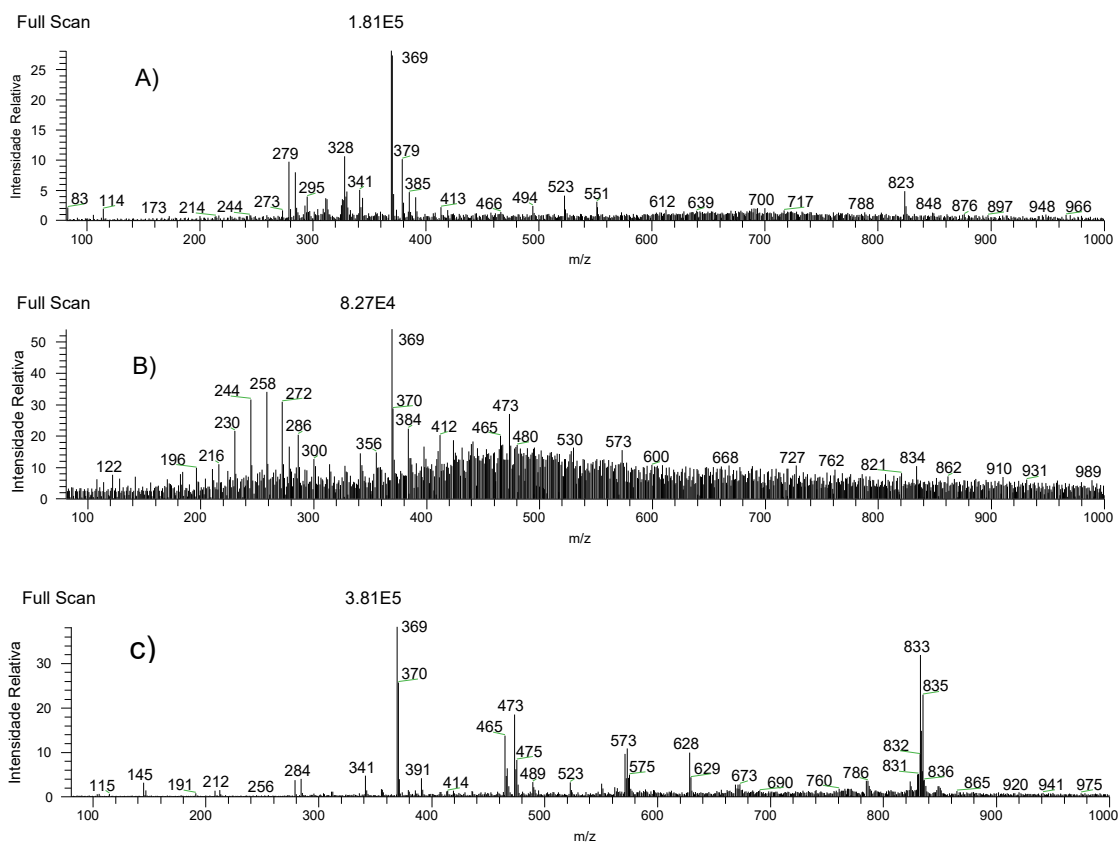


Figura 23 Alguns espectros de massas de amostras evaporadas A) diesel, B) gasolina e C) querosene

No caso das amostras de incêndio simuladas, pode-se observar com os experimentos que a forma para melhorar a aderência das moléculas ao papel foi adicionando no frasco a água, que mantém a temperatura do frasco estável e fornece a deslocalização das moléculas de combustível do vestígio até o

papel. A escolha dos materiais foi baseada na capacidade deles em reter o líquido combustível em seu interior. Não foi necessário interromper os incêndios realizados com estes materiais por abafamento, pois o líquido combustível era absorvido pelo material e alguns segundos após atear fogo nas amostras de solo, madeira e cimento embebidos com combustível, já se observava a extinção das chamas.

Todas as amostras descritas na parte experimental (49 no total) foram analisadas nas condições estabelecidas na otimização. Obteve-se então as impressões digitais (*fringerprint*) dos tipos de líquidos combustíveis nas diferentes condições (líquido, evaporado e incêndio simulado) e por tratar-se de substâncias tão complexas e espectros de difícil interpretação visual, aplicou-se quimiometria no conjunto de espectros obtidos nas análises, a fim de classificar as amostras em grupos por tipo de combustível, incluindo as amostras nomeadas como evaporadas e as amostras como incêndios simulados.

## **4.2 Resultados do tratamento de dados por quimiometria.**

### **4.2.1 Análise de componentes principais (PCA)**

Inicialmente avaliou-se os dados por meio do modelo PCA. Os dados espectrais foram arranjados numa matriz  $\mathbf{X}$  (49 x 921), aplicando rotina para a média das triplicatas. O modelo PCA explicou 70,46% da variância dos dados com 3 componentes principais. Analisando os outros componentes principais, estes não apresentam informação relevante para classificar os combustíveis.

Na figura 24, apresenta-se os escores para cada componente principal: CP1 (48,60%), CP2 (15,23%) e CP3 (6,63%).

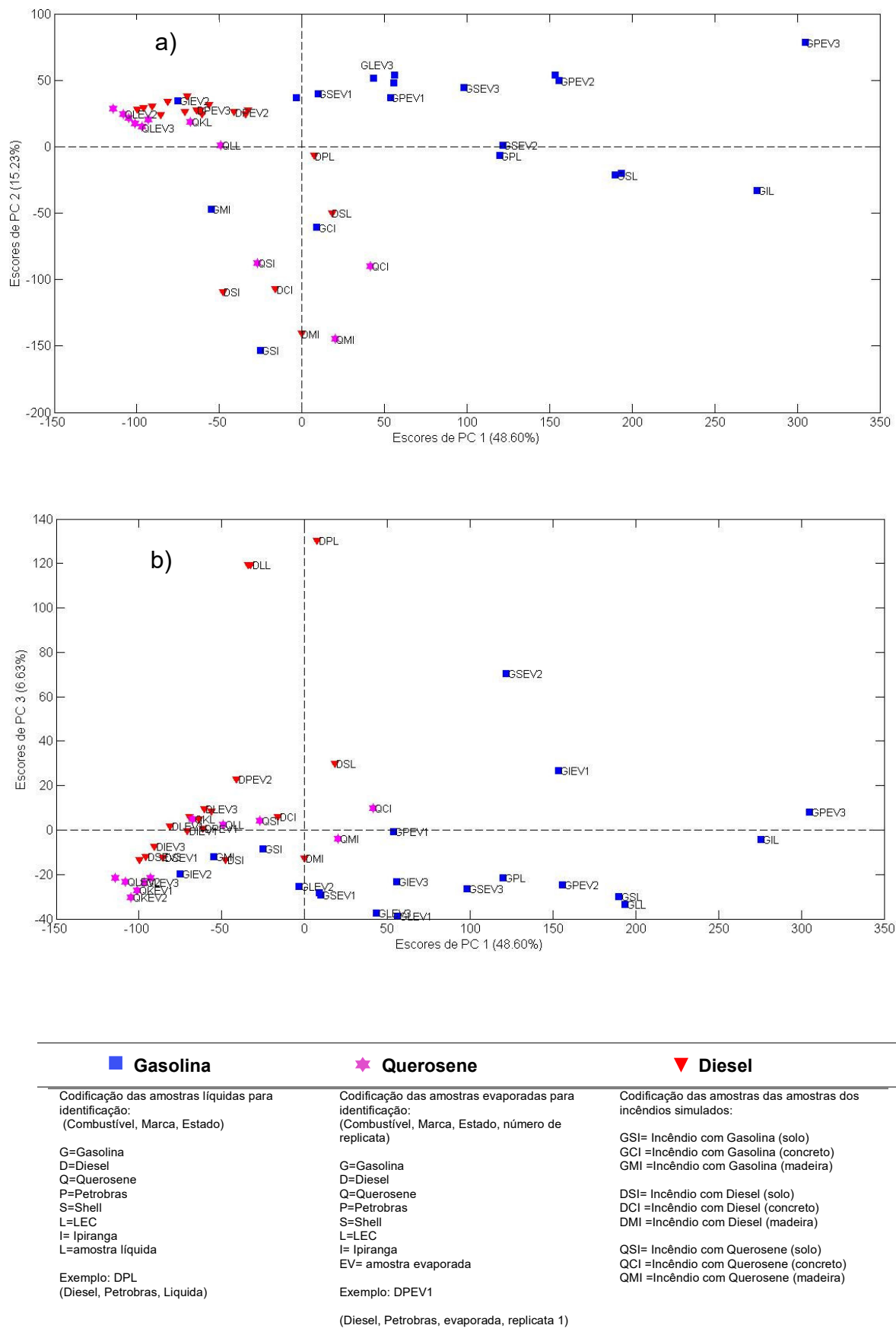


Figura 24 Escores PCA. a) Escores PC1 vs. PC2. b) Escores PC1 vs. PC3.

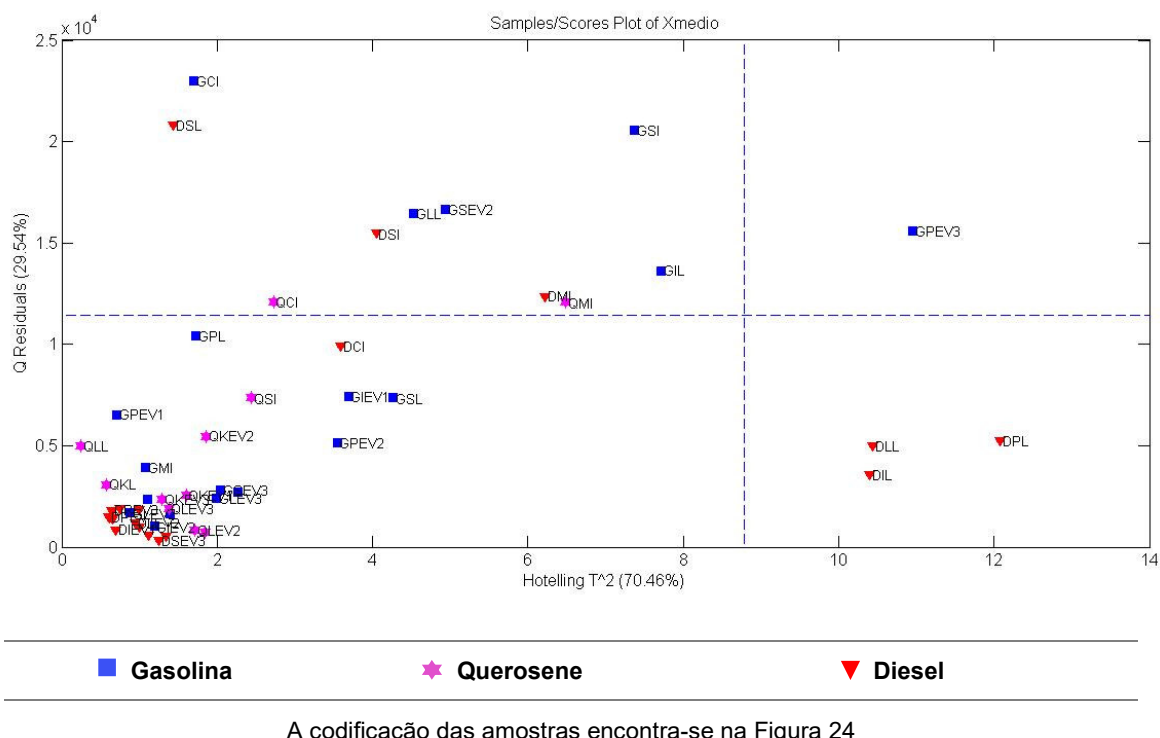


Figura 25 Determinação de amostras anômalas: Valores de Hotelling T<sup>2</sup> vs. Resíduos Q das amostras

Na figura 25 pode-se determinar para o modelo PCA que a amostra GPEV3 (Gasolina, Petrobras, Evaporada, replica 3) é anômala por tanto pode ser rejeitada. Além disso, observa-se que as amostras de incêndio e as amostras líquidas apresentam altos valores de resíduos Q, este fenômeno pode ser explicado pelo fato de incluir nos dados três tipos de amostra preparadas de forma diferente ou o aporte de materiais de interferência, neste caso pode-se tratar da matriz.

Ao analisar os pesos de cada um dos componentes, pode-se ver que o componente principal 1 (PC1) apresenta uma configuração similar ao espectro da gasolina com uma acumulação de sinais na faixa  $m/z$  400-1000, que não permite fazer uma separação ou classificação dos combustível. Vale lembrar que o petróleo contém moléculas nitrogenadas e sulfuradas, como mencionado no capítulo anterior, que podem estar presentes nos destilados do petróleo em quantidades variáveis, provocando esta dificuldade de agrupamento das amostras. No caso PC3, esse consegue fazer um aporte significativo para agrupar as amostras tentando diferenciar a gasolina do querosene e do diesel.

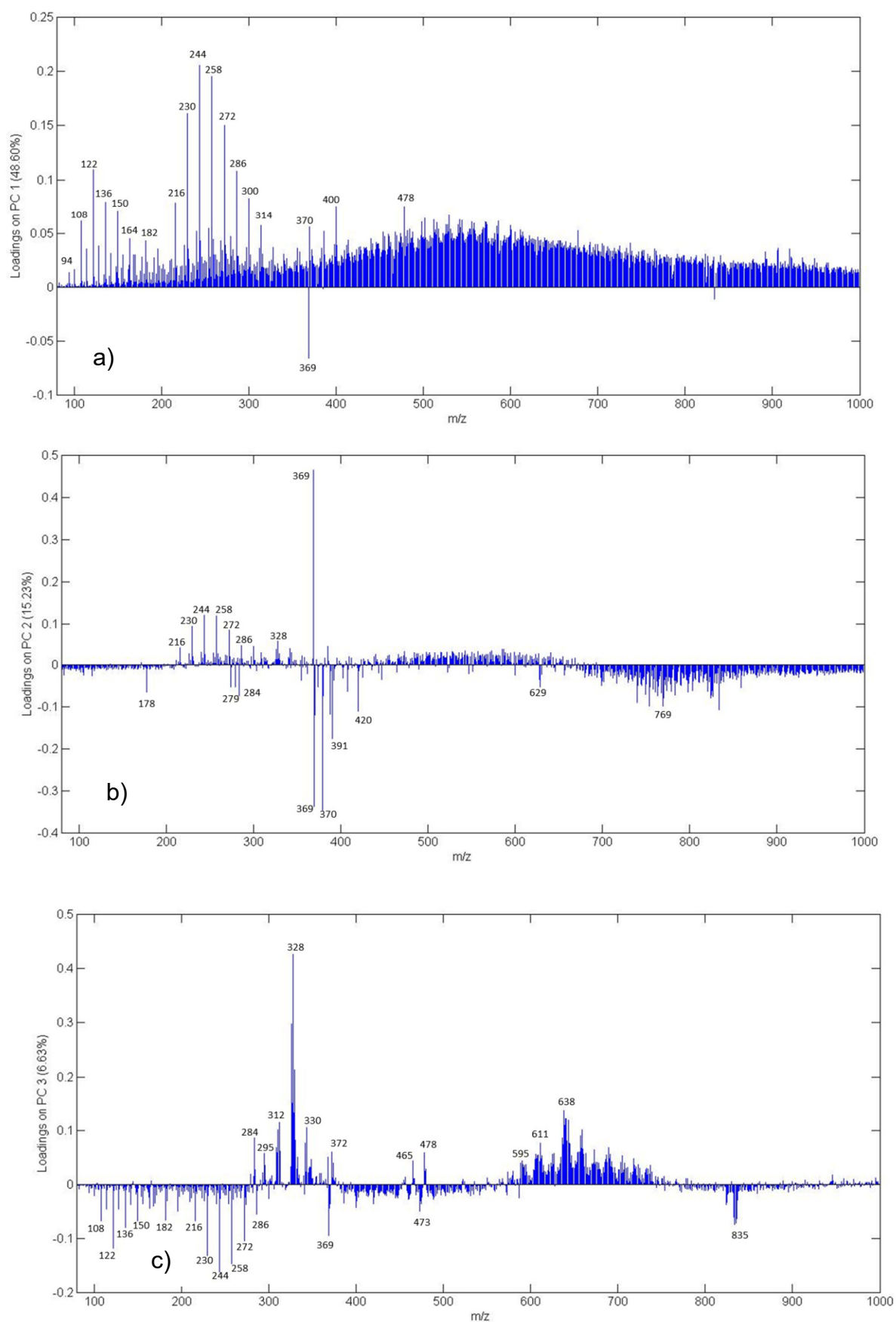


Figura 26 Pesos (loadings) das componentes principais do modelo PCA. a) PC1, b) PC2 e c) PC3

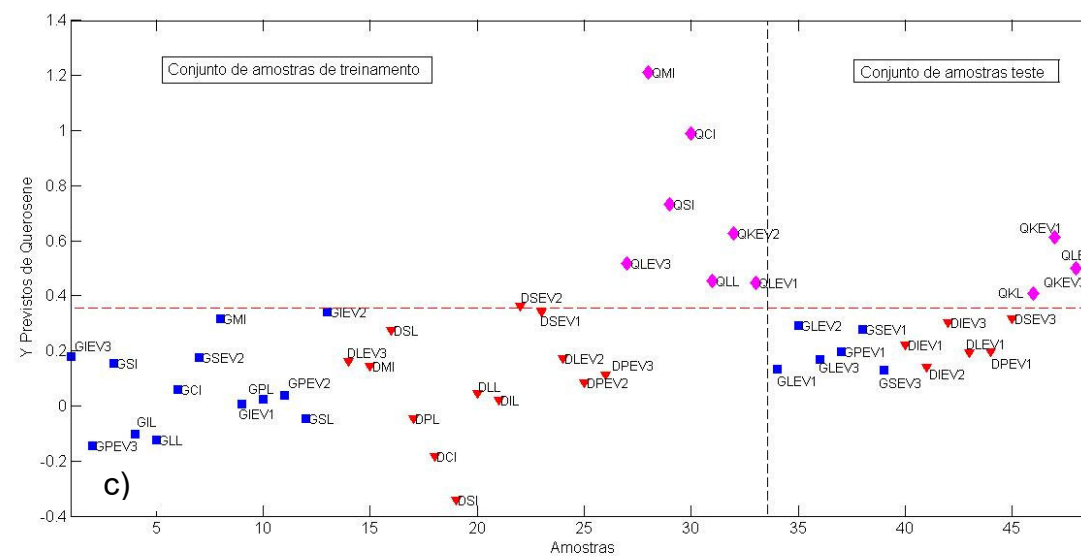
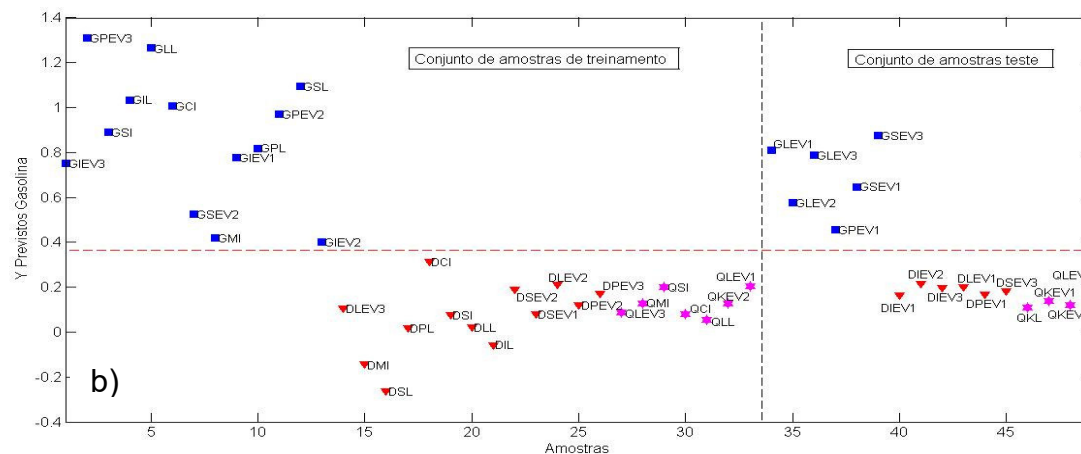
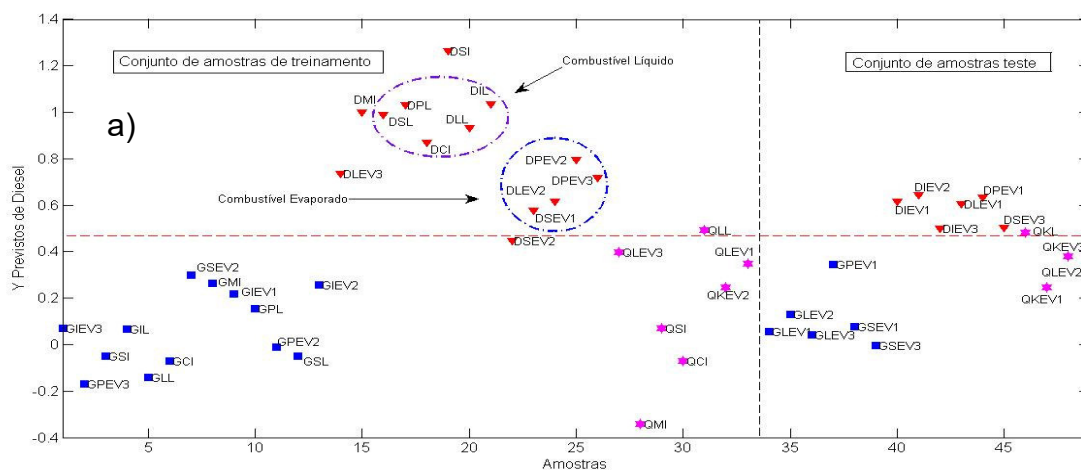
Assim, os íons responsáveis por agrupar as amostras da gasolina são principalmente  $m/z$  108, 122, 136, 150, 182, 210, 230, 244, 258, 272, 286 e para os outros combustíveis na PC3, pode-se ver íons obtidos nos combustíveis do diesel como  $m/z$  284, 295, 312 e 328, além dos íons na faixa de  $m/z$  500-1000.

Neste caso, o modelo PCA não conseguiu agrupar as amostras adequadamente, devido à grande dispersão dos dados e sobreposição entre os escores principalmente no caso de diesel e querosene. Esses combustíveis apresentam similaridades nos espectros e visualmente não podem ser diferenciados. Assim, avaliou-se a possibilidade de aplicar a classificação supervisionada conhecida como PLS-DA. Esse modelo foi aplicado para diferenciar as três classes de combustível como PLS2-DA formando uma matriz  $Y$  (49 x 3).

#### 4.2.2 Análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS2-DA)

Para iniciar foram selecionados os conjuntos de treinamento e teste por meio do algoritmo conhecido como Kennard-Stone. Utilizaram-se os espectros médios das 49 amostras (combustíveis líquidos, evaporados e as simulações de incêndios). O resultado da escolha sistemática do algoritmo foi utilizar 33 espectros de amostras para treinamento e 16 espectros de amostras para teste. O modelo PLS2-DA aplicado sobre as amostras descreveu 75,50% da variância na matriz  $X$  e 72,04% da variância na matriz  $Y$  com 5 variáveis latentes (VL).

A figura 27 apresenta a separação das amostras de líquidos combustíveis, combustíveis evaporados e amostras de incêndios simuladas. Embora as amostras apresentem muita variabilidade, o modelo PLS2-DA conseguiu classificá-las, incluído também as amostras que foram preparadas a partir de incêndios simulados em matrizes diferentes.



■ Gasolina

★ Querosene

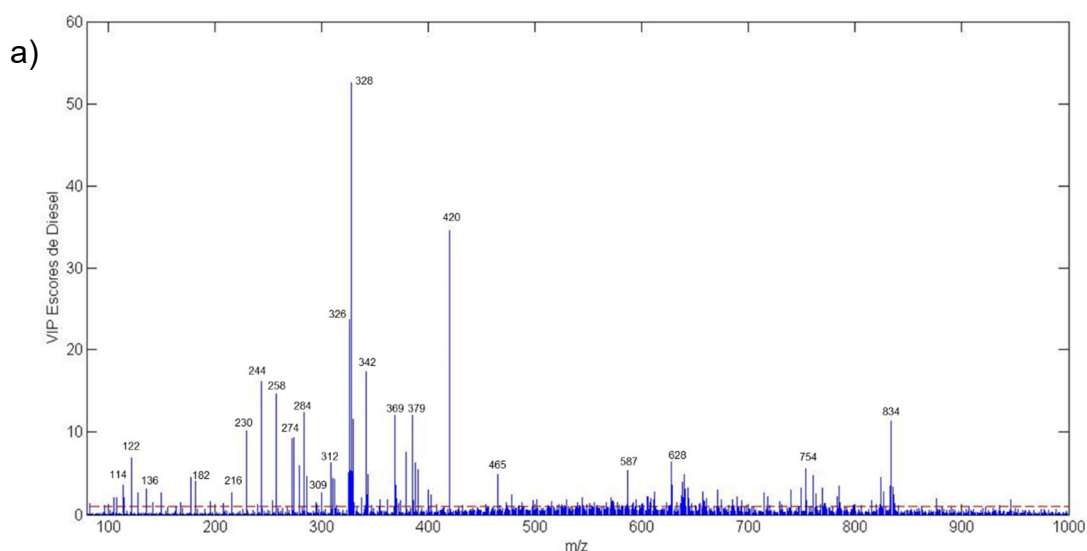
▼ Diesel

A codificação das amostras encontra-se na Figura 24

Figura 27 PLS2-DA Valores previstos. a) Diesel ( $Threshold=0,4672$ ), b) Gasolina ( $Threshold=0,3651$ ) e c) Querosene ( $Threshold=0,3555$ )

Pode-se observar na figura 27 quatro erros de classificação. O limite de decisão (*threshold*) para o modelo do diesel foi 0,4672, para gasolina 0,3651 e para querosene 0,3555. As amostras que foram classificadas erroneamente pelo modelo foram uma das replicatas de diesel marca Shell evaporada e as amostras líquidas de querosene. Todavia, pode-se observar que essas amostras de diesel (Shell) evaporadas estavam localizadas muito perto do limite de decisão das figuras 27a e 27c. É interessante ver como essa ferramenta quimiométrica pode classificar os espectros obtidos de amostras de incêndio simuladas juntamente com os respectivos combustíveis líquidos e evaporados, ainda mais, no caso dos espectros de diesel e querosene que visualmente não podem ser diferenciados. Esses resultados demonstram a aplicabilidade do método empregando PS-MS e quimiometria para identificação de líquidos combustíveis em resíduos de incêndio.

Na Figura 28 pode-se observar os VIP escores de cada um dos modelos, ilustrando os íons que caracterizam as amostras. É possível visualizar que alguns dos íons podem ser encontrados nos três combustíveis. Isso era esperado pelo fato desses combustíveis serem da mesma fonte: destilação do petróleo.



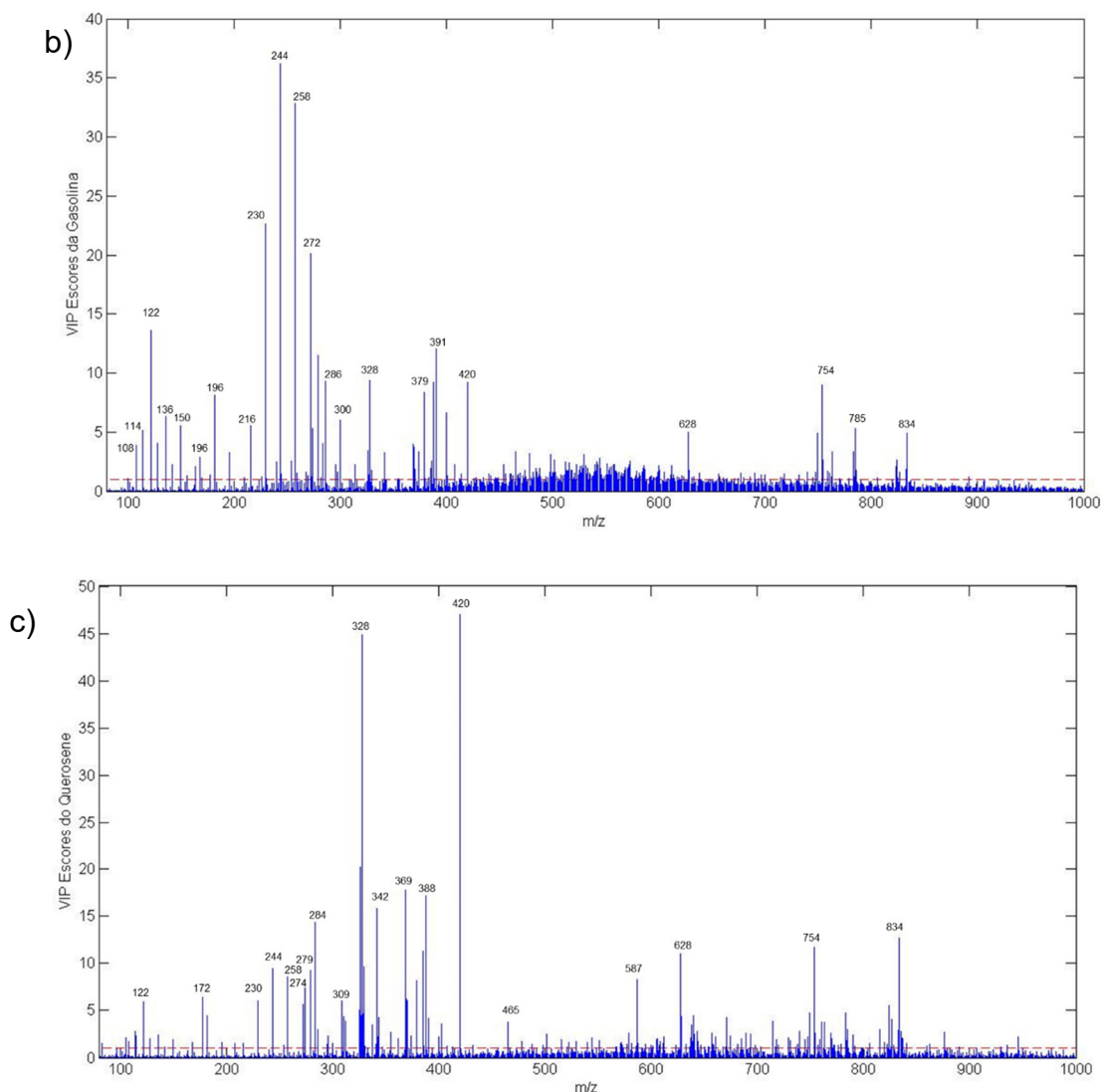


Figura 28 VIP escores do modelo PLS2-DA. a) Diesel, b) Gasolina e c) Querosene

Pode-se observar os íons positivos e como suas intensidades caracterizam cada classe de combustível. Observa-se que apesar de alguns íons estarem presentes nos três combustíveis, a intensidade varia consideravelmente. A seguir apresenta-se as FOM do modelo PLS2-DA.

Na tabela 8 são apresentadas as Figuras de Mérito (FOM) do modelo PLS2-DA. As previsões do modelo apresentaram boa veracidade.

Tabela 8 Figuras de Mérito para métodos de análise qualitativos. Tsen (Taxa de sensibilidade), TFN (Taxa de falsos negativos), TFP (Taxa de falsos positivos), Exa (Veracidade), Tconf (Taxa de confiabilidade), ACO (Acordância)

		<b>Tsen</b>	<b>TFN</b>	<b>Tesp</b>	<b>TFP</b>	<b>Exa</b>	<b>Tconf</b>
		<b>(%)</b>	<b>(%)</b>	<b>(%)</b>	<b>(%)</b>	<b>(%)</b>	<b>(%)</b>
<b>Treinamento</b>	Diesel	92,3	7,7	95,0	7,7	93,9	84,6
	Gasolina	100,0	0,0	100,0	0,0	100,0	100,0
	Querosene	100,0	0,0	96,3	16,7	97,0	83,3
		<b>Tsen</b>	<b>TFN</b>	<b>Tesp</b>	<b>TFP</b>	<b>Exa</b>	<b>Tconf</b>
		<b>(%)</b>	<b>(%)</b>	<b>(%)</b>	<b>(%)</b>	<b>(%)</b>	<b>(%)</b>
<b>Teste</b>	Diesel	85,7	14,3	95,0	0	93,7	85,7
	Gasolina	100	0	100	0	100	100
	Querosene	100	0	100	0	100	100
		<b>Diesel</b>	<b>Gasolina</b>		<b>Querosene</b>		
<b>ACO (%)</b>		88%	100%		66%*		

\*duas amostras

No modelo construído para a gasolina e querosene a taxa de sensibilidade e especificidade foi maior de 90%, no entanto, para o modelo construído para diesel foi superior a 85%. Vale ressaltar, que a taxa de sensibilidade e de especificidade é uma medida de precisão e da habilidade do modelo para classificar e identificar amostras corretamente (Anexo II). No modelo do diesel os valores dos parâmetros de Tsen e Tesp foram menores, isto pode-se explicar devido ao fato do querosene ser produzido na destilação do petróleo em temperaturas intermediárias comparado com as temperaturas de obtenção do diesel e da gasolina. Assim, o querosene é uma substância que apresenta composição intermediária entre o diesel e a gasolina. Entretanto, o modelo PLS2-DA conseguiu fazer uma boa classificação entre os três combustíveis, embora as amostras analisadas apresentem variabilidade (líquidas, evaporadas e simulações de incêndio. Além disso, existem mudanças nos espectros devido a diferentes variáveis como temperatura do ambiente e umidade do laboratório, o sistema manual do *Paper Spray*, instabilidade do equipamento frente à flutuações de corrente elétrica, entre outras, que dificultam a obtenção de espectros mais reprodutíveis.

Em termos de acordância, pode-se evidenciar o fato de que amostras como o diesel apresentam grande quantidade de moléculas de hidrocarbonetos apolares, dificultando sua ionização por esta técnica, sobretudo quando são evaporadas, contrário as amostras com gasolina. Portanto, esperava-se que a acordância das amostras de diesel apresente baixo valor.

No modelo do diesel, pode-se ver que no conjunto de amostras de treinamento obteve-se duas classificações erradas e no conjunto teste, apenas uma. Em termos de avaliação, realizou-se a aplicação de seleção de variáveis pelo método OPS (Seleção de Variáveis dos preditores ordenados), só para diesel, já que este apresentou três erros de classificação no modelo PLS2-DA.

#### *Método de Seleção de Variáveis dos preditores ordenados (OPS)*

Pelo fato antes mencionado, essa seleção de variáveis foi realizada para buscar uma melhor sensibilidade e especificidade do modelo para diesel, que apresentou valores baixos na taxa de sensibilidade. Os parâmetros usados para esse método de seleção de variáveis OPS, inicia no modelo original que foi descrito previamente no item 3.6.3.2, portanto, a escolha inicial de número de variáveis latentes foi 5 ( $h_{\text{modelo}}$ ) e o número de variáveis latentes do modelo teste OPS( $h_{\text{ops}}$ ) 10. Avaliaram-se vários conjuntos de variáveis otimizando os parâmetros RMSECV (Raiz quadrada do erro quadrático médio da validação cruzada),  $R_{\text{cv}}$  (Coeficiente de correlação da validação cruzada) e NVL (Número de Variáveis Latentes). Verificou-se que a seleção de variáveis não apresentou uma melhora significativa nos modelos. Essa seleção de variáveis melhorou um pouco os resultados de RMSECV e  $R_{\text{cv}}$ , mas a melhora da taxa de sensibilidade e especificidade não foi significativa.

No caso do diesel o RMSECV obtido no modelo original com 5 VL foi de 0,47 e fazendo a seleção de variáveis pelo método OPS o valor de RMSECV foi 0,37 com 4 VL (110 variáveis). Apresentou um falso positivo no conjunto das amostras de treinamento e outro no conjunto teste. A taxa de sensibilidade continua sendo 85,7% e a taxa de especificidade aumenta a 95,2%. Rejeitando uma amostra anômala observada no modelo DSEV3 (diesel marca shell evaporada replicata No.3) o RMSECV diminui a 0,33 e a continua em 95% no

conjunto de amostras teste e aumenta a 100% no conjunto de amostras de treinamento, devido a que só apresenta um falso positivo nas amostras do conjunto teste. Essa seleção de variáveis só pode ser realizada para uma classe, ou seja, neste caso foi só para melhorar os resultados da classificação das amostras de diesel. Ao aplicarmos essa seleção de variáveis aos modelos da gasolina e o querosene PLS2-DA, estes são afetados de forma negativa, diminuindo todos os parâmetros de qualidade do método.

Tabela 9 Comparação entre a o Modelo original do diesel e o modelo com seleção de variáveis OPS

Parâmetros	Modelo PLS2-DA Diesel original	Modelo PLS2-DA Diesel (OPS-110 Variáveis)	Modelo PLS2-DA Diesel
			(OPS-110 Variáveis) Rejeitando amostra anômala
NVL	5	4	4
RMSECV	0,47	0,37	0,33
Tsen (treinamento)	92,3	92,8%	100%
Tsen (teste)	85,7%	85,7%	86%
Tesp (Treinamento)	95,0%	95,2%	100%
Tesp (Teste)	95,0%	95,0%	95%

Desta forma, o melhor modelo para classificar as amostras foi o modelo PLS2-DA original, devido a várias situações:

OPS foi desenvolvido em termos de modelos de calibração PLS. Existem pesquisas com muito sucesso do uso de OPS para PLS-DA, mas não em PLS2-DA. Neste trabalho foi possível visualizar o resultado da aplicação do OPS neste tipo de modelo PLS2-DA, não resultando em grande melhoria. Além disso, apenas uma parte do modelo (neste caso modelo para diesel) foi melhorada, sendo que os outros modelos que são correlacionados e que interagem entre si dentro do modelo geral, foram afetados negativamente. Por esse motivo, pode-se evidenciar que o uso de OPS para os modelos PLS2-DA gerados nesse trabalho não é recomendado.

## CONCLUSÕES

Esse trabalho foi desenvolvido procurando uma nova alternativa de análise forense dos vestígios de incêndio baseada em uma técnica de ionização nova, a espectrometria de massas com ionização *Paper Spray*.

Os líquidos combustíveis utilizados neste trabalho são amostras complexas, seus componentes apolares não são facilmente ionizáveis sob as condições físicas e químicas desta técnica. No entanto, o conteúdo de moléculas com heteroátomos nos combustíveis permite estabelecer um *fingerprint* destes devido à maior polaridade dessas moléculas e assim realizar uma diferenciação entre eles.

Observou-se que a ionização da gasolina é mais eficiente com o solvente acetonitrila que com o metanol. Além disso, temperaturas maiores do capilar permitem a formação de íons positivos visíveis na faixa de  $m/z$  500-1000. No caso, do diesel observou-se que a ionização foi mais eficiente com metanol, intensificando no espectro, possivelmente moléculas de ácidos graxos que poderiam ser parte da misturas com biodiesel.

As amostras simuladas de incêndio foram classificadas e separadas pelo modelo PLS2-DA. O uso de OPS não foi significativo, e neste trabalho não teve muito sucesso, devido à grande quantidade de informação das amostras, em termos da complexidade dos espectros.

O modelo PLS2-DA conseguiu classificar e agrupar as amostras de gasolina, diesel e querosene, apresentando uma taxa de sensibilidade acima de 85% e uma taxa de especificidade de 95%. Portanto, a técnica associada com ferramentas quimiométricas apresenta grande potencial para a área forense, podendo ser estendida para outras áreas como ensaios de qualidade de combustíveis, especialmente gasolina, mas tendo em vista suas limitações

Esse trabalho, abre as possibilidades para outras pesquisas na área. Como perspectivas futuras, pode-se melhorar a extração dos combustíveis procurando outros materiais onde as moléculas tenham maior afinidade e

possam ser mais facilmente ionizadas nesta técnica. Pode-se aplicar essa metodologia de adsorção no papel filtro a outras técnicas de ionização com espectrometria de massas. Finalmente, podem-se também confirmar as moléculas encontradas por meio do uso de fragmentação no mesmo equipamento (MS/MS).

## ***BIBLIOGRAFIA***

1. Skoog D.A., James Holler F., Nieman T.A. *Principios de Análisis instrumental*. 5 ed. Madrid, España, 2001.
2. Staufer E., Dolan J.A., Newman R. *Fire Debris Analysis*. 1 ed. United States of America, 2008.
3. Aragão R.F. *Incêndios e explosivos: uma introdução à engenharia forense*. Campinas-SP, 2010.
4. Beens J., Brinkman U.A.T. The role of gas chromatography in compositional analyses in the petroleum industry. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*. 2000 Apr;19(4):260-75.
5. Eide I., Zahlsten K. Chemical fingerprinting of biodiesel using electrospray mass spectrometry and chemometrics: Characterization, discrimination, identification, and quantification in petrodiesel. *Energy & Fuels*. 2007 Nov-Dec;21(6):3702-8.
6. Abreu e Silva D.F. *Aplicação de Espectrometria de Massas com Ionização por Paper Spray na Diferenciação de Amostras de Ginsengs e Quantificação Usando Calibração Multivariada*. Belo Horizonte, Brasil: Universidade Federal de Minas Gerais, 2014.
7. Ren Y., Wang H., Liu J., Zhang Z., McLuckey M.N., Ouyang Z. Analysis of Biological Samples Using Paper Spray Mass Spectrometry: An Investigation of Impacts by the Substrates, Solvents and Elution Methods. *Chromatographia*. 2013 Oct;76(19-20):1339-46.
8. Wang H., Liu J., Cooks R.G., Ouyang Z. Paper Spray for Direct Analysis of Complex Mixtures Using Mass Spectrometry. *Angewandte Chemie-International Edition*. 2010 2010;49(5):877-80.
9. Stashenko E., Martinez J. Aspectos prácticos de la ionización con electrones en la obtención de espectros de masas y su interpretación. *Scientia Chromatographica*. 2009;1(4):19-36.
10. Deng J.W., Yang Y.Y. Chemical fingerprint analysis for quality assessment and control of Bansha herbal tea using paper spray mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. 2013 Jun;785:82-90.

11. Pavia D.L., Lampman G.M., Kriz G.S., Vyvyan J.R. Espectrometria de Massa. In: Learning C, editor. Introdução à Espectroscopia. 4a ed. São Paulo; 2010.
12. Hoffmann E., Stroobant V. Mass Spectrometry: Principles and Applications. 3ra Ed. ed. England, 2007.
13. Oliveira Alves J. Controle de qualidade de azeite de oliva extra virgem e misturas de diesel/biodiesel utilizando espectrometria de massas e validação multivariada. Belo Horizonte, Brasil: Universidade Federal de Minas Gerais, 2014.
14. Lanças F.M. A Cromatografia Líquida Moderna e a Espectrometria de Massas: finalmente “compatíveis”? *Scientia Chromatographica*. 2009;1:31-61.
15. Su Y., Wang H., Liu J.J., Wei P., Cooks R.G., Ouyang Z. Quantitative paper spray mass spectrometry analysis of drugs of abuse. *Analyst*. 2013;138(16):4443-7.
16. Klampfl C.W., Himmelsbach M. Direct ionization methods in mass spectrometry: An overview. *Analytica Chimica Acta*. 2015 Aug 26;890:44-59.
17. Naccarato A., Moretti S., Sindona G., Tagarelli A. Identification and assay of underivatized urinary acylcarnitines by paper spray tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2013 Oct;405(25):8267-76.
18. Schalley C.A. Supramolecular chemistry goes gas phase: the mass spectrometric examination of noncovalent interactions in host-guest chemistry and molecular recognition. *International Journal of Mass Spectrometry*. 2000 Jan;194(1):11-39.
19. Neto B.D.B., Scarminio I.S., Bruns R.E. 25 years of chemometrics in Brazil. *Quimica Nova*. 2006 Nov-Dec;29(6):1401-6.
20. Ferreira M.M.C. Quimiometria-Conceitos, Métodos e Aplicações. Campinas-SP, Brasil, 2015.

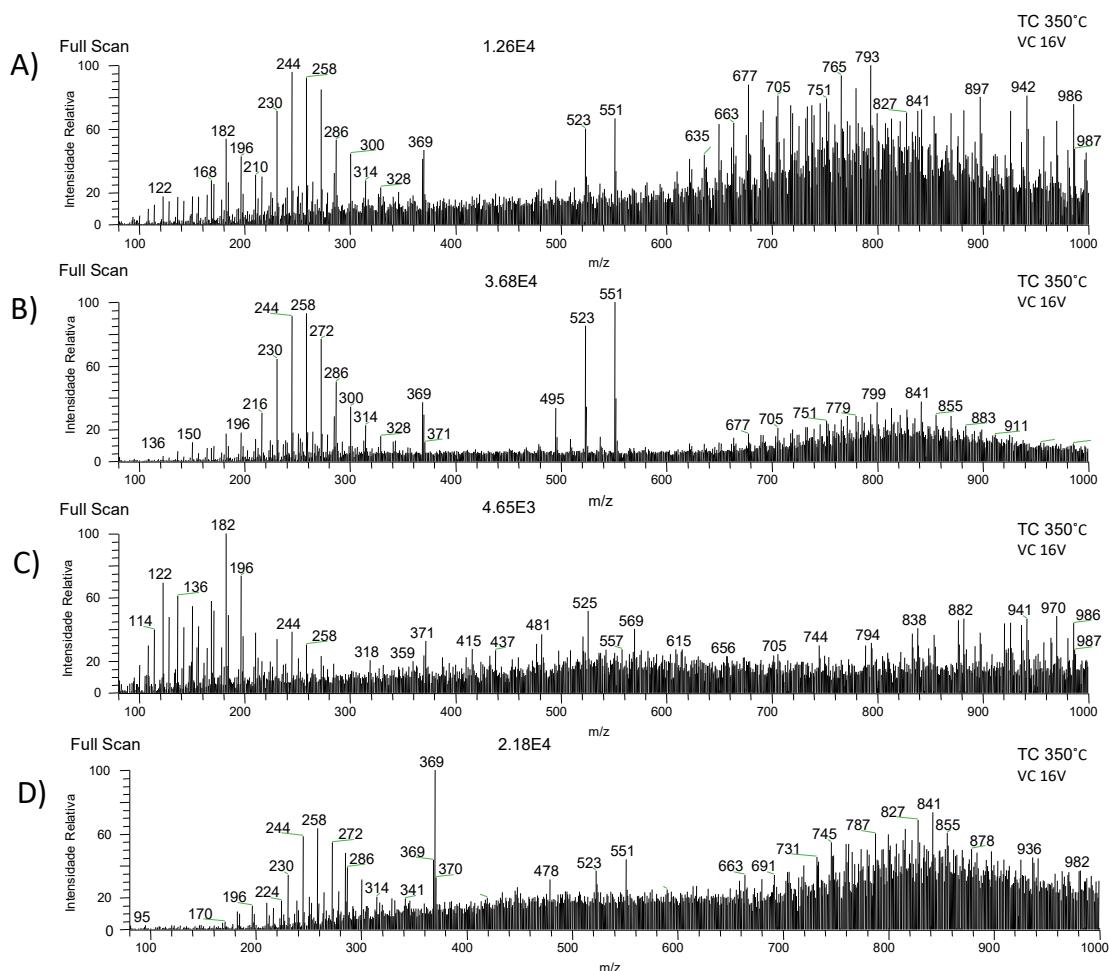
21. Valderrama L., Paiva V.B., Março P.H., Valderrama P. Proposta Experimental Didática para o Ensino de Análise De Componentes Principais. *Química Nova*. 2015.
22. Lyra W.S., Cirino da Silva E., Araújo M.C.U., Duarte Fragoso W. Classificação Periódica: Um Exemplo Didático para Ensinar Análise de Componentes Principais. *Química Nova*. 2010;33(7):1594-7.
23. Teófilo R.F., Martins J.P.A., Ferreira M.M.C. Sorting variables by using informative vectors as a strategy for feature selection in multivariate regression. *Journal of Chemometrics*. 2009 Jan-Feb;23(1-2):32-48.
24. Teófilo R.F. Métodos Quimiométricos em Estudos Eletroquímicos de Fenóis sobre Filmes de Diamante Dopado com Boro. Campinas-SP: Universidad Estadual de Campinas, 2007.
25. Kennard R.W., Stone L.A. Computer Aided Design Of Experiments. *Technometrics*. 1969;11(1):137-&.
26. Silva Amador V. Aplicação da Espectrometria de Massas com Ionização Paper Spray e Quimiometria em Documentoscopia. Belo Horizonte, Brasil: Universidade Federal de Minas Gerais, 2016.
27. Guimarães C.C., Assis C., Simeone M.L.F., Sena M.M. Use of Near-Infrared Spectroscopy, Partial Least-Squares, and Ordered Predictors to Predict Four Quality Parameters of Sweet Sorghum Juice Used to Produce Bioethanol. *Energy & fuels*. 2016;30(5):4137-44.
28. Valderrama P., Braga J.W.B., Poppi R.J. Estado da arte de Figuras de Mérito em Calibração Multivariada. *Química Nova*. 2009;32(5):1278-87.
29. Pereira H.V. Espectrometria de Massas com Ionização Paper Spray combinada a Métodos Quimiométricos para Identificação de Falsificações em Cervejas". Belo Horizonte, Brasil.: Universidade Federal de Minas Gerais, 2016.
30. Gondim C.S., Junqueira R.G., De Souza S.V.C. Tendências em validação de métodos de ensaios qualitativos. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2011;70(4):433-47.

31. Trullols E., Ruisanchez I., Rius F.X. Validation of qualitative analytical methods. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*. 2004 Feb;23(2):137-45.
32. Langton S.D., Chevennement R., Nagelkerke N., Lombard B. Analysing collaborative trials for qualitative microbiological methods: accordance and concordance. *International Journal of Food Microbiology*. 2002;79:175-81.
33. Qian K., Edwards K.E., Diehl J.H., Green L.A. Fundamentals and applications of electrospray ionization mass spectrometry for petroleum characterization. *Energy & Fuels*. 2004 Nov-Dec;18(6):1784-91.
34. Hughey C.A., Hendrickson C.L., Rodgers R.P., Marshall AG. Elemental composition analysis of processed and unprocessed diesel fuel by electrospray ionization fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Energy & Fuels*. 2001 Sep-Oct;15(5):1186-93.
35. Rostad C.E. Screening of polar components of petroleum products by electrospray ionization mass spectrometry. *Energy & Fuels*. 2005 May-Jun;19(3):992-7.
36. Commodo M., Fabris I, Groth C.P.T, Gulder O.L. Analysis of Aviation Fuel Thermal Oxidative Stability by Electrospray Ionization Mass Spectrometry (ESI-MS). *Energy & Fuels*. 2011 May;25(5):2142-50.
37. Jjunju F.P.M., Maher S, Li A.Y., Hsu H.C., Taylor S., Cooks R.G. Ambient analysis of nitrogen compounds in petroleum oil using desorption atmospheric pressure chemical ionization. *Abstracts of Papers of the American Chemical Society*. 2014 Aug;248.
38. Romao W., Tose L.V, Vaz B.G, Sama S.G, Lobinski R., Giusti P., et al. Petroleomics by Direct Analysis in Real Time-Mass Spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*. 2016 Jan;27(1):182-5.

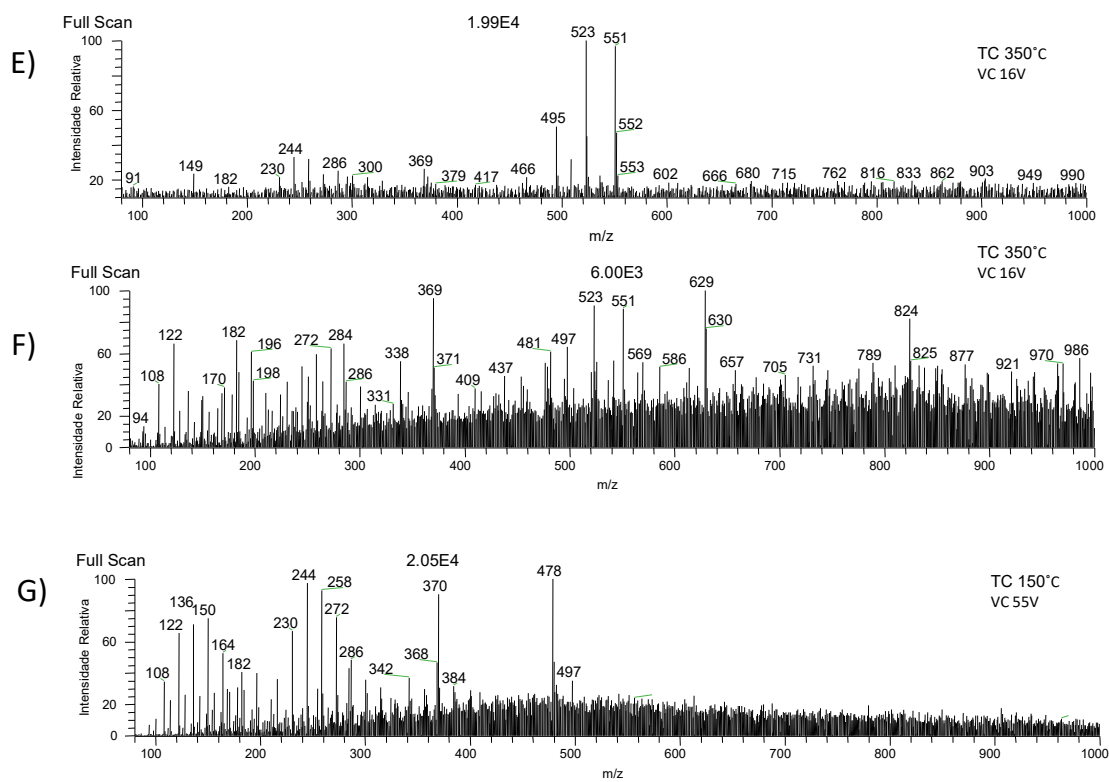
***ANEXOS***

## Anexo I

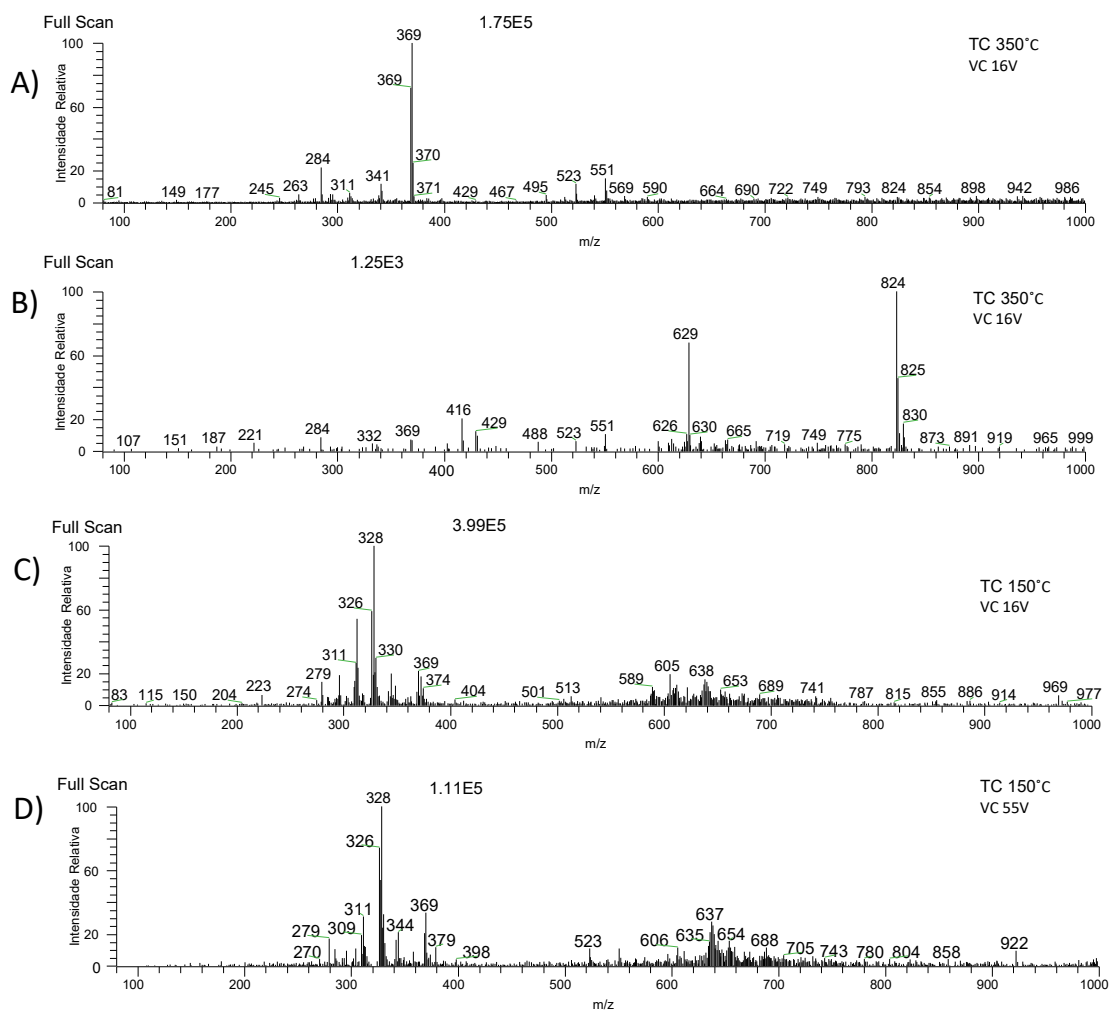
Espectros obtidos para a otimização no equipamento ESI LCQFleet da Universidade Federal de Minas Gerais.



Espectros de massas da gasolina com solventes para spray A) Metanol com 0,1% de ácido fórmico, B) Acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico, C) Mistura metanol:H<sub>2</sub>O (80:20), D) Mistura Acetonitrila:H<sub>2</sub>O (80:20)



Espectros de massas da gasolina com solventes para spray F) Metanol com acetato de amônio, G) Metanol:acetonitrila:H<sub>2</sub>O (60:30:10) com 0,1% de ácido fórmico, 10mM de acetato de amônio, H) Mistura metanol:acetonitrila (50:50) com 0,1% de ácido fórmico.



Espectros de massas do diesel com solventes para spray A) Metanol com 0,1% de ácido fórmico, B) Acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico C) Metanol D) Mistura metanol:acetonitrila (50:50) com 0,1% de ácido fórmico

## Anexo II

Tabela de contingência ou matriz de confusão dos resultados de classificação para amostras com combustível diesel

Treinamento	Resultado do Teste	Detectado	Não detectado	Total
	<b>Positivo</b>		12	1
<b>Negativo</b>		1	19	20
<b>Total</b>		13	20	33

Teste	Resultado do Teste	Detectado	Não detectado	Total
	<b>Positivo</b>		6	0
<b>Negativo</b>		1	9	10
<b>Total</b>		7	9	16

Tabela de contingência ou matriz de confusão dos resultados de classificação para amostras com combustível gasolina

Treinamento	Resultado do Teste	Detectado	Não detectado	Total
	<b>Positivo</b>		13	0
<b>Negativo</b>		0	20	20
<b>Total</b>		13	20	33

Teste	Resultado do Teste	Detectado	Não detectado	Total
	<b>Positivo</b>		6	0
<b>Negativo</b>		0	10	10
<b>Total</b>		6	10	16

Tabela de contingência ou matriz de confusão dos resultados de classificação para amostras com combustível querosene

Treinamento	Resultado do Teste	Detectado	Não detectado	Total
	<b>Positivo</b>		6	1
<b>Negativo</b>		0	26	26
<b>Total</b>		6	27	33

Teste	Resultado do Teste	Detectado	Não detectado	Total
	<b>Positivo</b>		4	0
<b>Negativo</b>		0	12	12
<b>Total</b>		4	12	16

## Probabilidades de classificação no modelo PLS2-DA

<b>Probabilidades de classificação do modelo PLS2-DA</b>			
<b>Amostras conjunto Treinamento</b>			
<b>Amostras</b>	<b>Diesel</b>	<b>Gasolina</b>	<b>Querosene</b>
<b>GIEV3</b>	0,3%	100,0%	11,9%
<b>GPEV3</b>	0,0%	100,0%	1,8%
<b>GSI</b>	0,0%	100,0%	9,9%
<b>GIL</b>	0,2%	100,0%	2,1%
<b>GLL</b>	0,0%	100,0%	1,9%
<b>GCI</b>	0,0%	100,0%	4,8%
<b>GSEV2</b>	7,2%	98,5%	11,5%
<b>GMI</b>	4,4%	78,3%	37,5%
<b>GIEV1</b>	2,2%	100,0%	3,4%
<b>GPL</b>	0,9%	100,0%	3,8%
<b>GPEV2</b>	0,1%	100,0%	4,1%
<b>GSL</b>	0,0%	100,0%	2,6%
<b>GIEV2</b>	3,9%	69,9%	45,6%
<b>DLEV3</b>	98,5%	1,5%	10,2%
<b>DMI</b>	100,0%	0,5%	9,0%
<b>DSL</b>	100,0%	0,9%	26,6%
<b>DPL</b>	100,0%	0,7%	2,6%
<b>DCI</b>	99,8%	25,7%	1,6%
<b>DSI</b>	100,0%	1,2%	1,5%
<b>DLL</b>	99,9%	0,8%	4,4%
<b>DIL</b>	100,0%	0,5%	3,7%
<b>DSEV2</b>	42,8%	3,9%	52,6%
<b>DSEV1</b>	84,8%	1,2%	45,2%
<b>DLEV2</b>	91,2%	5,4%	11,1%
<b>DPEV2</b>	99,5%	1,7%	5,7%
<b>DPEV3</b>	98,1%	3,2%	6,9%
<b>QLEV3</b>	25,3%	1,2%	91,6%
<b>QMI</b>	0,0%	1,9%	100,0%
<b>QSI</b>	0,3%	4,6%	99,8%
<b>QCI</b>	0,0%	1,2%	100,0%
<b>QLL</b>	59,7%	1,0%	79,8%
<b>QKEV2</b>	3,3%	1,9%	98,7%
<b>QLEV1</b>	14,1%	4,9%	78,3%

<b>Probabilidades de classificação do modelo PLS2-DA Amostras conjunto Teste</b>			
<b>Amostras</b>	<b>Diesel</b>	<b>Gasolina</b>	<b>Querosene</b>
<b>GLEV1</b>	0,2%	100,0%	8,2%
<b>GLEV2</b>	0,6%	99,7%	31,4%
<b>GLEV3</b>	0,2%	100,0%	11,0%
<b>GPEV1</b>	13,4%	90,3%	14,0%
<b>GSEV1</b>	0,3%	100,0%	27,5%
<b>GSEV3</b>	0,1%	100,0%	7,9%
<b>DIEV1</b>	91,2%	2,8%	16,9%
<b>DIEV2</b>	94,2%	5,7%	8,6%
<b>DIEV3</b>	62,0%	4,4%	34,4%
<b>DLEV1</b>	89,5%	4,8%	13,5%
<b>DPEV1</b>	93,3%	3,0%	13,8%
<b>DSEV3</b>	63,7%	3,6%	37,5%
<b>QKL</b>	56,3%	1,5%	67,2%
<b>QKEV1</b>	3,4%	2,1%	98,3%
<b>QKEV3</b>	21,2%	1,7%	89,0%
<b>QLEV2</b>	8,9%	4,4%	87,2%