

1 2 9 0



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Ana Rita Gomes Gastão

ANÁLISE FORENSE DE BATONS VERMELHOS POR  
ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM  
TRANSFORMADA DE FOURIER EM MODO DE  
REFLETÂNCIA TOTAL ATENUADA

Dissertação no âmbito do Mestrado em Química Forense orientada pelo Professor Doutor João Manuel Valente Nabais e coorientada pelo Professor Doutor Alberto Canelas Pais apresentada ao Departamento de Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra

Outubro de 2021



Universidade de Coimbra  
Faculdade de Ciências e Tecnologia

**ANÁLISE FORENSE DE BATONS  
VERMELHOS POR ESPECTROSCOPIA DE  
INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE  
FOURIER EM MODO DE REFLETÂNCIA  
TOTAL ATENUADA**

Ana Rita Gomes Gastão

Dissertação no âmbito do Mestrado em Química Forense orientada pelo Professor Doutor João Manuel Valente Nabais e coorientada pelo Professor Doutor Alberto Canelas Pais apresentada ao Departamento de Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra.

Outubro de 2021



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA



# Agradecimentos

Nestes dois anos de mestrado em Química Forense houve tempo para momentos de muita felicidade, mas também para alguns menos bons. Contudo uma coisa é certa: em todos esses momentos vividos, algumas pessoas estiveram sempre do meu lado. É precisamente a essas pessoas que devo agradecer pois sem o vosso contributo esta dissertação de mestrado não seria o que é.

À Professora Doutora Maria Ermelinda Eusébio agradeço por toda a disponibilidade e por ter-me dado a oportunidade de puder escolher o tema e o local que quis para esta etapa tão importante do mestrado.

Ao Professor Doutor João Manuel Valente Nabais, meu orientador na Universidade de Évora, por tudo o que me ensinou, toda a ajuda, pelo incentivo, e por todo o apoio. Esta tese não é apenas minha, é nossa!

Ao Professor Doutor Alberto Canelas Pais, meu orientador na Universidade de Coimbra, pelo incentivo, disponibilidade e ajuda.

À Universidade de Évora, na pessoa da Senhora Reitora Ana Costa Freitas, por me dar a oportunidade de realizar este passo importante da minha formação académica na Mui Nobre e Sempre Leal Cidade de Évora.

À Elisabete Carneiro, pela disponibilidade, pela ajuda que me prestou, pelas palavras e pela motivação.

Aos meus colegas de mestrado por dois anos repletos de momentos bons e menos bons, numa altura tão complicada como a que vivemos. À Melissa Moniz e Erika Góngora, sem vocês não teria a força necessária para enfrentar esta longa etapa.

Às pessoas que conheci em Biologia, que durante três longos anos foram a minha casa.

À minha família, de sangue e aquela que escolhi. São o grande pilar da minha vida, sem eles, nada disto seria possível de se concretizar.

Às minhas Lena e Catarina por serem como irmãs e por me apoiarem incondicionalmente em todas as minhas etapas. Pelas palavras de apoio, pela força que sempre me transmitiram e por estarem sempre presentes.

**E, por último, mas em primeiro, ao meus pais e irmão. Sem vocês eu não seria o que sou...**



# ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
ÍNDICE DE TABELAS .....	xvii
LISTA DE ABREVIATURAS .....	xviii
RESUMO .....	xx
ABSTRACT .....	xxii
CAPÍTULO 1 .....	1
1. INTRODUÇÃO .....	2
1.1. Composição química dos batons.....	2
1.1.1. Silicones .....	3
1.1.2. Agentes de consistência .....	4
1.1.3. Emolientes .....	7
1.1.4. Aditivos estabilizadores.....	8
1.1.5. Conservantes.....	8
1.1.6. Antioxidantes.....	9
1.1.7. Diluente .....	10
1.1.8. Agente espessante .....	10
1.1.9. Fragrância.....	11
1.1.10. Agentes nacarantes .....	11
1.1.11. Pigmentos e corantes.....	11
1.2. Importância forense dos batons.....	13
1.2.1. Toxicologia Forense .....	13
1.2.2. Queiloscopia .....	16
1.2.3. Análise química dos componentes .....	19
1.3. Métodos de análise .....	20

1.3.1. Métodos de análise de evidencias cosméticas .....	20
1.3.2. Utilização de métodos quimiométricos na análise de resultados .....	26
1.4. Objetivos do trabalho .....	29
CAPÍTULO 2 .....	30
2. MATERIAIS E MÉTODOS .....	31
2.1. Materiais .....	31
2.2. Métodos .....	32
CAPÍTULO 3 .....	36
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	37
3.1. Otimização do método de análise das amostras .....	37
3.2. Otimização do método de análise dos espectros .....	39
3.3. Validação do método de análise: Teste da repetibilidade .....	45
3.4. Validação do método de análise: Teste de reprodutibilidade .....	50
3.5. Análise espectral das amostras – Identificação de bandas características dos batons .....	55
3.6. Discriminação das amostras através da análise direta dos batons por métodos quimiométricos .....	60
3.7. Comparação do efeito do substrato nos espectros das amostras .....	69
3.8. Análise dos efeitos provocados pela variação na permanência do batom nos lábios.....	76
3.9. Determinação do efeito do envelhecimento na análise dos vestígios de batons.....	97
3.10. Avaliação dos resultados obtidos em condições de armazenamento distintas .....	108
3.11. Análise de amostras cegas .....	123
CAPÍTULO 4 .....	128
4. CONCLUSÕES .....	129
REFERÊNCIAS BILIOGRÁFICAS .....	132
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	133
ANEXOS .....	145





# ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1. Estrutura química dos silicones mais utilizados em batons: A) polidimetilsiloxano; B) polifenilmetsiloxano; C) decametilciclopentasiloxano.....</i>	<i>4</i>
<i>Figura 2. Estrutura química do principal composto do óleo de rícino, o ácido ricinoléico. ....</i>	<i>5</i>
<i>Figura 3. Estrutura química do principal composto da cera de abelha - hexadecanoato de triacontila (A) e da cera de carnaúba (B). ....</i>	<i>6</i>
<i>Figura 4. Estrutura química do álcool oleílico (A), lanolina anidra (B), octil Dodecanol (C) e malato de diisostearil (D).....</i>	<i>8</i>
<i>Figura 5. Estrutura química da imidazolidinilureia (A) e fenoxietanol (B).....</i>	<i>9</i>
<i>Figura 6. Estrutura química da vitamina E (A), butilhidroxitolueno (B), e butilhidroxianisol (C).....</i>	<i>10</i>
<i>Figura 7. Estrutura química do oleato de decila.....</i>	<i>10</i>
<i>Figura 8. Estrutura química da eosina (A), eritrosina (B), amaranço (C), rodamina (D) e tartrazina (E).....</i>	<i>13</i>
<i>Figura 9. Modos vibracionais da molécula de um grupo metileno (CH<sub>2</sub>). ....</i>	<i>23</i>
<i>Figura 10. Esquema de aquisição espectral utilizando o acessório de ATR. ....</i>	<i>25</i>
<i>Figura 11. Amostras utilizadas no estudo provenientes de quatro marcas distintas com diferentes tonalidades ..</i>	<i>31</i>
<i>Figura 12. Demonstração da aplicação da amostra para análise direta .....</i>	<i>32</i>
<i>Figura 13. Demonstração da aplicação da amostra em vários substratos: Lenço de papel, Tecido, Cigarro e Copo de plástico .....</i>	<i>32</i>
<i>Figura 14. Espectrómetro PerkinElmer com UATR Two utilizado no trabalho experimental .....</i>	<i>34</i>
<i>Figura 15. Espectros FTIR-ATR obtidos através da deposição da amostra A1 na chávena (CH) com variação do número de varrimentos: 4 (verde), 8 (azul), 16 (preto), 32 (vermelho).....</i>	<i>38</i>
<i>Figura 16. Espectros FTIR-ATR obtidos através da deposição da amostra A1 no copo de plástico (CP) com variação do número de varrimentos: 4 (verde), 8 (azul), 16 (amarelo), 32 (preto), 32 com análise direta do plástico (vermelho) .....</i>	<i>38</i>
<i>Figura 17. Gráfico demonstrativo das loadings das 5 amostras da marca A resultantes da análise direta dos batons .....</i>	<i>40</i>
<i>Figura 18. Espectros das cinco amostras da marca A obtidos da análise direta dos batons: iniciais (A) e após corte do espectro e redução do ruído (B) .....</i>	<i>41</i>
<i>Figura 19. Gráfico demonstrativo das loadings das 5 amostras da marca A resultantes da análise direta dos batons, após corte espectral (500-3500 cm<sup>-1</sup>) e redução do ruído.....</i>	<i>42</i>
<i>Figura 20. Gráfico demonstrativo das loadings das 5 amostras da marca A resultantes da análise direta dos batons, após corte espectral (500-3500 cm<sup>-1</sup>), redução do ruído e ajuste da linha de base .....</i>	<i>43</i>

<i>Figura 21. Gráfico demonstrativo das loadings das 5 amostras da marca A resultantes da análise direta dos batons, após corte espectral (500-3500 cm<sup>-1</sup>), redução do ruído e normalização .....</i>	<i>44</i>
<i>Figura 22. Espectros FTIR-ATR obtidos da análise repetida (REP 01-10) duma deposição da amostra A1 num lenço de papel (LP).....</i>	<i>46</i>
<i>Figura 23. Gráfico demonstrativo das distâncias entre as 10 réplicas (01-10) obtidas da deposição da amostra A1 num lenço de papel (LP) .....</i>	<i>47</i>
<i>Figura 24. Gráfico demonstrativo das loadings das dez réplicas da amostra A1 resultantes da deposição em lenço de papel.....</i>	<i>48</i>
<i>Figura 25. Dendrograma obtido do agrupamento das réplicas da amostra A1 e das amostras B6, C9 e D10, depositadas em lenço de papel (LP) .....</i>	<i>49</i>
<i>Figura 26. Espectros FTIR-ATR obtidos da deposição da mesma amostra (A1) num lenço de papel (LP) com variação do tempo entre análises (T01-03) .....</i>	<i>50</i>
<i>Figura 27. Espectros FTIR-ATR obtidos da deposição da mesma amostra (A1) num lenço de papel (LP) com variação do operador (OP 01-03).....</i>	<i>51</i>
<i>Figura 28. Gráfico demonstrativo das distâncias entre os espectros obtidos da análise da deposição da amostra A1 num lenço de papel (LP), com variação de operador (Op 01-03) e de tempo (T01-03).....</i>	<i>52</i>
<i>Figura 29. Gráfico demonstrativo das loadings da amostra A1 resultantes da deposição em lenço de papel com variação de tempo e operador .....</i>	<i>53</i>
<i>Figura 30. Dendrograma obtido do agrupamento das amostras B6, C9, D10 e da amostra A1 com variação de tempo (T01 - T03) e operador (Op01 - Op03), depositadas em lenço de papel (LP) .....</i>	<i>54</i>
<i>Figura 31. Gráfico demonstrativo das distâncias entre as 15 amostras analisadas diretamente .....</i>	<i>61</i>
<i>Figura 32. Dendrograma das quinze amostras do estudo analisadas diretamente.....</i>	<i>62</i>
<i>Figura 33. Gráfico de scores do PCA para as 15 amostras do estudo analisadas diretamente (PC1 e PC2) .....</i>	<i>63</i>
<i>Figura 34. Gráfico demonstrativo das loadings das quinze amostras analisadas diretamente.....</i>	<i>64</i>
<i>Figura 35. Gráfico demonstrativo das distâncias entre amostras da marca A analisadas diretamente e respetivo dendrograma .....</i>	<i>65</i>
<i>Figura 36. Espectros das amostras da marca A analisadas diretamente e respetivo gráfico das loadings .....</i>	<i>65</i>
<i>Figura 37. Espectros das amostras da marca B analisadas diretamente.....</i>	<i>66</i>
<i>Figura 38. Espectros das amostras da marca C analisadas diretamente.....</i>	<i>67</i>
<i>Figura 39. Gráfico demonstrativo das distâncias entre amostras da marca D analisadas diretamente e respetivo dendrograma .....</i>	<i>68</i>
<i>Figura 40. Espectros das amostras da marca D analisadas diretamente e respetivo gráfico das loadings.....</i>	<i>69</i>

<i>Figura 41. Espectros FTIR-ATR obtidos através da deposição da amostra A1 nos substratos em estudo: Chávena - CH (verde), Cigarro - CI (azul), Copo de plástico - CP (amarelo), Lenço de papel - LP (preto) e Tecido - T (vermelho)</i>	70
<i>Figura 42. Gráfico demonstrativo das distâncias entre os cinco substratos (chávena - CH, cigarro - CI, copo de plástico - CP, lenço de papel - LP e tecido - T)</i>	71
<i>Figura 43. Dendrograma da deposição da amostra A1 em vários substratos (chávena - CH, cigarro - CI, copo de plástico - CP, lenço de papel - LP e tecido - T)</i>	72
<i>Figura 44. Gráfico demonstrativo das loadings da amostra A1 depositada nos cinco substratos (Chávena, Cigarro, Copo de plástico, Lenço de papel, Tecido)</i>	73
<i>Figura 45. Dendrograma resultante do agrupamento da amostra A1 em vários substratos (chávena - CH, cigarro - CI, copo de plástico - CP, lenço de papel - LP e tecido - T) e análise direta (A1_AD), representadas a roxo, com as restantes amostras do estudo analisadas diretamente (Marca A - Verde, Marca B - Azul, Marca C - Preto, Marca D - Vermelho)</i>	74
<i>Figura 46. Dendrograma resultante do agrupamento das amostras A1, B6, C9 e D10 em vários substratos (chávena - CH, cigarro - CI, copo de plástico - CP, lenço de papel - LP e tecido - T) e análise direta (AD)</i>	75
<i>Figura 47. Espectros FTIR-ATR das amostras A1 e B6 depositadas na chávena, com variação do tempo de permanência do batom nos lábios</i>	77
<i>Figura 48. Espectros FTIR-ATR das amostras C9 e D10 depositadas na chávena, com variação do tempo de permanência do batom nos lábios</i>	77
<i>Figura 49. Gráfico demonstrativo das loadings das amostras A1, B6, C9 e D10 depositadas na chávena, com variação no tempo de permanência do batom nos lábios</i>	78
<i>Figura 50. Gráfico 2D de scores do PCA para as quatro amostras depositadas na chávena com variação na permanência do batom nos lábios (PC1-PC2)</i>	79
<i>Figura 51. Dendrograma resultante do agrupamento das amostras A1, B6, C9 e D10 depositadas na chávena (CH) com variação no tempo de permanência do batom nos lábios (15minutos, 30minutos, 1hora, 2horas, 4horas)</i>	80
<i>Figura 52. Espectros FTIR-ATR das amostras A1 (azul), B6 (preto), C9 (verde) e D10 (vermelho) depositadas num cigarro, com variação do tempo de permanência do batom nos lábios</i>	82
<i>Figura 53. Gráfico demonstrativo das loadings das amostras A1, B6, C9 e D10 depositadas em cigarros, com variação no tempo de permanência do batom nos lábios</i>	82
<i>Figura 54. Gráfico 2D de scores do PCA para as quatro amostras depositadas no cigarro com variação na permanência do batom nos lábios (PC1-PC2)</i>	83
<i>Figura 55. Dendrograma resultante do agrupamento das amostras A1, B6, C9 e D10 depositadas no cigarro (CI) com variação no tempo de permanência do batom nos lábios (15minutos, 30minutos, 1hora, 2horas, 4horas)</i>	84

<i>Figura 56. Espectros FTIR-ATR das amostras A1 (azul), B6 (preto), C9 (verde) e D10 (vermelho) depositadas num copo de plástico, com variação do tempo de permanência do batom nos lábios.....</i>	<i>85</i>
<i>Figura 57. Gráfico demonstrativo das loadings das amostras A1, B6, C9 e D10 depositadas num copo de plástico, com variação no tempo de permanência do batom nos lábios .....</i>	<i>86</i>
<i>Figura 58. Gráfico 2D de scores do PCA para as quatro amostras depositadas no copo de plástico com variação na permanência do batom nos lábios (PC1-PC2) .....</i>	<i>87</i>
<i>Figura 59. Dendrograma resultante do agrupamento das amostras A1, B6, C9 e D10 depositadas no copo de plástico com variação no tempo de permanência do batom nos lábios (15minutos, 30minutos, 1hora, 2horas, 4horas) .....</i>	<i>88</i>
<i>Figura 60. Espectros FTIR-ATR das amostras A1 (azul), B6 (preto), C9 (verde) e D10 (vermelho) depositadas num lenço de papel, com variação do tempo de permanência do batom nos lábios .....</i>	<i>89</i>
<i>Figura 61. Gráfico demonstrativo das loadings das amostras A1, B6, C9 e D10 depositadas num lenço de papel, com variação no tempo de permanência do batom nos lábios .....</i>	<i>90</i>
<i>Figura 62. Gráfico 2D de scores do PCA para as quatro amostras depositadas no lenço de papel com variação na permanência do batom nos lábios (PC1-PC2) .....</i>	<i>91</i>
<i>Figura 63. Dendrograma resultante do agrupamento das amostras A1, B6, C9 e D10 depositadas no lenço de papel com variação no tempo de permanência do batom nos lábios (15minutos, 30minutos, 1hora, 2horas, 4horas) ...</i>	<i>92</i>
<i>Figura 64. Espectros FTIR-ATR das amostras A1 (azul), B6 (preto), C9 (verde) e D10 (vermelho) depositadas no tecido, com variação do tempo de permanência do batom nos lábios.....</i>	<i>93</i>
<i>Figura 65. Gráfico demonstrativo das loadings das amostras A1, B6, C9 e D10 depositadas no tecido, com variação no tempo de permanência do batom nos lábios.....</i>	<i>94</i>
<i>Figura 66. Gráfico 2D de scores do PCA para as quatro amostras depositadas no tecido com variação na permanência do batom nos lábios (PC1-PC2) .....</i>	<i>95</i>
<i>Figura 67. Dendrograma resultante do agrupamento das amostras A1, B6, C9 e D10 depositadas no tecido com variação no tempo de permanência do batom nos lábios (15minutos, 30minutos, 1hora, 2horas, 4horas).....</i>	<i>96</i>
<i>Figura 68. Espectros FTIR-ATR das amostras A1, B6, C9 e D10 depositada no lenço de papel (LP), deixadas em condições estáveis (CA) com variação do tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias.....</i>	<i>98</i>
<i>Figura 69. Gráficos demonstrativos das loadings das amostras A1(A), B6 (B), C9 (C) e D10 (D) depositadas no lenço de papel, com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias .....</i>	<i>99</i>
<i>Figura 70. Gráfico 2D de scores do PCA para as quatro amostras depositadas no lenço de papel com variação no tempo pós-deposição (PC1-PC2) .....</i>	<i>101</i>

<i>Figura 71. Dendrograma das amostras A1 (azul), B6 (preto), C9 (verde) e D10 (vermelho) depositadas no lenço de papel (LP) em condições de laboratório (CA) com variação do tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias .....</i>	<i>102</i>
<i>Figura 72. Espectros FTIR-ATR das amostras A1, B6, C9 e D10 depositadas no tecido (T), deixadas em condições estáveis (CA) com variação do tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias .....</i>	<i>103</i>
<i>Figura 73. Gráficos demonstrativos das loadings das amostras A1(A), B6 (B), C9 (C) e D10 (D) depositadas no tecido, com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias .....</i>	<i>104</i>
<i>Figura 74. Gráfico 2D de scores do PCA para as quatro amostras depositadas no tecido com variação no tempo pós-deposição (PC1-PC2).....</i>	<i>106</i>
<i>Figura 75. Dendrograma das amostras A1 (azul), B6 (preto), C9 (verde) e D10 (vermelho) depositadas no tecido (T) em condições de laboratório (CA) com variação do tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias .....</i>	<i>107</i>
<i>Figura 76. Espectros FTIR-ATR das amostras A1, B6, C9 e D10 depositadas no lenço de papel (LP), deixadas em condições variáveis (AL) com variação do tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias.....</i>	<i>109</i>
<i>Figura 77. Gráficos demonstrativos das loadings das amostras A1(A), B6 (B), C9 (C) e D10 (D) depositadas no lenço de papel, deixadas em condições variáveis (AL), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias.....</i>	<i>111</i>
<i>Figura 78. Gráficos de scores 2D das amostras A1(A), B6 (B), C9 (C) e D10 (D) depositadas no lenço de papel, deixadas em condições variáveis (AL) e estáveis (CA), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias.....</i>	<i>113</i>
<i>Figura 79. Dendrograma das amostras A1 (azul), B6 (preto), C9 (verde) e D10 (vermelho) depositadas no lenço de papel deixadas em condições estáveis (CA) e variáveis (AL) com variação do tempo pós-deposição – 24 horas, 15 dias, 30 dias e 60 dias .....</i>	<i>115</i>
<i>Figura 80. Espectros FTIR-ATR das amostras A1, B6, C9 e D10 depositadas no tecido (T), deixadas em condições variáveis (AL) com variação do tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias.....</i>	<i>116</i>
<i>Figura 81. Gráficos demonstrativos das loadings das amostras A1(A), B6 (B), C9 (C) e D10 (D) depositadas no tecido, deixadas em condições variáveis (AL), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias.....</i>	<i>118</i>
<i>Figura 82. Gráficos de scores 2D das amostras A1(A), B6 (B), C9 (C) e D10 (D) depositadas no tecido, deixadas em condições variáveis (AL) e estáveis (CA), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias .....</i>	<i>120</i>

<i>Figura 83. Dendrograma das amostras A1 (azul), B6 (preto), C9 (verde) e D10 (vermelho) depositadas no tecido deixadas em condições estáveis (CA) e variáveis (AL), com variação do tempo pós-deposição – 24 horas, 15 dias, 30 dias e 60 dias .....</i>	<i>122</i>
<i>Figura 84. Espectros FTIR-ATR obtidos da análise direta das quatro amostras cegas .....</i>	<i>123</i>
<i>Figura 85. Espectros FTIR-ATR obtidos da deposição direta de quatro amostras desconhecidas em três substratos: Cigarro (CI 01; CI 02; CI 08), Lenço de papel (LP 03; LP 04; LP 05) e Tecido (T 06; T 07; T 09).....</i>	<i>125</i>
<i>Figura A1. Espectros FTIR-ATR obtidos através da deposição da amostra A1 no cigarro (CI) com variação do número de varrimentos: 4 (verde), 8 (azul), 16 (preto), 32 (vermelho) .....</i>	<i>146</i>
<i>Figura A2. Espectros FTIR-ATR obtidos através da deposição da amostra A1 no lenço de papel (LP) com variação do número de varrimentos: 4 (verde), 8 (azul), 16 (preto), 32 (vermelho).....</i>	<i>146</i>
<i>Figura A3. Espectros FTIR-ATR obtidos através da deposição da amostra A1 no tecido (T) com variação do número de varrimentos: 4 (verde), 8 (azul), 16 (preto), 32 (vermelho) .....</i>	<i>147</i>
<i>Figura B1. Espectros das cinco amostras da marca A obtidos da análise direta dos batons: após corte do espectro e redução do ruído (A) e após corte do espectro, redução do ruído e ajuste da linha de base (B) .....</i>	<i>148</i>
<i>Figura B2. Espectros das cinco amostras da marca A obtidos da análise direta dos batons: após corte do espectro e redução do ruído (A) e após corte do espectro, redução do ruído e normalização (B).....</i>	<i>148</i>
<i>Figura B3. Matrizes de distâncias entre as amostras da marca A: Iniciais (A), com redução espectral para 3500-500 cm<sup>-1</sup> (B), após redução do ruído (C), com ajuste da linha de base (D) e após normalização entre 0 e 1 (E) .....</i>	<i>149</i>
<i>Figura C1. Espectros resultantes da análise direta da amostra A1 com identificação das bandas características</i>	<i>150</i>
<i>Figura C2. Espectros resultantes da análise direta da amostra A2 com identificação das bandas características</i>	<i>151</i>
<i>Figura C3. Espectros resultantes da análise direta da amostra A3 com identificação das bandas características</i>	<i>152</i>
<i>Figura C4. Espectros resultantes da análise direta da amostra A4 com identificação das bandas características</i>	<i>153</i>
<i>Figura C5. Espectros resultantes da análise direta da amostra A5 com identificação das bandas características</i>	<i>154</i>
<i>Figura C6. Espectros resultantes da análise direta da amostra B6 com identificação das bandas características</i>	<i>155</i>
<i>Figura C7. Espectros resultantes da análise direta da amostra B7 com identificação das bandas características</i>	<i>156</i>
<i>Figura C8. Espectros resultantes da análise direta da amostra C8 com identificação das bandas características</i>	<i>157</i>
<i>Figura C9. Espectros resultantes da análise direta da amostra C9 com identificação das bandas características</i>	<i>158</i>
<i>Figura C10. Espectros resultantes da análise direta da amostra D10 com identificação das bandas características .....</i>	<i>159</i>
<i>Figura C11. Espectros resultantes da análise direta da amostra D11 com identificação das bandas características .....</i>	<i>160</i>
<i>Figura C12. Espectros resultantes da análise direta da amostra D12 com identificação das bandas características .....</i>	<i>161</i>

<i>Figura C13. Espectros resultantes da análise direta da amostra D13 com identificação das bandas características</i>	162
<i>Figura C14. Espectros resultantes da análise direta da amostra D14 com identificação das bandas características</i>	163
<i>Figura C15. Espectros resultantes da análise direta da amostra D15 com identificação das bandas características</i>	164
<i>Figura D1. Espectros FTIR-ATR obtidos da análise direta das 15 amostras em estudo</i>	165
<i>Figura D2. Espectros FTIR-ATR sobrepostos obtidos da análise direta das 15 amostras em estudo</i>	166
<i>Figura E1. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra A1 num lenço de papel (LP), deixada em condições estáveis (CA), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias</i>	167
<i>Figura E2. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra B6 num lenço de papel (LP), deixada em condições estáveis (CA), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias</i>	167
<i>Figura E3. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra C9 num lenço de papel (LP), deixada em condições estáveis (CA), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias</i>	168
<i>Figura E4. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra D10 num lenço de papel (LP), deixada em condições estáveis (CA), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias</i>	168
<i>Figura E5. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra A1 no tecido (T), deixada em condições estáveis (CA), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias</i>	169
<i>Figura E6. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra B6 no tecido (T), deixada em condições estáveis (CA), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias</i>	169
<i>Figura E7. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra C9 no tecido (T), deixada em condições estáveis (CA), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias</i>	170
<i>Figura E8. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra D10 no tecido (T), deixada em condições estáveis (CA), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias</i>	170



*Figura F1. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra A1 num lenço de papel (LP), deixada em condições estáveis (CA) e variáveis (AL), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias..... 171*

*Figura F2. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra B6 num lenço de papel (LP), deixada em condições estáveis (CA) e variáveis (AL), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias..... 171*

*Figura F3. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra C9 num lenço de papel (LP), deixada em condições estáveis (CA) e variáveis (AL), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias..... 172*

*Figura F4. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra D10 num lenço de papel (LP), deixada em condições estáveis (CA) e variáveis (AL), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias..... 172*

*Figura F5. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra A1 no tecido (T), deixada em condições estáveis (CA) e variáveis (AL), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias..... 173*

*Figura F6. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra B6 no tecido (T), deixada em condições estáveis (CA) e variáveis (AL), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias..... 173*

*Figura F7. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra C9 no tecido (T), deixada em condições estáveis (CA) e variáveis (AL), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias..... 174*

*Figura F8. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra D10 no tecido (T), deixada em condições estáveis (CA) e variáveis (AL), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias..... 174*

# ÍNDICE DE TABELAS

<i>Tabela 1. Classificação de Martin Santos.....</i>	<i>18</i>
<i>Tabela 2. Informações sobre as amostras do estudo.....</i>	<i>31</i>
<i>Tabela 3. Atribuições de bandas de possíveis grupos funcionais presentes nos batons.....</i>	<i>56</i>
<i>Tabela 4. Comparação entre as 15 amostras de batom com base na presença/ausência de bandas características.....</i>	<i>58</i>
<i>Tabela 5. Matriz de distância construída por método de Pearson entre as amostras cegas (VAL_01, VAL_02, VAL_03 e VAL_01) e as quinze amostras do estudo analisadas diretamente (AD).....</i>	<i>124</i>
<i>Tabela 6. Matriz de distância construída por método de Pearson entre as amostras cegas (VAL_01 a VAL_09) e as quinze amostras do estudo analisadas diretamente (AD).....</i>	<i>126</i>

## LISTA DE ABREVIATURAS

AD – Análise direta

ATR - Refletância Total Atenuada (do inglês *Attenuated Total Reflection*)

CB – Colocação do batom

CH – Chávena

CI – Cigarro

Cm – Centímetro

CP – Copo de plástico

CV-AAS - Espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (do inglês *Cold Vapour Atomic Absorption Spectrometry*)

DB – Deposição do batom

DNA – Ácido desoxirribonucleico (do inglês *deoxyribonucleic acid*)

DRS - Espectroscopia de Refletância Difusa (do inglês *Diffuse reflectance spectroscopy*)

FAAS - Espectrometria de absorção atômica por chama (do inglês *Flame atomic absorption spectrometry*)

FTIR - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (do inglês *Fourier transform infrared spectroscopy*)

FTIR-ATR – Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier em modo de refletância total atenuada (do inglês *Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared spectroscopy*)

GC- Cromatografia Gasosa (do inglês *Gas chromatography*)

GC-MS- Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (do inglês *Gas chromatography–mass spectrometry*)

GFAAS - Espectrometria de absorção atômica por forno de grafite (do inglês *Graphite furnace atomic absorption spectrometry*)

HCA - Análise de agrupamento hierárquico (do inglês *Hierarchical Cluster Analysis*)

HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (do inglês *High Performance Liquid Chromatography*)

ICP-MS - Espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente (do inglês *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*)

ICP-OES – Espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente (do inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*)

IV- Infravermelho

LDA - Análise Discriminante Linear (do inglês *Linear Discriminant Analysis*)

LP – Lenço de papel

MEKC - Cromatografia Capilar Eletrocínética Micelar (do inglês *Micellar Electrokinetic Chromatography*)

OP – operador

PAS - Espectroscopia Fotoacústica (do inglês *Photoacoustic Spectroscopy*)

PCA - Análise de componentes principais (do inglês *Principal Component Analysis*)

SEM-EDX - Microscopia eletrônica de varrimento com espectroscopia de energia dispersiva (do inglês *Scanning Electron Microscopy with Energy Dispersive X-Ray Analysis*)

T – Tecido

TLC - Cromatografia de Camada Fina (do inglês *Thin Layer Chromatography*)

TS - Espectroscopia de Transmissão (do inglês *Transmission Spectroscopy*)

UV – Ultravioleta

## RESUMO

Na atualidade, os produtos de maquiagem são responsáveis por cerca de 20% do mercado mundial de produtos de beleza, onde os cosméticos labiais são a forma de maquiagem mais consumida. Existem diversos tipos de cosméticos labiais tais como os batons, delineadores, hidratantes e brilhos labiais. O batom é um cosmético utilizado para conceder cor, forma e volume aos lábios e está disponível em diversas cores. Este tipo de cosmético deve apresentar algumas características básicas, como ter boa aderência, fácil aplicação, uma textura suave, fácil de deslizar e apresentar consistência estável. Cada empresa possui uma formulação padrão, protegida por patentes, da composição base dos batons, mas normalmente são compostas por: ceras (8 a 15%), emolientes (40 a 70%), agentes doadores de cor (0,5 a 8%), e outros aditivos.

Devido à crescente popularidade dos cosméticos, existe uma probabilidade cada vez maior de encontrar vestígios cosméticos em cenas do crime. Devido à sua facilidade de transferência e prevalência de uso, resíduos de cosméticos podem fornecer evidências forenses significativas em casos de violação, roubo ou assassinato podendo serem encontrados em roupas ou lençóis em casos de violação sexual, assim como manchas em copos, chávenas, lenços de papel, pontas de cigarros ou qualquer outro material. Este tipo de evidência é abrangido por várias áreas forenses, nomeadamente a toxicologia, queiloscopia e a análise química dos componentes presentes na formulação dos batons.

O principal objetivo deste trabalho foi avaliar a utilização do método de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier em modo de refletância total atenuada (FTIR-ATR) como método de análise de vestígios forenses de batons vermelhos em diversos substratos. Pretendeu-se assim tentar distinguir as diferentes amostras de batons vermelhos através deste método de análise e realizar a análise dos resultados com recurso a diferentes métodos quimiométricos. Para tal foram recolhidas e analisadas quinze amostras de batons vermelhos com distintas tonalidades de quatro marcas diferentes.

Com a utilização do método de análise FTIR-ATR, as amostras foram analisadas de forma não destrutiva e rápida. As técnicas quimiométricas, PCA e HCA, forneceram resultados objetivos, obtidos pelos gráficos de *scores e loadings*, assim como matrizes de distâncias e dendrogramas.

Os resultados dos testes de repetibilidade e reprodutibilidade obtidos usando a espectroscopia FTIR-ATR e analisados por métodos quimiométricos, demonstraram que existe repetibilidade e reprodutibilidade na análise das amostras de batom esta técnica.

A discriminação de amostras de batom com base na presença/ausência de bandas características foi obtida antes da discriminação multivariada com base nas ferramentas quimiométricas. Da comparação manual das bandas obteve-se um poder discriminante entre as amostras do estudo de 100%. Complementarmente, os resultados obtidos da análise por PCA e HCA comprovam existir variação na composição dos constituintes das amostras ou alteração nas proporções destes, permitindo a distinção de amostras da mesma marca com base no seu espectro.

O estudo da influência do substrato no espectro da amostra adquirido comprovou que os substratos influenciam os resultados obtidos. A análise da influência da deposição após permanência do batom nos lábios em tempos diversos, demonstrou a ocorrência de variações nos espectros obtidos para cada amostra. Constatou-se que o substrato também tem influência na magnitude das alterações, sendo observadas mais modificações nos espectros das deposições na chávena, cigarro e copo de plástico.

O estudo do efeito do envelhecimento da deposição e das condições de armazenamento realizado com recurso a deposições de quatro amostras em dois substratos, ao longo de 60 dias, demonstrou a ocorrência de variações mínimas nos espectros obtidos para cada amostra nos dois substratos, não afetando a possível identificação da mesma.

A metodologia de pesquisa utilizada foi validada por testes de amostras cegas. Esta etapa teve como objetivo validar a utilização do método de infravermelhos em conjunto com a metodologia de pesquisa (HCA) utilizada no estudo atual, como métodos identificativos de amostras desconhecidas. Embora existam algumas divergências em algumas correspondências nos resultados obtidos, a matriz de distâncias revelou ser um bom método para realizar a atribuição da amostra origem às amostras cegas analisadas por FTIR-ATR.

Este trabalho permitiu concluir que é possível analisar amostras de batons pelo método usado. Para uma verdadeira implementação deste método será necessária a criação de bases de dados de batons com a finalidade de permitir o perfil forense de amostras de batom desconhecidas.

**Palavras-Chave:** Batons Vermelhos; Diferenciação; FTIR-ATR; Análise de Componentes Principais (PCA); Análise de Agrupamentos (HCA).

## ABSTRACT

Currently, makeup products are responsible for about 20% of the world market for beauty products, where lip cosmetics are the most consumed form of makeup. There are several types of lip cosmetics such as lipsticks, eyeliners, moisturizers, and lip glosses. Lipstick is a cosmetic used to give color, shape and volume to the lips and is available in several colors. This type of cosmetic must have some basic characteristics, such as good adhesion, easy application, a smooth texture, easy to slide and stable consistency. Each company has a standard formulation, protected by patents, of the base composition of lipsticks, but they are usually composed of waxes (8 to 15%), emollients (40 to 70%), color donating agents (0.5 to 8%), and other additives.

Due to the growing popularity of cosmetics, there is an increasing likelihood of finding cosmetic traces at crime scenes. Due to its ease of transfer and prevalence of use, cosmetic residues can provide significant forensic evidence in cases of rape, theft or murder and can be found on clothes or sheets in cases of sexual violation, as well as stains on cups, cups, handkerchiefs, paper, cigarette butts or any other material. This type of evidence is covered by several forensic areas, namely toxicology, cheiloscopia and chemical analysis of the components present in the lipstick formulation.

The main objective of this work was to evaluate the use of the Fourier transform infrared spectroscopy method in attenuated total reflectance mode (FTIR-ATR) as a method for analyzing forensic traces of red lipsticks on various substrates. It was intended, therefore, to try to distinguish the different samples of red lipsticks through this method of analysis and carry out the analysis of the results using different chemometric methods. To this end, fifteen samples of red lipsticks with different shades from four different brands were collected and analyzed.

Using the FTIR-ATR analysis method, the samples were analyzed in a non-destructive and rapid way. The chemometric techniques, PCA and HCA, provided objective results, obtained by graphs of scores and loadings, as well as distance matrices and dendrograms.

The results of repeatability and reproducibility tests obtained using FTIR-ATR spectroscopy and analyzed by chemometric methods, demonstrated that there is repeatability and reproducibility in the analysis of lipstick samples using this technique.

Discrimination of lipstick samples based on the presence/absence of characteristic bands was obtained before multivariate discrimination based on chemometric tools. From the manual

comparison of the bands, a discriminating power between the study samples of 100% was obtained. In addition, the results obtained from the analysis by PCA, and HCA prove that there is a variation in the composition of the constituents of the samples or change in their proportions, allowing the distinction of samples of the same brand based on their spectrum.

The study of the influence of the substrate on the spectrum of the acquired sample proved that the substrates influence the results obtained. The analysis of the influence of deposition after the lipstick remained on the lips at different times showed the occurrence of variations in the spectra obtained for each sample. It was found that the substrate also has an influence on the magnitude of the changes, with more changes being observed in the spectra of depositions in the cup, cigarette and plastic cup.

The study of the aging effect of the deposition and storage conditions carried out using depositions of four samples on two substrates, over 60 days, demonstrated the occurrence of minimal variations in the spectra obtained for each sample on the two substrates, not affecting the possible identification of the same.

The research methodology used was validated by blind sample tests. This step aimed to validate the use of the infrared method crosswise with the research methodology (HCA) used in the current study, as identification methods for unknown samples. Although there are some divergences in some correspondences in the results obtained, the distance matrix proved to be a good method to perform the attribution of the source sample to the blind samples analyzed by FTIR-ATR.

This work allowed us to conclude that it is possible to analyze lipstick samples by the method used. For a true implementation of this method, it will be necessary to create lipstick databases to allow the forensic profile of unknown lipstick samples.

**Keywords:** Red lipsticks; Differentiation; FTIR-ATR; Principal Component Analysis (PCA); Cluster Analysis (HCA);



# ***CAPÍTULO 1***

## *INTRODUÇÃO*

# 1. INTRODUÇÃO

Os cosméticos são utilizados diariamente por milhões de consumidores, não apenas com o intuito de embelezamento, mas também de higiene pessoal e proteção.

Muitas pessoas utilizam maquiagem para se sentir mais bonitas, passarem uma imagem que consideram mais adequada para as demais e até mesmo se sentirem mais confiantes. Em alguns casos, usa-se maquiagem para esconder as imperfeições no rosto. Ainda, simultaneamente passar a mensagem de pessoa bem cuidada, e conseqüentemente, valorizar assim sua imagem, tanto para vida profissional quanto para a pessoal.

Na atualidade, os produtos para maquiagem são responsáveis por cerca de 20% do mercado mundial de produtos de beleza. A França é o país que mais exporta estes produtos e os Estados Unidos possuem o maior mercado consumidor.

Os cosméticos labiais são a forma de maquiagem mais consumida pelo público feminino e são utilizados para propósitos estéticos, sendo relacionados ao destaque de características como individualidade, caráter e capacidade sedutora, e assim como a maioria dos produtos estéticos, na reflexão da autoimagem nos diversos contextos sociais<sup>1</sup>. Existem diversos tipos de cosméticos labiais tais como os batons, delineadores, hidratantes e brilhos labiais<sup>2</sup>.

## 1.1. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS BATONS

O batom é um cosmético utilizado para conceder cor, forma e volume aos lábios, destacando-os e está disponível em diversas cores, podendo ou não conter brilho. Este tipo de cosmético deve apresentar algumas características básicas, como ter boa aderência, fácil aplicação, uma textura suave, fácil de deslizar e apresentar consistência estável apesar das variações de temperatura a que for submetido<sup>3</sup>.

Os diversos tipos de batons variam de acordo com o efeito que se pretende obter da sua utilização, podendo ser cremosos - mais clássicos, são hidratantes e de fácil aplicação, possuindo duração, boa cobertura e brilho leve; cintilantes - moldados para produzir brilho, possuem duração média e baixa coloração, sendo normalmente utilizados sobre outros batons; de efeito mate - textura seca e mais pigmentada, sem brilho, alta duração e intensidade de cor, baixo poder hidratante;

acetinados - sem brilho, cobertura transparente e com mais emolientes, proporcionando mais naturalidade na coloração<sup>4</sup>.

Estes cosméticos ainda se podem apresentar em formato de gloss - brilhos diversos e fluidos com ou sem partículas de glitter, com ou sem coloração, alto poder hidratante, curta duração; líquidos - textura fluida e brilhante, alta cobertura, secagem rápida; em vinil - mistura de brilho e cremosidade, cores vibrantes e boa fixação; em gel - compostos a partir de uma estrutura gelificada de nano fibras, emoliente e de pigmentos, apresenta um brilho intenso e boa duração<sup>4</sup>.

Para que o batom seja considerado de boa qualidade é necessário que possua aplicação facilitada, película uniforme, boa aderência, resistência ao toque, superfície suave e escorregadia, cor no lábio igual à da apresentação descrita no rótulo e que se mantenha estável durante a sua vida útil. Além disso, não deve partir-se, não pode sofrer influência da temperatura de armazenamento, não deve possuir sabor ou odor desagradáveis e não pode irritar a mucosa<sup>2</sup>.

Cada empresa possui uma formulação padrão, protegida por patentes, da composição base dos batons, mas normalmente são compostas por: ceras (8 a 15%), emolientes (40 a 70%), agentes doadores de cor (0,5 a 8%), e outros aditivos<sup>5</sup>. As ceras fornecem ao batom brilho e consistência, as gorduras pastosas que proporcionam suavidade e aderência e os óleos são responsáveis pela fluidez, facilitando a sua aplicação e dando brilho, características importantes para atrair a atenção dos utilizadores.

Os componentes da formulação dos batons podem ser agrupados considerando-se a sua função dentro da formulação<sup>6-8</sup> e são descritos a seguir.

### **1.1.1. SILICONES**

Os silicones encontram-se na composição dos batons para proporcionar uma melhor dispersão dos restantes compostos e permitir que ocorra a transpiração natural da pele. Entre os silicones que se encontram neste tipo de cosmético, destacam-se o polidimetilsiloxano, o polifenilmetilsiloxano e o decametilsiloxano (**Figura 1**).

O polidimetilsiloxano é utilizado nas formulações por proporcionar melhor espalhamento, não ser oclusivo e nem ser oleoso, permitindo a transpiração natural da pele.

O C30-45 (*Alquil meticone*) é uma cera de alquil metil siloxano com ponto de fusão de 70°C. Por meio da modificação do polidimetilsiloxano com um hidrocarboneto de alto peso molecular, esta cera exibe características típicas de silicones e hidrocarbonetos.

O polifenilmetilsiloxano proporciona uma fácil dispersão emoliente e não oleosa, permitindo a transpiração natural da pele, através de uma película fina e invisível. Pode ser utilizado como aditivo para repelência à água e redutor do aspeto viscoso dos ingredientes orgânicos. Possui excelente solubilidade em óleos minerais e etanol.

O decametilciclopentasiloxano proporciona um espalhamento moderado e redução da oleosidade e excessiva aderência. Apresenta volatilização considerável sem deixar a sensação de frio na pele, pois apresenta baixo calor de vaporização.

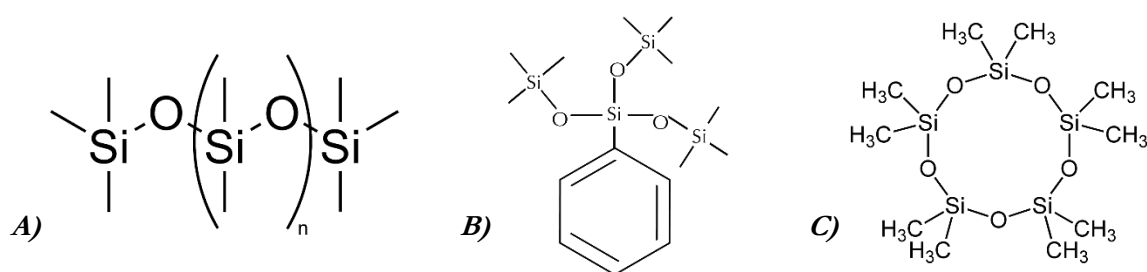


Figura 1. Estrutura química dos silicones mais utilizados em batons: A) polidimetilsiloxano; B) polifenilmetilsiloxano; C) decametilciclopentasiloxano

### 1.1.2. AGENTES DE CONSISTÊNCIA

Os óleos vegetais hidrogenados apresentam características interessantes que permitem sua utilização em produtos moldados, principalmente o óleo de rícino, de soja e de coco. Os óleos de rícino juntamente com a cera de abelha são considerados os componentes principais da composição química dos batons.

O óleo de rícino é um óleo vegetal extraído das sementes da planta *Ricinus communis*, mais conhecida como mamona. Este óleo diferencia-se dos demais óleos vegetais por apresentar uma grande quantidade de ácido ricinoléico (**Figura 2**). Estima-se que 90% dos seus ácidos gordos seja constituído por esse hidroxilado. É um líquido amarelo-pálido ou quase incolor. Quando comparado com outros óleos, o óleo de rícino é mais viscoso, menos solúvel em hexano e mais solúvel em etanol<sup>9</sup>. Possui um ótimo poder solubilizante para os corantes, devido à cadeia insaturada e à presença do radical hidroxilo. A sua elevada viscosidade, mesmo a elevadas temperaturas, retarda

a sedimentação dos pigmentos e os seus constituintes gordos conferem ao batom o seu carácter emoliente e concede brilho à formulação<sup>10</sup>.

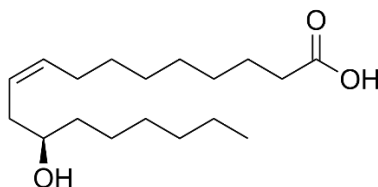


Figura 2. Estrutura química do principal composto do óleo de ricino, o ácido ricinoléico.

Por sua vez, o óleo do coco extrai-se da polpa da fruta e dentre as suas propriedades apresenta ação antisséptica, antifúngica e microbiana e antioxidante, além do seu carácter hidratante, responsável por proporcionar brilho e nutrição aos lábios<sup>11</sup>.

As ceras são de grande importância para a aparência, aplicação e estabilidade do produto. As ceras apresentam-se sólidas à temperatura ambiente e líquidas sob ação de calor. Podendo ser de origem animal, vegetal ou sintética, a sua utilização tem a finalidade de proporcionar ao batom o formato, estabilidade e sustentação durante a aplicação. Todas as ceras são materiais resistentes à água e compostas por várias substâncias, incluindo hidrocarbonetos (alcanos e alcenos), cetonas, dicetonas, álcoois primários e secundários, aldeídos, ésteres de esteroide, ácidos alcanóicos, terpenos e monoésteres, todos com cadeias de carbonos longas ou muito longas (de 12 a 38 átomos de carbono). Diversos tipos de ceras, como a de abelha, a de carnaúba, a candelila e a ozoquerita podem ser utilizadas, cada uma possuindo diferentes pontos de fusão que alteram a propriedade final do produto, como dureza, rigidez e plasticidade<sup>10</sup>. Segue-se a descrição destas ceras:

A cera de carnaúba (*Copernicia cerifera*) é um produto de origem vegetal obtido a partir da extração e processamento das palhas da palmeira chamada de Carnaubeira ou Carnaúba (**Figura 3**). Apresenta um elevado ponto de fusão, sendo firme e lúzia, com um odor agradável. A utilização deste tipo de cera misturada com outras proporciona o aumento do ponto de fusão, dureza, rigidez, brilho, torna o batom menos pegajoso, e diminui a plasticidade e cristalização. Proporciona propriedades de contração no processo de moldagem<sup>10</sup>. Quando utilizada em concentração elevada pode proporcionar uma textura granular à formulação.

A cera de candelila (*Euphorbia cerifera*) é uma cera de origem vegetal obtida da planta *Euphorbia cerifera*, apresenta as mesmas funções da cera de carnaúba. Apresenta um ponto de fusão mais baixo que a cera de carnaúba e a sua cristalização é lenta<sup>10</sup>.

A cera de abelha é uma substância oleosa que solidifica, a sua cor é geralmente amarelada. É impermeável à água, com ponto de fusão entre 61-65 °C e a baixas temperaturas pode tornar-se dura e quebradiça. Obtida a partir dos favos construídos pelas abelhas, contém 72% de ésteres, 13,5% de ácidos gordos livres e 12,5% de hidrocarbonetos. Quando combinada com outras ceras, contribui para a plasticidade, flexibilidade e minimiza a quebra durante o uso. A utilização da cera de abelha contribui para um leve encolhimento na moldagem e isso facilita a desmoldagem. Contudo, para que o batom tenha brilho é necessário utilizar uma baixa quantidade de cera de abelha. É compatível com todas as ceras animais e vegetais, uma grande quantidade de resinas sintéticas e naturais, glicéridos, ácidos gordos e hidrocarbonetos<sup>10</sup>.

A cera de ozoquerita é uma cera de origem sintética, sendo uma mistura de hidrocarbonetos sólidos saturados e insaturados que possuem elevada massa molecular, com alguns compostos oxigenados e hidrocarbonetos líquidos. Por exibir um caráter microcristalino faz com que o óleo de rícino seja absorvido e retido. A cera de ozoquerita é compatível com todas as ceras vegetais e animais, assim como muitas resinas naturais e sintéticas, glicéridos e ácidos gordos. Comparando-se com a cera de abelha, a de ozoquerita enrijece mais rápido e apresenta menor plasticidade<sup>10</sup>. Quando utilizada numa concentração superior a 10%, o batom pode desagregar-se na aplicação.

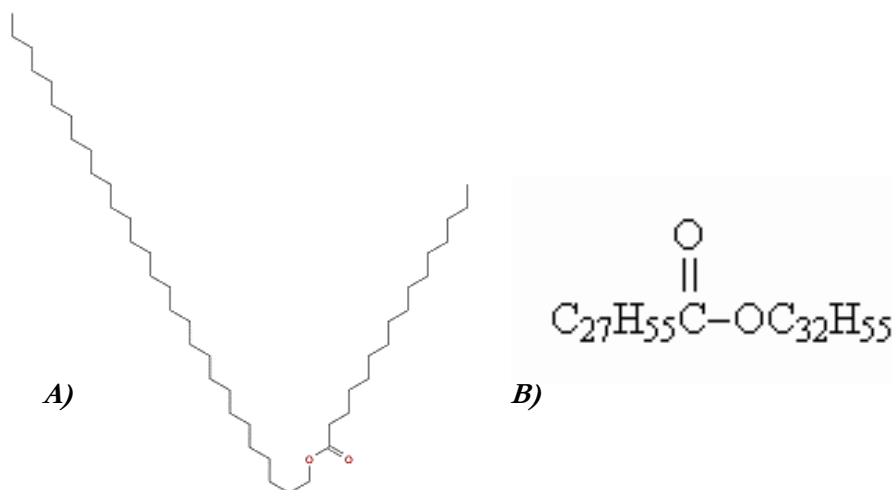


Figura 3. Estrutura química do principal composto da cera de abelha - hexadecanoato de triacontila (A) e da cera de carnaúba (B).

### 1.1.3. EMOLIENTES

São os componentes responsáveis pelas propriedades de espalhamento, absorção, sensação na pele, solubilidade de componentes ativos lipossolúveis e consistência. Agem como dispersantes dos pigmentos e reduzem a resistência estrutural e o ponto de fusão, assim como amacia e hidrata os lábios.

Os emolientes mais utilizados na constituição de um batom são o álcool oleílico, lanolina anidra e manteiga de karité<sup>10</sup> (**Figura 4**).

O álcool oleílico é um álcool insaturado que por apresentar a capacidade de humedecer pode substituir parte da concentração de óleo de rícino, sendo um melhor solvente da eosina. A sua utilização melhora o deslizamento na aplicação e confere uma boa e uniforme transferência da cor do batom para os lábios.

A lanolina anidra é obtida pela refinação da gordura da lã e possui um elevado poder emoliente. É uma mistura de ésteres de ácidos carboxílicos de cadeia linear, ramificada e hidroxilados e álcoois de cadeia linear, ésteres e álcoois triterpênicos. Possui também uma pequena quantidade de ácidos e álcoois livres e hidrocarbonetos. Pode absorver uma quantidade de água duas vezes ou mais superior ao seu peso. Atua como agente aglutinante para os demais componentes, tendendo a minimizar a quebra do batom, quando utilizada em quantidade apropriada.

A manteiga de karité (*Butyrospermum parkii*) é uma gordura vegetal refinada e desodorizada, extraída do fruto do karité, árvore de origem africana. Apresenta alto teor de insaponificáveis, o que lhe confere propriedades de absorção de radiações ultravioletas, contribuindo para o aumento do fator de proteção solar em formulações cosméticas. Apresenta excelentes propriedades humidificantes e emolientes, proporcionando um toque sedoso e macio aos lábios.

O octil Dodecanol possui uma alta estabilidade à auto-oxidação, constituindo-se num fator de estabilidade nas emulsões. Apresenta também boa estabilidade em meios ácidos e alcalinos. Quando utilizado em batons, favorece a dispersão uniforme dos pigmentos e a formação duma cobertura mais perfeita sobre os lábios<sup>12</sup>.

O malato de diisostearil é um éster do álcool isoestearílico e ácido málico que possui qualidade de dispersão superior para pigmentos. Apresenta alto coeficiente de viscosidade e alta polaridade, devido à presença de grupos hidroxilo. Possui também excelente estabilidade oxidativa, além de ser

compatível com óleos e ceras. Por possuir a propriedade de especial distribuição de ácidos gordos, proporciona firmeza elevada em batons<sup>12</sup>.

Os ésteres de jojoba são emolientes 100% naturais derivados da jojoba (*Simmondsia chinensis*). Possuem alta estabilidade quando comparado com outros emolientes e óleos tradicionais. Em batons contribuem para tornar o mesmo mais macio, confere deslizamento, efeito hidratante e auxiliam na recuperação dos lábios<sup>12</sup>.

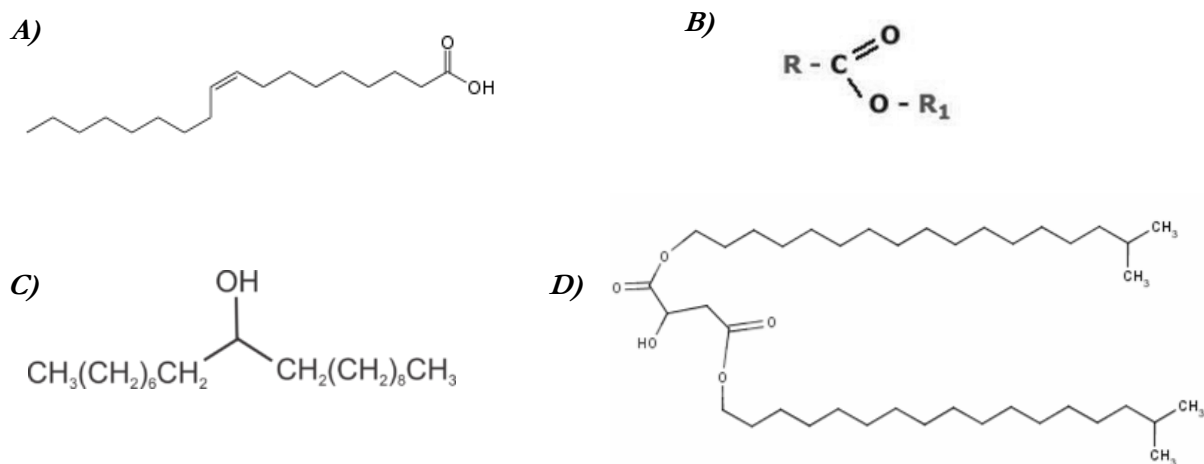


Figura 4. Estrutura química do álcool oleílico (A), lanolina anidra (B), octil Dodecanol (C) e malato de diisostearyl (D)

#### 1.1.4. ADITIVOS ESTABILIZADORES

A utilização de agentes estabilizadores é necessária em qualquer formulação cosmética para manter a estabilidade da formulação frente a agentes agressores como microrganismos, oxigênio do ar, luz e impurezas como metais pesados<sup>10</sup>. Os agentes normalmente utilizados na produção de batons são os parabenos.

#### 1.1.5. CONSERVANTES

Os conservantes são incorporados à formulação, principalmente, para protegê-la da contaminação por microrganismos durante a produção, armazenagem e uso final pelo consumidor. Devem atender às seguintes características: custo acessível, baixa toxicidade, estabilidade nas condições de uso e adequado espectro de atuação. São quimicamente capazes de destruir os microrganismos ou inibir seu crescimento<sup>10</sup>.



A imidazolidinilureia (Germall 115) é um pó branco higroscópico que é compatível com a maioria dos ingredientes cosméticos (**Figura 5**). É bastante solúvel em água. O Germall 115 é conhecido pela sua capacidade de ser um antimicrobiano eficiente numa ampla variedade de produtos para cuidados pessoais. Os conservantes clássicos são eficazes em doses baixas e podem ser usados para reforçar outros conservantes<sup>12</sup>.

Na composição dos batons, como conservante, também se pode encontrar o fenoxietanol (**Figura 5**), utilizado diversas vezes para inibir o crescimento de microrganismos.

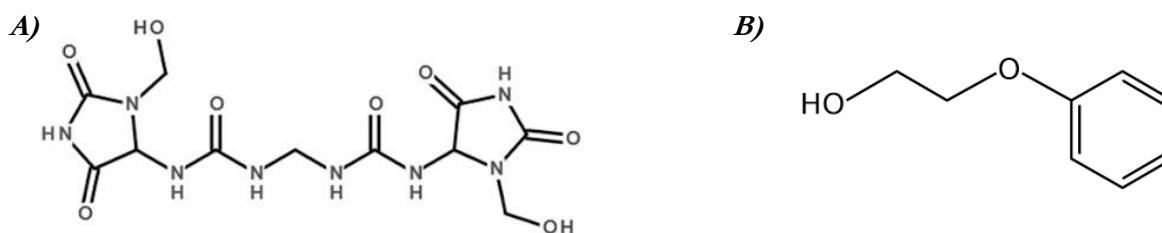


Figura 5. Estrutura química da imidazolidinilureia (A) e fenoxietanol (B)

### 1.1.6. ANTIOXIDANTES

São utilizados para diminuir ou evitar o processo de oxidação de óleos e gorduras, catalisados pela ação da luz, calor ou metais<sup>10</sup>.

A vitamina E é encontrada no óleo de germen de trigo e outros óleos vegetais. Apresenta como características mais importantes a sua ação antioxidante e a sua capacidade de reter água na pele, assim como estabilizar a vitamina A. Quando associada à vitamina C maximiza o efeito fotoprotector dos lábios contra os raios solares, atua também contra o envelhecimento da pele<sup>10</sup>.

O acetato de Vitamina E é um antioxidante e protege as células contra os radicais livres, prevenindo a peroxidação da gordura do corpo. É um componente que humedece, melhora a elasticidade e amacia a pele. É estável ao aquecimento e exposição ao oxigénio, em contraste com a vitamina E.

O butilhidroxitolueno (**Figura 6**) é utilizado como antioxidante em formulações contendo glicéridos, ceras e perfumes. A concentração de uso pode variar de 0,004 a 0,2% de acordo com a suscetibilidade dos componentes da formulação a sofrerem oxidação.

O butilhidroxianisol (**Figura 6**) é usado como antioxidante em baixas concentrações (0,02 a 0,05%). É efetivo em preparações contendo óleos minerais.

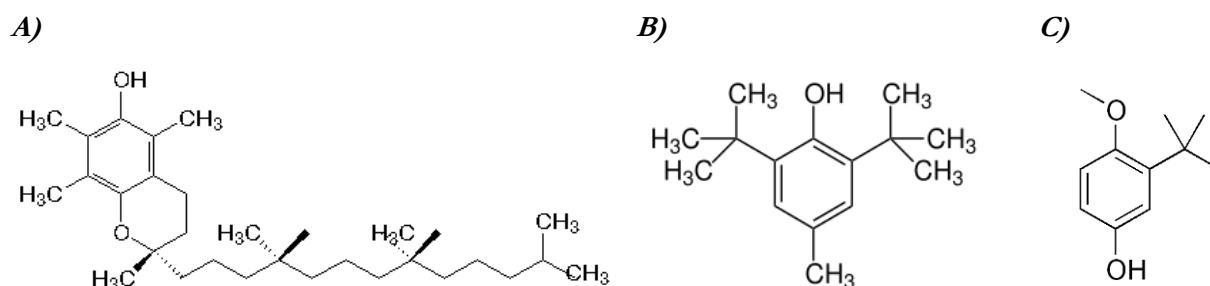


Figura 6. Estrutura química da vitamina E (A), butilhidroxitolueno (B), e butilhidroxianisol (C)

### 1.1.7. DILUENTE

Os diluentes presentes em batons são utilizados para conferir melhor dispersão dos pigmentos. O diluente mais usado é o oleato de decila, um éster com um aspeto oleoso, de boa compatibilidade com a epiderme, sendo um excelente coadjuvante de substâncias lipossolúveis (**Figura 7**). É solúvel em óleos vegetais, animais ou minerais, ceras e óleos essenciais<sup>12</sup>.

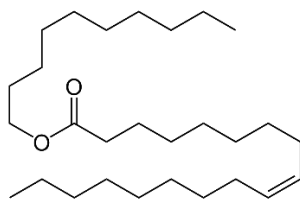


Figura 7. Estrutura química do oleato de decila

### 1.1.8. AGENTE ESPESSANTE

Os agentes espessantes possuem a capacidade de aumentar a viscosidade do meio, impactando na sua estabilidade, características sensoriais, aparência e funcionalidade.

O gel Bentone GTCC V é uma alternativa aos tradicionais polímeros ou espessantes à base de celulose. Promove o controle da viscosidade, auxilia na estabilidade de emulsões e é um excelente agente suspensor<sup>12</sup>.

O rheoluxe 880 é um espessante polimérico criado para promover o controle da viscosidade. Em maquiagens, confere as propriedades de resistência à transferência do batom e efeito duradouro<sup>12</sup>.

A Triidroxiestearina (Thixcin R) é obtido através da hidrogenação do óleo de rícino. Possui ampla versatilidade de aplicações, podendo ser usado para promover viscosidade e suspensão de pigmentos, estabilidade de produtos cosméticos e melhora o espalhamento quando utilizado em batons<sup>12</sup>.

### **1.1.9. FRAGRÂNCIA**

A fragrância é um componente utilizado numa ampla variedade de produtos para dar um odor agradável, disfarçar o cheiro intrínseco de alguns constituintes e melhorar a experiência do uso do produto<sup>12</sup>. As fragrâncias são utilizadas em pequenas quantidades com o intuito de mascarar o odor natural dos componentes essenciais do batom com aromas agradáveis, podem ser obtidas através de recursos naturais ou sintetizadas em laboratório<sup>4</sup>.

### **1.1.10. AGENTES NACARANTES**

Existem inúmeras substâncias que apesar de não produzirem coloração são muito importantes para o tom e a cor do batom como é o caso do talco, amido e caulim. Para proporcionar um efeito nacarado ao produto depositado sobre os lábios, utilizam-se finas partículas de mica recobertas numa camada delgada de óxido de titânio, oxiclreto de bismuto em pó, cristais de guanina, glitters e substâncias iridescentes<sup>13</sup>.

### **1.1.11. PIGMENTOS E CORANTES**

Estes componentes são responsáveis pela coloração e podem ser naturais ou orgânicos. Os aditivos coloridos podem ser divididos em corantes (compostos orgânicos solúveis em água ou óleo e sintéticos) ou pigmentos (minerais ou orgânicos, permanecem cristalinos ou em partículas após a incorporação, sendo insolúveis)<sup>14</sup>. A principal diferença entre pigmentos e corantes é a sua solubilidade, os pigmentos inorgânicos são insolúveis e os corantes são solúveis. Alguns batons possuem na sua composição tanto pigmentos inorgânicos como corantes, sendo que o primeiro

fornece uma cobertura satisfatória para defeitos e o segundo, além da coloração propriamente dita, também aumenta o tempo de permanência<sup>2</sup>.

Os pigmentos são caracterizados como pós finos quando secos e possuem ótimas propriedades de coloração. A propriedade de cobertura de um batom depende do tipo de pigmento utilizado. Regulamentos internacionais limitam estritamente o uso de pigmentos sintéticos e minerais<sup>15</sup>.

Os pigmentos minerais são geralmente mais resistentes à degradação, proporcionam cores mais opacas e possuem menor cobertura de coloração mas, no entanto possibilitam maior uniformidade de cor. Os pigmentos inorgânicos têm, como fonte de matérias-primas, os sais de metais como ferro, cromo, chumbo, cobre e cádmio, que são poluentes e prejudiciais à saúde de quem os manipula<sup>14</sup>. Os pigmentos inorgânicos que são produzidos a partir de óxido de ferro conferem as seguintes colorações: amarelo, vermelho e marrom; enquanto os óxidos de titânio fornecem opacidade e aderência; o óxido de ferro preto é utilizado para os batons de coloração mais escura como preto, o azul ultramarino (sulfosilicato de sódio e alumínio) e azul da Prússia (ferrocianeto de potássio) para o produto azul, óxido de ferro para o castanho e carmim para o vermelho<sup>16</sup>. Os batons que possuem melhor fixação, ou seja, não mancham os lábios são, normalmente, produzidos com pigmentos inorgânicos tais como vernizes metálicos (corantes insolúveis precipitados), vernizes em substrato metálico (a alumina, por exemplo) ou o dióxido de titânio (que confere um pigmento branco no acabamento de colorações pastéis)<sup>2</sup>.

Segundo Westfall (2015)<sup>14</sup>, os pigmentos orgânicos são substâncias sintéticas que permitem a obtenção de todas as tonalidades de coloração, destacando-se pelo brilho e pela transparência do produto final. Dessa forma, são pigmentos que possuem um alto valor agregado. Os pigmentos orgânicos são subdivididos em três tipos: lacas, toners e pigmentos verdadeiros. As lacas são pigmentos hidrossolúveis que são absorvidos por substratos insolúveis; Toners são pigmentos solúveis em água que são precipitados como sais metálicos; já os verdadeiros pigmentos são insolúveis.

Para obter a coloração dos batons também podem ser utilizados corantes que apresentam uma maior permanência nos lábios. Entre os corantes mais comuns está o bromoácido (eosina ácida), que apresenta como cor original laranja (a pH 4) e que muda a sua coloração para a cor vermelho-púrpura após neutralização pelo tecido do lábio. Alguns corantes orgânicos insolúveis em água,

como eosina, floxina, eritrosina, amaranto, rodamina, tartrazina, dibromofluoresceína e tetrabromofluoresceína, também são responsáveis pela cor dos batons<sup>17</sup> (**Figura 8**).

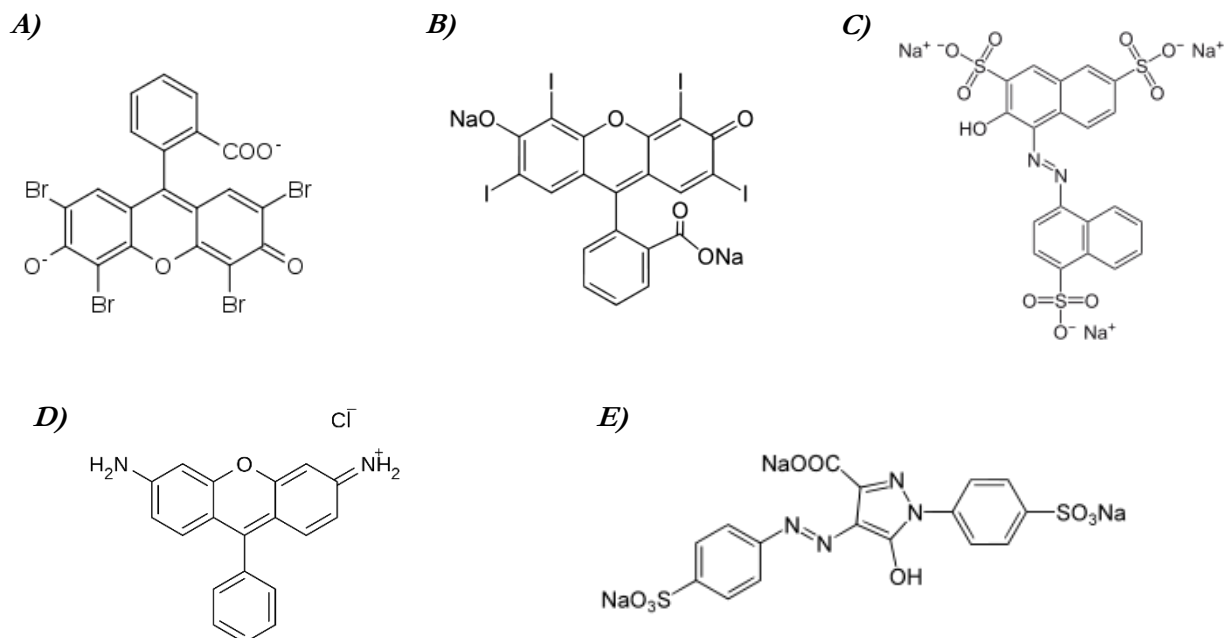


Figura 8. Estrutura química da eosina (A), eritrosina (B), amarantho (C), rodamina (D) e tartrazina (E)

## 1.2. IMPORTÂNCIA FORENSE DOS BATONS

Devido à crescente popularidade dos cosméticos, existe uma probabilidade cada vez maior de encontrar vestígios cosméticos em cenas do crime. Devido à sua facilidade de transferência e prevalência de uso, resíduos de cosméticos podem fornecer evidências forenses significativas em casos de violação, roubo ou assassinato podendo ser encontrados em roupas ou lençóis em casos de violação sexual<sup>18</sup>, assim como manchas em copos, chávenas, lenços de papel, pontas de cigarros ou qualquer outro material<sup>19</sup>, ou mesmo como um meio para escrever ameaças.

### 1.2.1. TOXICOLOGIA FORENSE

A toxicologia é uma ciência que estuda os efeitos nocivos decorrentes das interações das substâncias químicas com o organismo, com a finalidade de prevenir, diagnosticar e tratar a intoxicação. No âmbito da toxicologia, distinguem-se várias áreas, de acordo com a natureza do agente ou a maneira como este alcança o organismo. A toxicologia de medicamentos e cosméticos

estuda os efeitos nocivos produzidos pela interação dos medicamentos e cosméticos com o organismo, decorrentes do uso inadequado ou da suscetibilidade individual. Observando-se que mesmo os produtos cosméticos sejam aplicados topicamente, um ou mais dos seus ingredientes podem penetrar na barreira cutânea, enquanto outros, devido à sua apresentação e modo de uso, podem ser ingeridos ou inalados, como por exemplo, os dentifrícios e sprays para cabelos<sup>20</sup>.

No caso da aplicação de cosméticos labiais, estima-se uma ingestão média de 1,8 kg com o uso diário ao longo da vida, com uma média diária de 17 a 24 mg, média aumentada pelo retoque da cor ao longo do dia, podendo chegar a 87 mg de ingestão diária<sup>21</sup>.

A presença de metais nos pigmentos da composição dos batons não é um problema, visto que o organismo humano necessita de pequenas quantidades de alguns metais, como ferro, cobalto, cobre e zinco, que desempenham funções metabólicas em importantes processos biológicos. Já outros metais, como chumbo, cádmio e mercúrio, considerados metais pesados, são extremamente tóxicos, mesmo em pequenas quantidades.

Os pigmentos inorgânicos usados na formulação de cosméticos podem arrastar como impurezas elementos tóxicos como arsênio, níquel, chumbo, entre outros. Esses elementos tóxicos e seus compostos quando solúveis em água podem ser parcialmente absorvidos pela pele<sup>22</sup>. Certos elementos (entre eles estão o mercúrio e chumbo) prejudicam o metabolismo animal, sendo considerados muito tóxicos. A sua eliminação pelo organismo humano é difícil, fazendo com que sejam bioacumulados<sup>16</sup>.

Para produzir efeitos nocivos ao organismo humano não são necessárias doses elevadas destes elementos tóxicos e em muitos casos que resultam em envenenamento são consequência da exposição prolongada a pequenas quantidades desses compostos<sup>16</sup>. A utilização de cosméticos caracteriza-se pela aplicação do produto diariamente sobre a pele, que na presença de certos elementos, leva à exposição crônica, podendo causar danos à saúde. Assim, a identificação e quantificação destes elementos merece especial atenção.

O chumbo é tido como o contaminante mais comum encontrado em batons. Outros metais pesados como cádmio e crômio também são frequentes. O chumbo é um metal pesado tóxico, não essencial e acumula-se no organismo, afetando todos os órgãos; é absorvido muito lentamente pelo corpo e a sua taxa de excreção é ainda mais lenta. Assim, altos níveis deste metal no corpo humano podem ter efeitos prejudiciais, especialmente em crianças, mulheres grávidas e mulheres em idade fértil<sup>23</sup>. Os mecanismos de toxicidade propostos envolvem processos bioquímicos fundamentais,

que incluem a capacidade do chumbo de inibir ou imitar a ação do cálcio e de interagir com proteínas. No organismo humano, o chumbo não é metabolizado, mas complexado por macromoléculas, sendo diretamente absorvido, distribuído e excretado. O organismo acumula chumbo durante toda a vida e liberta-o de forma extremamente lenta, devido à sua grande afinidade pelo sistema ósseo<sup>24-26</sup>. O sistema nervoso é o conjunto de órgãos mais sensível ao envenenamento por chumbo, sendo a encefalopatia um dos mais sérios desvios tóxicos induzidos pelo chumbo em crianças e adultos<sup>27</sup>. Além dos efeitos neurológicos, o chumbo provoca desvios hematológicos que levam à anemia e são considerados como resultado de sua ação tóxica sobre as células vermelhas e eritropoiéticas na medula óssea<sup>29</sup>.

Todo e qualquer metal pesado tem efeitos tóxicos no corpo humano. A elevada concentração de crômio leva a dores de estômago, úlceras, convulsões e podem causar danos no fígado e nos rins<sup>30</sup>. Muitas pessoas são alérgicas a metais como o cádmio, levando a ossos e dentes frágeis. O cádmio e seus compostos são carcinogênicos por natureza<sup>31</sup>. Finalmente, o arsênio é muito encontrado em batons e a sua ingestão a longo prazo pode causar vários distúrbios circulatórios e periféricos, efeitos na pele e aumentar o risco de cancro no pulmão, no trato gastrointestinal e no sistema urinário<sup>32</sup>.

Na União Europeia, a principal legislação relacionada aos produtos cosméticos é o Regulamento (CE) nº 1223/2009, que lista uma série de substâncias proibidas nos produtos cosméticos, entre eles cádmio e seus compostos, dicloreto de cobalto, sulfato de cobalto, benzenossulfonato de cobalto, cromo e seus sais, dióxido de níquel, carbonato de níquel, níquel, sulfato de níquel, óxido de níquel, dissulfureto de triníquel, tetracarbonilníquel, chumbo e seus compostos, arsênio, mercúrio e ftalatos<sup>33</sup>. No entanto é permitida a utilização, como corante, de alumínio, manganês e titânio.

Existem várias técnicas que permitam a identificação e quantificação de metais e metaloides em cosméticos, entre elas, a espectrometria de absorção atômica por forno de grafite<sup>34-37</sup> (GFAAS), espectrometria de absorção atômica por chama<sup>36, 38</sup> (FAAS), espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente<sup>36</sup> (ICP-OES), espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente<sup>36</sup> (ICP-MS) e espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio<sup>39</sup> (CV-AAS), esta para a determinação de mercúrio.

Os pigmentos normalmente utilizados, além das possibilidades de intoxicação pelo seu uso também implicam a atividade mineira, responsável por diversos efeitos negativos no meio ambiente como o esgotamento de recursos, a poluição do solo e da água, entre vários outros.

Os batons são utilizados por todo o mundo com bastante regularidade e embora possam ter algumas características tóxicas, como referido anteriormente, não existe conhecimento de casos de intoxicações com este tipo de cosmético.

### **1.2.2. QUEILOSCOPIA**

O estabelecimento da identidade humana é um processo essencial em Medicina Legal, tanto em termos civis, como criminais<sup>40, 41</sup>. As impressões digitais, utilização dos registos dentários e do ácido desoxirribonucleico (DNA) são provavelmente as técnicas mais comumente utilizadas, que permitem o rápido e seguro processo de identificação. Muitas vezes nos locais de crime, podem encontrar-se impressões de diversas partes moles corporais, as quais necessitam de uma análise comparativa para se poder fazer uma identificação. Estas impressões nem sempre são as digitais, pois os criminosos estão cada vez mais informados, adotando métodos, como usar luvas, para esconder ao máximo a sua identidade<sup>42, 43</sup>. Assim, é cada vez mais importante a variabilidade dos métodos de identificação aplicados para conseguir estabelecer a identidade. Surgem assim métodos alternativos para apurar a identidade<sup>44</sup>, como é o caso da identificação pelos tecidos moles, sendo exemplo disso a queiloscopia.

A queiloscopia é uma área da Medicina Dentária Forense que se dedica ao estudo, registo e classificação das impressões labiais, que apresentam um padrão característico provocado pelas rugas e sulcos da mucosa labial<sup>45-54</sup>.

É aplicável principalmente na identificação humana, dado que a impressão labial pode ser deixada na cena do crime e fornecer um acesso direto ao suspeito<sup>55, 56</sup>. A impressão labial pode ser encontrada em roupas ou outros objetos, tais como copos, chávenas, taças, portas, talheres, pontas de cigarro, entre outras<sup>41, 44, 49, 52, 53, 55</sup>. Apesar da queiloscopia ainda não ser uma técnica muito comum na identificação humana, é considerada como um método alternativo que pode ser usado como uma forma de evidência, provando a conexão entre o suspeito e a cena do crime, dando uma importante contribuição para a investigação criminal.



Existem três tipos de impressões labiais, podendo ser classificadas em visíveis, latentes e plásticas ou modulares<sup>57</sup>.

As impressões labiais visíveis são aquelas que são detetadas a olho nu, sem utilização de lupa ou outro instrumento e não requerem o uso de reveladores<sup>40, 43</sup>. São facilmente analisadas e geralmente são resultado da utilização de um batom convencional ou do contacto dos lábios com sangue, sujidade, tintas, gordura ou outras substâncias similares<sup>44</sup>. As impressões labiais visíveis, designadamente as que aparecem na forma de manchas de batom, são frequentemente encontradas em cenas de crime, podendo a quantidade de batom utilizada levar à produção de impressões labiais distintas.

Relativamente às impressões labiais latentes, estas são as mais frequentemente encontradas no local do crime e a sua importância não deve ser negligenciada<sup>44, 57, 58</sup>. Podem ser parcialmente ou totalmente invisíveis a olho nu. A zona de vermelhão dos lábios possui glândulas salivares, sebáceas e sudoríparas que, com a hidratação feita pela língua, possibilita a existência destas impressões invisíveis a olho nu<sup>46, 48, 53-55</sup>. Para serem analisadas, as impressões labiais latentes têm que ser tornadas visíveis, por intermédio de um processo designado de revelação. Estas impressões podem também se originar quando os lábios estão cobertos por batons de fixação permanente ou batons transparentes, também chamados de batom de longa duração e brilho labiais ou “gloss”, respetivamente. Quando entram em contato com superfícies, não deixam impressões labiais coloridas como no caso dos batons convencionais, mas sim as impressões latentes<sup>59</sup>.

As impressões plásticas ou modulares são impressões observadas quando os lábios pressionam certos materiais formando uma impressão negativa dos padrões estudados. São exemplo disso o chocolate, queijo e outros elementos com as mesmas características/viscosidade<sup>57</sup>.

Após a impressão labial ser encontrada no local do crime, esta deve ser revelada e fotografada<sup>40</sup>. As fotografias devem ser realizadas antes de qualquer processamento da impressão labial, com o intuito de proteger a mesma<sup>54</sup>. No que concerne aos métodos de revelação, estas podem ser reveladas por meios físicos, químicos, fluorescentes ou pela utilização de laser, devendo ser analisado qual o melhor método para cada caso específico com o objetivo de obter melhores resultados. Os reveladores são todas as substâncias ou métodos que são utilizados para tornar visíveis as impressões que estão ocultas.

O estudo da composição do batom, bem como o estudo comparativo das impressões labiais, são duas das formas auxiliares no processo de investigação criminal. O estudo comparativo consiste

em confrontar as impressões labiais encontradas num determinado local com as procedentes de um suspeito ou de uma vítima. Em primeiro lugar é realizado uma observação macroscópica seguida de uma observação microscópica da impressão labial, tendo como intenção realizar uma exclusão ou uma identificação positiva, sendo que uma só divergência pode determinar uma exclusão<sup>43</sup>. No entanto, na maioria das vezes, não é deixada uma impressão completa no local do crime, o que inviabiliza uma conclusão mais definitiva<sup>60</sup>.

Múltiplas classificações das impressões labiais foram surgindo ao longo da história, entre elas a classificação de Martin Santos, classificação de Suzuki e Tsuchihashi (a mais amplamente utilizada), classificação de Renaud, classificação de José Maria Dominguez, classificação de Afchar Bayat e classificação de Oviedo e Meira<sup>44, 54</sup>.

Em 1967, Santos propôs a primeira classificação em que dividiu os sulcos labiais em dois grupos: simples e composto<sup>41, 46, 61</sup>. O primeiro define-se apenas por uma forma e o segundo, quando são formados por duas ou mais formas distintas<sup>44, 57, 62</sup>. A **Tabela 1**, demonstra a classificação de Martin Santos.

*Tabela 1. Classificação de Martin Santos* <sup>44, 57, 62</sup>

<b>Simple</b>	<b>Composto</b>
Sulcos retos (R-1)	Bifurcados (B-5)
Sulcos curvos (C-2)	Trifurcados (T-6)
Sulcos angulares (A-3)	Anómala (Na-7)
Sulcos sinusoidais (S-4)	

A queiloscopia é uma técnica simples, não invasiva, de fácil acesso e que não necessita de um instrumental muito complexo<sup>63</sup>. Contudo é ainda pouco utilizada, apesar de não existirem duas impressões labiais iguais que obedecem às características demonstradas pela imutabilidade, perenidade e variabilidade dos sulcos labiais. A disposição das linhas e sulcos na zona de vermelhão dos lábios humanos é individual e única e a forma dos sulcos não se altera com os fatores ambientais<sup>54</sup>, inclusive são distintas mesmo entre gémeos homozigóticos, apesar de serem semelhantes<sup>45, 57</sup>.

As marcas de batom deixadas em certos objetos na cena do crime podem ser usadas na investigação, mesmo após alguns dias, devido a duas características importantes. São elas a

permanência e a persistência da impressão labial, a qual pode ser obtida até trinta dias após terem sido produzida<sup>46</sup>.

Apesar dos sulcos labiais serem permanentes e imutáveis<sup>41, 44, 47, 54</sup>, verificou-se que as impressões labiais quando decorrentes de uma situação de saúde transitória, como por exemplo, inflamação e herpes, não apresentam repercussões definitivas. No entanto, nos casos de traumas, que podem conduzir à formação de cicatrizes, patologias e tratamento cirúrgico, o tamanho e a forma podem ser alterados afetando o padrão e a morfologia dos sulcos labiais, sendo estas alterações consideradas por si só como marcas de identificação<sup>52, 54, 64</sup>. Algumas condições patológicas (fístula congénita do lábio, esclerodermia do lábio, sífilis, queilite labial, entre outros), também podem tornar o estudo das impressões labiais inviável<sup>44</sup>.

A mesma pessoa pode produzir distintas impressões labiais dependendo da pressão, direção e método usado para impressionar os padrões labiais dado que os lábios são móveis<sup>65-68</sup>. Para além disso, a configuração das impressões labiais depende da disposição da boca: se fechada, os sulcos ficam bem definidos; se aberta, os sulcos ficam mal definidos e difíceis de interpretar<sup>65, 68-71</sup>.

Em Portugal, existem poucos estudos científicos referentes à utilização das impressões labiais em tribunal, não sendo o seu uso consensual. No entanto, sabe-se que a Polícia Judiciária procede à recolha desta importante informação no local de crime<sup>44, 54</sup>.

### **1.2.3. ANÁLISE QUÍMICA DOS COMPONENTES**

Na guerra contra o crime, os encarregados da aplicação da lei encontram regularmente diferentes tipos de evidências nas cenas do crime. Os avanços recentes na tecnologia e nos métodos analíticos aprimorados permitiram aos cientistas começar a utilizar evidências como vestígios cosméticos<sup>72</sup>, que antes eram considerados com pouco interesse forense.

Embora a identificação conclusiva com base num vestígio de cosmético pareça ser uma tarefa quase impossível devido à produção em massa, os cosméticos podem ser usados como evidência indireta para formar uma ligação entre um suspeito e a vítima ou entre o suspeito e a cena de crime, corroborar declarações ou auxiliar na reconstrução da cena de crime. As informações adicionais obtidas a partir deste tipo de evidência, como marca ou tipo de produto, poderiam fortalecer o valor da comparação cosmética, especialmente considerando a vasta diversidade destes produtos.

A identificação de vestígios de batons e a sua diferenciação pode ser um verdadeiro desafio pois a maioria dos produtos desse tipo tem uma composição química muito semelhante. A composição dos batons torna difícil encontrar uma técnica que permita a análise simultânea de todas as substâncias neles contidas, pela sua complexidade. Por causa dessa variação nos constituintes dos batons, é normalmente necessária uma combinação de técnicas instrumentais para atingir um alto poder discriminatório para comparação e identificação forense deste tipo de vestígios.

No entanto, para originar variações de tonalidade é necessária a combinação de corantes ou pigmentos, desse modo um batom da mesma cor pode conter corantes/pigmentos diferentes, permitindo assim a sua discriminação<sup>19, 73-80</sup>. Assim quando for detetada a presença de vestígios de batom na cena de crime, este deve ser analisado com o intuito de determinar a sua constituição, pois cerca de 45% dos batons possuem composições distintas, permitindo assim a possível identificação do fabricante<sup>54</sup>. Por isso o estudo das impressões labiais ou dos vestígios cosméticos compreendem, dentre outros, a investigação através da análise química dos componentes dos batons<sup>81, 82</sup>.

### **1.3. MÉTODOS DE ANÁLISE**

#### **1.3.1. MÉTODOS DE ANÁLISE DE EVIDÊNCIAS COSMÉTICAS**

O primeiro passo na análise forense de vestígios de batom é a comparação visual da cor sob luz branca e ultravioleta<sup>82</sup> (UV). A análise de comparação visual tem como objetivo efetuar a comparação da amostra desconhecida com a amostra conhecida com base principalmente no tom da cor. Esta técnica permite garantir que se trata de produtos diferentes<sup>83</sup>, no entanto, para estabelecer compatibilidades a sua aplicabilidade é reduzida. Para além da comparação visual existem diversos métodos analíticos modernos não destrutivos e destrutivos que são aplicados no estudo forense de batons. Como este tipo de evidência é encontrada em pequenas quantidades, uma análise não destrutiva é priorizada sendo que as técnicas destrutivas devem ser utilizadas por último.

As técnicas cromatográficas são as mais aplicadas na análise de evidências cosméticas por vários motivos: a grande maioria delas é simples, rápida, barata, versátil e requer uma amostra relativamente pequena. O seu uso em relação às restantes técnicas utilizadas supera em muito as demais, sendo responsável por cerca de 60% das análises utilizadas para fins forenses<sup>84</sup>.

A eletroforese capilar permite a separação de corantes cosméticos como a eosina e a cromatografia gasosa associada à observação com luz fluorescente, constitui um método adequado

para a identificação dos batons<sup>81, 85-87</sup>. A cromatografia gasosa (GC) é usada para analisar os componentes orgânicos voláteis de produtos cosméticos. Este poder discriminatório é muito útil se tivermos em conta a existência de diferentes combinações de ceras (abelha, carnaúba) em proporções variadas nos batons, que originam cromatogramas distintos e complexos. O problema é que com o aumento do número de amostras, alguns cromatogramas tornam-se indistinguíveis, principalmente aqueles que utilizam ceras semelhantes na sua constituição, o que limita o poder de discriminação dessa técnica e, assim é mais aconselhável usá-lo em combinação com outras técnicas que permitam uma maior discriminação entre as amostras. O GC-MS (cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa) tem demonstrado sucesso na análise de cremes, perfumes, delineadores, vernizes e batons (no estudo de óleos e ceras) mas, no entanto, o seu potencial de discriminação é limitado por produtos fabricados com componentes muito semelhantes<sup>83</sup>.

A análise de amostras cosméticas de cores comparáveis pode incluir cromatografia líquida de alto desempenho<sup>18</sup> (HPLC), espectrofotometria ultravioleta<sup>82</sup> (UV), ou cromatografia de camada fina<sup>19, 85</sup> (TLC) para indicação dos corantes. A TLC é um dos métodos mais utilizados em laboratórios forenses quando se pretende analisar evidências cosméticas, pois cumpre amplamente todos os requisitos que constituem o método de análise ideal: rápido, reprodutível, barato, é necessária uma pequena quantidade de amostra (aproximadamente 10 µg), sem preparação da mesma. O HPLC é utilizado na separação de amostras e para uma determinação qualitativa e quantitativa dos seus componentes. No caso de cosméticos, é usado para detetar substâncias como filtros UV, antioxidantes, conservantes, entre outros. Em contraste com a TLC, esta técnica requer maior quantidade de amostra (entre 30-50 µg), mais tempo de análise e o risco de contaminações<sup>78</sup>.

A combinação de microespectrofotometria e microscopia eletrónica de varrimento com espectroscopia de energia dispersiva (SEM-EDX) também foi considerada uma combinação eficaz para caracterizar os corantes e a composição elementar dos batons<sup>88</sup>. Os dados da análise elementar também podem ser obtidos a partir da análise de ativação de neutrões usando espectrometria de raios-X<sup>79</sup>.

No entanto essas técnicas apresentam algumas desvantagens. Algumas envolvem subjetividade na análise (por exemplo, microscopia) e algumas são destrutivas envolvendo processos de extração. Idealmente, a análise deve ser realizada de forma não destrutiva em vestígios de amostras com o mínimo de preparação da amostra e evitando a contaminação. Assim, das técnicas espectroscópicas, na análise e comparação da composição química dos cosméticos, destacam-se a espectroscopia de Raman e a espectroscopia de infravermelho<sup>88</sup> (IV).

Nos últimos anos, os avanços tecnológicos da espectroscopia de Raman tornaram-na cada vez mais vantajosa para a ciência forense. Isso inclui o desenvolvimento de espectrômetros Raman portáteis que podem permitir a identificação presuntiva de compostos em campo<sup>89</sup>. A espectroscopia Raman também tem a vantagem de ser não destrutiva. A espectroscopia de Raman demonstrou que a determinado comprimento de onda (780 nm) apresenta uma eficácia de 95% na análise de amostras de batom, o que juntamente com a sua velocidade, reprodutibilidade e sensibilidade o torna um ótimo método de análise para uso em evidências cosméticas. Também tem sido muito útil para analisar a amostra em diferentes suportes<sup>83</sup>. Recentemente, Salahioglu et al.(2013)<sup>90</sup> demonstraram a aplicação da espectroscopia de Raman no estudo de vestígios de batom em vários substratos (fibras têxteis, pontas de cigarro e lenços de papel), e também que não ocorreu nenhuma mudança significativa nos resultados obtidos ao longo de um período de dois anos.

A espectroscopia de infravermelho tem sido útil devido aos seus bons resultados nesta área e à necessidade de um tamanho de amostra muito pequeno. Este método produz uma análise rápida e os resultados são altamente reprodutíveis. É uma técnica espectroscópica muito usada nos dias de hoje e tem vindo a tornar-se um instrumento imprescindível em vários domínios da atualidade<sup>91,92</sup>. É uma técnica que se baseia no facto das moléculas absorverem radiação de determinadas frequências que permitem caracterizar os grupos funcionais presentes na sua estrutura. Permite estudar as vibrações dos átomos numa molécula, medindo a radiação incidente que é absorvida na região do infravermelho, representando-se graficamente a absorvância ou a transmitância em função da frequência.

A espectroscopia de infravermelho é um método rápido, sensível, e de fácil de aplicação, que tem a grande vantagem de poder ser utilizado para o estudo de amostras sólidas, líquidas ou gasosas sem grandes dificuldades técnicas de amostragem<sup>91,93</sup>. Após os cromatógrafos, os espectrômetros de IR são os equipamentos com maior procura para aplicação em indústrias, devido à facilidade de implementação, rapidez na aquisição de espectros e custo relativamente baixo no que diz respeito ao suporte e manutenção<sup>94</sup>. Pode usar-se toda a região do infravermelho do espectro eletromagnético, sendo, no entanto, mais comum a utilização da região do infravermelho médio, 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ . Quando se trata de uma análise prática, é costume subdividir o espectro de infravermelho em três regiões<sup>93,95</sup>: 4000-1400  $\text{cm}^{-1}$ , 1400-900  $\text{cm}^{-1}$  e 900-400  $\text{cm}^{-1}$ .

A espectroscopia na região do infravermelho é uma técnica de espectroscopia vibracional baseada em absorção molecular em que a energia, quando absorvida por uma determinada molécula, promove transições vibracionais e rotacionais. Devido às vibrações moleculares, os átomos variam

continuamente a sua posição relativa. Uma molécula pode ser representada aproximadamente como um conjunto de molas que vibram a frequências características. Os movimentos vibracionais podem classificar-se em três grupos: movimentos de alongação, movimentos de deformação angular e movimentos torcionais.

Uma vibração de alongação envolve uma variação periódica do comprimento de ligação entre dois átomos; as vibrações de deformação angular são caracterizadas por deformações de ângulos de valência; os movimentos torcionais estão associados a rotações internas em torno de ligações. Por exemplo, um grupo metileno ( $\text{CH}_2$ ) inserido numa cadeia alifática possui dois modos de alongação (simétrica e assimétrica), quatro modos de deformação<sup>96</sup>: deformação no plano (*scissoring*), flexão no plano (*rocking*), flexão para fora do plano (*wagging*), e deformação para fora do plano (*twisting*); e dois modos de torção em torno das ligações C- $\text{CH}_2$ -C, como representado na **Figura 9**.

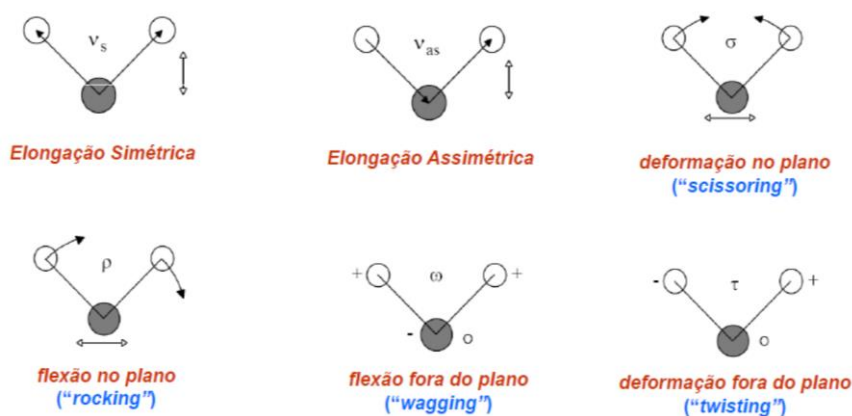


Figura 9. Modos vibracionais da molécula de um grupo metileno ( $\text{CH}_2$ ).<sup>97</sup>

Dentro da Espectroscopia no infravermelho destaca-se a utilização de transformada de Fourier (FTIR), que é uma ferramenta versátil e poderosa que identifica a presença de biomoléculas em matrizes complexas, ajudando a elucidar o tipo de componentes orgânicos, constituindo uma plataforma ideal para investigações químicas e bioquímicas<sup>98-100</sup>. As suas aplicações incluem a identificação de tinta, explosivos, propulsor de pólvora sem fumo e drogas ilícitas<sup>101-105</sup>. A técnica FTIR tem-se tornado uma ferramenta bastante importante no que toca à possibilidade de analisar e identificar amostras macro e microscópicas e à comparação precisa de amostras de origens diferentes. É ainda de salientar o facto de não ser, em geral, uma técnica destrutiva<sup>92</sup>. A possibilidade de obter um espectro de infravermelho em poucos minutos, e a excelente capacidade analítica da

técnica, fazem com que esta seja uma escolha comum em qualquer análise físico-química convencional.

Neste tipo de aparelho, não se utiliza qualquer tipo de monocromador, sendo o espectro obtido por meio de uma operação matemática (transformação de Fourier) a partir do interferograma resultante da interferência de dois feixes de radiação, provenientes da mesma fonte, mas com diferentes percursos, e que ocorre no interferômetro.

As principais vantagens da espectroscopia FTIR são: a presença de poucos elementos óticos e ausência de fendas no instrumento, permitindo assim que a potência da radiação que chega ao detector é maior do que nos instrumentos dispersivos e observam-se melhores relações sinal/ruído; elevado poder de resolução e reprodutibilidade do comprimento de onda, que permitem a análise de espectros complexos; todos os sinais da fonte alcançam o detector simultaneamente, permitindo num curto período de tempo a obtenção de todo o espectro de uma só vez, tornando-se assim possível aumentar o número de “scans” para aumentar a razão sinal/ruído<sup>106</sup>.

O uso mais importante descrito na análise de amostras cosméticas por IV tem sido na identificação de componentes orgânicos (grupos funcionais) porque os espectros obtidos são geralmente complexos e fornecem muitos dados que podem ser usados na discriminação entre amostras<sup>83</sup>. Várias técnicas de IV, como Espectroscopia de Transmissão (TS), Espectroscopia Fotoacústica (PAS), Refletância Total Atenuada (ATR) e Espectroscopia de Refletância Difusa (DRS), foram aplicadas na análise de diferentes tipos de amostras cosméticas: batom<sup>107-109</sup>, base de maquiagem<sup>109</sup> e creme<sup>110-113</sup>.

O modo de refletância total atenuada (ATR) pode ser utilizado em amostras sólidas ou líquidas e tem de existir um contato muito próximo entre a amostra e o cristal para que este tipo de refletância ocorra. O componente principal de um acessório de ATR é um prisma de uma substância transparente ao IV, de elevado índice de refração. O cristal é fabricado com materiais com um elevado nível de refração como por exemplo o germânio, zinco-selênio ou diamante. A aquisição de espectros ocorre quando um feixe de radiação infravermelha incide no cristal com um ângulo crítico específico, de forma que a luz incidente é refletida com um ângulo superior ao ângulo crítico (**Figura 10**). Nestas condições, há reflexão total e a luz permanece dentro do cristal durante sucessivas reflexões. Nesse processo de reflexão, a radiação penetra na amostra com uma profundidade muito pequena, mas suficiente para fornecer informações a respeito da composição química da amostra analisada<sup>106</sup>. É necessário garantir o total contato da amostra analisada com o cristal do acessório,



devido à pequena penetração do feixe na amostra, e por isso, uma pressão é exercida para garantir o melhor contato possível na interface amostra/cristal. Depois de um certo número de reflexões, a luz deixa o prisma e é focada no detetor. A radiação resultante atenuada é medida e representada graficamente em função do comprimento de onda e dá origem a absorções características da amostra<sup>114</sup>.

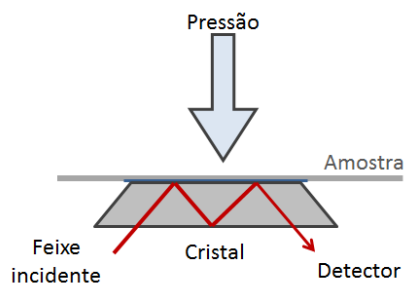


Figura 10. Esquema de aquisição espectral utilizando o acessório de ATR. <sup>115</sup>

As principais vantagens da espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com reflexão total atenuada (FTIR-ATR) são o facto de apenas ser necessária uma pequena quantidade de amostra sem preparação prévia, as medições serem rápidas, o método ser essencialmente não destrutivo, pouco dispendioso e pouco afetado com contaminações ambientais<sup>98,99</sup>. O FTIR-ATR é preferencial em relação a espectroscopia FTIR de transmissão, em diversos campos de aplicação<sup>116</sup>. A capacidade não destrutiva do FTIR-ATR fornece à ciência forense a capacidade de preservar a integridade da amostra. Os espectros obtidos fornecem informações diretamente correlacionadas com a estrutura e composição química da amostra, por isso tem sido muito utilizada para obter informações sobre a composição química dos batons. Esta técnica também foi aplicada com sucesso na análise forense de tintas<sup>117, 118</sup>, fibras<sup>119</sup>, resíduos de disparos<sup>120</sup>, cabelos<sup>121</sup> e drogas ilícitas<sup>122</sup>.

### 1.3.2. UTILIZAÇÃO DE MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS NA ANÁLISE DE RESULTADOS

Os avanços tecnológicos e o desenvolvimento de técnicas analíticas permitiram a aquisição de uma grande quantidade de dados num curto período de tempo. O grande desafio que surgiu com esses avanços, foi transformar essa grande quantidade de informação em conhecimento<sup>123</sup>.

A Quimiometria é o ramo da química que se ocupa com a análise de dados químicos (extraído a informação contida nesses dados), utilizando ferramentas ou algoritmos estatísticos e matemáticos, aplicados ao processamento de dados multivariados adquiridos em propriedades químicas das amostras através de vários instrumentos analíticos e assegurando que os dados experimentais contêm a informação máxima<sup>116, 124</sup>.

Para aplicações na área da química, a análise de dados não se trata apenas da análise de informações primárias (dados espectrais, cromatográficos, etc), mas também da criação de informações secundárias, como modelos de calibração e classificação, de forma que seja possível prever o comportamento de outros dados no modelo criado e conhecer as suas características<sup>123</sup>.

Para se obter as “assinaturas químicas” das amostras, pode-se utilizar vários métodos matemáticos, tais como a análise de componentes principais (PCA) e análise de agrupamentos (HCA). O PCA é um algoritmo que reduz os dados originais, estabelecendo um número de variáveis ortogonais e mantendo a maior quantidade de informação possível. A HCA fornece dendrogramas que assistem os resultados obtidos com PCA, promovendo mais informação quantitativa quanto ao grau de separação entre as amostras<sup>125</sup>.

As técnicas de reconhecimento de padrões podem ser subdivididas em supervisionadas e não supervisionadas. As técnicas não supervisionadas consistem basicamente na análise de agrupamentos e na análise de componentes principais. Essas ferramentas tentam representar semelhanças e diferenças entre as amostras sem conhecimento prévio das classes às quais pertencem. As técnicas não supervisionadas de reconhecimento de padrões diferem das técnicas de análise exploratória no sentido de que, as primeiras não têm informação das classes, já as ferramentas de análise exploratória apresentam essa informação<sup>126</sup>.

A PCA é, provavelmente, a ferramenta quimiométrica mais aceita e conhecida pela comunidade científica. Nesta análise, um novo espaço de variáveis ortogonais formadas a partir das

variáveis originais é construído. As novas variáveis são obtidas no sentido de maximizar a variância dos dados e as amostras possuem novas coordenadas nesse novo espaço. A essas coordenadas dá-se o nome de *scores*. Ao espaço das novas variáveis é dado o nome de componentes principais<sup>127</sup>. O principal objetivo desta técnica é extrair informações sobre o conjunto de dados através de: (i) número de componentes principais independentes que melhor descrevem as informações no conjunto de dados, ou seja, encontrar as fontes de variação dos dados; (ii) o comportamento dos *scores*, ou seja, as similaridades e diferenças entre amostras; e (iii) o perfil das *loadings*, ou seja, as variáveis originais que mais contribuem para a variabilidade e como estão relacionadas com as amostras<sup>126, 127</sup>. Devido à grande quantidade de informação que é possível adquirir por meio das atuais técnicas analíticas, ferramentas de redução de dimensionalidade, como PCA, se tornaram altamente atrativas para comprimir essas informações relevantes em um número reduzido de dimensões.

A análise de agrupamentos permite comparar e categorizar os dados de modo que os objetos sejam incluídos em grupos de acordo com a sua similaridade, assim um agrupamento consiste num grupo de objetos semelhantes entre si. Os pontos de um agrupamento específico partilham algumas características comuns que os diferenciam daqueles reunidos em outros agrupamentos. Estes são caracterizados tendo em conta três propriedades principais: tamanho, forma e distância para o agrupamento mais próximo. Este método difere da análise discriminante (técnica de classificação supervisionada) em que um objeto não rotulado é atribuído a um grupo de objetos pré-classificados<sup>128</sup>. O dendrograma consiste na representação gráfica dos resultados. O agrupamento hierárquico encontra aglomerados em modo aglomerativo (de baixo para cima) ou divisor (de cima para baixo) para formar uma estrutura em forma de árvore. O modo aglomerativo começa com a definição de cada ponto como seu próprio agrupamento e a estes juntam-se aglomerados semelhantes em pares até que o conjunto de dados seja classificado. O eixo horizontal de um dendrograma descreve a variância ou heterogeneidade crescente. A magnitude dessa heterogeneidade depende do número de espectros num agrupamento e das semelhanças entre eles. O modo divisivo começa considerando todo o conjunto de dados como um único agrupamento, que é então recursivamente dividido até que somente agrupamentos contendo pontos de dados exclusivos sejam obtidos<sup>128</sup>.

A aplicação de ferramentas estatísticas como a Análise de Componentes Principais e a Análise de Agrupamentos em conjunto com técnicas experimentais tem permitido aumentar o poder de discriminação da análise, uma vez que espectros semelhantes para o olho humano podem ser

classificados e agrupados com o auxílio destas ferramentas, o que torna os resultados e a compatibilidade mais objetivos<sup>83</sup>.

Como consequência das ferramentas estatísticas aplicadas, o potencial da técnica FTIR-ATR para discriminar amostras de batom foi demonstrado com sucesso<sup>108, 129</sup>.

Na análise de Gladysz (2017), foram utilizadas 38 amostras de batom e os resultados foram analisados com recurso a duas técnicas quimiométricas, designadamente análise de componente principal e análise de agrupamentos<sup>108</sup>. Por outro lado, Chopi et al. diferenciaram 25 amostras de batons usando também análises de agrupamentos e PCA<sup>130</sup> e Wong et al. discriminaram 40 amostras de batom vermelho e nude usando PCA e LDA<sup>131</sup>.

Posteriormente foi realizado outro estudo cujo objetivo principal foi discriminar e classificar 12 amostras de batom vermelho de marcas locais e internacionais utilizando a espectroscopia FTIR-ATR associada a técnicas quimiométricas de análise de componentes principais e análise hierárquica de agrupamento. Os resultados obtidos demonstraram que ambas as técnicas quimiométricas permitiram a separação e discriminação com sucesso das amostras de batom vermelho em seis grupos distintos de acordo com suas marcas<sup>129</sup>.

Recentemente, outro estudo foi desenvolvido para avaliar a potencial utilidade da espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier e técnicas quimiométricas (PCA e LDA) combinadas para classificar amostras de batons castanho, rosa e vermelho com base nas suas marcas. Os resultados demonstraram que o PCA conjuntamente com o LDA permitiu classificar com precisão 93,61%, 75,43% e 87,27% das amostras de batom castanho, rosa e vermelho, respetivamente<sup>132</sup>.

Num outro estudo, a estabilidade da composição química dos batons após a exposição a vários fatores (substrato, tempo, variabilidade individual, o impacto do tabagismo, o efeito do consumo de bebidas) e as condições de armazenamento (laboratório, insolação, sem acesso à luz) foi examinado. Foram analisados sete batons vermelhos, caracterizados por diferentes composições químicas, por três métodos analíticos: ATR, GC-MS e Cromatografia Capilar Eletrocínética Micelar (MEKC). Percebeu-se a falta de influência da variabilidade individual, tabagismo e bebidas consumidas na estabilidade da composição química dos batons. Por outro lado, as mudanças na composição química nos traços do batom dependendo do tempo e das condições de armazenamento podem ser observadas<sup>133</sup>.

## 1.4. OBJETIVOS DO TRABALHO

O principal objetivo deste trabalho é avaliar a utilização do método de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier em modo de refletância total atenuada (FTIR-ATR) como método de análise de vestígios forenses de batons vermelhos em diversos substratos. Pretende-se assim tentar distinguir as diferentes amostras de batons vermelhos através deste método de análise e realizar a análise dos resultados com recurso a diferentes métodos quimiométricos.

Os objetivos específicos deste trabalho são:

- Otimizar o método de análise (FTIR-ATR) das amostras de batons vermelhos em estudo;
- Analisar as amostras através de aplicação direta dos batons;
- Analisar as amostras através da deposição em diversos substratos, com estudo do tempo de deposição e tempo de colocação variável;
- Validar a metodologia através dos estudos de repetibilidade, reprodutibilidade e análise de amostras cegas;
- Otimizar os métodos quimiométricos utilizados para realizar a análise dos resultados obtidos da análise por FTIR-ATR

## ***CAPÍTULO 2***

### *MATERIAIS E MÉTODOS*

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. MATERIAIS

Para a realização deste projeto foram recolhidas e analisadas quinze amostras de batons vermelhos com distintas tonalidades (**Figura 11**), de quatro marcas diferentes - Douglas, Artdeco, Leticia Well e Kiko Milano, obtidas em lojas físicas. A **Tabela 2** apresenta informações que caracterizam cada amostra, nomeadamente marca, número de amostra e referência.



Figura 11. Amostras utilizadas no estudo provenientes de quatro marcas distintas com diferentes tonalidades

Tabela 2. Informações sobre as amostras do estudo

Marca	Amostra	Referência
Douglas	A1	92605
	A2	196144
	A3	196159
	A4	196160
	A5	196165
Artdeco	B6	13801
	B7	13803
Leticia Well	C8	11298
	C9	11337
Kiko Milano	D10	90082019
	D11	90141019
	D12	92333019
	D13	03021019
	D14	01821019
	D15	01751019

As amostras foram estudadas com deposições em cinco substratos distintos: chávena de café, copo de plástico para café, cigarros, tecido branco e lenço de papel.

## 2.2. MÉTODOS

### *Preparação das amostras*

Para o estudo direto dos batons, as amostras foram preparadas aplicando uma camada fina e mais ou menos uniforme de traços de batom num pedaço de plástico transparente limpo (**Figura 12**).



*Figura 12. Demonstração da aplicação da amostra para análise direta*

No estudo dos substratos, as amostras foram aplicadas nos lábios e de seguida procedeu-se à deposição nos diversos suportes estudados. Nos casos em que o substrato era a chávena ou o copo de plástico, a análise direta das deposições não é possível e procedeu-se à remoção maximizada da amostra da superfície do substrato, com recurso a fita-cola (**Figura 13**).



*Figura 13. Demonstração da aplicação da amostra em vários substratos: Lenço de papel, Tecido, Cigarro e Copo de plástico*



Para a validação do método foram considerados os seguintes estudos: repetibilidade, reprodutibilidade e análise de amostras cegas. Na repetibilidade e reprodutibilidade apenas uma amostra (A1) foi considerada, sendo utilizadas 10 repetições no estudo da repetibilidade. Na reprodutibilidade, foi estudada a variação de operador (3 operadores) e a variação de tempo (3 réplicas). A análise de amostras cegas foi realizada em duas etapas: inicialmente com análise direta de quatro amostras, selecionadas de forma aleatória e desconhecida dentre as 15 amostras do estudo e posteriormente com recurso a 3 amostras que foram depositadas de forma direta em 3 substratos – lenço de papel, cigarro e tecido.

Do ponto de vista forense, também é fundamental saber se a composição química dos vestígios dos batons sofre decomposição devido à exposição a diversos fatores. Assim, nesta pesquisa foi realizada uma investigação sistemática de diferentes parâmetros e efeitos, que podem influenciar na estabilidade da composição química de batons vermelhos. Foram levados em consideração os seguintes fatores: o efeito do envelhecimento (até 2 meses), as condições de armazenamento (condições de interior e exterior), bem como a permanência do batom nos lábios (até 4 horas). Nesta etapa do estudo quatro batons vermelhos caracterizados por pertencerem a marca distintas (A1, B6, C9, D10) foram usados para explorar a influência da superfície, do tempo e das diferentes condições de armazenamento. As amostras foram colocadas nos lábios e aplicadas através de deposição em duas superfícies frequentemente associadas a marcas de batom: lenço de papel e pedaço de tecido branco. Essas superfícies com manchas de batom foram colocadas em duas condições de armazenamento distintas: interior (dentro de casa) e exterior (recipiente exposto às condições ambientais). Em seguida, foram analisados periodicamente (6h, 12h, todos os dias por 4 dias, de 15 em 15 dias por 2 meses).

Além disso, a resistência do batom após a aplicação nos lábios, como condição que pode afetar a composição química dos batons, também foi investigada. O tempo de permanência do batom nos lábios foi realizada através da colocação de quatro batons vermelhos de diferentes marcas (A1, B6, C9, D10) nos lábios e pressionar os lábios nos cinco substratos (chávena, cigarro, copo de plástico, lenço de papel e pedaço de tecido branco) nos diferentes períodos: 15 minutos, 30 minutos, 1h, 2h e 4h.

Devido ao surgimento da pandemia de COVID-19 no ano letivo de 2020/2021, não foi possível realizar o estudo da variabilidade individual com recurso à utilização de diversas voluntárias.

### ***Análise das amostras***

Os diversos substratos com as amostras de batom foram uniformemente colocados sobre a superfície do cristal de ATR com a superfície manchada com batom voltada para o cristal. A bigorna foi pressionada contra o cristal com uma força de 60 N e o espectro foi registrado. Uma vez que o espectro da amostra foi registrado, a bigorna foi movida para cima e a amostra foi removida. A superfície do cristal ATR e a bigorna foram limpas com etanol antes e depois da análise de cada amostra para remover poeira, partículas, contaminantes e vestígios da amostra anterior.

O espectro dos substratos sem mancha de batom, também foram registrados antes de cada análise e usados como referência, para evitar o efeito do suporte nos espectros FTIR.

### ***Espectroscopia de Infravermelho***

Os espectros de infravermelho foram registrados utilizando um espectrômetro FT-IR, da marca PerkinElmer Spectrum Two, equipado com um acessório de UATR Two com cristal de diamante (**Figura 14**). O acessório ATR foi equipado com um braço de pressão que foi usado para manter a amostra e o contato da interface do cristal a uma força uniforme (60N). Após estudo de otimização dos parâmetros experimentais do método, os espectros foram obtidos com 32 varrimentos por amostra, uma resolução espectral de  $4\text{ cm}^{-1}$ , na região espectral do infravermelho médio, entre os comprimentos de onda de  $4000$  a  $450\text{ cm}^{-1}$ . Foi utilizado o Software PerkinElmer Spectrum para o controle e registro dos espectros.



*Figura 14. Espectrômetro PerkinElmer com UATR Two utilizado no trabalho experimental*

### ***Análise dos dados***

Comparar grandes quantidades de espectros visualmente é um processo tedioso e a interpretação pode ser incorreta quando estão envolvidas duas ou mais amostras que apresentam espectros semelhantes. Portanto, no presente estudo, dois métodos quimiométricos, ou seja, análise de componentes principais e análise de agrupamentos, foram utilizados para fins de discriminação das amostras, pois esses métodos fornecem uma interpretação objetiva dos resultados. Além disso, auxilia no reconhecimento de padrões em dados que são simples de entender e fornecem resultados rápidos.

Neste estudo, todo o pré-processamento dos dados e a análise quimiométrica dos espectros foram realizados com recurso aos softwares KnowItAll Informatics System versão 10.0.19043 e R versão 4.0.5 com RStudio versão 1.4.1106. Os espectros de FTIR-ATR foram truncados para omitir as regiões de 3500 - 4000  $\text{cm}^{-1}$  e 450 - 500  $\text{cm}^{-1}$ , pois nenhuma variação e picos relacionados com a amostra foram observados nessas regiões. Os espectros truncados foram então suavizados. Os dados processados foram posteriormente analisados usando as ferramentas quimiométricas referidas anteriormente.

O HCA foi realizado nos espectros das amostras de batom, usando como o método de Pearson para calcular a distância e o mecanismo de estratégia de agrupamento de Ward.

## ***CAPÍTULO 3***

### *RESULTADOS E DISCUSSÃO*

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1. OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE DAS AMOSTRAS

A otimização da recolha dos vestígios de batom dos substratos em estudo e dos parâmetros do método de análise (FTIR-ATR) foi realizada com recurso à amostra A1. Sabe-se que o aumento do número de varrimentos reduz o nível de ruído do sinal dos dados, permitindo distinguir pequenos picos do ruído existente e que a resolução pode ter efeito na diferenciação dos picos, contudo estes parâmetros também têm impacto no tempo de análise. Com base nos estudos já existentes na literatura<sup>108, 130, 131, 133–135</sup>, sobre evidências forenses de batons e a sua análise por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier em modo de refletância total atenuada, conseguimos definir a janela espectral entre 4000 e 450  $\text{cm}^{-1}$  e a resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ . Na literatura, existem variações no número de varrimentos a considerar, sendo descritos estudos com número de varrimentos desde 4 até 64, portanto no nosso estudo foram testados 4, 8, 16 e 32 varrimentos<sup>108, 130, 131, 133–135</sup>.

Relativamente ao método de recolha dos vestígios de batom dos substratos considerados, foi considerada a análise direta das amostras para o tecido, cigarro, lenço de papel e copo de plástico. No caso específico da chávena, não era possível realizar a análise direta e por isso considerou-se a opção de raspagem do batom seguida da sua análise<sup>130</sup>, no entanto essa forma de recolha não se mostrou eficaz devido à pouca quantidade de amostra que era possível recolher. Dessa forma, otimizou-se o método com utilização de fita-cola para recolha dos vestígios deixados neste tipo de substrato (**Figura 15**). Depois da análise da amostra no copo de plástico verificou-se que os resultados não eram de qualidade suficiente e procedeu-se à otimização da recolha através da utilização de fita-cola, como no caso da chávena (**Figura 16**).

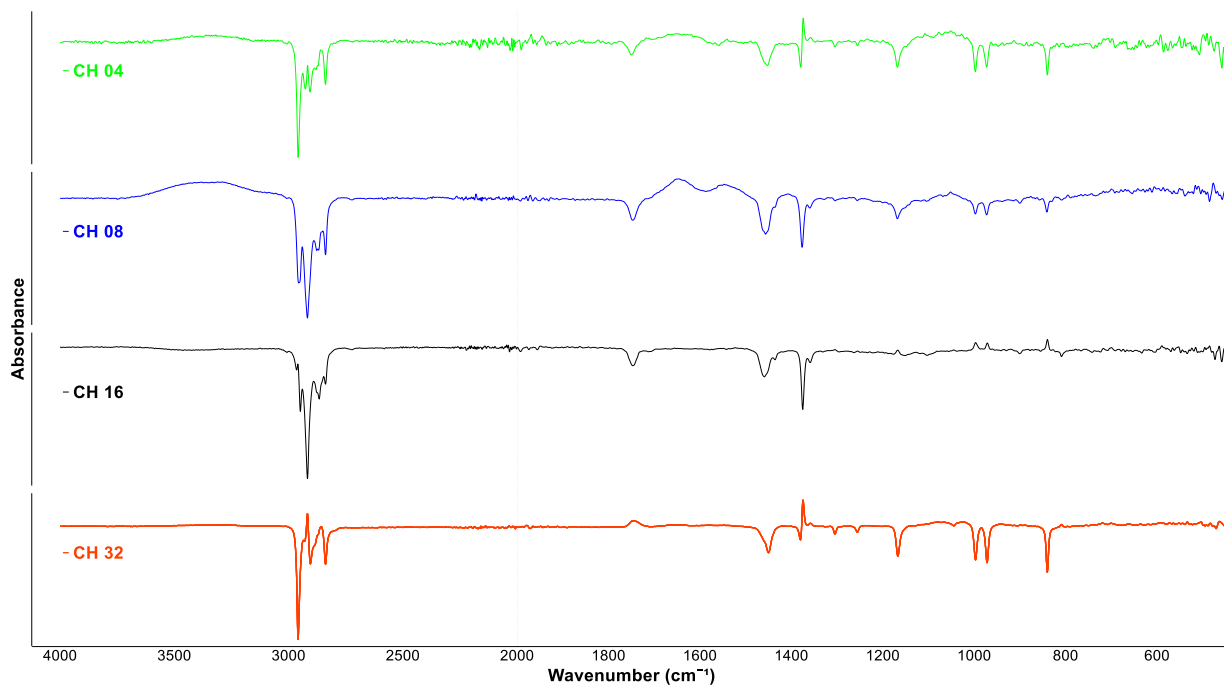


Figura 15. Espectros FTIR-ATR obtidos através da deposição da amostra A1 na chávena (CH) com variação do número de varrimentos: 4 (verde), 8 (azul), 16 (preto), 32 (vermelho)

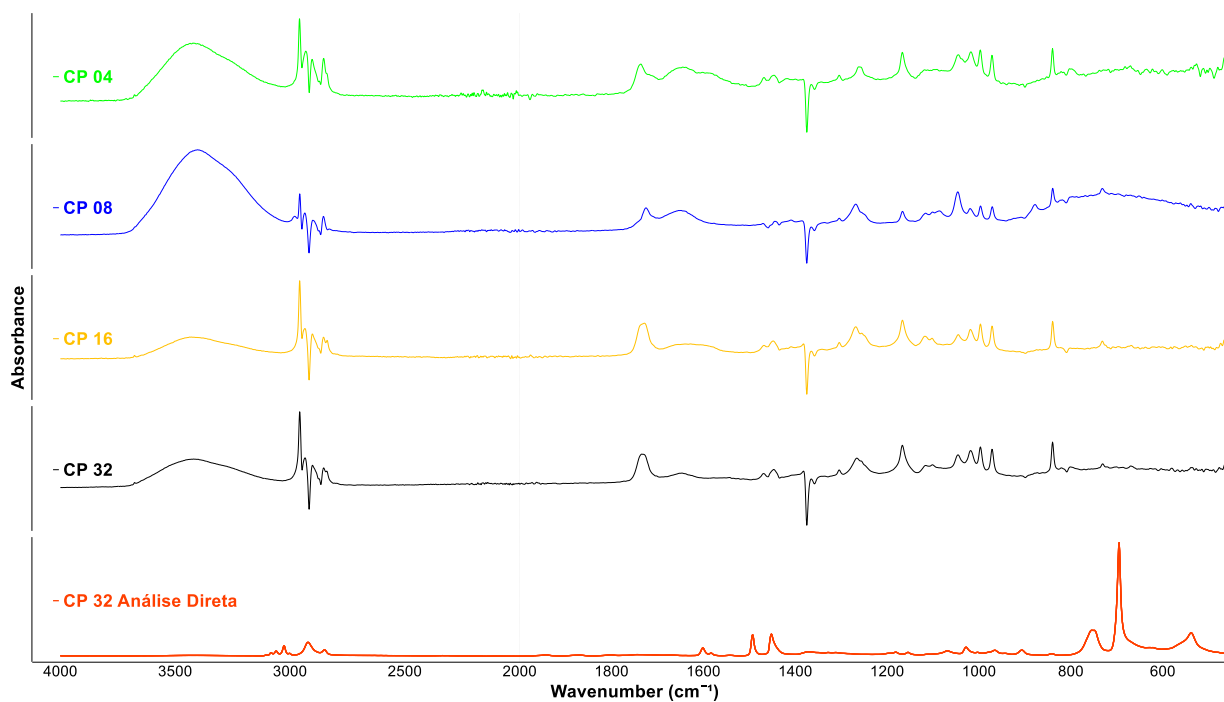


Figura 16. Espectros FTIR-ATR obtidos através da deposição da amostra A1 no copo de plástico (CP) com variação do número de varrimentos: 4 (verde), 8 (azul), 16 (amarelo), 32 (preto), 32 com análise direta do plástico (vermelho)

Todos os restantes espectros recolhidos nesta fase inicial de otimização do método de análise (FTIR-ATR) estão representados **nas Figuras 1, 2 e 3 do Anexo A**.

Relativamente à otimização dos parâmetros do método de análise, com base nos espectros obtidos para cada deposição da amostra nos cinco substratos considerados, com variação do número de varrimentos, foram observadas apenas pequenas diferenças. Em alguns substratos, nomeadamente o copo de plástico, lenço de papel e tecido, os espectros obtidos com 16 varrimentos já revelam uma boa otimização com redução do ruído em relação ao sinal da amostra. No entanto foi considerada como ótima a utilização de 32 varrimentos, por ser este o valor mais consistente na análise de todos os substratos estudados.

### **3.2. OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE DOS ESPECTROS**

Após a otimização do método de análise das amostras (FTIR-ATR) foi necessário proceder à otimização do método de análise dos espectros obtidos. Na etapa de pré-processamento dos espectros foram consideradas várias alterações, nomeadamente a redução espectral para uma janela de  $3500-500\text{ cm}^{-1}$ , redução do ruído, ajuste da linha de base e normalização.

Para avaliar a redução espectral procedeu-se à análise dos espectros iniciais das amostras da marca A, obtidos através da análise direta dos batons, através de PCA. A **Figura 17** mostra um gráfico representativo das *loadings* para as cinco amostras da marca A.

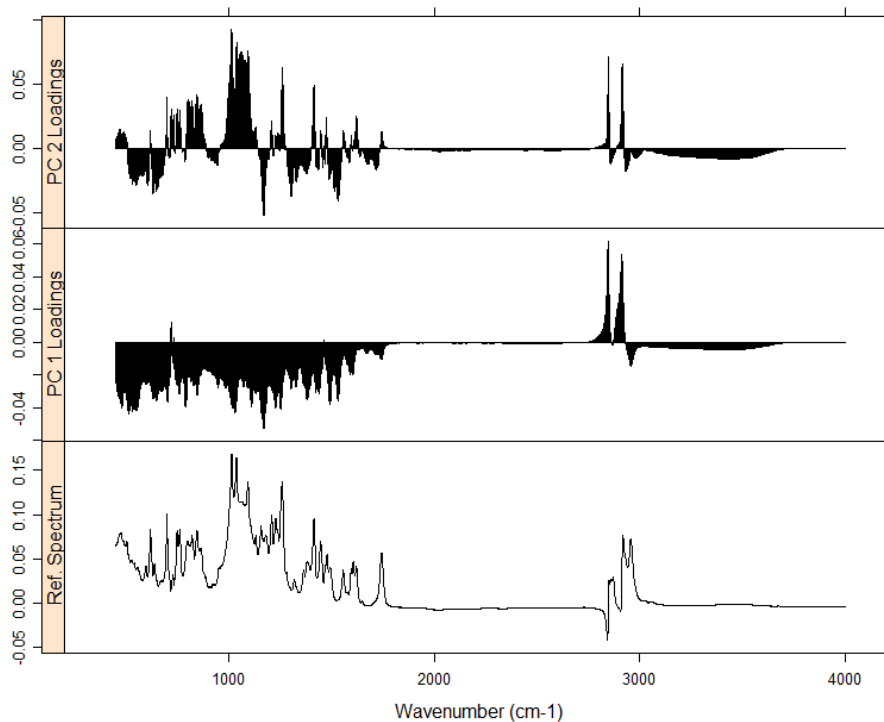


Figura 17. Gráfico demonstrativo das loadings das 5 amostras da marca A resultantes da análise direta dos batons

O gráfico representativo das *loadings* permitiu tirar conclusões sobre as regiões dos espectros das amostras da marca A onde ocorre maior variância entre as amostras, sendo estas regiões representadas a preto nos gráficos correspondentes às *loadings*. Verificou-se que existe uma variação significativamente mais elevada nas bandas presentes na região dos  $3000\text{ cm}^{-1}$  e posteriormente na região de impressão digital, como seria de esperar. Com base nesta análise procedeu-se ao corte dos espectros para uma janela de  $3500\text{-}500\text{ cm}^{-1}$ , visto que nestas regiões a variância entre as amostras é baixa.

A análise da utilização da suavização dos espectros, com respetiva redução de ruído, foi realizada pela comparação visual dos espectros iniciais com os obtidos após redução do ruído e corte do espectro, representados na **Figura 18**.



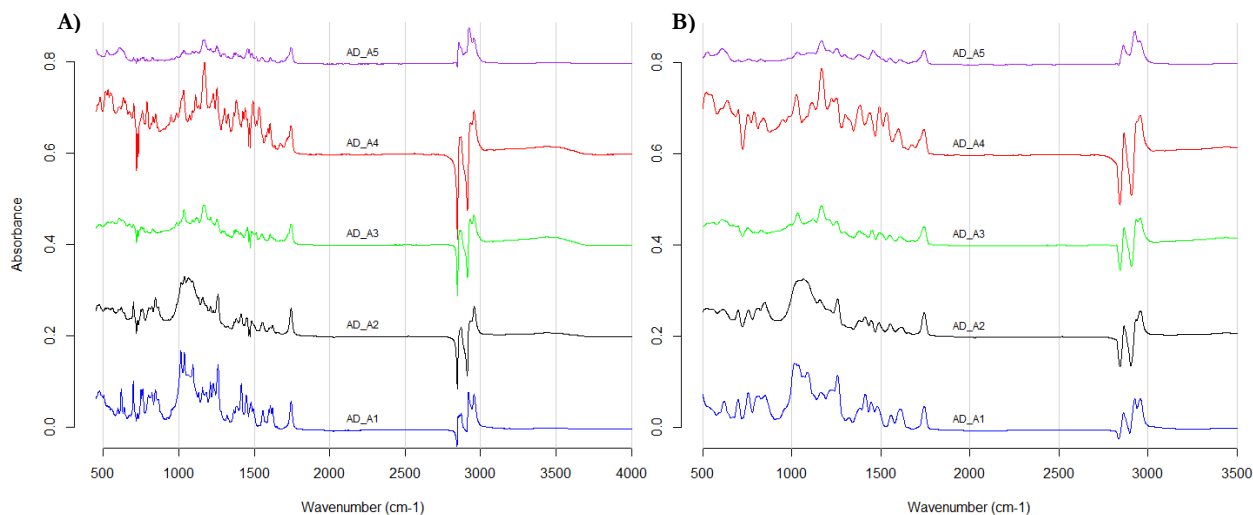


Figura 18. Espectros das cinco amostras da marca A obtidos da análise direta dos batons: iniciais (A) e após corte do espectro e redução do ruído (B)

A comparação visual dos espectros iniciais com os obtidos após realizar o corte dos espectros de  $500\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$  e redução do ruído demonstrou que visualmente as duas alterações não provocam alterações significativas ao espectro, sendo as diferenças originadas quais imperceptíveis.

Para além da análise visual dos espectros, foi obtido o gráfico das loadings (**Figura 19**) onde é possível observar a ocorrência de regiões de maior variância entre amostras.

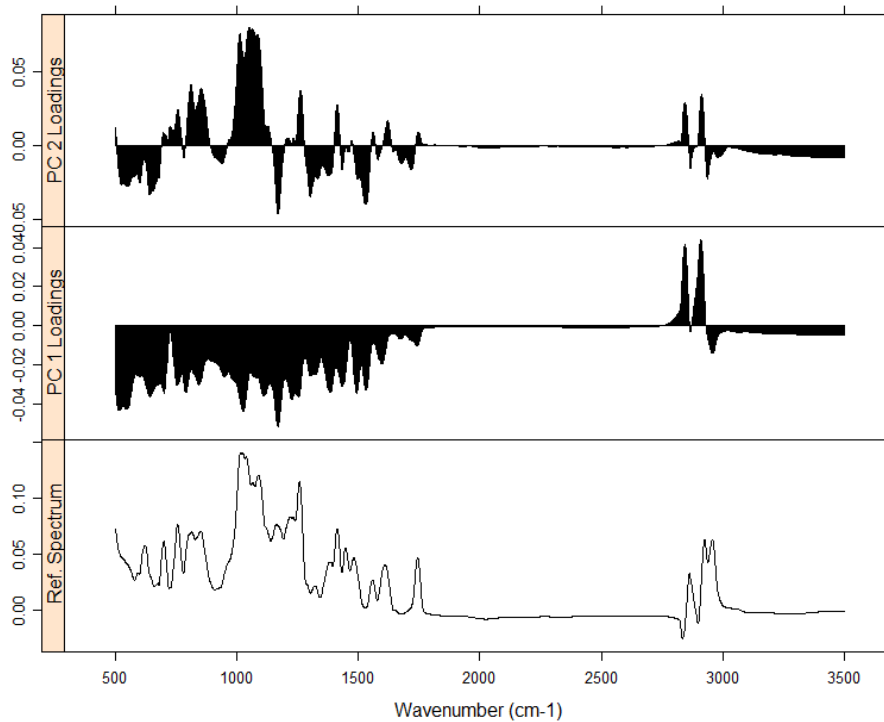


Figura 19. Gráfico demonstrativo das loadings das 5 amostras da marca A resultantes da análise direta dos batons, após corte espectral (500-3500  $cm^{-1}$ ) e redução do ruído

Comparando os gráficos das *loadings* representados nas **Figuras 17 e 19**, verifica-se a coincidência das regiões a preto correspondentes às zonas de maior variância, permanecendo assim a existência de variação mais elevada nas bandas presentes na região dos  $3000\text{ cm}^{-1}$  e posteriormente na região entre  $1700\text{-}500\text{ cm}^{-1}$ , tal como acontecia nos espectros iniciais. Com base nesta análise juntamente com a comparação visual do espectro, determinou-se a utilização do corte dos espectros e redução do ruído, em todos os espectros obtidos para os restantes estudos realizados.

O estudo dos efeitos provocados pelo ajuste da linha de base através de PCA é mostrado na **Figura 20**.

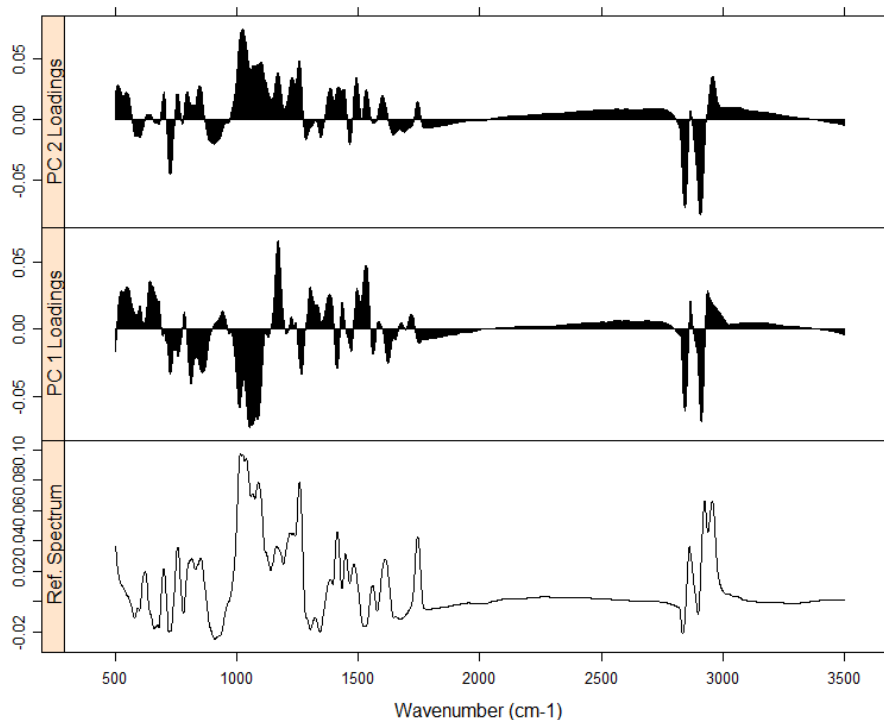


Figura 20. Gráfico demonstrativo das loadings das 5 amostras da marca A resultantes da análise direta dos batons, após corte espectral (500-3500  $\text{cm}^{-1}$ ), redução do ruído e ajuste da linha de base

Ao contrário do que aconteceu com os dois pré-tratamentos já mostrados, os resultados do estudo por PCA dos espectros obtidos após o ajuste automático da linha de base demonstraram alterações nas *loadings* com alteração nas variâncias entre amostras. A comparação do gráfico das *loadings* originado após este tratamento, com os obtidos no dois pré-tratamentos antes avaliados, observam-se inversões nas loadings do PC1, com algumas bandas da região de impressão digital apresentarem correlações positivas e as bandas a  $2900 \text{ cm}^{-1}$  com correlação negativa, ao contrário do que se observou nos gráficos das **Figuras 17 e 19**. De acordo com estes dados, o ajuste de linha de base não foi considerado como opção para pré-processamento dos espectros.

A comparação visual dos espectros obtidos após o corte do espectro entre  $500\text{-}3500 \text{ cm}^{-1}$  e redução do ruído assim como os obtidos após normalização está representada na **Figura B1 do Anexo B**.

A normalização entre 0 e 1 foi o último parâmetro estudado nesta etapa. A **Figura 21** representa as *loadings* das cinco amostras após corte do espectro, redução do ruído e normalização.

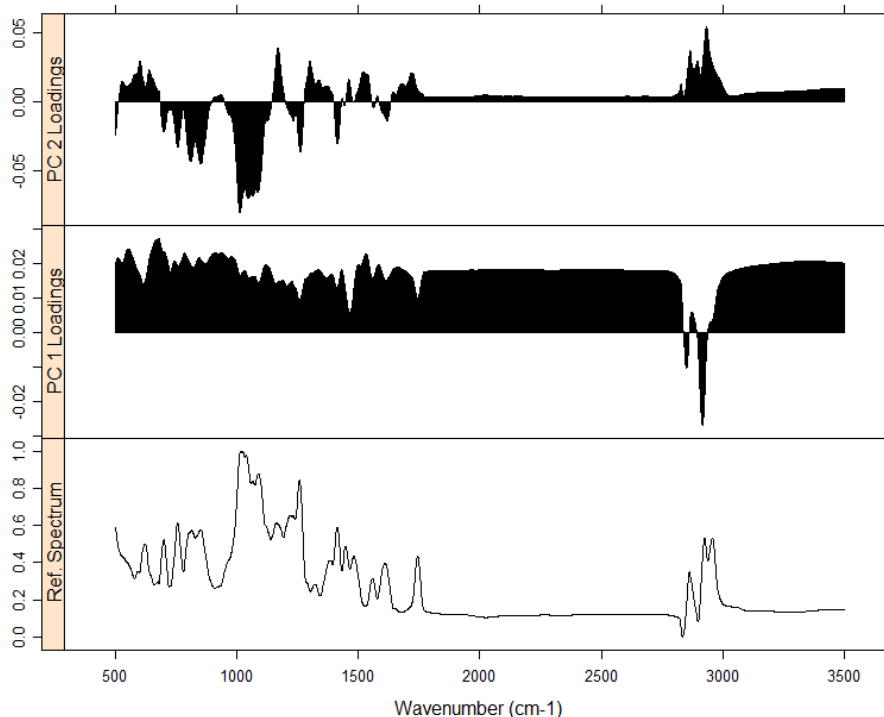


Figura 21. Gráfico demonstrativo das loadings das 5 amostras da marca A resultantes da análise direta dos batons, após corte espectral (500-3500  $cm^{-1}$ ), redução do ruído e normalização

Tal como no ajuste da linha de base e ao contrário do que aconteceu com o corte espectral e redução do ruído, os resultados do gráfico das *loadings* demonstraram alterações significativas nas regiões a preto, representativas da maior variância entre amostras. Estes resultados poderão ter acontecido devido ao facto de a normalização não estar a atuar sobre as mesmas zonas do espectro, ou seja, o máximo e o mínimo da normalização não está a ser considerado nas mesmas bandas em todos os espectros estudados. Esta não conformidade de atuação pode deformar os espectros de forma desigual entre eles e originar resultados da análise quimiométrica errados. De acordo com estes dados, a normalização não foi considerada no pré-processamento dos espectros.

A comparação visual dos espectros obtidos após o corte do espectro entre 500-3500  $cm^{-1}$  e redução do ruído assim como os obtidos após normalização está representada na **Figura B2 do Anexo B**.

Para além da análise quimiométrica por PCA, todas as modificações foram avaliadas através da construção de matrizes de distâncias entre as amostras, representadas na **Tabela B1 do Anexo B**. Nos casos em que se procedeu à redução espectral e do ruído, os valores das distâncias entre amostras não foram afetados de forma significativa, só se registaram diferenças na casa das centésimas ou milésimas. No entanto para o ajuste da linha de base e a normalização, verificou-se alterações mais significativas nas distâncias, ao nível das décimas, tendo aumentado quando se realizou o ajuste da linha de base. A normalização realizada provoca uma distorção nos valores, aumentando algumas distâncias e diminuindo outras.

Após analisadas todas as modificações consideradas neste estudo pelos métodos quimiométricos de PCA e HCA, verificou-se que a redução da janela espectral entre 3500-500  $\text{cm}^{-1}$  e a redução do ruído são alterações que não afetam significativamente os resultados iniciais obtidos. Visto que o objetivo deste trabalho é discriminar as amostras de batom entre marcas e dentro da própria marca, não é aconselhado proceder a modificações ao nível dos espectros que possam distorcer os resultados obtidos. Assim antes da realização da análise quimiométrica dos resultados foram realizadas em todos os espectros as seguintes modificações: redução da janela do espectro (3500-500  $\text{cm}^{-1}$ ) e redução do seu ruído.

### **3.3. VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE: TESTE DA REPETIBILIDADE**

A repetibilidade expressa a precisão de um método de ensaio realizado em condições idênticas, ou seja, ensaios realizados pela mesma pessoa sobre uma mesma amostra, num único laboratório com o mesmo equipamento e num curto intervalo de tempo. Assim para avaliarmos a repetibilidade recorreu-se a dez análises realizadas repetidamente a uma única deposição da amostra A1 no mesmo substrato (lenço de papel), sendo a análise realizada na mesma manhã com recurso ao mesmo equipamento. Os espectros FTIR-ATR obtidos para as dez réplicas estão apresentados na **Figura 22**.

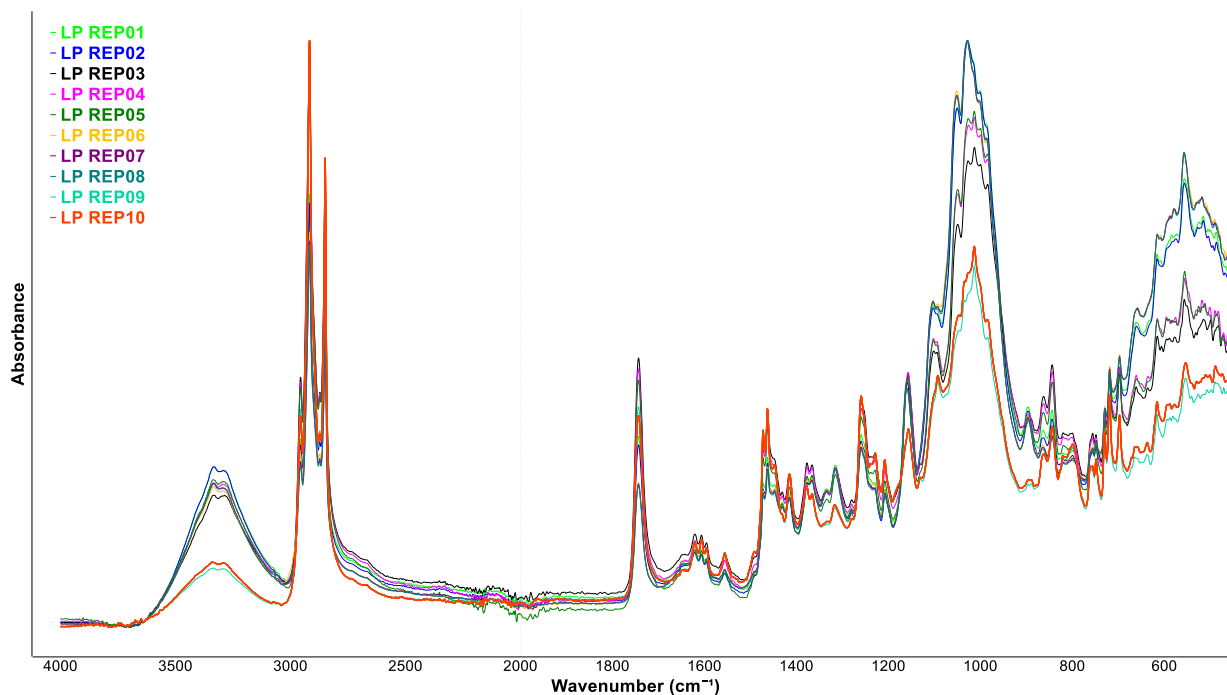


Figura 22. Espectros FTIR-ATR obtidos da análise repetida (REP 01-10) dum depósito da amostra A1 num lenço de papel (LP)

Com base na comparação gráfica dos 10 espectros FTIR-ATR obtidos da análise da mesma deposição da amostra A1 num lenço de papel (10 réplicas), verifica-se a coincidência dos picos obtidos para todas as réplicas. Constata-se ainda a variação na intensidade de absorvância entre réplicas, isso poderá dever-se à deposição não homogênea do batom no substrato, visto que a análise foi realizada em locais diversos da mesma deposição.

Para além da comparação visual dos espectros foi realizada a sua análise pormenorizada pelos métodos quimiométricos considerados pertinentes. Inicialmente procedeu-se à construção de uma matriz de distâncias entre amostras que originou o gráfico apresentado na **Figura 23**.

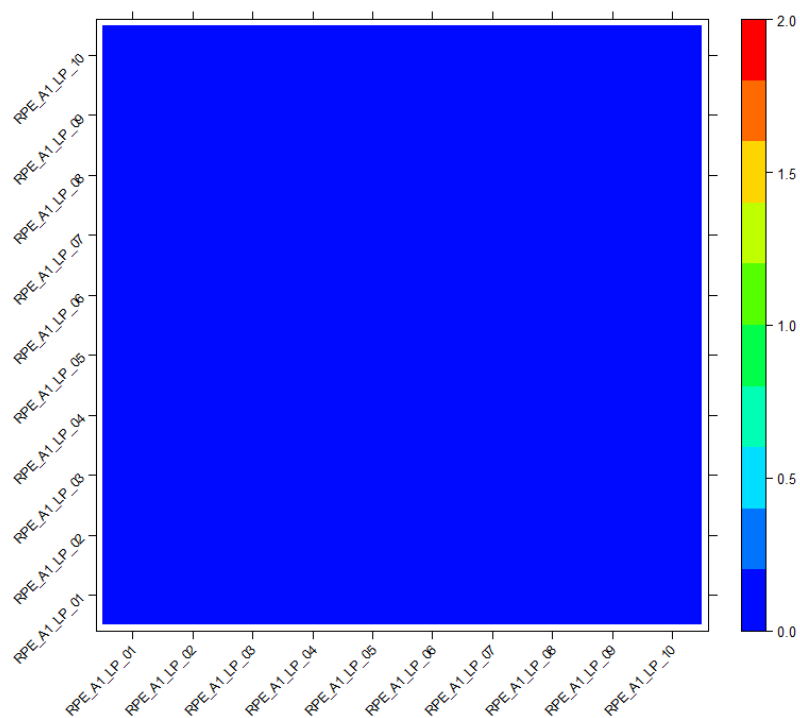


Figura 23. Gráfico demonstrativo das distâncias entre as 10 réplicas (01-10) obtidas da deposição da amostra A1 num lenço de papel (LP)

Através da análise da **Figura 23** é possível observar que existe concordância entre as réplicas com valores de distâncias muito diminutos, correspondentes à cor azul mais escuro. Para além da análise visual do gráfico obtido da análise das distâncias entre amostras, também se obteve a matriz de distâncias onde se pode observar uma variação entre 0.0000088 e 0.036. Estes valores significativamente baixos demonstram mais uma vez a repetibilidade do método.

Para além da análise quimiométrica por HCA verificou-se a conformidade das réplicas quando à variância. A **Figura 24** representa o gráfico das *loadings* correspondente às 10 réplicas da amostra A1 depositada num lenço de papel.

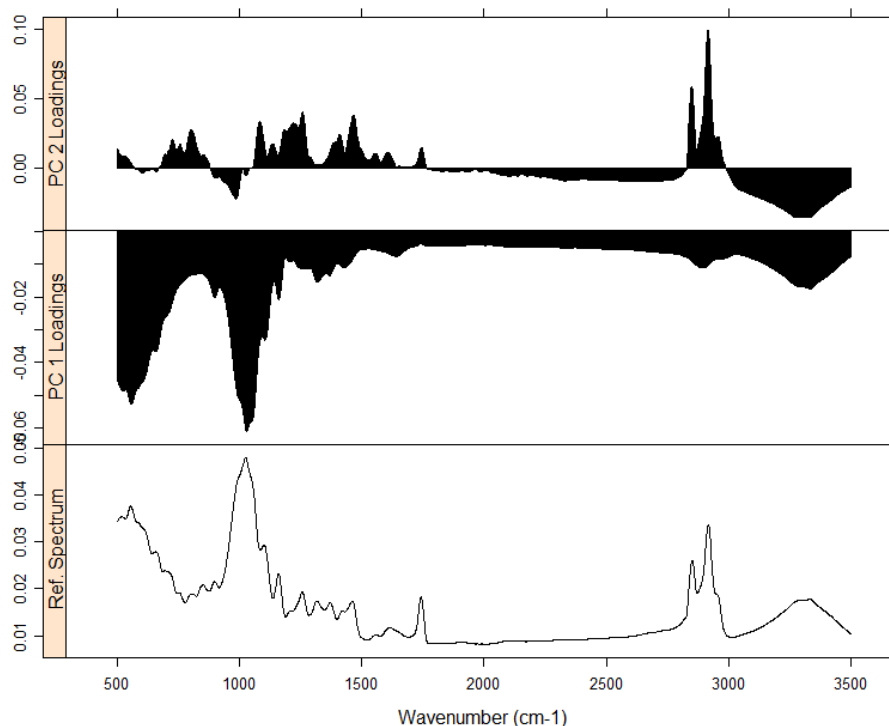


Figura 24. Gráfico demonstrativo das loadings das dez réplicas da amostra A1 resultantes da deposição em lenço de papel

A análise dos espectros por PCA, através das *loadings*, permitiu determinar quais as regiões dos espectros com maior variabilidade entre as réplicas, verificando-se que as variações ocorrem maioritariamente aos 1000  $\text{cm}^{-1}$  e entre 800-500  $\text{cm}^{-1}$ .

Após a demonstração de que as réplicas da mesma amostra são muito semelhantes a nível absoluto, procedeu-se à sua avaliação de forma relativa, com recurso à comparação das réplicas com espectros de amostras distintas (B6, C8 e D10) depositadas no mesmo substrato – lenço de papel. O dendrograma obtido da análise por HCA está representado na **Figura 25**.



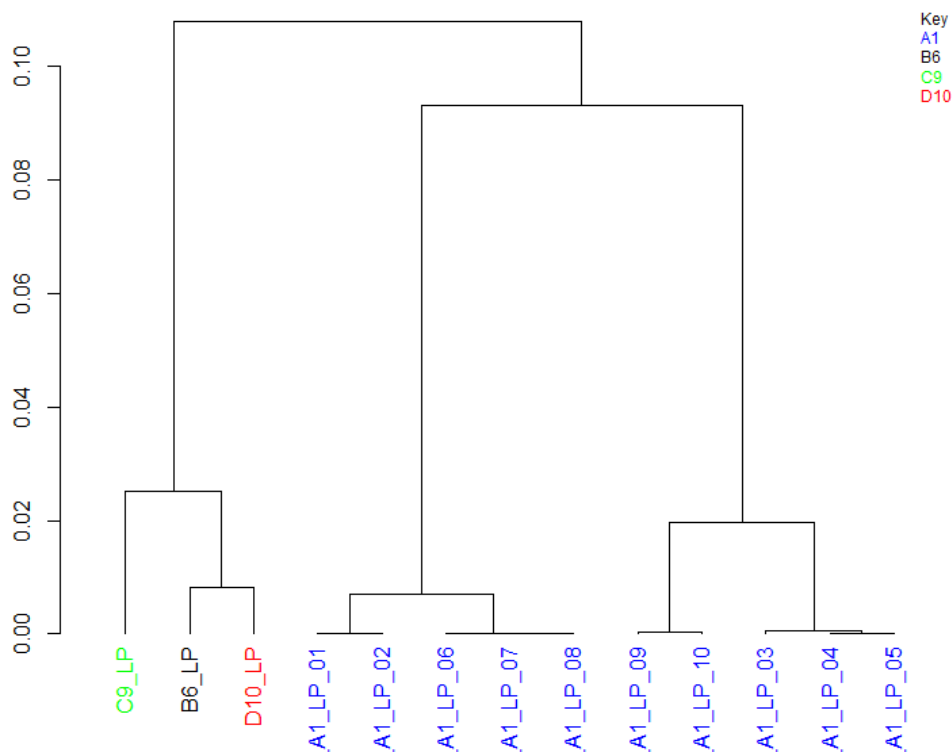


Figura 25. Dendrograma obtido do agrupamento das réplicas da amostra A1 e das amostras B6, C9 e D10, depositadas em lenço de papel (LP)

Os agrupamentos originados pelo método de HCA, representado na **Figura 25**, demonstraram que relativamente a outras amostras, as réplicas da mesma amostra encontram-se mais próximas. Observou-se a criação de um agrupamento que corresponde à totalidade das réplicas da amostra A1, que por sua vez se subdivide em dois grupos, dentro dos quais as réplicas serão mais semelhantes entre si. Verifica-se que as amostras pertencentes a outras marcas se encontram separadas das réplicas da amostra A1, pertencendo a um mesmo agrupamento. Estes resultados vieram comprovar que relativamente a outras amostras, as réplicas apresentam espectros muito semelhantes entre si.

Os dados obtidos através da análise quimiométrica por HCA e PCA juntamente com a análise visual dos espectros demonstraram que existe repetibilidade na análise das amostras de batom por FTIR-ATR.

### 3.4. VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE: TESTE DE REPRODUTIBILIDADE

Na etapa de validação do método de análise, para além da repetibilidade, demonstrada anteriormente, também foi avaliada a sua reprodutibilidade. A reprodutibilidade é determinada em condições de ensaio diferentes, utilizando o mesmo método sobre uma mesma amostra. Neste tipo de estudo, as condições que podem variar são: laboratórios, analistas, equipamentos e tempos distintos. A reprodutibilidade também pode ser avaliada com recurso a ensaios interlaboratoriais, no entanto, no nosso estudo isso não é executável devido ao tempo disponível.

Neste trabalho, no estudo da reprodutibilidade tivemos em consideração as alterações de tempo e analista. Para comparação dos resultados com variação do tempo foram realizados três ensaios pelo mesmo analista, a uma única deposição da amostra A1 num lenço de papel (LP), com diferenças de tempo significativas – dias distintos. Os resultados obtidos da variação temporal encontram-se representados na **Figura 26**.

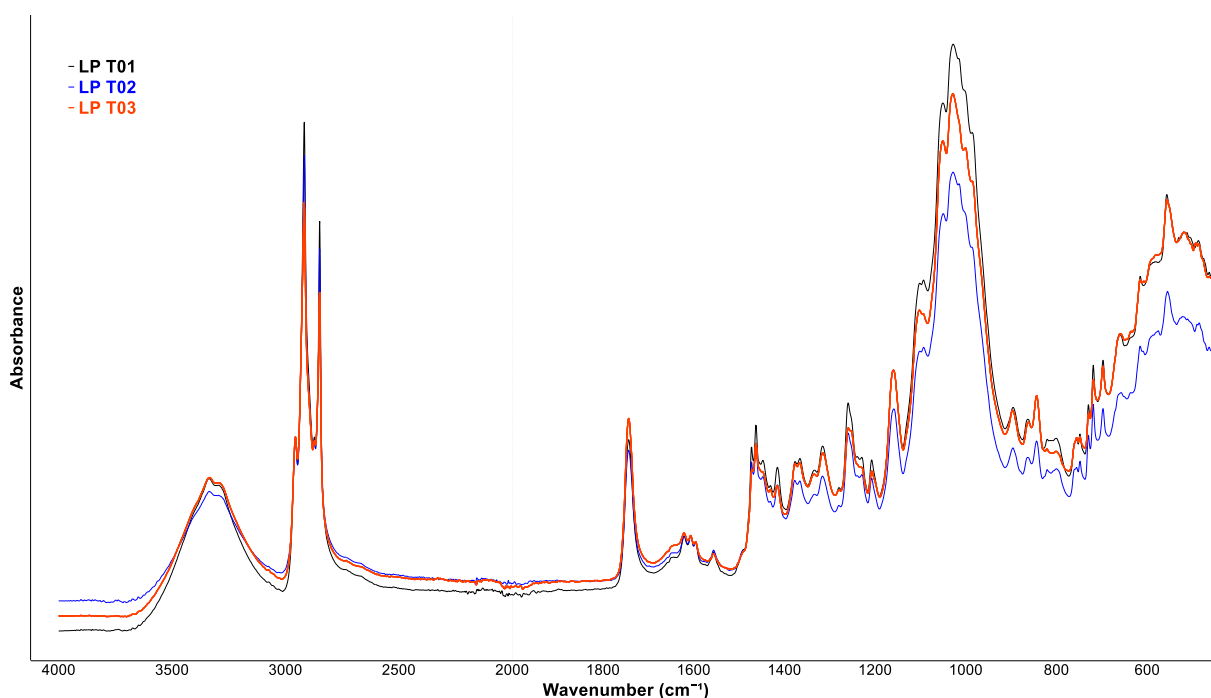
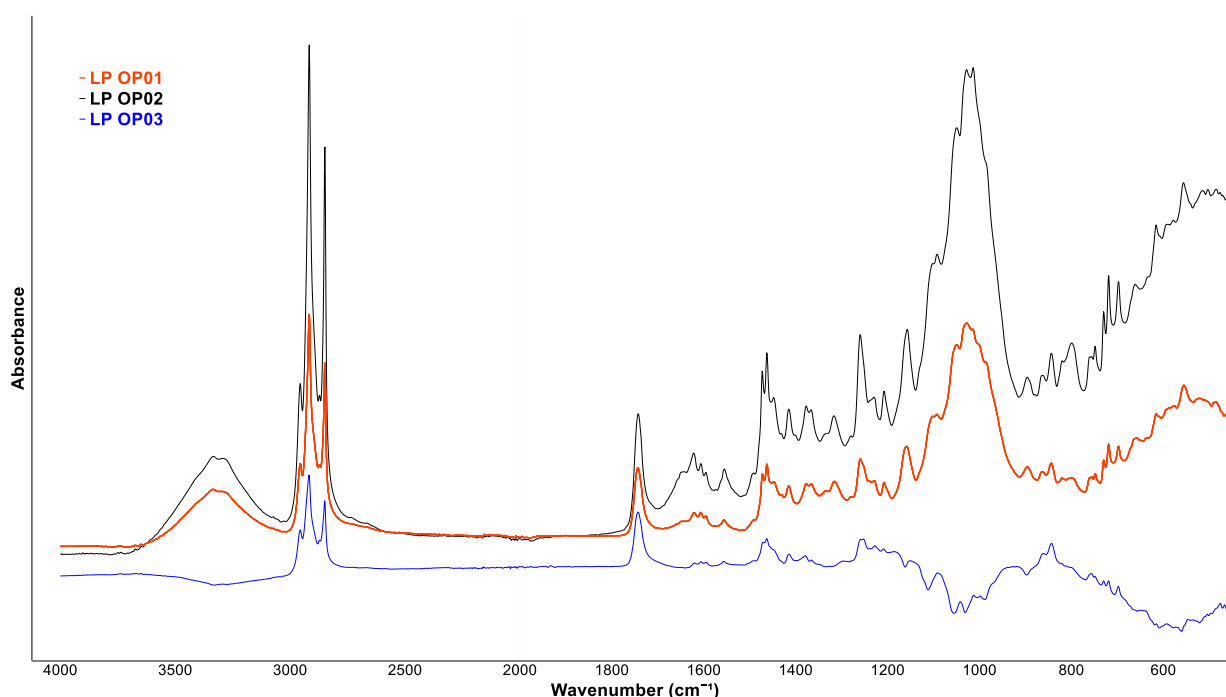


Figura 26. Espectros FTIR-ATR obtidos da deposição da mesma amostra (A1) num lenço de papel (LP) com variação do tempo entre análises (T01-03)

Através da comparação gráfica dos 3 espectros FTIR-ATR obtidos da análise da deposição da amostra A1 no lenço de papel (LP), verifica-se a coincidência das bandas características da amostra assim como a semelhança entre a intensidade de absorvância obtida para os três ensaios. Demonstrou-se assim que a variação temporal não influencia os resultados obtidos.

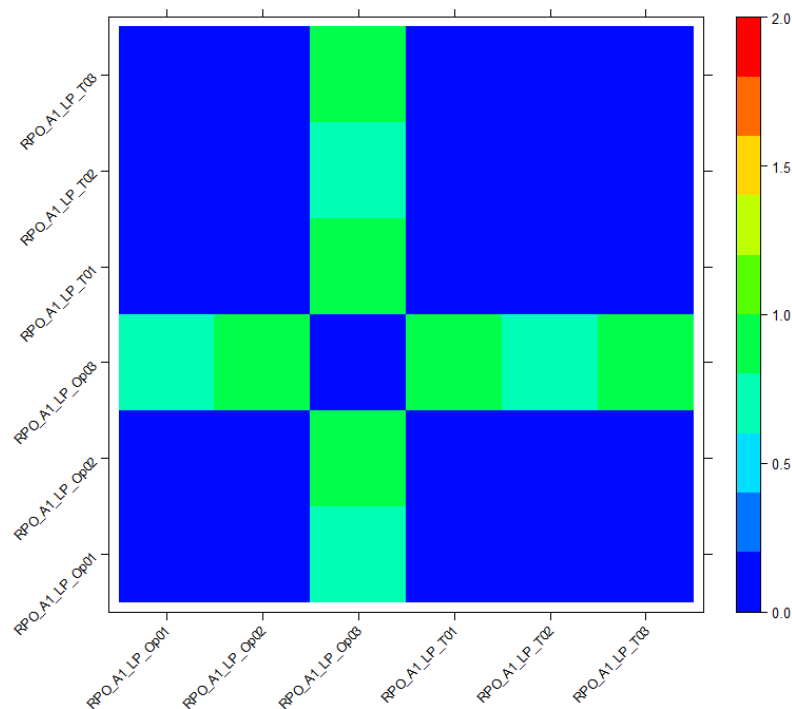
Para comparação dos resultados com variação do operador foram realizados três ensaios por analistas diferentes, a uma única deposição da amostra A1 num lenço de papel (LP). Os resultados obtidos da variação de operador encontram-se representados na **Figura 27**.



*Figura 27. Espectros FTIR-ATR obtidos da deposição da mesma amostra (A1) num lenço de papel (LP) com variação do operador (OP 01-03)*

Com base na comparação gráfica dos 3 espectros obtidos da análise da deposição da amostra A1 no lenço de papel (LP), por diferentes operadores (OP 01-03), verifica-se uma apreciável concordância nos picos correspondentes a este tipo de amostra entre os três ensaios, demonstrando que a variação do analista não provoca alterações nos resultados obtidos da análise da deposição do batom neste substrato.

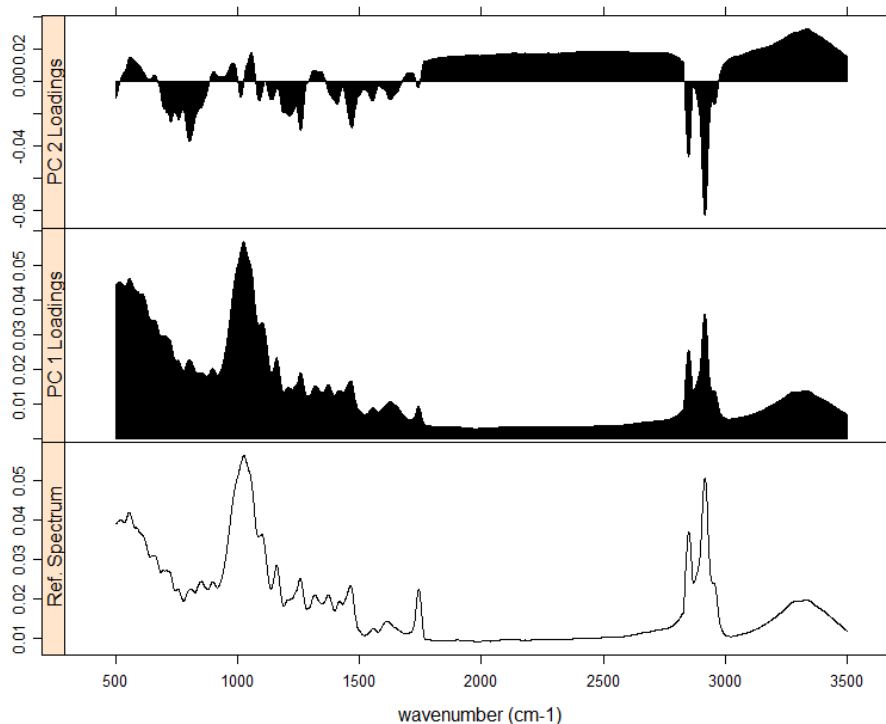
Tal como no estudo da repetibilidade, também aqui foi realizada a análise pormenorizada dos espectros pelos métodos quimiométricos considerados adequados, sendo analisados conjuntamente os espectros com variação de operador e de tempo. Primeiramente procedeu-se à construção da matriz de distâncias entre amostras que originou o gráfico apresentado na **Figura 28**.



*Figura 28. Gráfico demonstrativo das distâncias entre os espectros obtidos da análise da deposição da amostra A1 num lenço de papel (LP), com variação de operador (Op 01-03) e de tempo (T01-03)*

Através da análise da **Figura 28** é possível observar que existe concordância entre os resultados obtidos com variação de tempo, entre o operador 1 e 2, assim como entre os resultados com variação de tempo e dos dois primeiros operadores, com valores de distâncias baixos, correspondentes à cor azul-escuro. Verificam-se, no entanto, diferenças nas distâncias entre todos os espectros e o espectro obtido pelo operador 3, representados a verde. Para além da análise visual do gráfico obtido da análise das distâncias entre amostras, também se obteve a matriz de distâncias onde se pode verificar que a maior distância ocorre entre os espectros obtidos pelos operadores 2 e 3, com valores de 0.867. Embora estes valores sejam superiores aos obtidos no estudo da repetibilidade, ainda se pode afirmar que são relativamente baixos, demonstrando que a variação de tempo e analista não afetam os resultados obtidos por este método.

Posteriormente à análise quimiométrica por HCA confirmou-se quais as regiões com maior variância. A **Figura 29** representa o gráfico das *loadings* correspondente à amostra A1 depositada num lenço de papel com variação de tempo e operador.



*Figura 29. Gráfico demonstrativo das loadings da amostra A1 resultantes da deposição em lenço de papel com variação de tempo e operador*

Tal como na repetibilidade, a análise dos espectros por PCA, através das *loadings*, permitiu ainda determinar as regiões com maior variação, verificando-se que as alterações ocorrem maioritariamente entre 500 e 800  $\text{cm}^{-1}$ , 1000  $\text{cm}^{-1}$ , e entre 2800 a 3000  $\text{cm}^{-1}$ . A última região espectral é a que difere dos resultados obtidos do estudo da repetibilidade, sendo esta originada pela variação de operador.

Após a demonstração de que os espectros obtidos da mesma amostra com variação de tempo e analista são muito semelhantes quando comparados entre si, procedeu-se à sua avaliação de forma relativa, com recurso à comparação com espectros de amostras distintas (B6, C8 e D10) depositadas no mesmo substrato – lenço de papel. O dendrograma obtido da análise por HCA está representado na **Figura 30**.

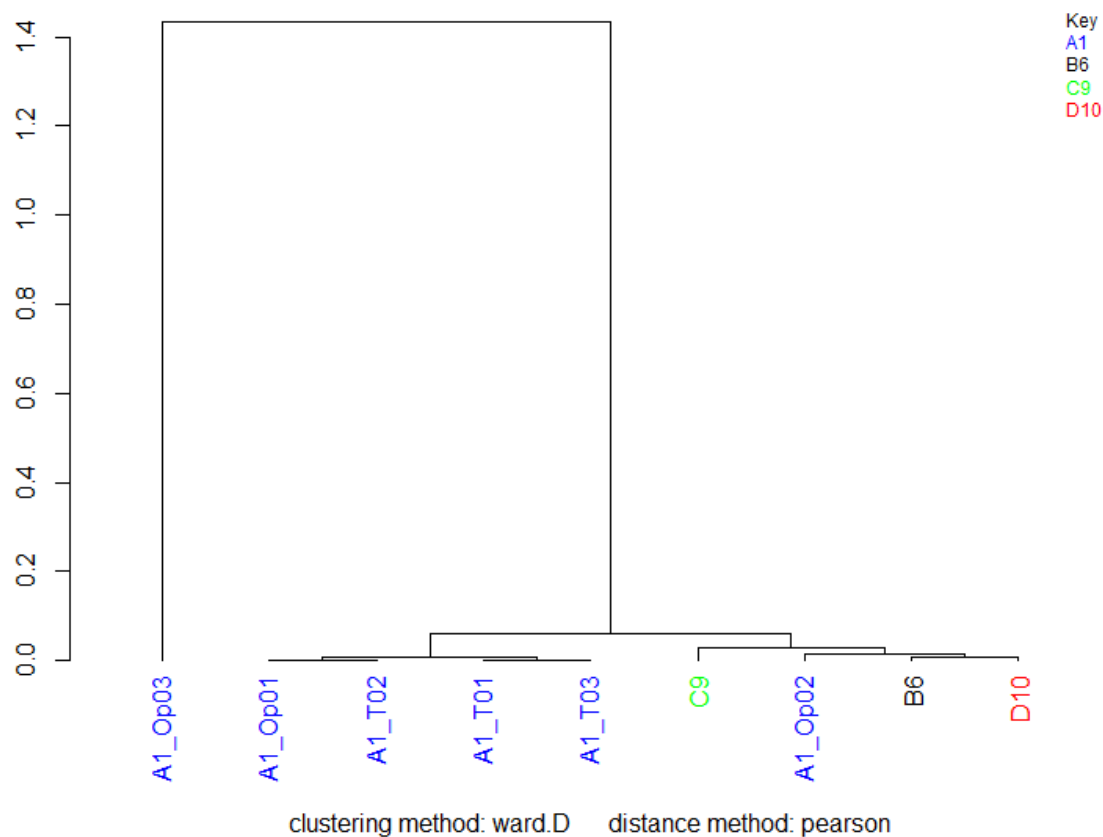


Figura 30. Dendrograma obtido do agrupamento das amostras B6, C9, D10 e da amostra A1 com variação de tempo (T01 - T03) e operador (Op01 - Op03), depositadas em lenço de papel (LP)

Os agrupamentos originados pelo método de HCA demonstraram que relativamente aos espectros obtidos pelo mesmo analista, mas com variação de tempo verificou-se elevada semelhança com a colocação dos espectros no mesmo grupo. O mesmo não se verificou com os espectros obtidos para a mesma amostra, mas com variação de analista. Observou-se a criação de um agrupamento que corresponde à totalidade dos espectros obtidos pelo mesmo analista, sendo o operador 01 responsável pela realização da análise com variação de tempo – representada em T01, T02 e T03. Verifica-se que as amostras pertencentes a outras marcas se encontram separadas dos espectros obtidos pelo operador 01. No entanto, o operador 02 obteve resultados que são mais semelhantes a outras amostras do que à amostra correspondente obtida por outros operadores. Constata-se ainda que o espectro obtido da análise da amostra A1 realizada pelo operador 03 pertence a um grupo isolado de todas as restantes amostras consideradas nesta etapa do estudo.

Estes resultados vieram comprovar que relativamente a outras amostras, a variação de tempo origina espectros muito semelhantes entre si, no entanto a variação de operador pode dar origem a algumas alterações nos espectros obtidos e consequentemente nos agrupamentos originados.

Assim, os dados adquiridos através da análise quimiométrica juntamente com a análise visual dos espectros demonstraram que existe reprodutibilidade na análise das amostras de batom por FTIR-ATR, quando consideramos a variação de tempo.

### **3.5. ANÁLISE ESPECTRAL DAS AMOSTRAS – IDENTIFICAÇÃO DE BANDAS CARACTERÍSTICAS DOS BATONS**

Para além da comparação visual dos espectros e sua análise quimiométrica, a espectroscopia FTIR-ATR é um método analítico que também permite a identificação dos componentes químicos presentes na composição dos batons. Assim os espectros adquiridos fornecem informações diretamente correlacionadas com a estrutura química e a composição química das amostras analisadas.

O espectro infravermelho característico dos batons pode ser dividido em três regiões. Em primeiro lugar, aparece uma banda de absorção forte em  $3000-2900\text{ cm}^{-1}$  correspondente ao modo de alongamento do C-H, seguida da banda de absorção entre  $1700-1600\text{ cm}^{-1}$  corresponde à vibração de alongamento C=O e por fim a região entre  $1500-900\text{ cm}^{-1}$  denominada de região da impressão digital. Com base nas informações encontradas na literatura foi construída a **Tabela 3**, onde constam as atribuições das bandas de absorção, ao modo vibracional e ao grupo funcional a que corresponde, tendo em conta os vários componentes presentes nos batons<sup>84, 107, 108, 130, 131, 134-137</sup>.

Tabela 3. Atribuições de bandas de possíveis grupos funcionais presentes nos batons

Nº de onda (cm <sup>-1</sup> )	Modo vibracional	Grupo Funcional
3740-3100	OH	H <sub>2</sub> O e -OH
3300-2500	OH alongamento	Ácido Carboxílico
3040-3010	CH alongamento	RCHHR
2975-2950	CH alongamento assimétrico	CH <sub>3</sub>
2940-2915	CH alongamento assimétrico	CH <sub>2</sub>
2885-2865	CH alongamento simétrico	CH <sub>3</sub>
2870-2840	CH alongamento simétrico	CH <sub>2</sub>
1750-1725	C=O alongamento	Éster
1725-1700	C=O alongamento	Ácido Carboxílico
1640-1635	C=C alongamento	CH <sub>2</sub> =CHCOOR
1490-1460	O-CH <sub>2</sub> flexão fora do plano assimétrica	O-CH <sub>2</sub>
1463	CH flexão fora do plano assimétrica	CH <sub>2</sub> (alcanos)
1475-1450	CH flexão fora do plano assimétrica	CH <sub>3</sub> (alcanos)
1455	CH flexão fora do plano assimétrica	CH <sub>3</sub> em -OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
1420	CH flexão	CH <sub>2</sub> (próximo ao carbonilo)
1390-1360	O-CH <sub>2</sub> flexão fora do plano	O-CH <sub>2</sub>
1383-1377	CH <sub>3</sub> flexão no plano simétrica	CH <sub>3</sub> (alcano)
1385, 1368	CH flexão no plano simétrica	-C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
1375	CH flexão no plano simétrica	CH <sub>3</sub> em -OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
1300-1200	CH <sub>2</sub> flexão fora do plano	CH <sub>2</sub> (alcano)
1305-1295	C-C flexão fora do plano ou torção	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> - (alcano)
1290-1280	C-O-C alongamento	CH <sub>2</sub> =CHCOOR
1275-1185	C-O-C alongamento assimétrico	C-O-C
1260	Si-CH <sub>3</sub> alongamento simétrico	Si-CH <sub>3</sub>
1250	C-C-O alongamento	C-C-O
1300-1150	C-O alongamento	-COOR (Éster)
1180-1130	C-O alongamento	-COOR (ácido carboxílico)
1160-1050	C-O-C alongamento simétrico	C-O-C
1120-1090	CCCC alongamento simétrico	CCCC
1110-1080	CCCC alongamento assimétrico	CCCC
1060	Si-O-Si alongamento	Si-O-Si
1060-1035	O-CH <sub>2</sub> alongamento	(O=C)-O-CH <sub>2</sub>
990-980	CH flexão	CH <sub>2</sub> =CHCOOR
970-960	CH <sub>2</sub> flexão	CH <sub>2</sub> =CHCOOR
1270-850	Si-O alongamento	Si-O
805	Si-C alongamento	Si-C
724	CH torção	CH
712	CH <sub>2</sub> flexão no plano ou balanço	CH <sub>2</sub>



Normalmente, cada batom tem diversos componentes na sua constituição, dos quais se destacam as ceras e óleos, podendo apresentar uma composição e uma estrutura química diferenciadora. Assim a característica espectral associada à estrutura e composição química pode ser aplicada na identificação positiva ou discriminação de amostras de batom. Como tal, com base na tabela apresentada anteriormente e na análise das bandas presentes nos espectros de cada uma das quinze amostras do estudo, representados no **Anexo C**, foi construída a **Tabela 4** onde estão assinaladas as bandas que se encontram presentes em todas as amostras.

A interpretação dos espectros de infravermelho de produtos cosméticos é complicada pela quantidade de bandas de absorção e pelo facto de poder haver sobreposição das atribuições em algumas bandas de absorção originada pela circunstância de haver grupos funcionais responsáveis pelo aparecimento de várias bandas numa ampla gama de números de onda, de modo que cada banda pode ter uma contribuição de vários grupos funcionais. Assim de acordo com a tabela das bandas características de batons documentadas na literatura (**Tabela 3**) e a presença dessas bandas nas amostras do estudo (**Tabela 4**), foi feita uma possível atribuição de bandas aos grupos funcionais presentes na constituição das amostras.

A banda larga na faixa de  $3600-3000\text{ cm}^{-1}$  ocorre devido às vibrações OH, indicando a presença de ligações de hidrogénio intramoleculares, em grupos hidroxilo. As bandas em  $3000-2800\text{ cm}^{-1}$  ( $2950$  e  $2870\text{ cm}^{-1}$ ) são devidas à ligação dupla C=C, à vibração de alongamento C-H assimétrico e simétrico, que indicam a presença de hidrocarbonetos alifáticos no cosmético testado. A presença de picos na faixa espectral  $1750-1550\text{ cm}^{-1}$ , é atribuída à vibração de alongamento C=O do éster propílico de ácido hexanóico ( $1740$ ,  $1620$  e  $1550\text{ cm}^{-1}$ ). As bandas entre  $1480-1360\text{ cm}^{-1}$  ocorrem devido a vibrações de flexão C-H, confirmando a presença de grupos alifáticos e indicando a existência de compostos aromáticos ( $1480$ ,  $1450$ ,  $1410$ ,  $1380$ ,  $1360\text{ cm}^{-1}$ ). As bandas na faixa de  $1260-1160\text{ cm}^{-1}$  e a banda de  $1040\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas a vibrações de alongamento C-O e O-CH<sub>2</sub>, respetivamente. A banda a  $840\text{ cm}^{-1}$  representa a vibração Si-C, que conjuntamente com a presença da banda a  $1020\text{ cm}^{-1}$ , presente em algumas amostras, atribuída à vibração de alongamento Si-O, demonstra a presença de silicatos nas amostras. Ainda se observa a existência de bandas na faixa espectral  $750-470\text{ cm}^{-1}$  atribuídas a movimentos de torção CH ( $750$ ,  $690$ ,  $620$ ,  $520$ ,  $470\text{ cm}^{-1}$ ).

Tabela 4. Comparação entre as 15 amostras de batom com base na presença/ausência de bandas características

Amostras	Número de onda (cm <sup>-1</sup> )																				Outras bandas	
	3440	2950	2870	1740	1620	1550	1480	1450	1410	1380	1360	1260	1240	1160	1040	840	750	690	620	520		470
A1	x	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	x	✓	1606; 1319; 1208; 1179; 1131; 1093; 1013; 821;
A2	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	x	✓	x	✓	✓	✓	✓	✓	✓	x	✓	1209; 1064; 821;
A3	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	x	✓	✓	✓	x	✓	✓	✓	✓	✓	✓	x	x	1120; 984; 606;
A4	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	x	✓	x	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1327; 1303; 1111; 948; 828; 788;
A5	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	x	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1514; 1302; 1210; 1113; 1090; 983; 787; 725;
B6	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	x	✓	✓	✓	x	✓	✓	✓	x	✓	1209; 1013; 973;
B7	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	x	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1185; 1114;
C8	x	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	x	x	✓	x	x	✓	✓	✓	✓	✓	x	x	805;
C9	x	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	x	x	✓	x	✓	✓	x	✓	✓	✓	x	x	1207; 1091; 1013; 872; 726;
D10	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	x	✓	✓	x	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1095; 1013;
D11	✓	✓	✓	✓	x	✓	✓	✓	x	✓	✓	x	✓	✓	x	x	✓	x	x	x	✓	1105; 1007;
D12	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	x	✓	✓	x	x	✓	x	x	✓	✓	x	✓	✓	1107; 1032; 726;
D13	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	x	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1209; 1094; 1013;
D14	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	x	✓	✓	x	x	✓	✓	✓	✓	x	x	✓	✓	1107; 1005; 726;
D15	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	x	✓	✓	x	✓	✓	x	✓	✓	✓	x	✓	✓	1105; 1008;

### Discriminação visual das amostras

Nesta abordagem, a comparação manual dos picos é feita para identificar quaisquer diferenças nos picos e suas posições no conjunto das amostras de batom. A presença e ausência de picos num determinado número de onda decide se as duas amostras de batom são iguais ou não. Assim, após analisar todas as amostras através da espectroscopia FTIR-ATR, foi criada a **Tabela 4** que representa as bandas de todas as amostras num determinado número de onda. Através da análise desta tabela, verificam-se semelhanças entre as bandas mais comuns em duas amostras de batom, B7 e D13; no entanto quando se conferem as suas bandas extra observam-se diferenças com presença de bandas distintas entre amostras e, portanto, é possível discriminar por meio de exame visual. As restantes amostras do estudo apresentam combinações de presença e ausência das bandas mais frequentes nestas amostras, permitindo assim discriminá-las visualmente entre si, não sendo necessário recorrer às bandas extra características de cada amostra.

A discriminação de amostras de batom com base na presença/ausência de bandas características foi obtida antes da discriminação multivariada com base nas ferramentas quimiométricas. O poder discriminante (DP) do método pode ser calculado utilizando a fórmula da literatura<sup>138</sup>.

$$DP = \frac{N^{\circ} \text{ total de pares de amostras discriminados}}{N^{\circ} \text{ total de pares de amostras possíveis}} \times 100,$$

$$N^{\circ} \text{ total de pares de amostras possíveis} = \frac{x(x-1)}{2}, \text{ onde } X \text{ é o número total de amostras.}$$

Tendo em conta a fórmula acima mencionada e os dados do estudo, temos:

$$N^{\circ} \text{ total de pares de amostras possíveis} = \frac{15(15 - 1)}{2} = 105$$

O número total de pares de amostras discriminados corresponde ao número total de pares de amostras possíveis retirando o número de pares de amostras não discriminados. Como referimos anteriormente, todas as amostras podem ser diferenciadas visualmente entre si com base na presença/ausência de bandas comuns e extras, assim o número de pares de amostras não discriminados é 0. Portanto, o número total de pares de amostras discriminados é de 105, obtendo-se assim um poder discriminante, DP = 100%.

Portanto, a comparação visual dos espectros fornece um poder de discriminação de 100%, o que é muito significativo. No entanto, esse método é muito demorado. Pode também fornecer alguns resultados falsos positivos/negativos porque duas amostras contendo constituintes químicos semelhantes com proporções diferentes fornecem tipos semelhantes de picos em espectros de FTIR com uma intensidade diferente. Além disso, de uma perspectiva forense, é vantajosa a aplicação de métodos quimiométricos, visto que são mais confiáveis, significativos e precisos do que o método de exame visual.

### **3.6. DISCRIMINAÇÃO DAS AMOSTRAS ATRAVÉS DA ANÁLISE DIRETA DOS BATONS POR MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS**

Nesta etapa de discriminação multivariada com base nas ferramentas quimiométricas, foram realizados dois processos de discriminação, entre amostras da mesma marca e entre marcas, ou seja, incluindo todas as amostras do estudo.

Inicialmente foi realizada a discriminação entre marcas, com base nos espectros obtidos da análise direta das quinze amostras do estudo pertencentes a quatro marcas distintas, representados nas **Figuras D1 e D2 do Anexo D**.

Primeiramente procedeu-se à construção da matriz de distâncias entre as 15 amostras do estudo que originou o gráfico apresentado na **Figura 31**.

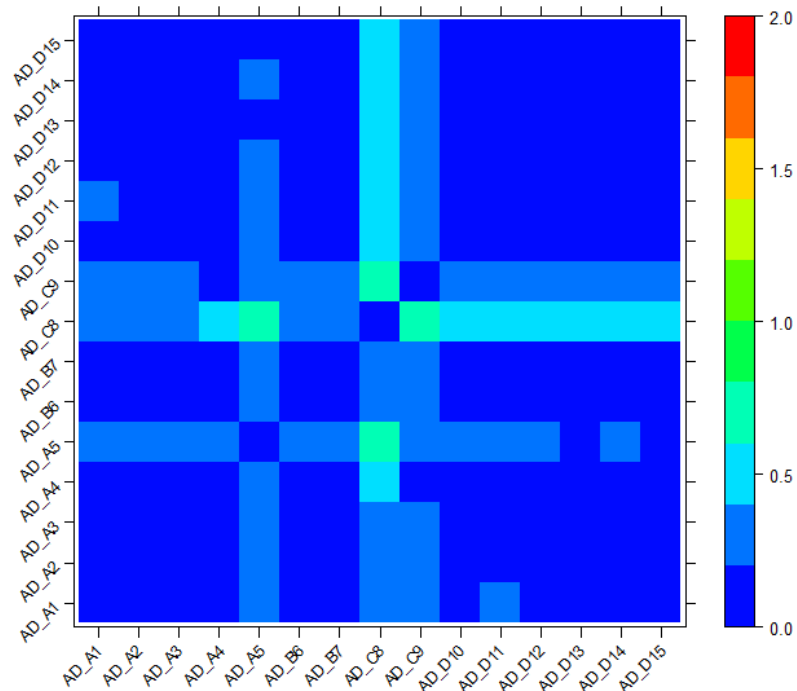


Figura 31. Gráfico demonstrativo das distâncias entre as 15 amostras analisadas diretamente

Através da análise do gráfico representativo da matriz de distâncias é possível observar que existe variação na coloração, demonstrando que existem amostras mais semelhantes entre si do que outras. Assim, salienta-se a maior distância entre os pares de amostras A5-C8 e C8-C9, demonstrando que existe maior discordância entre os espectros destas amostras. Foi possível apurar que a amostra C8 apresenta maior variação com todas as outras amostras, quando comparado com outros pares de amostras, tendo maior distância com as amostras da marca D e a amostra A4, indicando a presença de maiores diferenças entre esta amostra (C8) e as restantes. Verifica-se que todas as amostras da marca B e D, apresentam entre si uma distância baixa (dentro das marcas), assim como entre as amostras das duas marcas (entre marcas). Observa-se ainda que dentro da marca A, a amostra A5 é a que difere mais dentro da própria marca e com amostras de outras marcas.

Além da análise pela matriz de distâncias, para uma melhor interpretação dos possíveis agrupamentos originados, foi construído o dendrograma com todas as quinze amostras de batom do estudo, representado na **Figura 32**.

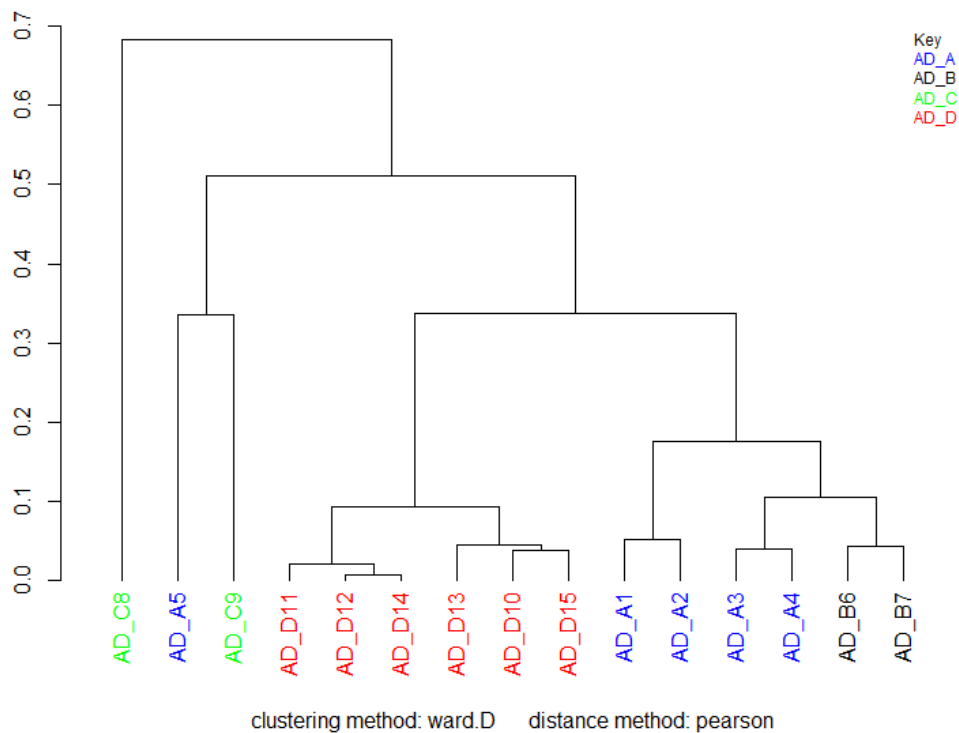


Figura 32. Dendrograma das quinze amostras do estudo analisadas diretamente

O dendrograma obtido a partir do método de Pearson mostrou agrupamentos maioritariamente constituídos por amostras da mesma marca. Dos grupos originados, destaca-se a amostra C8 que se encontra isolada de todas as restantes amostras, indicando ser a amostra mais diferenciada de todas. Seguidamente observa-se a junção da amostra A5 e C9 num grupo distinto, que posteriormente se agrupa com o agrupamento das amostras da marca D e B, e as outras amostras da marca A. Verifica-se a associação de todas as amostras D num grupo exclusivo da marca que por sua vez se junta às amostras da marca A e B, demonstrando que estas marcas apresentam na sua constituição componentes mais semelhantes ou em proporções idênticas, quando comparadas com as outras amostras representadas no agrupamento mais afastado. Destaca-se ainda o agrupamento entre as amostras A3 e A4 com as amostras B6 e B7, em vez do agrupamento com as amostras da mesma marca (A1 e A2), podendo este facto ocorrer devido à possível conformidade de tonalidade destes batons, que determinam uma composição mais semelhante. Retirando algumas exceções, os agrupamentos formados demonstraram a maior semelhança entre amostras da mesma marca, originando a criação de grupos maioritariamente com amostras da mesma marca.

Posteriormente à análise por HCA, os espectros das amostras de batons foram representados usando os componentes principais como um novo sistema de coordenadas, produzindo o gráfico de *scores* apresentado na **Figura 33**.

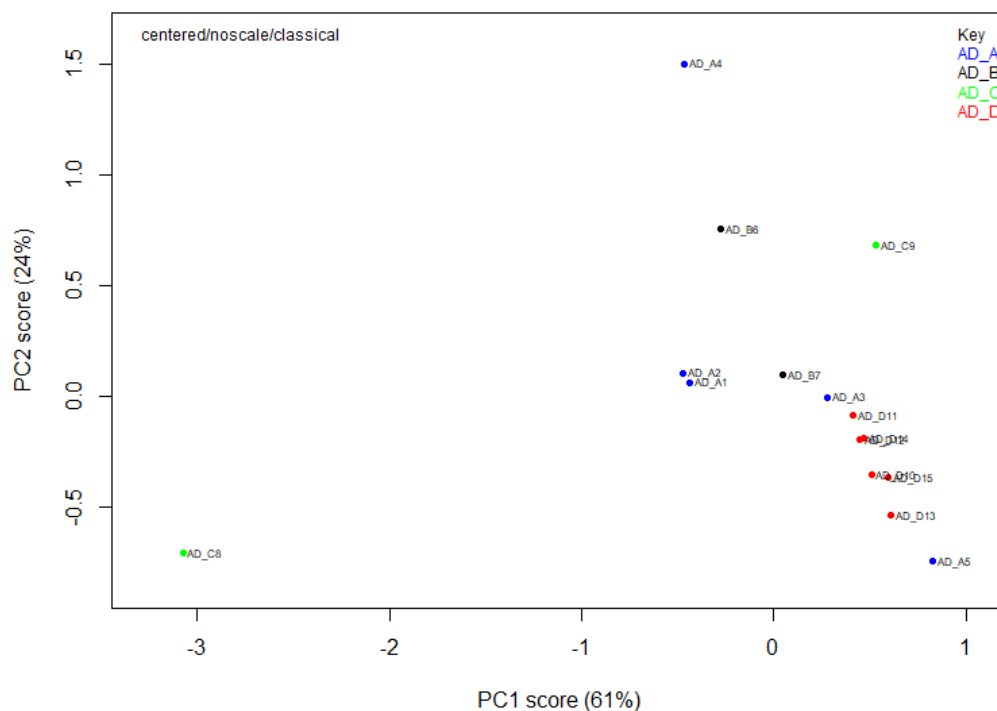


Figura 33. Gráfico de scores do PCA para as 15 amostras do estudo analisadas diretamente (PC1 e PC2)

O primeiro componente principal (PC1) foi responsável por 61% da variação no conjunto de dados. O segundo componente principal (PC2) foi responsável por 24% da variação no conjunto de dados. Portanto, a combinação desses dois PCs foi responsável pela variação de 85% no conjunto de dados. Conforme mostrado no gráfico de *scores*, as amostras encontram-se dispersas pelo gráfico, com alguma proximidade entre as amostras da marca D, mas sem sobreposição das mesmas. Estes resultados vieram demonstrar que existe variabilidade nos componentes das amostras pertencentes à mesma marca e entre marcas.

Após análise dos *scores* do PCA foram analisadas as *loadings*, representadas na **Figura 34**.

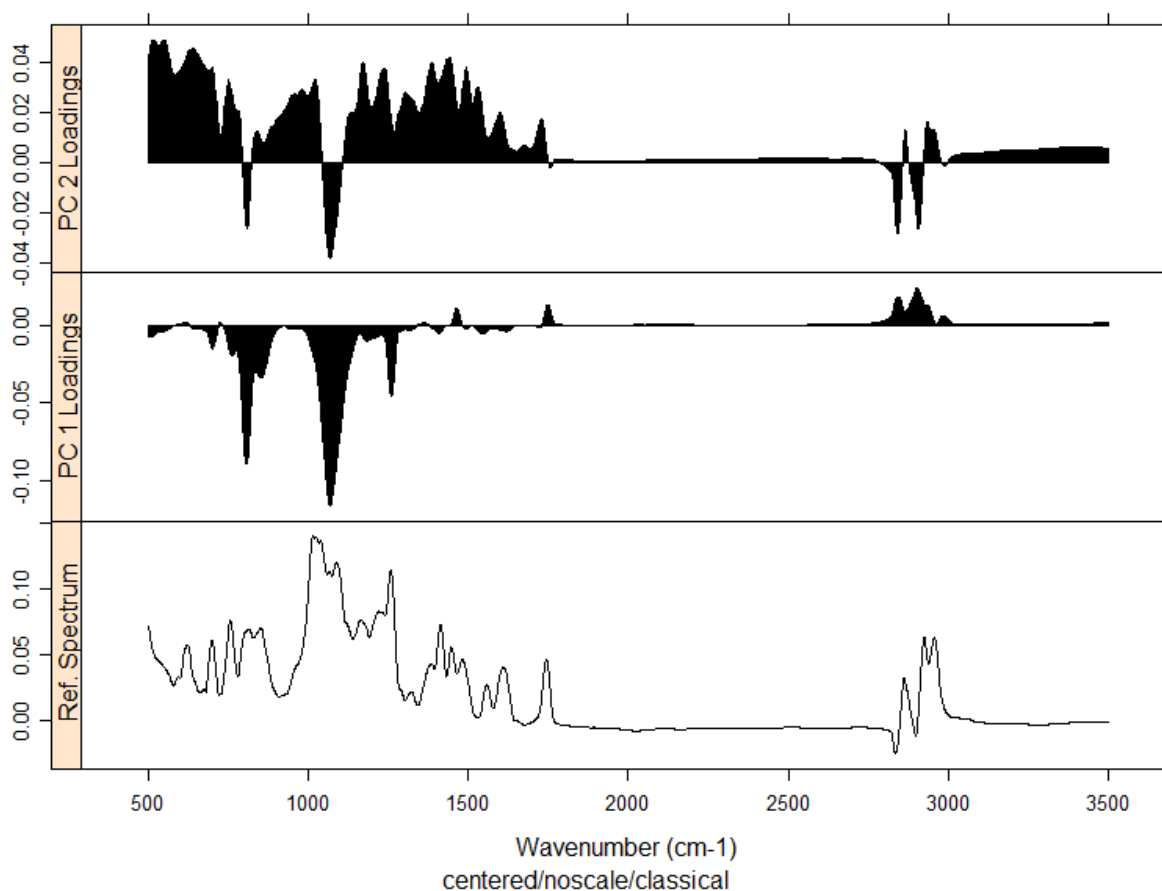


Figura 34. Gráfico demonstrativo das loadings das quinze amostras analisadas diretamente

A análise dos espectros através das *loadings*, permitiu determinar as regiões com maior variação entre todas as amostras, verificando-se que as alterações ocorrem maioritariamente entre 650 e 900  $\text{cm}^{-1}$ , 1050  $\text{cm}^{-1}$ , e entre 2800 e 3000  $\text{cm}^{-1}$ . As primeiras duas regiões espectrais apresentam uma correlação negativa enquanto a região com número de onda apresenta correlação positiva.

Seguidamente à realização da discriminação entre marcas, foi feita a discriminação com base nos espectros obtidos da análise direta das quinze amostras do estudo divididos pelas quatro marcas distintas. As amostras da marca A foram analisadas por HCA e os resultados obtidos estão representados na **Figura 35**.



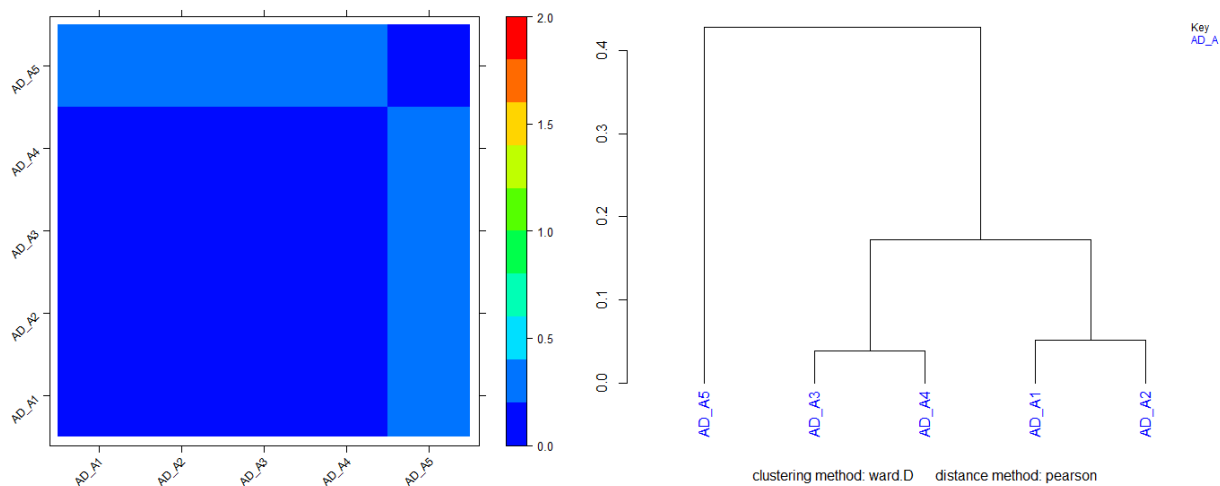


Figura 35. Gráfico demonstrativo das distâncias entre amostras da marca A analisadas diretamente e respectivo dendrograma

Os resultados da análise por HCA das amostras da marca A, representado na figura acima, demonstraram existir maior semelhança entre as amostras A3-A4 e A1-A2, com maior distância entre estas e a amostra A5. Estes resultados vieram complementar os obtidos da comparação dos espectros das amostras entre marcas, onde já existia separação do agrupamento das amostras A1, A2, A3 e A4, da amostra A5, pertencente a um agrupamento com amostras de outras marcas.

As amostras da marca A foram também analisadas individualmente por PCA, estando os resultados apresentados na **Figura 36**.

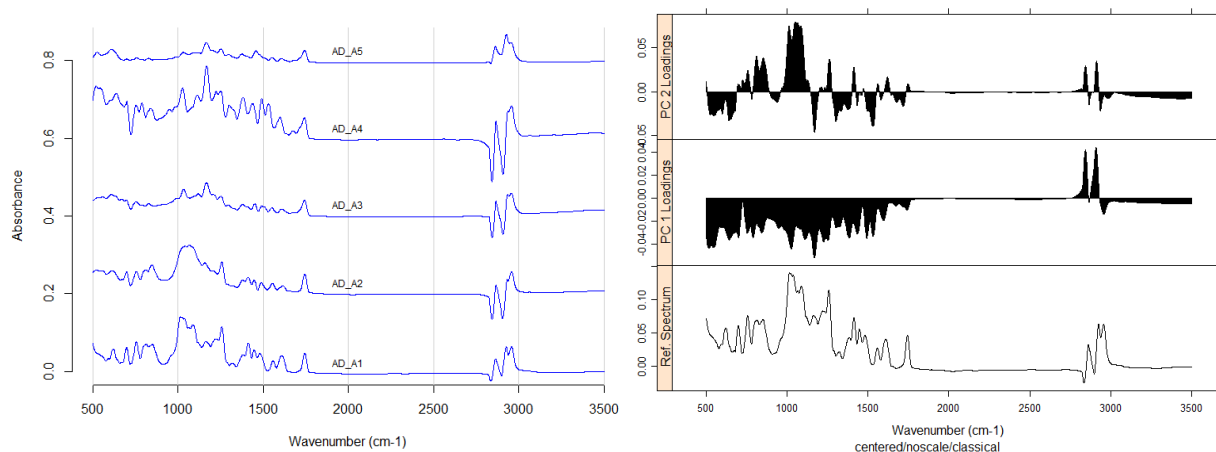
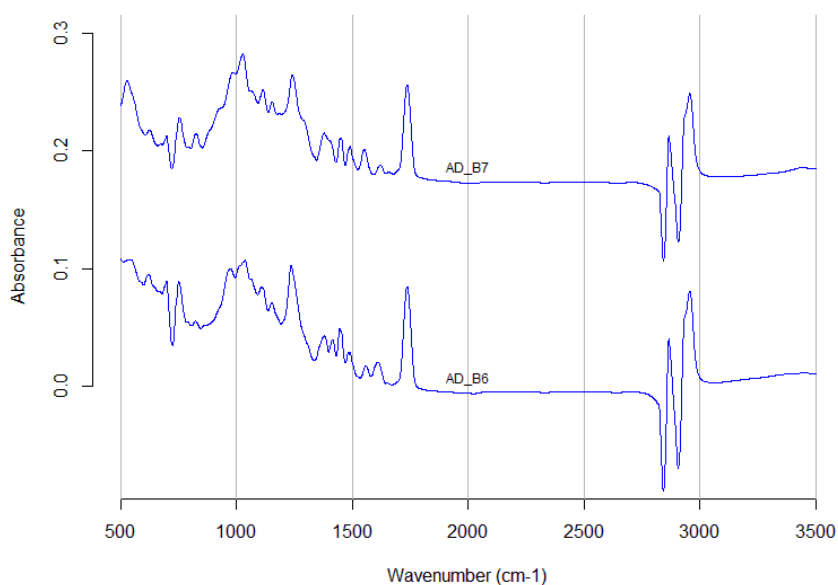


Figura 36. Espectros das amostras da marca A analisadas diretamente e respectivo gráfico das loadings

A análise individual dos espectros das amostras da marca A e o gráfico obtido da análise por PCA, através das *loadings*, permitiram determinar as regiões com maior variação dentro da marca, verificando-se que as alterações ocorrem maioritariamente na região de impressão digital (1600-500  $\text{cm}^{-1}$ ) e nas bandas a 2900  $\text{cm}^{-1}$ .

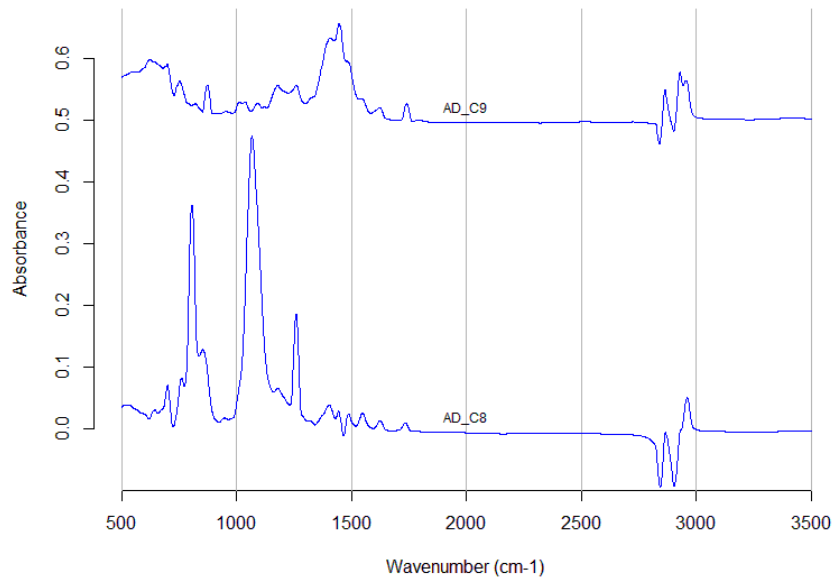
As amostras da marca B foram analisadas apenas através da comparação visual dos espectros, uma vez que se trata de apenas duas amostras, e tornar o estudo por HCA e PCA desnecessário. Os espectros da análise direta das amostras B6 e B7 estão representados na **Figura 37**.



*Figura 37. Espectros das amostras da marca B analisadas diretamente*

A análise visual dos espectros das amostras da marca B permitiu determinar as regiões com maior variância dentro da marca, verificando-se que as alterações ocorrem maioritariamente na região de menor número de onda, nomeadamente inferior a 950  $\text{cm}^{-1}$ .

Tal como aconteceu com as amostras da marca B, também as amostras da marca C foram unicamente analisadas por comparação do aspeto dos espectros, estando os espectros da análise direta das amostras C8 e C9 apresentados na **Figura 38**.



*Figura 38. Espectros das amostras da marca C analisadas diretamente*

A análise visual dos espectros das amostras da marca C, possibilitaram restringir as regiões com maior variação entre as duas amostras da marca, verificando-se que as alterações ocorrem nos números de onda correspondentes às bandas de maior intensidade da amostra C8, nomeadamente a 1300, 1100 e 850 cm<sup>-1</sup>, aproximadamente.

Devido ao maior número de amostras da marca D, foi possível realizar a análise dos espectros por HCA e PCA, estando a primeira análise representada na **Figura 39**.

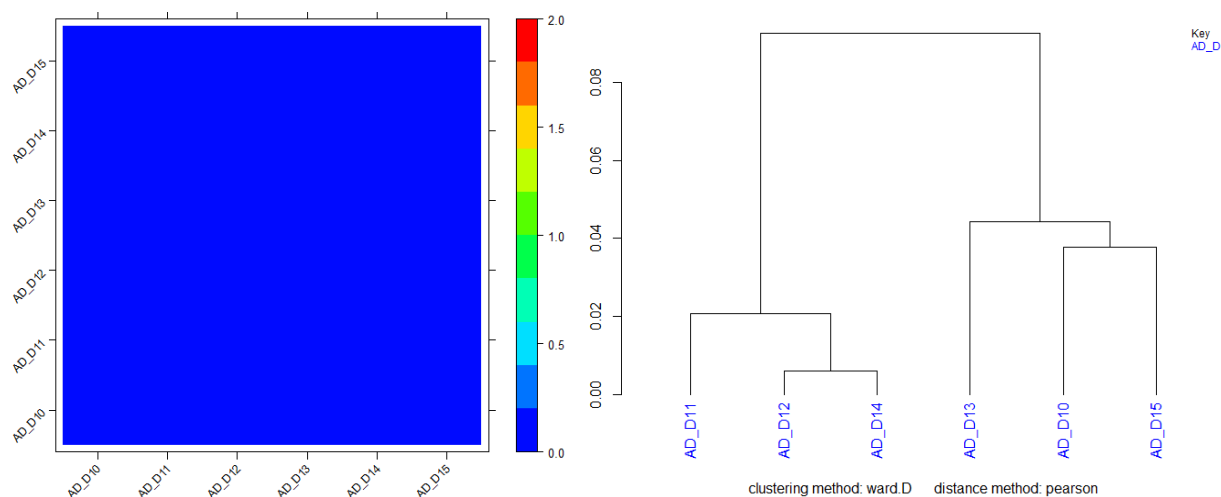


Figura 39. Gráfico demonstrativo das distâncias entre amostras da marca D analisadas diretamente e respetivo dendrograma

Os resultados da análise por HCA das amostras da marca D, representado na figura acima, demonstraram existir maior semelhança entre todas as amostras desta marca, quando comparadas com as amostras de outras marcas, obtendo-se distâncias menores entre amostras. Relativamente ao dendrograma, observa-se a divisão das amostras em dois agrupamentos, com junção das amostras D10-D13-D15 e D11-D12-D14, onde o segundo agrupamento apresenta distâncias menores entre amostras.

Como referido anteriormente, as amostras da marca D foram também analisadas individualmente por PCA, estando os resultados apresentados na **Figura 40**.

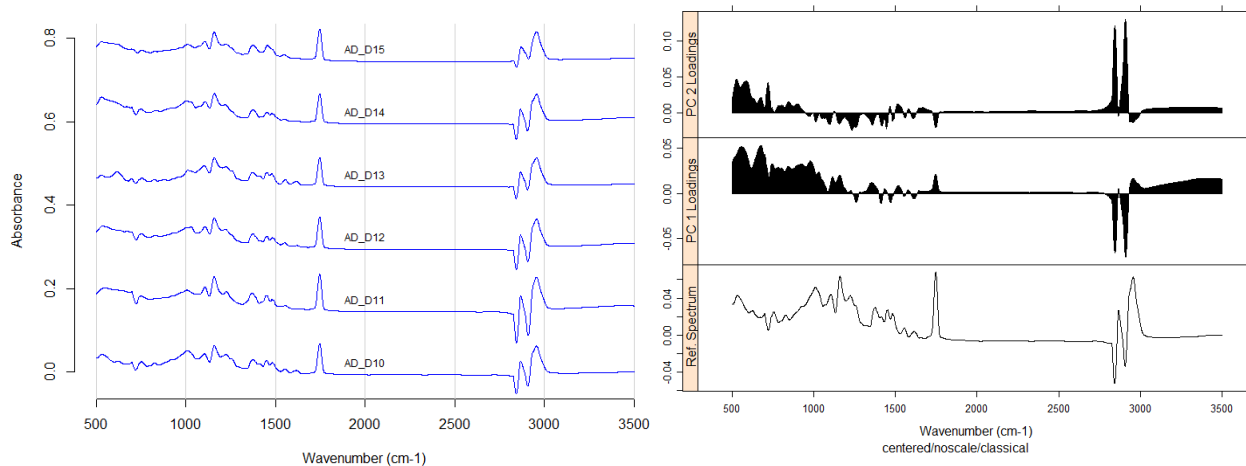


Figura 40. Espectros das amostras da marca D analisadas diretamente e respetivo gráfico das loadings

A análise individual dos espectros das amostras da marca D e o gráfico obtido da análise por PCA, através das *loadings*, possibilitaram restringir as regiões com maior variação dentro da marca, verificando-se que as alterações ocorrem maioritariamente na região de impressão digital, com número de onda inferior a  $1000\text{ cm}^{-1}$ .

Os resultados obtidos da análise por HCA e PCA comprovam existir variação na composição dos constituintes das amostras ou alteração nas proporções destes, permitindo a distinção de amostras da mesma marca com base no espectro FTIR-ATR obtido, mesmo entre amostras onde a variação é mínima, como no caso das amostras da marca D.

### 3.7. COMPARAÇÃO DO EFEITO DO SUBSTRATO NOS ESPECTROS DAS AMOSTRAS

Como as amostras de batom podem ser recuperadas de vários substratos, neste estudo, os seguintes substratos foram selecionados para verificar o efeito dos substratos na análise da amostra: chávena, cigarro, copo de plástico, lenço de papel e tecido.

Para verificar o efeito que o substrato onde é depositada a amostra pode causar ao nível da análise dos espectros, foi realizada uma comparação visual entre os espectros recolhidos na fase de otimização do método de análise (FTIR-ATR) para cada substrato, sendo selecionados apenas os obtidos com 32 varrimentos. Na **Figura 41** estão representados os espectros correspondentes à

chávena (CH), cigarro (CI), copo de plástico (CP), lenço de papel (LP) e tecido (T), após deposição da amostra A1.

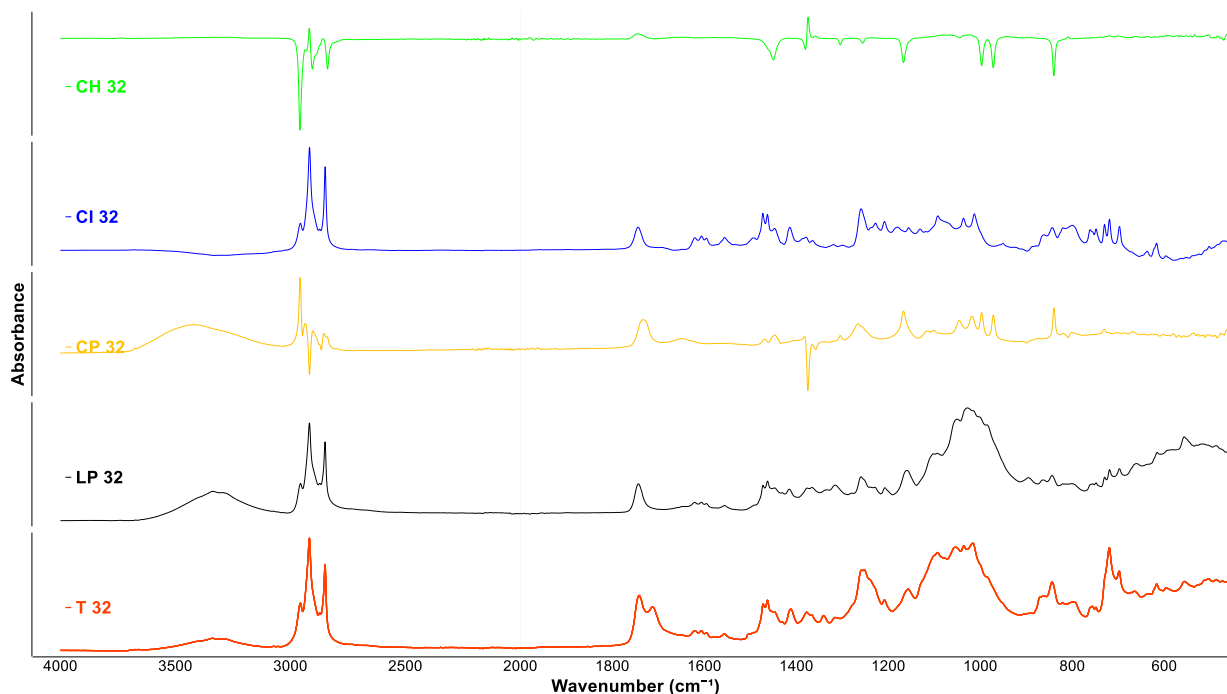


Figura 41. Espectros FTIR-ATR obtidos através da deposição da amostra A1 nos substratos em estudo: Chávena - CH (verde), Cigarro - CI (azul), Copo de plástico - CP (amarelo), Lenço de papel - LP (preto) e Tecido - T (vermelho)

Através da comparação gráfica dos cinco espectros FTIR-ATR obtidos da análise da deposição da amostra A1 nos cinco substratos considerados para este estudo, verifica-se a presença de semelhança entre as bandas presentes nos espectros, que são características da amostra de batom. No entanto, existem diferenças em termos da intensidade de absorvância obtida para os substratos distintos. Relativamente aos substratos CH e CP verifica-se uma diminuição significativa da intensidade dos picos quando comparados com os restantes substratos, isto deve-se ao processo de recolha de amostra ocorrer de forma distinta, sendo nestes dois casos necessário a utilização de fita-cola para obter a amostra de forma a poder ser analisada pelo FTIR-ATR. Devido a este processo, é de prever que a amostra recolhida a analisar apresente uma concentração menor quando comparada com os outros substratos, onde a análise ocorre diretamente no substrato sobre o qual foi depositada a amostra. Embora ocorram diferenças ao nível da intensidade da absorvância, verifica-se a presença das bandas representativas deste tipo de amostra.

Foi realizada uma análise pormenorizada por métodos quimiométricos para verificar o grau de semelhança entre substratos. Para tal foi construída uma tabela de distâncias entre substratos que originou o gráfico apresentado na **Figura 42**.

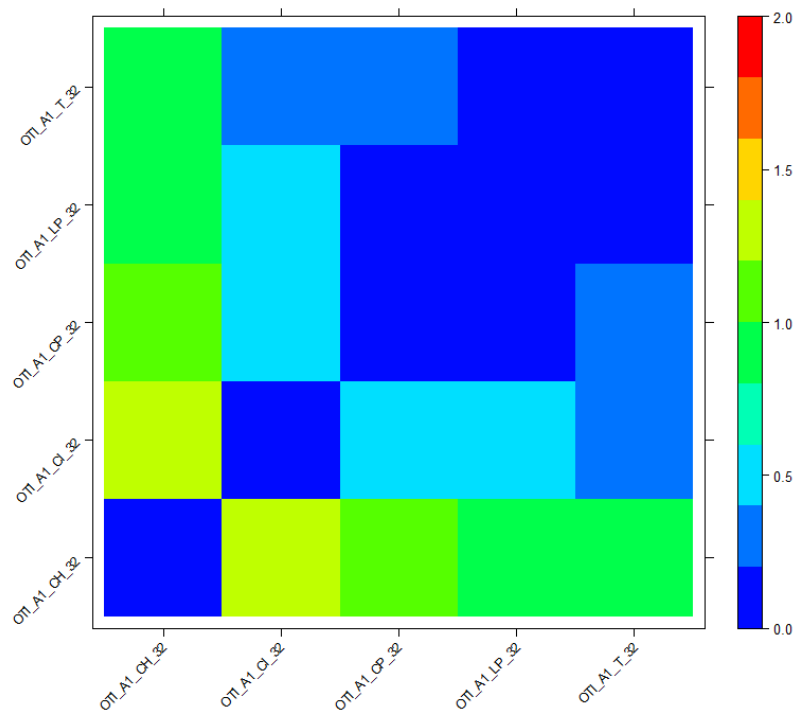


Figura 42. Gráfico demonstrativo das distâncias entre os cinco substratos (chávena - CH, cigarro - CI, copo de plástico - CP, lenço de papel - LP e tecido - T)

Esses valores comprovaram que a distância menor (0.045) ocorre entre o tecido e o lenço de papel, sendo a maior distância (1.282) entre a chávena e o cigarro. Posteriormente foi construído o dendrograma para verificar quais os agrupamentos que ocorrem entre os substratos (**Figura 43**).

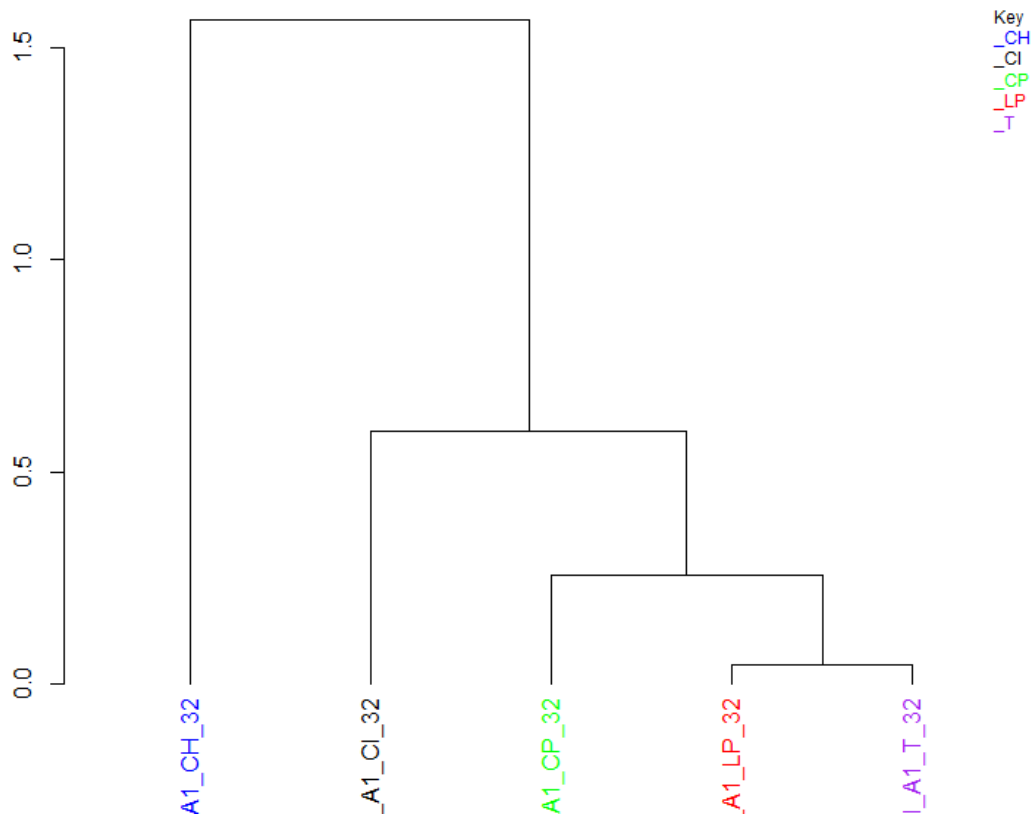


Figura 43. Dendrograma da deposição da amostra A1 em vários substratos (chávena - CH, cigarro - CI, copo de plástico - CP, lenço de papel - LP e tecido - T)

Da análise da **Figura 43** podemos concluir que existe maior similaridade entre o tecido e o lenço de papel. Por sua vez, estes dois objetos agrupam-se ao copo de plástico e posteriormente ao cigarro. A chávena encontra-se isolada de todos os outros substratos considerados.

Posteriormente à análise quimiométrica por HCA confirmou-se quais as regiões com maior variância entre substratos. A **Figura 44** representa o gráfico das *loadings* correspondente à amostra A1 depositada nos cinco substratos em estudo - chávena, cigarro, copo de plástico, lenço de papel e tecido.



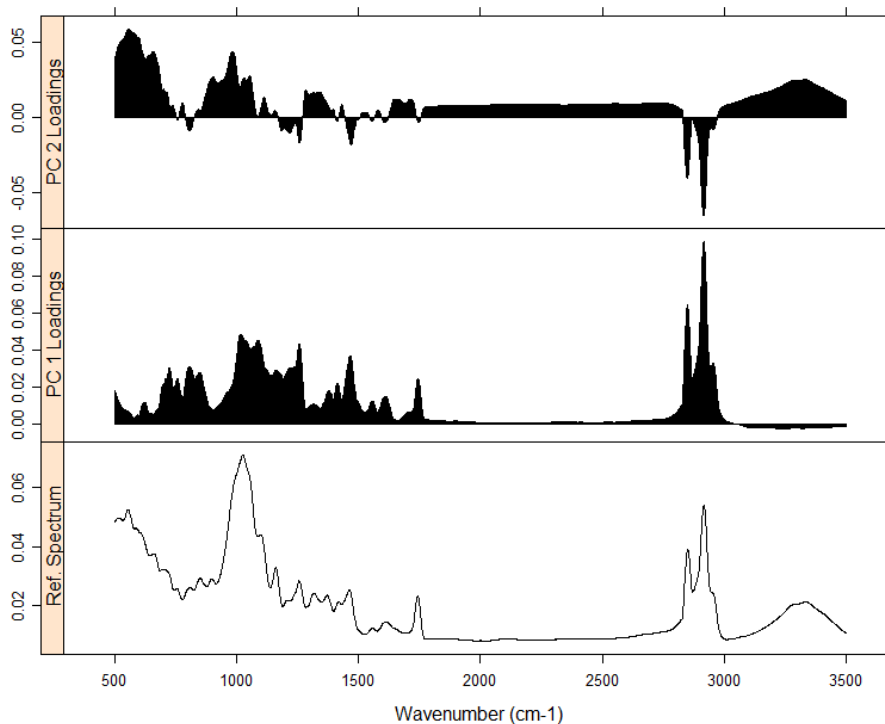


Figura 44. Gráfico demonstrativo das loadings da amostra A1 depositada nos cinco substratos (Chávena, Cigarro, Copo de plástico, Lenço de papel, Tecido)

A análise dos espectros com variação dos substratos através das *loadings*, permitiu determinar as regiões com maior variância. Verificou-se que a maior variância entre substratos ocorre na região dos  $2900\text{ cm}^{-1}$ ; posteriormente observa-se alguma variação na região de impressão digital, entre  $1700\text{-}700\text{ cm}^{-1}$ .

Após a demonstração de que a deposição da mesma amostra em diversos substratos produz variações nos espectros obtidos, procedeu-se à sua comparação relativamente a outras amostras do estudo, com o intuito de avaliar se existe influência da utilização do substrato na identificação da amostra. Para realizar o estudo recorreu-se à comparação das deposições da amostra A1 em vários substratos, com os espectros de todas as amostras do estudo analisadas de forma direta, incluído a amostra depositada. O dendrograma obtido da análise por HCA está representado na **Figura 45**.

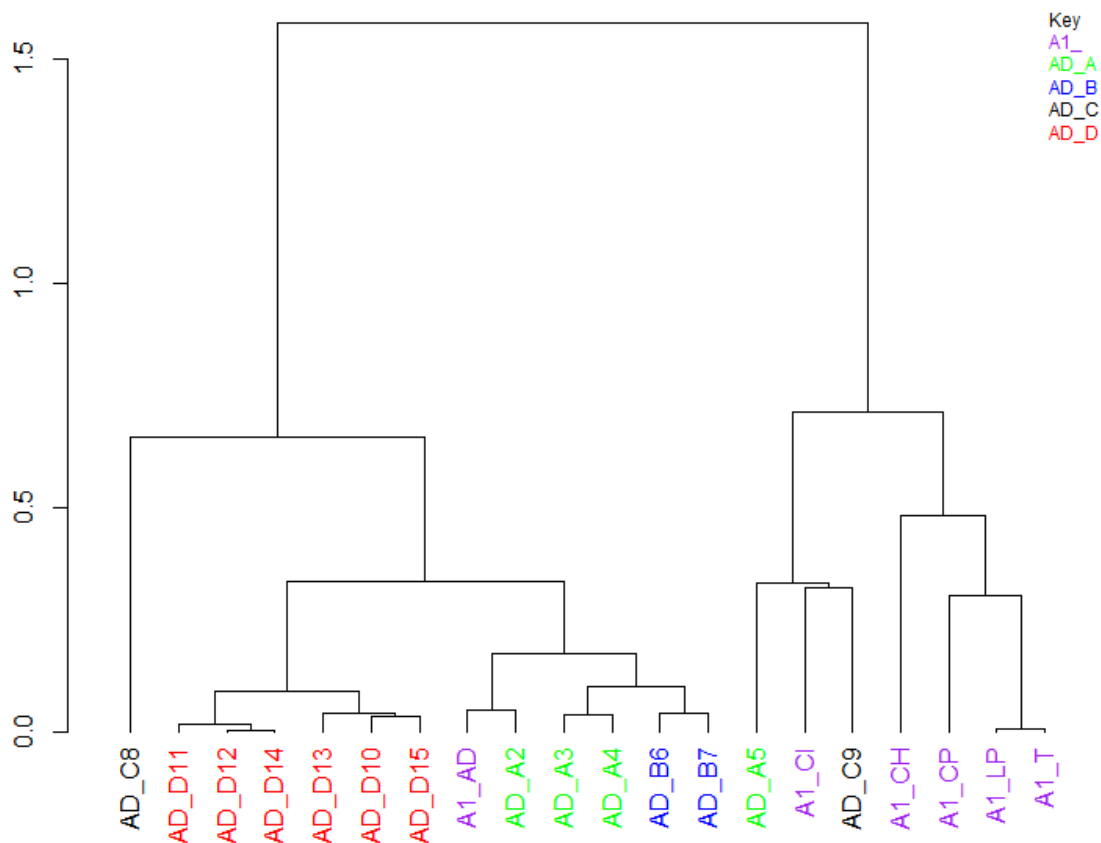


Figura 45. Dendrograma resultante do agrupamento da amostra A1 em vários substratos (chávena - CH, cigarro - CI, copo de plástico - CP, lenço de papel - LP e tecido - T) e análise direta (A1\_AD), representadas a roxo, com as restantes amostras do estudo analisadas diretamente (Marca A - Verde, Marca B - Azul, Marca C - Preto, Marca D - Vermelho)

Os agrupamentos originados pelo método de HCA, representado na **Figura 45**, demonstraram que relativamente a outras amostras, as deposições da mesma amostra (A1) em vários substratos ou analisada diretamente encontram-se em grupos distintos. Observou-se a criação de um agrupamento que corresponde à quase totalidade das amostras da marca A, onde se encontra a amostra A1 analisada diretamente. Verifica-se que as deposições em substratos se encontram agrupadas num grupo muito distante da mesma amostra resultante da análise direta. Ocorreu a criação de um grupo correspondente apenas à amostra A1 depositada em vários substratos - tecido, lenço de papel, copo de plástico e chávena. No entanto a deposição no cigarro pertence a um subgrupo distinto, conjuntamente com outras duas amostras do estudo (A5 e C9). Estes resultados vieram comprovar que relativamente a outras amostras, os substratos originam espectros distintos entre si. Essas alterações provocadas pelos substratos podem afetar a identificação correta da amostra, podendo corresponder a amostras da mesma marca ou até entre marcas diferentes, como

se conseguiu comprovar no caso do grupo formado entre a deposição da amostra A1 no cigarro e as amostras A5 e C9.

Posteriormente à verificação de que o substrato provoca alterações nos espectros, podendo originar agrupamentos com amostras diferentes da depositada no substrato, procedeu-se ao estudo pormenorizado sobre o tipo de agrupamentos que se podem formar. Para realizar este estudo recorreu-se à comparação das deposições das amostras A1, B6, C9 e D10 em vários substratos e análise direta das mesmas. O dendrograma obtido desta análise está representado na **Figura 46**.

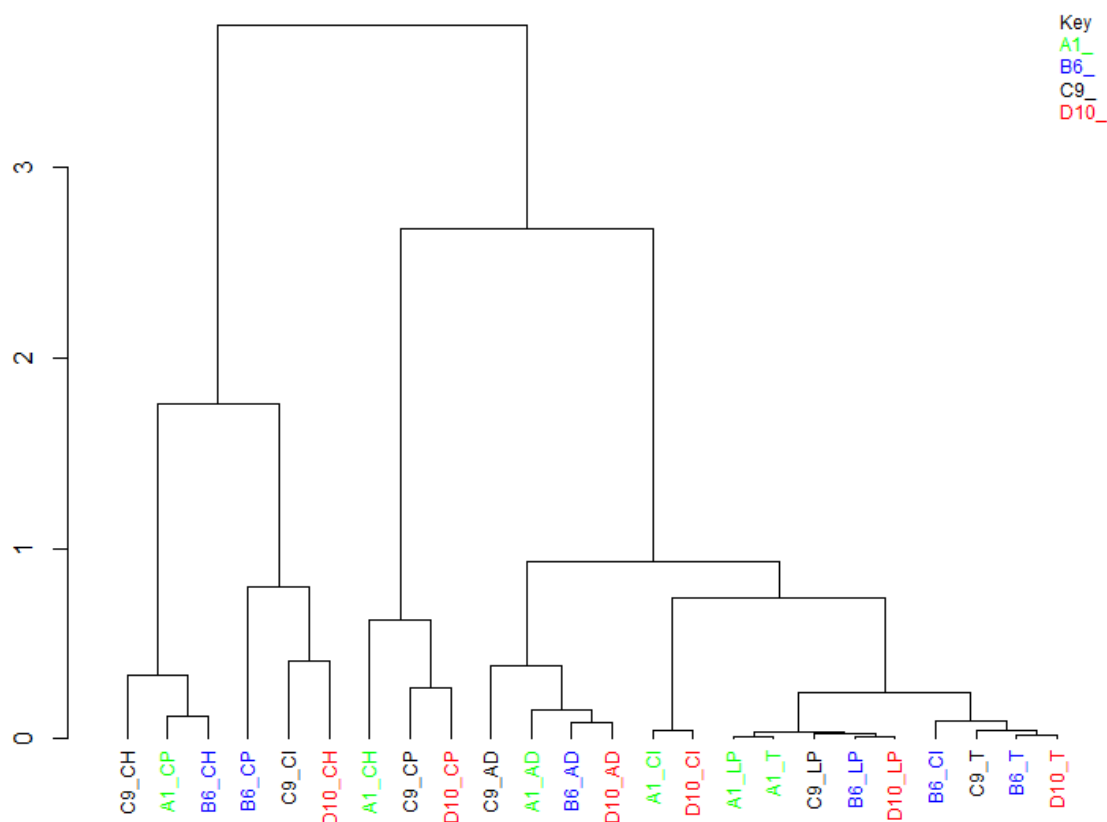


Figura 46. Dendrograma resultante do agrupamento das amostras A1, B6, C9 e D10 em vários substratos (chávena - CH, cigarro - CI, copo de plástico - CP, lenço de papel - LP e tecido - T) e análise direta (AD)

Os agrupamentos originados pelo método HCA demonstraram que relativamente a outras amostras, as deposições da mesma amostra em vários substratos ou analisada diretamente encontram-se em grupos distintos. Observou-se a criação de um agrupamento que corresponde apenas a todas as amostras analisadas diretamente. Verifica-se que as deposições em lenço de papel e tecido estão agrupadas num grupo mais amplo, onde se encontram inseridas três deposições em cigarro. O grupo originado das deposições em lenço de papel, tecido e cigarro encontra-se mais

próximos do grupo da análise direta, do que os resultados das deposições em copo de plástico e chávena. Num agrupamento mais distante encontram-se todas as deposições em copo de plástico e chávena, onde está inserida uma deposição em cigarro. Estes resultados vieram comprovar que relativamente a outras amostras, os substratos influenciam os agrupamentos criados. Demonstrou-se assim que os agrupamentos ocorrem de acordo com o substrato onde a amostra foi depositada em vez da amostra em si, podendo ocorrer semelhanças entre os resultados do lenço de papel e o tecido, ou entre o copo de plástico e chávena, quando comparados com os outros.

### **3.8. ANÁLISE DOS EFEITOS PROVOCADOS PELA VARIAÇÃO NA PERMANÊNCIA DO BATOM NOS LÁBIOS**

Foram efetuadas um conjunto de experiências para analisar se o tempo do uso do batom nos lábios tem impacto na análise forense por FTIR-ATR. Assim, as amostras de batom (A1, B6, C9 e D10) foram aplicadas num indivíduo e depositadas nos cinco substratos estudados, com intervalo de tempo variável após a aplicação do batom. Os intervalos estudados foram de 15 minutos, 30 minutos, 1 hora, 2 horas e 4 horas. O batom foi retocado a cada intervalo de tempo e os substratos foram estudados separadamente.

A análise quimiométrica do efeito provocado pela variação na permanência do batom nos lábios foi realizada individualmente para cada substrato onde ocorreu deposição, visto que como comprovado anteriormente, os substratos têm influência no tipo de espectro obtido.

Os espectros relativos à deposição das amostras A1, B6, C9 e D10 na chávena estão representados nas **Figuras 47 e 48**. Para complementar a comparação visual dos espectros, foi obtido um gráfico das *loadings*, originado pela análise da totalidade dos espectros por PCA, representado na **Figura 49**.

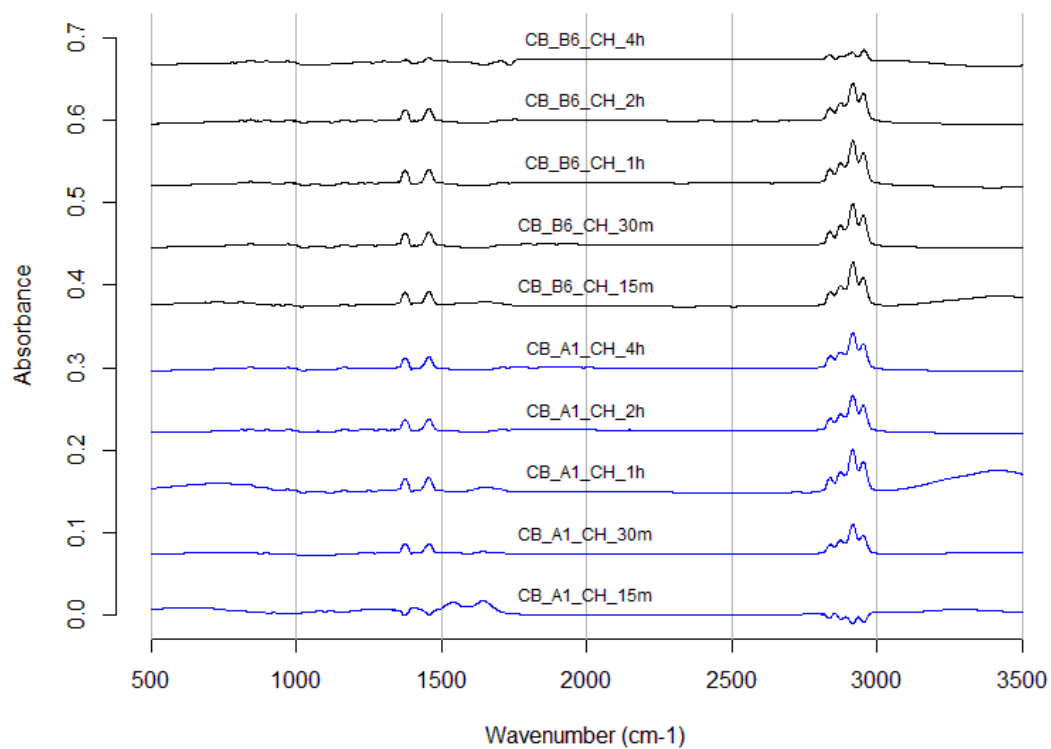


Figura 47. Espectros FTIR-ATR das amostras A1 e B6 depositadas na chávena, com variação do tempo de permanência do batom nos lábios

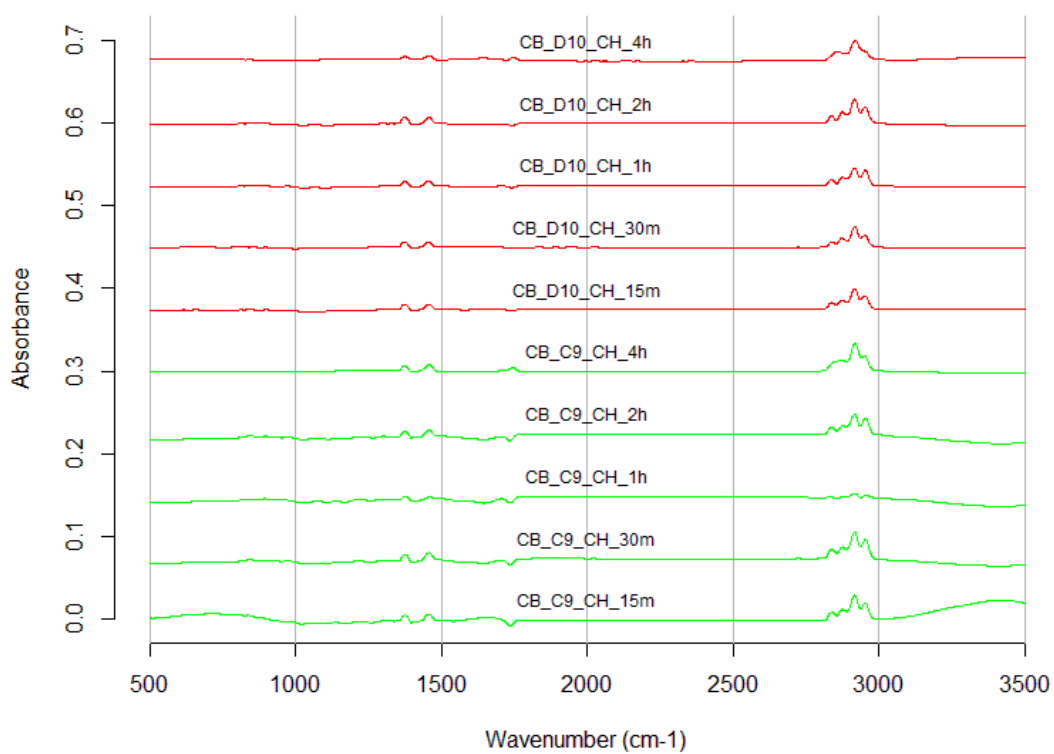


Figura 48. Espectros FTIR-ATR das amostras C9 e D10 depositadas na chávena, com variação do tempo de permanência do batom nos lábios

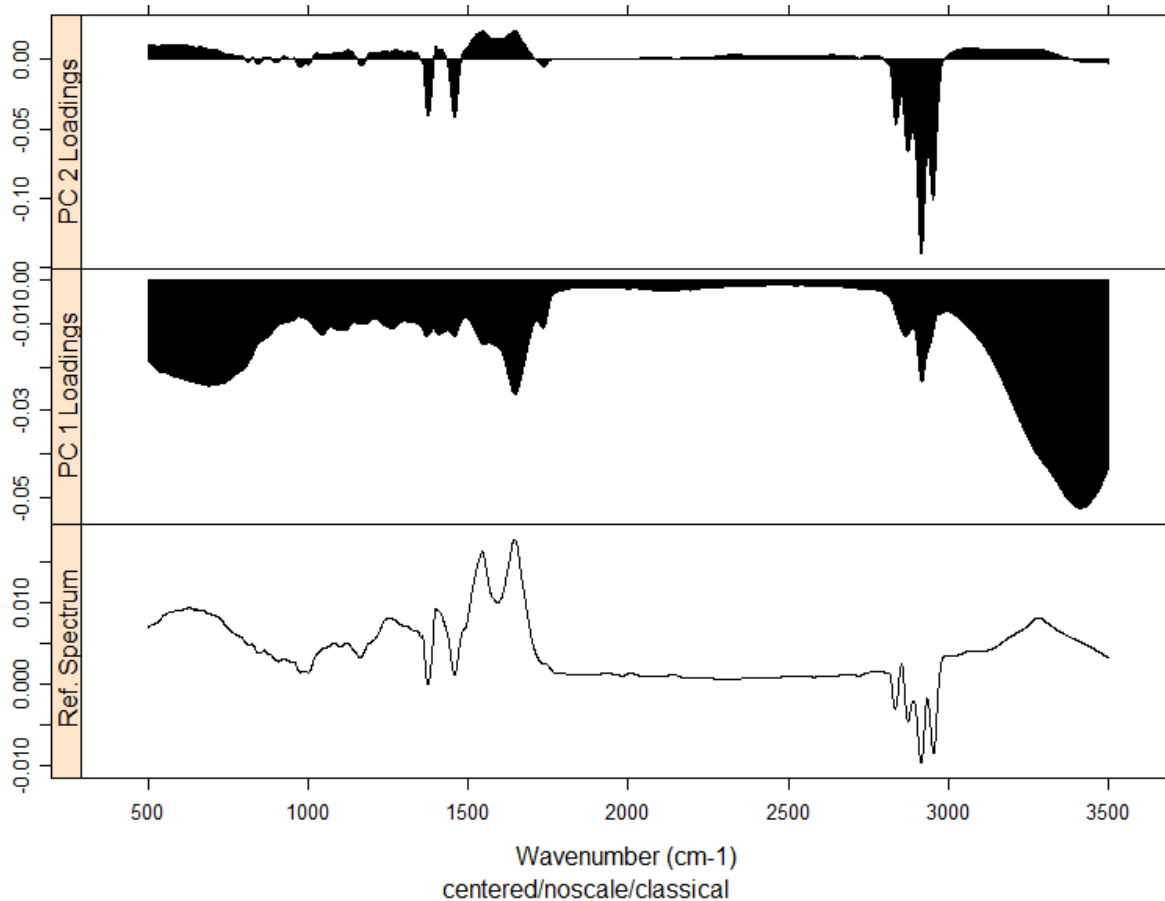


Figura 49. Gráfico demonstrativo das loadings das amostras A1, B6, C9 e D10 depositadas na chávena, com variação no tempo de permanência do batom nos lábios

A comparação visual dos espectros obtidos da deposição em chávena das amostras A1, B6, C9 e D10, com variação no tempo de permanência da amostra nos lábios, demonstraram ocorrer alterações em várias bandas, também variando de amostra para amostra. O gráfico das *loadings* vem permitir a identificação melhorada das regiões com maior variação neste conjunto de espectros. Assim, verificou-se que a maior variância entre espectros ocorre na região superior a  $3000\text{ cm}^{-1}$  e inferior a  $850\text{ cm}^{-1}$ , observando-se ainda alguma variação na região das bandas a  $2900$  e  $1700\text{ cm}^{-1}$ .

Ainda com recurso à mesma ferramenta quimiométrica, foi obtido o gráfico de *scores*, de duas dimensões, apresentados na **Figura 50**.

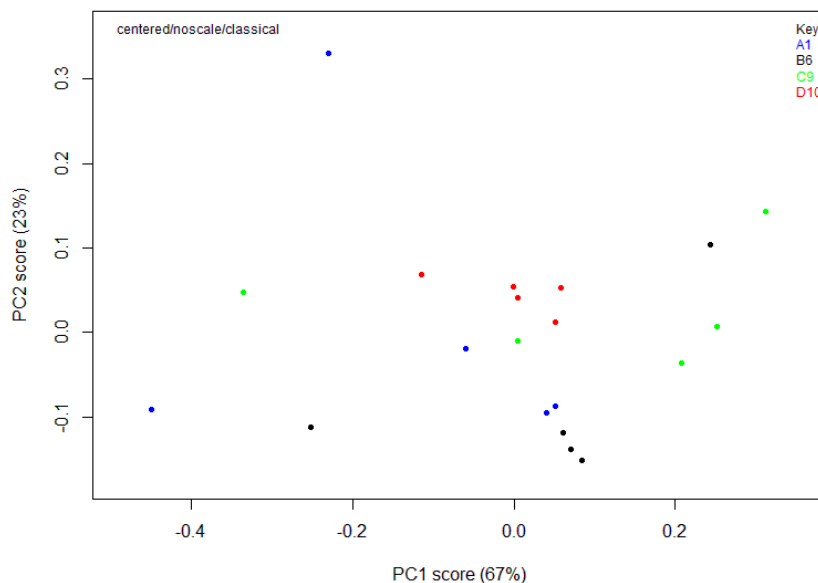


Figura 50. Gráfico 2D de scores do PCA para as quatro amostras depositadas na chávena com variação na permanência do batom nos lábios (PC1-PC2)

A partir da análise do primeiro gráfico da **Figura 50** é possível determinar que o primeiro componente principal (PC1) foi responsável por 67% da variação no conjunto de dados. O segundo componente principal (PC2) foi responsável por 23% da variação no conjunto de dados. Portanto, a combinação desses dois PCs foi responsável pela variação de 90% no conjunto de dados. Conforme mostrado no gráfico 2D de *scores*, as amostras das diversas marcas encontram-se dispersas pelo gráfico. É possível observar claramente que a amostra D10 apresenta menor dispersão de resultados, tendo todos os pontos mais próximos entre si, ou seja, apresentam menor variação provocada pela mudança do tempo de permanência. Seguidamente, verifica-se uma dispersão mais ou menos semelhante entre as amostras B6 e C9, com uma variância intermédia, e por fim a amostra A1 com maior dispersão dos resultados no gráfico, representando uma maior variação nos resultados da deposição em chávena, quando comparada com as restantes amostras. Estes resultados vieram demonstrar que existe variabilidade nos espectros obtidos da deposição das amostras na chávena, com variação do tempo de permanência do batom nos lábios.

Para complementar esta informação foi construído o dendrograma, representado na **Figura 51**, para averiguar de que forma estes resultados irão agrupar-se.

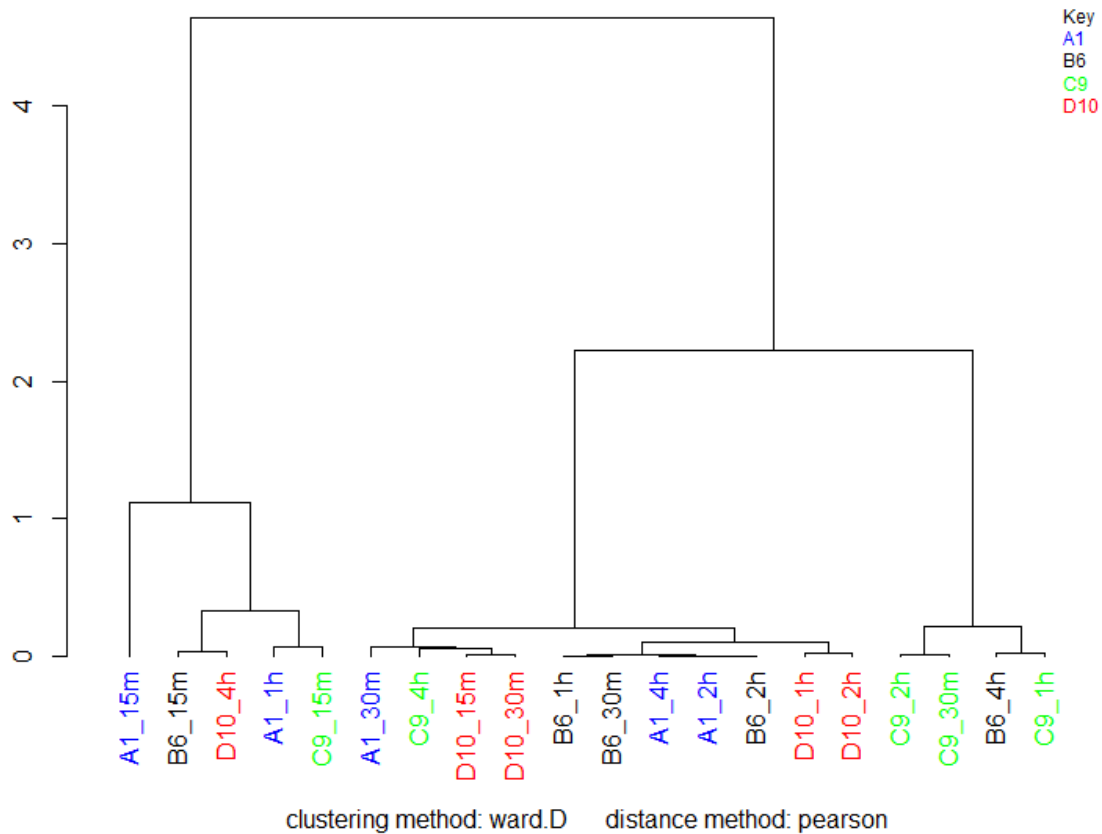


Figura 51. Dendrograma resultante do agrupamento das amostras A1, B6, C9 e D10 depositadas na chávina (CH) com variação no tempo de permanência do batom nos lábios (15 minutos, 30 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas)

Os agrupamentos originados pelo método de HCA demonstraram que relativamente a outras amostras, as deposições da mesma amostra no mesmo substrato, mas com variação do tempo de permanência do batom nos lábios encontram-se em grupos distintos. Observou-se a criação de agrupamentos que correspondem a várias amostras com tempos de permanência distintos, demonstrando que o tempo de permanência não pode servir como base a um critério que defina os agrupamentos originados.

Os resultados obtidos da análise por HCA e PCA comprovam existir variação nos espectros obtidos para a mesma amostra depositada na chávina com variação do tempo de permanência do batom nos lábios. Estes dados permitiram concluir que as deposições das quatro amostras na chávina, com o aumento no tempo de permanência, começam a sofrer algumas alterações que dão origem a modificações nas bandas características destas amostras, observáveis nos espectros com duração de permanência nos lábios superior a duas horas. Estas alterações poderão ter origem na diminuição da concentração do batom encontrado nos lábios antes da deposição, resultante do



aumento do tempo de permanência; ou da ocorrência de possíveis reações com os grupos funcionais atribuídos às bandas que apresentam alterações.

Seguidamente, foram estudadas as mesmas amostras e os mesmos tempos de permanência do batom nos lábios, mas depositadas em cigarros. Os espectros obtidos estão representados na **Figura 52**. Complementarmente à comparação visual dos espectros, foi obtido um gráfico PCA das *loadings*, originado pela análise da totalidade dos espectros por PCA, representado na **Figura 53**.

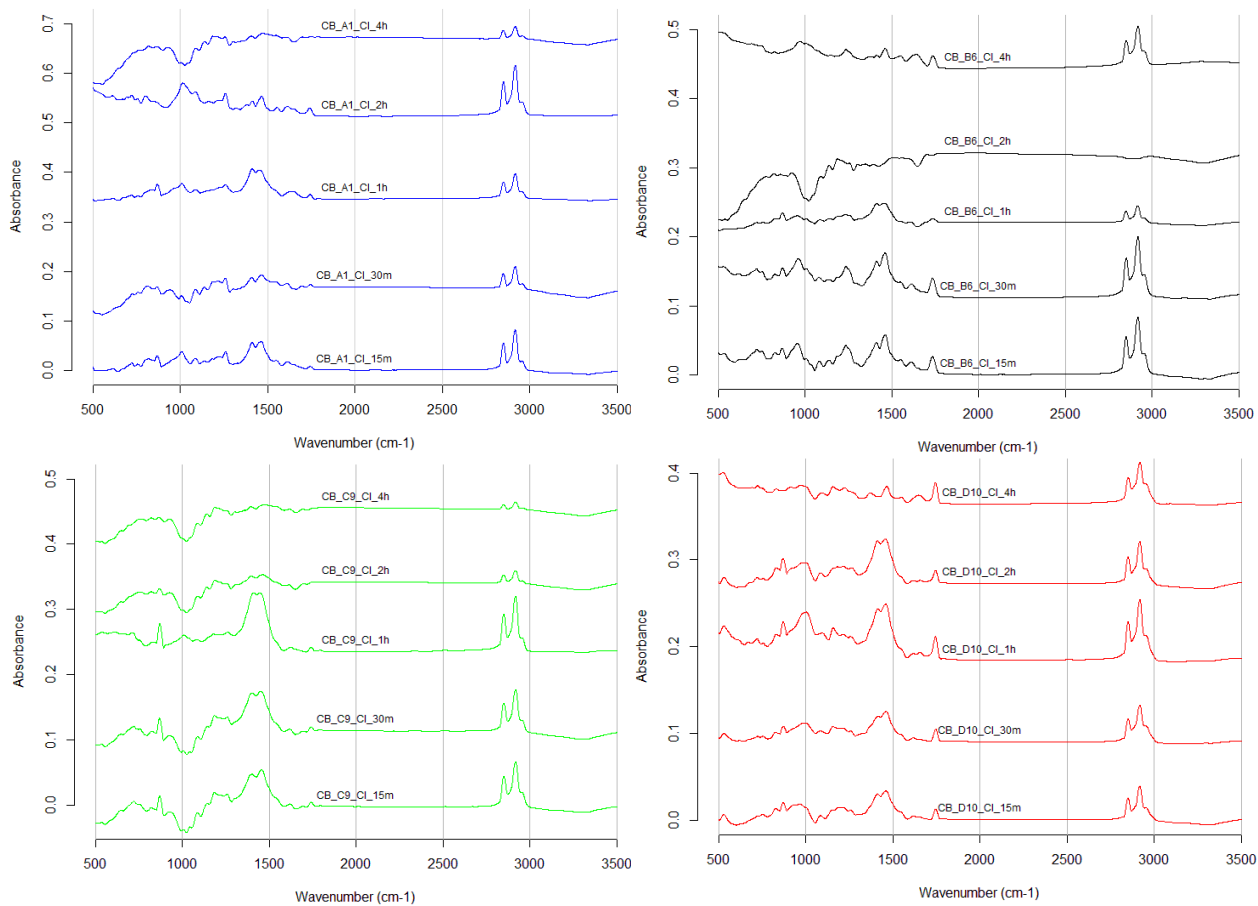


Figura 52. Espectros FTIR-ATR das amostras A1 (azul), B6 (preto), C9 (verde) e D10 (vermelho) depositadas num cigarro, com variação do tempo de permanência do batom nos lábios

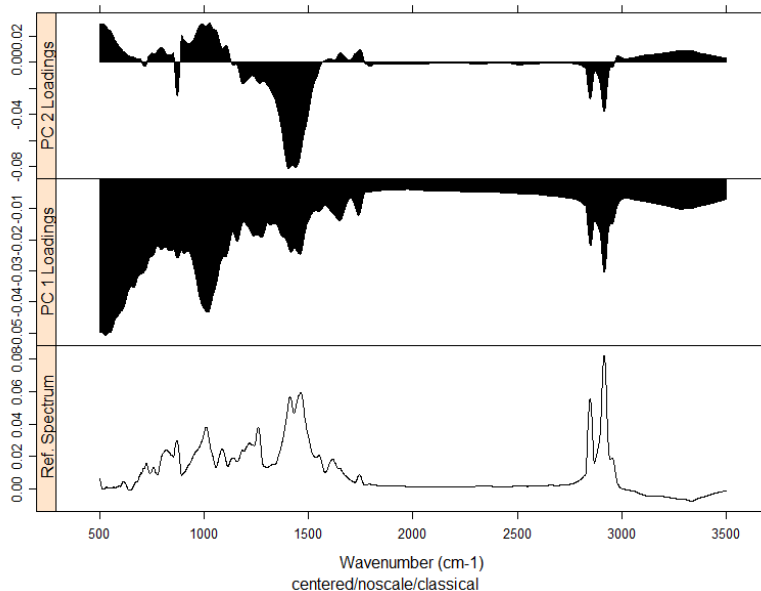


Figura 53. Gráfico demonstrativo das loadings das amostras A1, B6, C9 e D10 depositadas em cigarros, com variação no tempo de permanência do batom nos lábios

A comparação visual dos espectros obtidos da deposição em cigarros das amostras A1, B6, C9 e D10, com variação no tempo de permanência da amostra nos lábios, demonstraram ocorrer alterações em várias bandas, sendo que algumas amostras apresentam variações mais significativas que outras. O gráfico das *loadings* veio possibilitar a identificação pormenorizada das regiões com maior variação neste conjunto de espectros. Assim, verificou-se que a maior variância entre espectros ocorre nas regiões das bandas a 2900, 1400 e 1000  $\text{cm}^{-1}$  e na região inferior a 750  $\text{cm}^{-1}$ .

Ainda com recurso ao PCA, foi obtido o gráfico de *scores* de duas dimensões, apresentado na **Figura 54**.

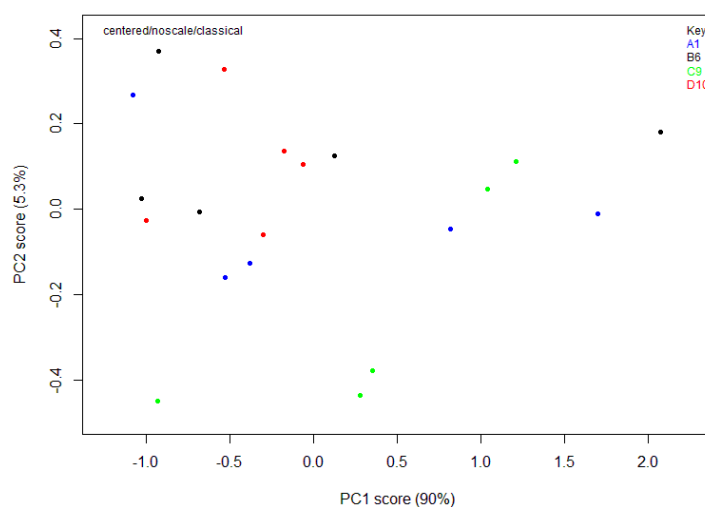


Figura 54. Gráfico 2D de scores do PCA para as quatro amostras depositadas no cigarro com variação na permanência do batom nos lábios (PC1-PC2)

Através da análise do gráfico de *scores* 2D é possível determinar que o primeiro componente principal (PC1) foi responsável por 90% da variação no conjunto de dados. O segundo componente principal (PC2) foi responsável por 5,3% da variação no conjunto de dados. Portanto, a combinação desses dois PCs foi responsável pela variação de 95,3% no conjunto de dados. Conforme exposto no gráfico de *scores*, as amostras das distintas marcas encontram-se dispersas. Ao contrário do que aconteceu na deposição na chávina, a amostra D10 não apresenta uma dispersão tão reduzida, tendo neste caso uma dispersão semelhante às amostras B6 e A1. Deste gráfico, destaca-se então a amostra C9 que apresenta a maior dispersão nos resultados da deposição em cigarros, quando comparada com as restantes amostras. Estes resultados vieram demonstrar que existe variabilidade nos espectros obtidos da deposição das amostras em cigarros, com variação do tempo de permanência do batom nos lábios.

Para complementar esta informação foi construído o dendrograma, representado na **Figura 55**.

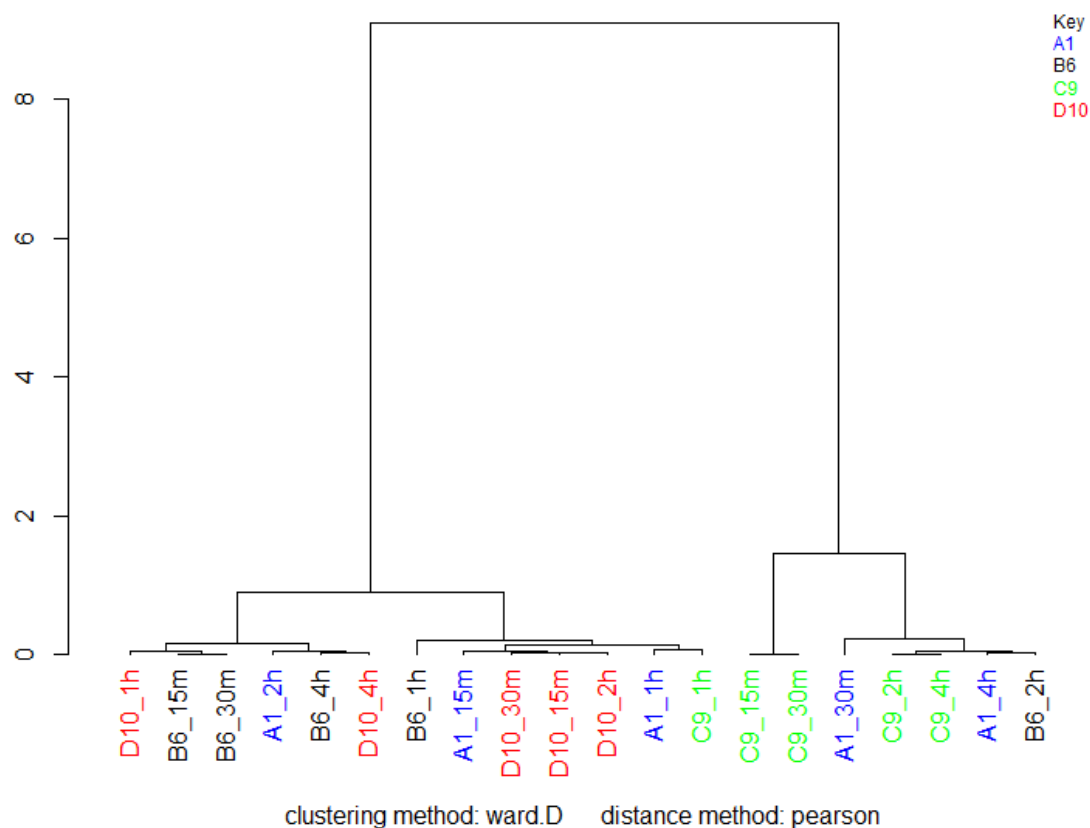


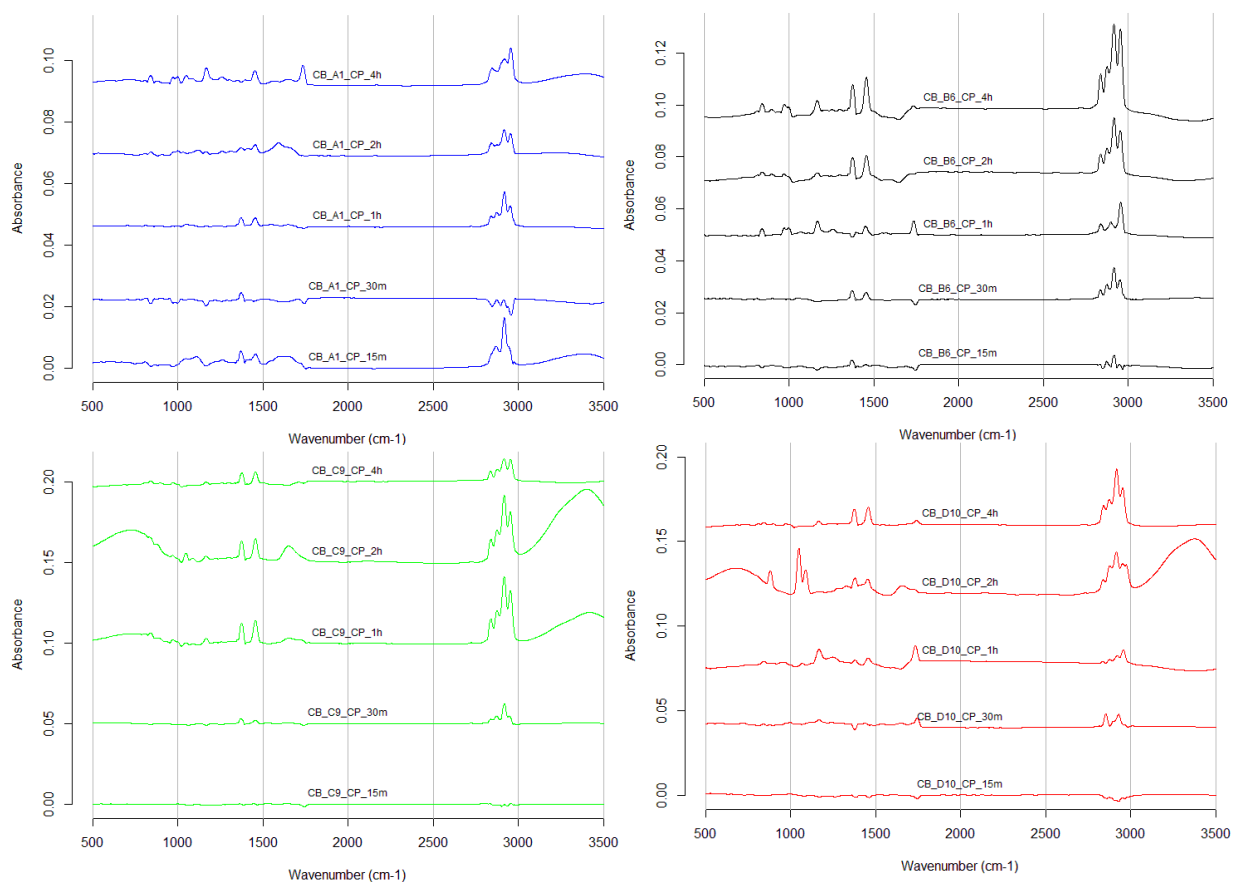
Figura 55. Dendrograma resultante do agrupamento das amostras A1, B6, C9 e D10 depositadas no cigarro (CI) com variação no tempo de permanência do batom nos lábios (15 minutos, 30 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas)

Os agrupamentos originados pelo método de HCA demonstraram que relativamente a outras amostras, as deposições da mesma amostra no mesmo substrato, mas com variação do tempo de permanência do batom nos lábios encontram-se em grupos distintos. No entanto, contrariamente ao que se observou nas deposições em chávena, neste substrato observa-se a criação de agrupamentos com algumas amostras da mesma marca juntas, embora existam algumas dispersões entre amostras da mesma marca. Destacam-se os grupos originados pelas amostras C9, que se encontram subdivididos em dois subgrupos, mas com alguma proximidade, assim como o grupo formado pelos três objetos da amostra D10. Existe também alguma similaridade do tempo de permanência em alguns agrupamentos, estando por vezes amostras com maior tempo de permanência juntas.

Os resultados obtidos da análise por HCA e PCA comprovam existir variação nos espectros obtidos para a mesma amostra depositada em cigarros com variação do tempo de permanência do

batom nos lábios. Estes resultados permitiram concluir que as deposições das quatro amostras no cigarro, com o aumento no tempo de permanência, originam modificações nas bandas características destas amostras, observáveis nos espectros com duração de permanência nos lábios de 4 horas. As amostras B6 e C9 demonstraram diferenças nos espectros obtidos para o tempo de permanência de 2 horas, podendo concluir que estas amostras poderão ser afetadas pelo tempo do batom nos lábios, num intervalo de tempo menor. Estas alterações poderão ter origem na diminuição da concentração do batom encontrado nos lábios antes da deposição; da quantidade de batom depositada no substrato; ou da ocorrência de possíveis reações com os grupos funcionais atribuídos às bandas que apresentam alterações.

Seguidamente, foram estudadas as mesmas amostras depositadas num copo de plástico, com variação do tempo de permanência. Todos os espectros obtidos para as amostras A1, B6, C9 e D10 depositadas em cigarros, estão representados na **Figura 56**. Complementarmente à comparação visual dos espectros, foi obtido um gráfico PCA das *loadings*, originado pela análise da totalidade dos espectros por PCA, representado na **Figura 57**.



*Figura 56. Espectros FTIR-ATR das amostras A1 (azul), B6 (preto), C9 (verde) e D10 (vermelho) depositadas num copo de plástico, com variação do tempo de permanência do batom nos lábios*

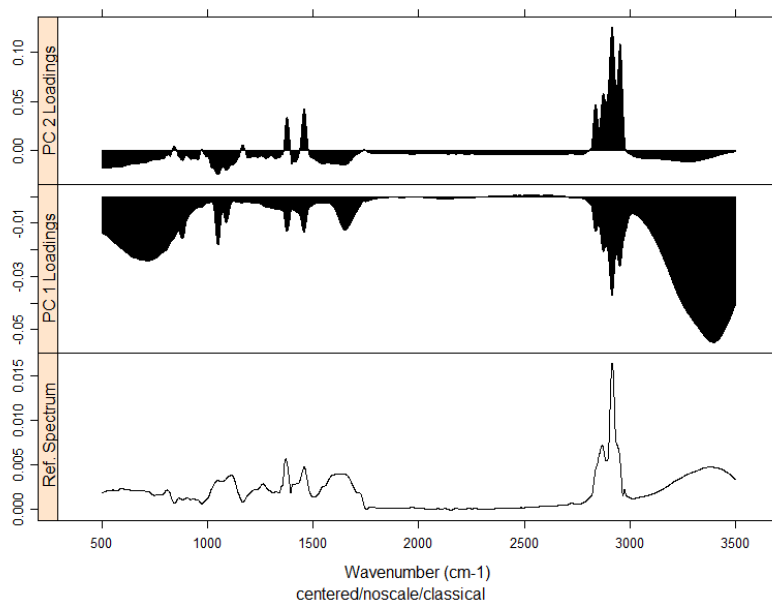


Figura 57. Gráfico demonstrativo das loadings das amostras A1, B6, C9 e D10 depositadas num copo de plástico, com variação no tempo de permanência do batom nos lábios

A comparação visual dos espectros obtidos da deposição em cigarros das amostras A1, B6, C9 e D10, com variação no tempo de permanência da amostra nos lábios, demonstraram ocorrer alterações em várias bandas, sendo que as amostras C9 e D10 apresentam variações mais significativa, com aparecimento de bandas largas em algumas situações. Destaca-se a amostra B6 onde se verifica um aumento crescente da intensidade de absorção das bandas a  $2900\text{ cm}^{-1}$ , com o aumento do tempo de permanência do batom nos lábios. De forma menos evidente, verifica-se a existência do aumento de intensidade das bandas a  $2900$  e  $1400\text{ cm}^{-1}$ , nas amostras A1, C9 e D10. Este fenómeno poderá ter ocorrido devido a modificações na estrutura do batom ao longo do tempo, fortalecendo os grupos funcionais responsáveis pela intensidade destas bandas. Observa-se ainda a diminuição da intensidade das bandas nas amostras B6, C9 e D10 com 15 minutos de permanência do batom nos lábios. Adicionalmente, o gráfico das *loadings* veio possibilitar a identificação minuciosa das regiões com maior variação neste conjunto de espectros. Assim, verificou-se que a maior variância entre espectros ocorre na região superior a  $3000\text{ cm}^{-1}$ , justificada pelo surgimento da banda larga em alguns espectros, como referido acima. Existe ainda uma grande variação nos espectros, nas regiões das bandas a  $2900\text{ cm}^{-1}$  e na região inferior a  $1000\text{ cm}^{-1}$ .

Ainda com recurso ao PCA, foi obtido o gráfico de *scores* a duas dimensões apresentado na **Figura 58**.

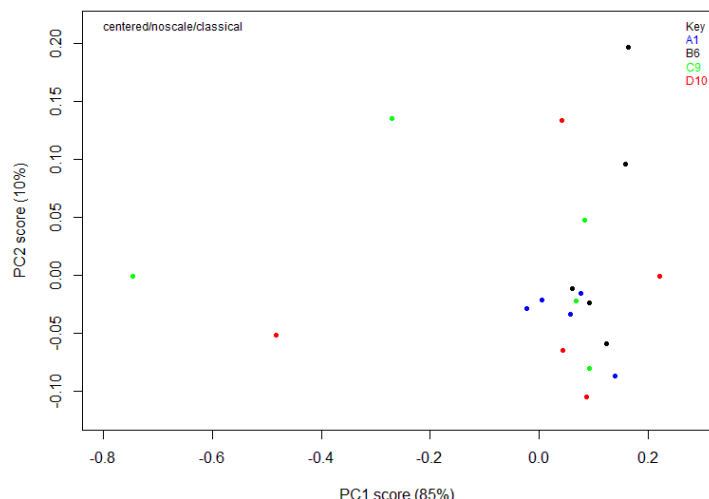


Figura 58. Gráfico 2D de scores do PCA para as quatro amostras depositadas no copo de plástico com variação na permanência do batom nos lábios (PC1-PC2)

Através da análise do gráfico de *scores* 2D é possível determinar que o primeiro componente principal (PC1) foi responsável por 85% da variação no conjunto de dados. O segundo componente principal (PC2) foi responsável por 10% da variação no conjunto de dados. Portanto, a combinação desses dois PCs foi responsável pela variação de 95% no conjunto de dados. Conforme exposto no gráfico de *scores*, as amostras das distintas marcas encontram-se dispersas pelo gráfico. Ao contrário do que aconteceu nas deposições em cigarros ou na chávena, todas as amostras do estudo apresentam maior dispersão, sendo a amostra A1 que apresenta os resultados mais consistentes com a variação do tempo de permanência. Estes resultados vieram demonstrar que existe maior variabilidade nos espectros obtidos da deposição das amostras em copos de plástico, com variação do tempo de permanência do batom nos lábios, comparando com os outros substratos já estudados.

Para complementar esta informação foi construído o dendrograma, representado na **Figura 59**.

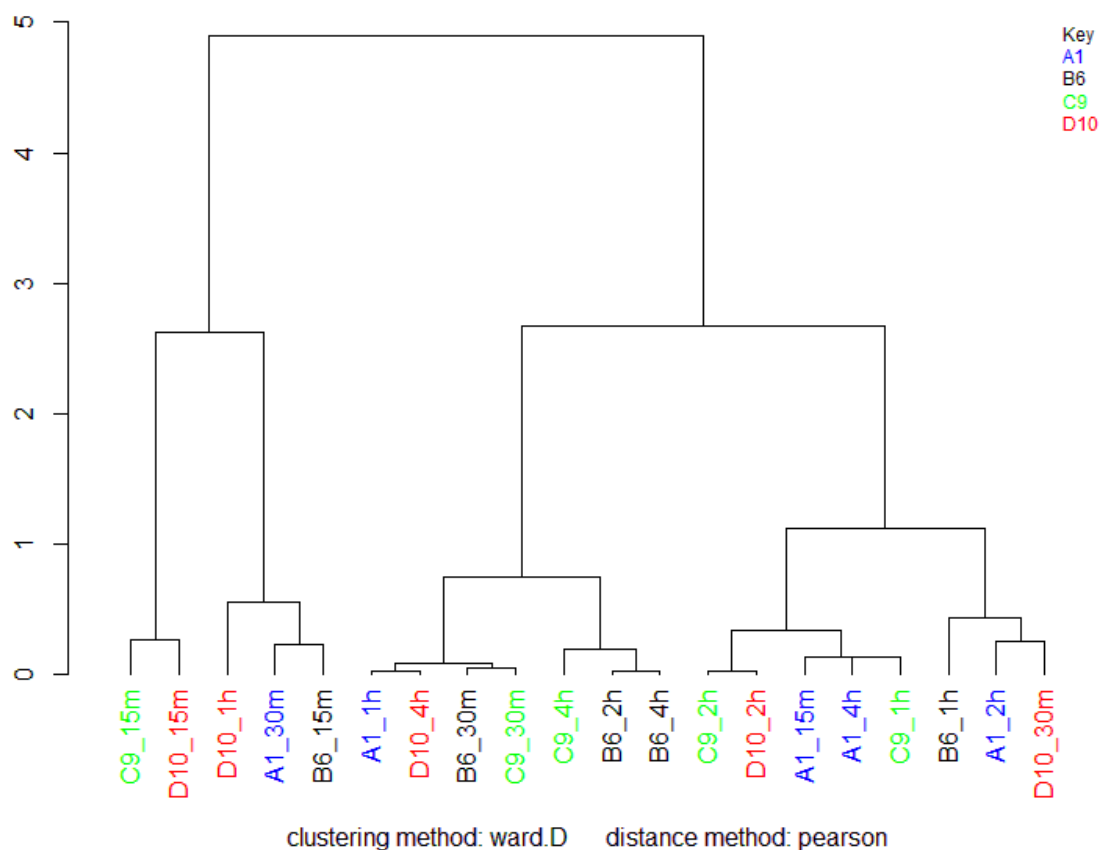


Figura 59. Dendrograma resultante do agrupamento das amostras A1, B6, C9 e D10 depositadas no copo de plástico com variação no tempo de permanência do batom nos lábios (15 minutos, 30 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas)

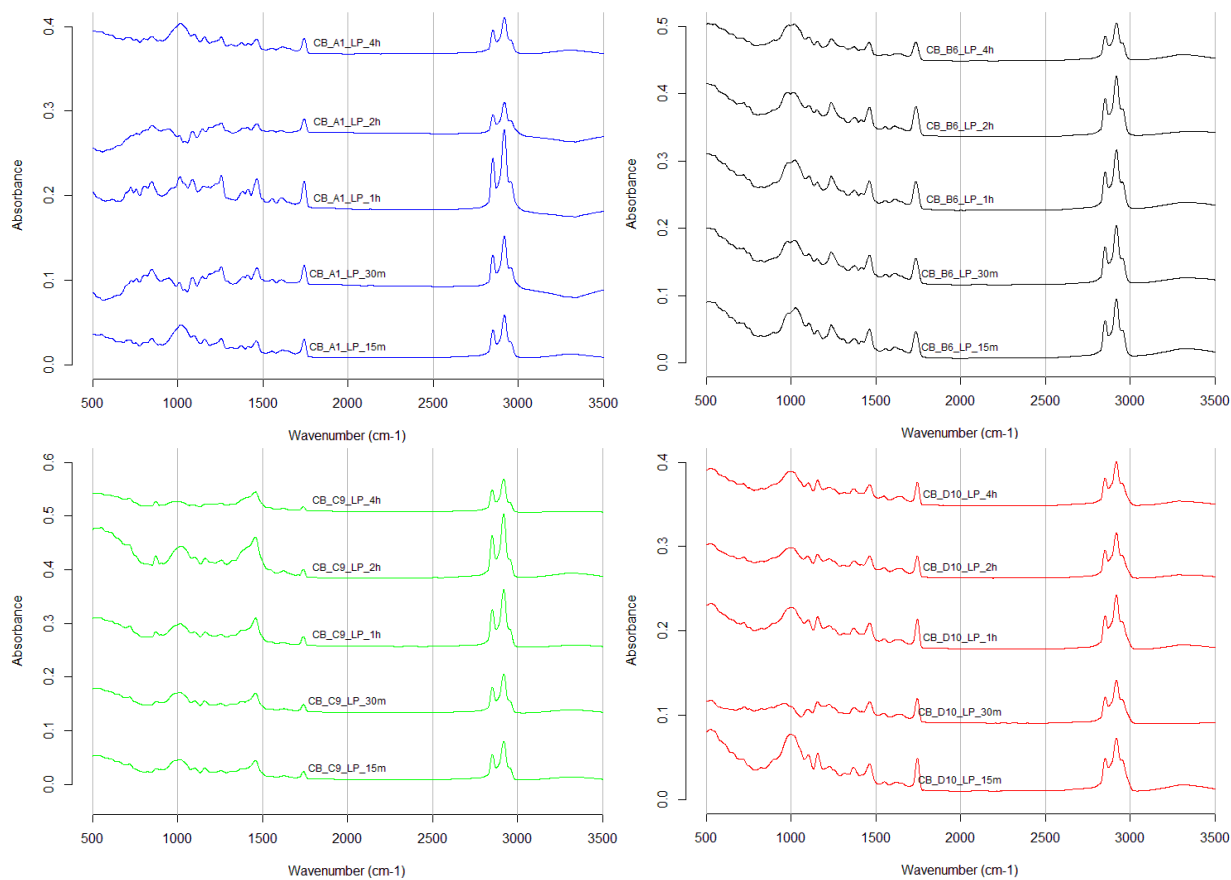
Os agrupamentos originados pelo método de HCA demonstraram que relativamente a outras amostras, as deposições da mesma amostra no mesmo substrato, mas com variação do tempo de permanência do batom nos lábios encontram-se em grupos distintos. Comparativamente com as deposições em cigarros, não existe um agrupamento de muitos objetos da mesma amostra no mesmo grupo, existindo apenas agrupamentos de dois objetos da mesma amostra, que por sua vez também se agrupam com outras amostras. Estes resultados comprovaram que os agrupamentos originados ocorreram independentemente da marca da amostra depositada.

Os resultados obtidos da análise por HCA e PCA comprovam existir variação nos espectros obtidos para a mesma amostra depositada num copo de plástico com variação do tempo de permanência do batom nos lábios. Comparativamente aos dois substratos estudados anteriormente, o copo de plástico apresenta modificações distintas nos espectros ao longo do tempo de permanência do batom nos lábios. Estes resultados permitiram concluir que as deposições das quatro amostras no copo de plástico, com o aumento no tempo de permanência, originam modificações nas bandas características dos batons, observáveis nos espectros com duração de



permanência nos lábios superior a 30 minutos. Estas alterações que ocorrem neste substrato a um período de tempo menor do que nos substratos anteriores, poderão ter origem na diminuição da quantidade de batom depositada neste tipo de substrato; e/ou da ocorrência de possíveis reações com os grupos funcionais atribuídos às bandas que apresentam alterações.

O estudo da deposição ao longo do tempo no suporte lenço de papel é mostrado de seguida. Os espectros obtidos estão representados na **Figura 60** e o gráfico PCA das *loadings*, originado pela análise da totalidade dos espectros por PCA, representado na **Figura 61**.



*Figura 60. Espectros FTIR-ATR das amostras A1 (azul), B6 (preto), C9 (verde) e D10 (vermelho) depositadas num lenço de papel, com variação do tempo de permanência do batom nos lábios*

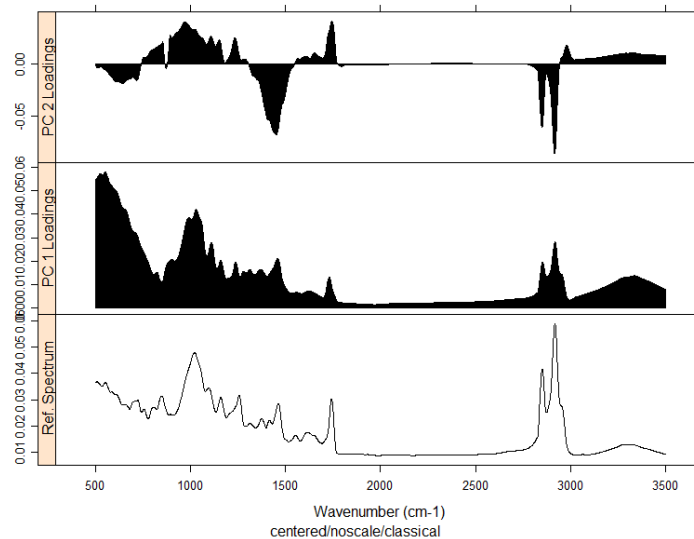


Figura 61. Gráfico demonstrativo das loadings das amostras A1, B6, C9 e D10 depositadas num lenço de papel, com variação no tempo de permanência do batom nos lábios

A comparação visual dos espectros obtidos da deposição em cigarros das amostras A1, B6, C9 e D10, com variação no tempo de permanência da amostra nos lábios, demonstraram ocorrer pequenas alterações em algumas situações, sendo que a amostra A1 é a que apresentam mais variações. Embora existam espectros com ligeiras modificações, estes resultados foram muito menos influenciados pela variação no tempo de permanência do batom nos lábios, quando comparado com os substratos anteriormente avaliados. Adicionalmente, o gráfico das *loadings* possibilitou a identificação precisa das regiões com maior variação. Assim, verificou-se que a maior variância ocorre na região das bandas a  $1000\text{ cm}^{-1}$  e na região inferior a  $750\text{ cm}^{-1}$ .

Ainda com recurso à mesma ferramenta quimiométrica, obteve-se o gráfico de *scores* com duas dimensões apresentado na **Figura 62**.

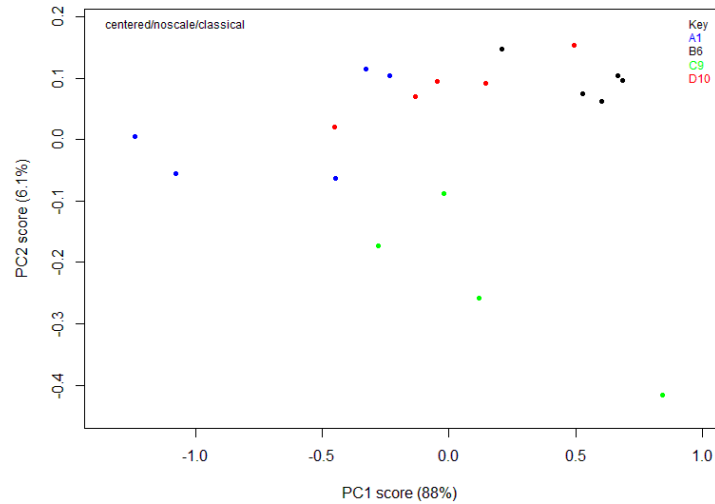


Figura 62. Gráfico 2D de scores do PCA para as quatro amostras depositadas no lenço de papel com variação na permanência do batom nos lábios (PC1-PC2)

Através da análise do gráfico de *scores* 2D é possível determinar que o primeiro componente principal (PC1) foi responsável por 88% da variação no conjunto de dados. O segundo componente principal (PC2) foi responsável por 6.1% da variação no conjunto de dados. Portanto, a combinação desses dois PCs foi responsável pela variação de 94,5% no conjunto de dados. Conforme apresentado no gráfico de *scores*, as amostras das distintas marcas encontram-se dispersas. Verifica-se que a amostra B6 tem menor dispersão dos seus dados, indicando maior concordância nos espectros obtidos com a variação do tempo de permanência. Observa-se a proximidade dos objetos da amostra D10 no segundo componente principal, no entanto, no primeiro componente principal existe uma elevada dispersão dos dados. Constata-se uma maior dispersão dos objetos, em geral, das amostras A1 e C9.

Para complementar esta informação foi construído o dendrograma, representado na **Figura 63**.

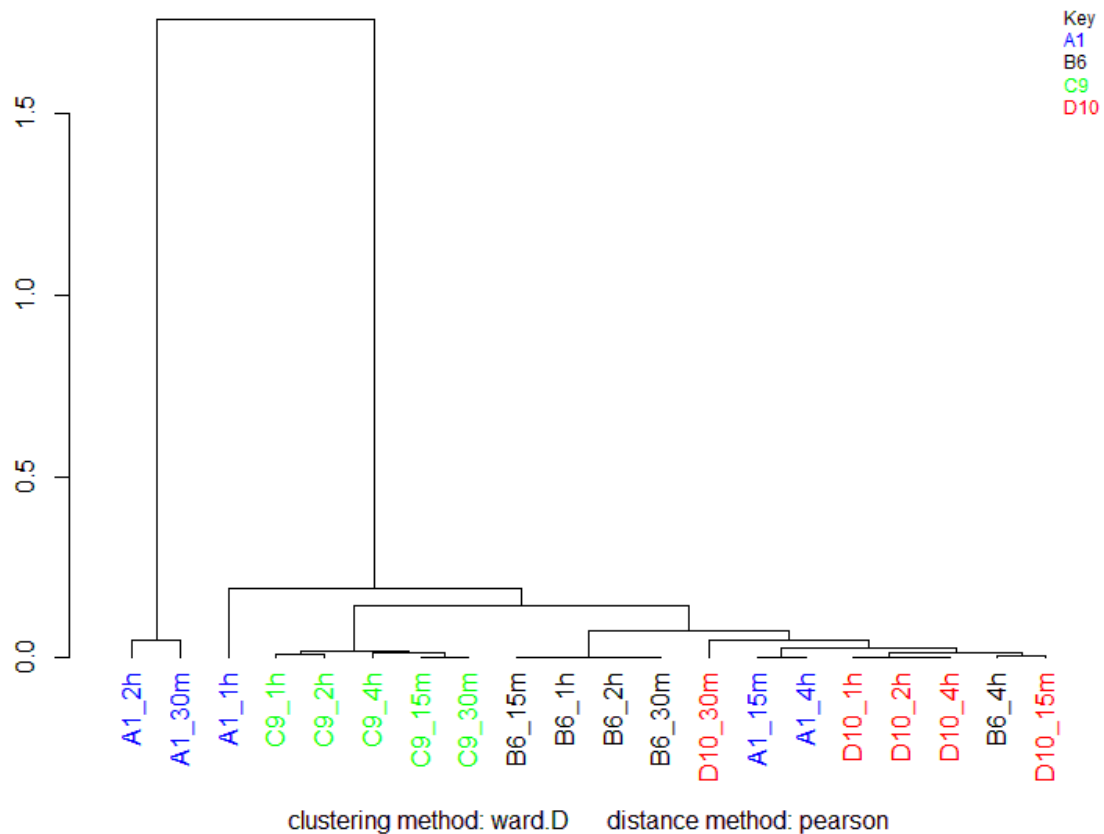
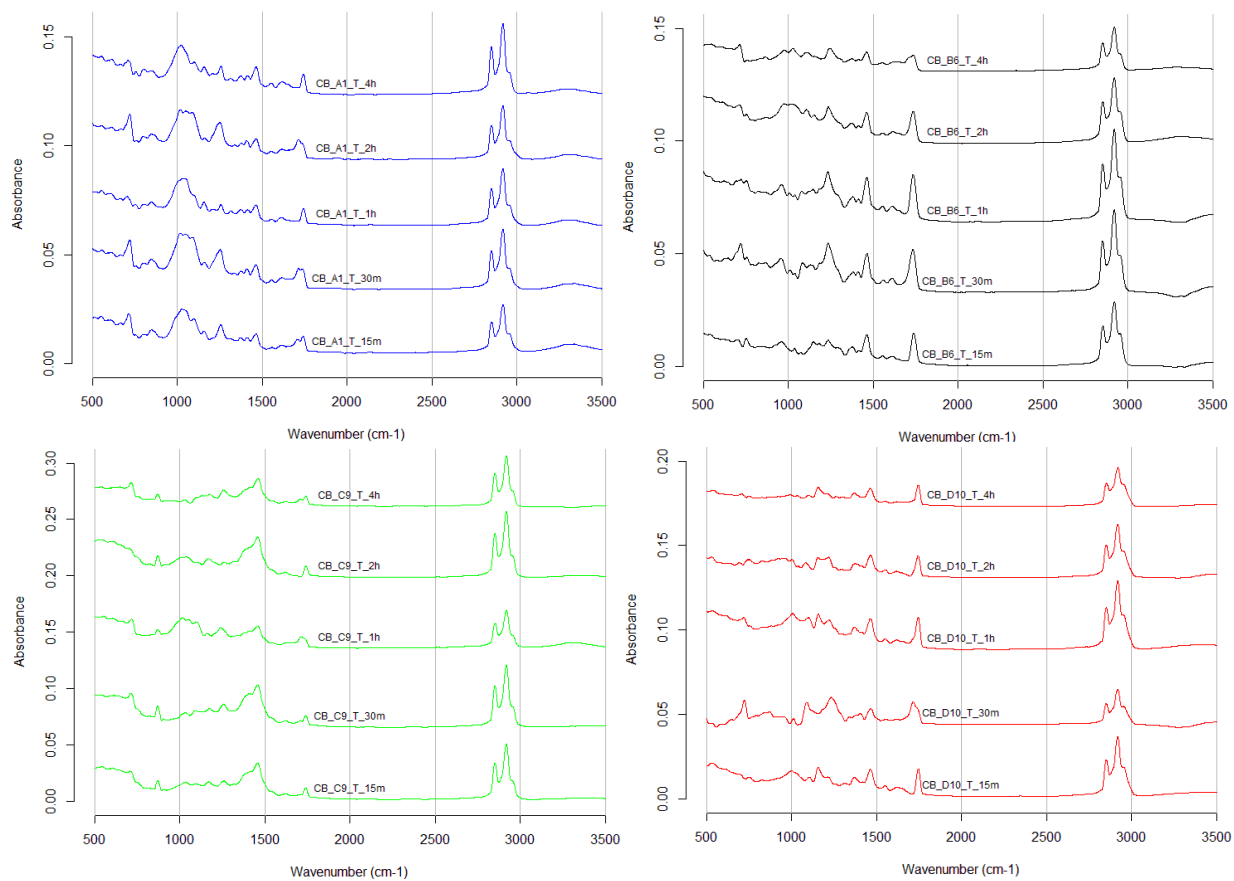


Figura 63. Dendrograma resultante do agrupamento das amostras A1, B6, C9 e D10 depositadas no lenço de papel com variação no tempo de permanência do batom nos lábios (15 minutos, 30 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas)

Os agrupamentos originados demonstraram que relativamente a outras amostras, as deposições da mesma amostra no mesmo substrato, mas com variação do tempo de permanência do batom nos lábios encontram-se próximas hierarquicamente. Comparativamente com as deposições nos substratos estudados anteriormente, existe o agrupamento de muitos objetos da mesma amostra no mesmo grupo, salvo raras exceções. Estes resultados comprovaram que os agrupamentos originados ocorreram de acordo com a marca da amostra depositada.

Os resultados obtidos da análise por HCA e PCA comprovam existir menor variação nos espectros obtidos para a mesma amostra depositada num lenço de papel com variação do tempo de permanência do batom nos lábios, comparativamente aos resultados obtidos da deposição na chávina, cigarro ou copo de plástico. Estes resultados permitiram concluir que as deposições das quatro amostras no lenço de papel, com o aumento no tempo de permanência, originam pequenas alterações na intensidade de algumas bandas características dos batons. Estas alterações que ocorrem neste substrato de forma diminuta, poderão ter origem na variação da quantidade de batom depositada neste tipo de substrato.

Por fim foram estudadas as mesmas amostras depositadas num pedaço de tecido, com variação do tempo de permanência. Todos os espectros obtidos para as amostras A1, B6, C9 e D10, estão representados na **Figura 64** e o gráfico PCA das *loadings*, originado pela análise da totalidade dos espectros por PCA, representado na **Figura 65**.



*Figura 64. Espectros FTIR-ATR das amostras A1 (azul), B6 (preto), C9 (verde) e D10 (vermelho) depositadas no tecido, com variação do tempo de permanência do batom nos lábios*

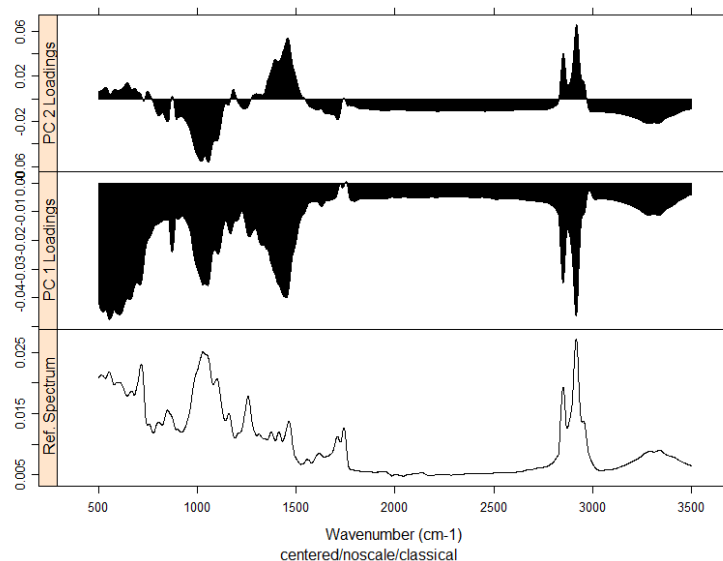


Figura 65. Gráfico demonstrativo das loadings das amostras A1, B6, C9 e D10 depositadas no tecido, com variação no tempo de permanência do batom nos lábios

A comparação visual dos espectros obtidos da deposição em cigarros das amostras A1, B6, C9 e D10, com variação no tempo de permanência da amostra nos lábios, demonstraram ocorrer pequenas variações, tal como ocorreu nas deposições no lenço de papel. Embora existam espectros com ligeiras alterações, estes resultados foram muito menos influenciados pela variação no tempo de permanência do batom nos lábios, quando comparado com as deposições na chávena, cigarro ou copo de plástico. Adicionalmente, o gráfico das *loadings* possibilitou a identificação precisa das regiões com maior variação. Assim, verificou-se que a maior variância ocorre na região das bandas a  $2900\text{ cm}^{-1}$  e na região de impressão digital, nomeadamente nas bandas a  $1400$  e  $1100\text{ cm}^{-1}$  e na região inferior a  $750\text{ cm}^{-1}$ .

Ainda com recurso ao PCA, foi obtido o gráfico de *scores* com duas dimensões apresentado na **Figura 66**.

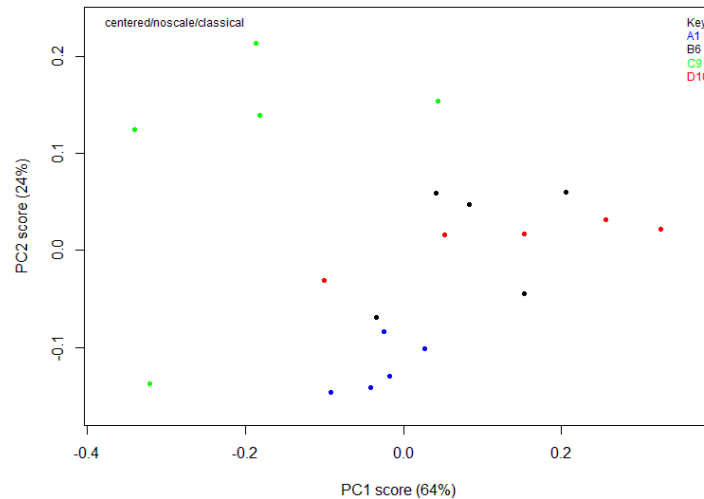


Figura 66. Gráfico 2D de scores do PCA para as quatro amostras depositadas no tecido com variação na permanência do batom nos lábios (PC1-PC2)

Através da análise do gráfico de *scores* 2D é possível determinar que o primeiro componente principal (PC1) foi responsável por 64% da variação no conjunto de dados. O segundo componente principal (PC2) foi responsável por 24% da variação no conjunto de dados. Portanto, a combinação desses dois PCs foi responsável pela variação de 88% no conjunto de dados. Conforme exposto no gráfico de *scores*, as amostras das várias marcas encontram-se dispersas pelo gráfico, observando-se que as amostras B6, C9 e D10 apresentam elevada dispersão, enquanto a amostra A1 apresenta os seus objetos com maior proximidade.

Para complementar esta informação foi construído o dendrograma, representado na **Figura 67**.

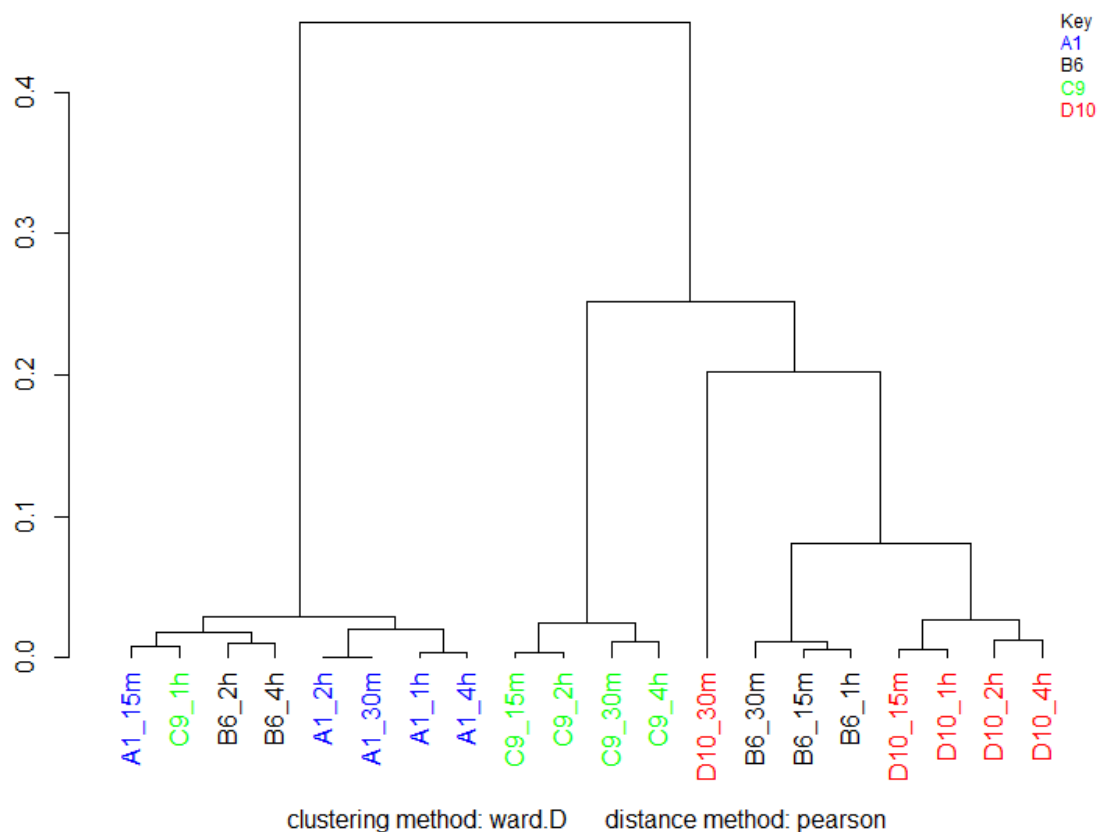


Figura 67. Dendrograma resultante do agrupamento das amostras A1, B6, C9 e D10 depositadas no tecido com variação no tempo de permanência do batom nos lábios (15 minutos, 30 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas)

Os agrupamentos originados demonstraram que relativamente a outras amostras, as deposições da mesma amostra no mesmo substrato, mas com variação do tempo de permanência do batom nos lábios encontram-se em agrupamentos próximos. Tal como aconteceu nas deposições no lenço de papel, existe o agrupamento de muitos objetos da mesma amostra no mesmo grupo, demonstrando existir elevada semelhança nos espectros obtidos para cada amostra. Estes resultados comprovaram que os agrupamentos originados ocorreram de acordo com a marca da amostra depositada.

Os resultados obtidos da análise por HCA e PCA comprovam existir menor variação nos espectros obtidos para a mesma amostra depositada num pedaço de tecido com variação do tempo de permanência do batom nos lábios, comparativamente aos resultados obtidos da deposição na chávena, cigarro ou copo de plástico. Tal como aconteceu nas deposições no lenço de papel, estes resultados permitiram concluir que as deposições das quatro amostras no tecido, com o aumento no tempo de permanência, provocam pequenas alterações na intensidade de algumas bandas. Estas



alterações que ocorrem de forma diminuta, poderão ter origem na variação da quantidade de batom depositada neste substrato.

A análise dos efeitos provocados pela variação na permanência do batom nos lábios, com base no estudo dos espectros com recurso a ferramentas quimiométricas demonstrou a ocorrência de variações nos espectros obtidos para cada amostra. Constatou-se que o substrato também tem influência na magnitude das alterações, sendo observadas mais modificações nos espectros das deposições na chávena, cigarro e copo de plástico. Embora se observem variações nos espectros das amostras depositadas no lenço de papel ou tecido, estas são ínfimas, não afetando a possível identificação da amostra. A existência de diferenças de maior magnitude nos espectros das deposições na chávena e copo de plástico, poderão ocorrer devido à utilização de fita-cola como método de recolha da amostra do substrato.

Os resultados obtidos neste estudo não garantem que a correspondência entre espectros ocorra para todos os casos, visto que podem ocorrer variações de sujeito para sujeito, hábitos alimentares e exposição a outros fatores que podem causar interferências, sendo por isso, um domínio que deve ser mais estudado em detalhe.

### **3.9. DETERMINAÇÃO DO EFEITO DO ENVELHECIMENTO NA ANÁLISE DOS VESTÍGIOS DE BATONS**

Para estudar o impacto do envelhecimento da marca de batom, após a deposição, e as condições atmosféricas durante o envelhecimento, foram aplicadas as amostras A1, B6, C9 e D10 num indivíduo e depositadas no lenço de papel e pedaço de tecido. As deposições foram deixadas em duas condições de armazenamento distintas, durante um período de 60 dias. A análise por FTIR-ATR foi realizada em diferentes tempos após a deposição, designadamente, 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias.

A análise quimiométrica do efeito provocado pelo envelhecimento da deposição foi realizada individualmente para os dois substratos onde ocorreu deposição, tendo em conta as deposições das amostras deixadas em condições estáveis, encontradas em casa (CA).

Os espectros obtidos no estudo do efeito do envelhecimento da deposição das amostras A1, B6, C9 e D10 no lenço de papel, deixadas em condições atmosféricas estáveis (CA), estão representados na **Figura 68**.

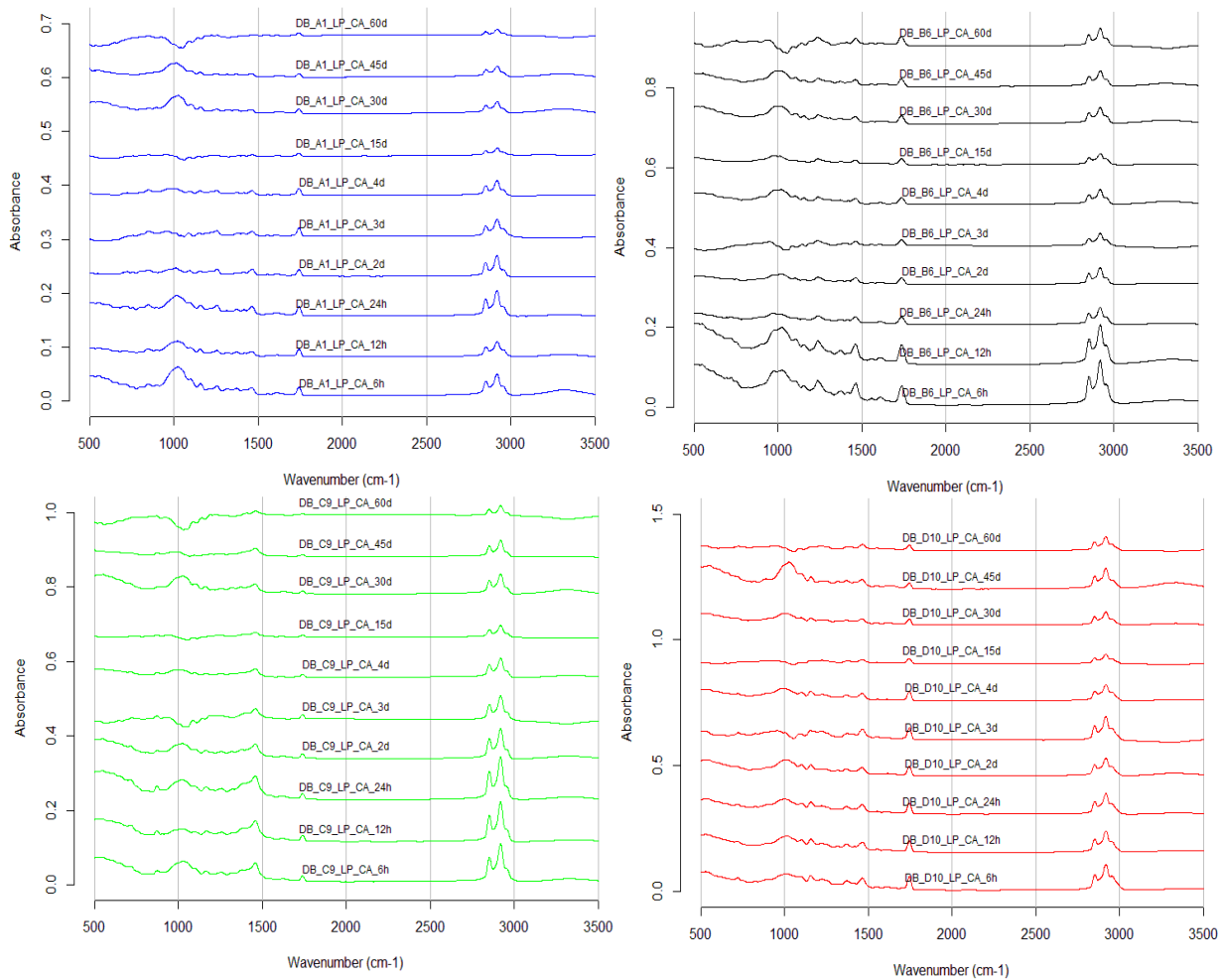


Figura 68. Espectros FTIR-ATR das amostras A1, B6, C9 e D10 depositada no lenço de papel (LP), deixadas em condições estáveis (CA) com variação do tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias

A comparação visual dos espectros obtidos da deposição das quatro amostras no lenço de papel, com variação no tempo pós-deposição demonstrou ocorrer algumas alterações em determinadas bandas. Verifica-se a semelhança nos espectros até ao terceiro dia de envelhecimento, notando-se maiores diferenças nas bandas a partir do quarto dia do estudo. Em todas as amostras verifica-se uma diminuição gradativa na intensidade de absorção das bandas perto de 3000 e 1500  $\text{cm}^{-1}$ . Estas diferenças de intensidade, que ocorre na generalidade das amostras estudadas, poderão ter origem na ocorrência de possíveis reações com os grupos funcionais atribuídos às bandas que apresentam estas alterações. Essas bandas indicam a presença de hidrocarbonetos alifáticos, assim como a existência de compostos aromáticos, as diminuições da intensidade de absorção dessas bandas poderão ocorrer devido a alterações nesses grupos funcionais, ao longo do tempo de envelhecimento da deposição.

Da análise dos espectros de cada amostra destaca-se os tempos 6 e 12 horas da deposição da amostra B6 no lenço de papel, com bandas mais intensas comparativamente a todos os outros tempos estudados; já na deposição no lenço de papel da amostra C9 e D10, realça-se os tempos 3, 15 e 60 dias, com diferenças na região de impressão digital, nas bandas a  $1000\text{ cm}^{-1}$ .

Para complementar a comparação visual dos espectros, foram obtidos gráficos das *loadings* para cada amostra depositada, representados na **Figura 69**.

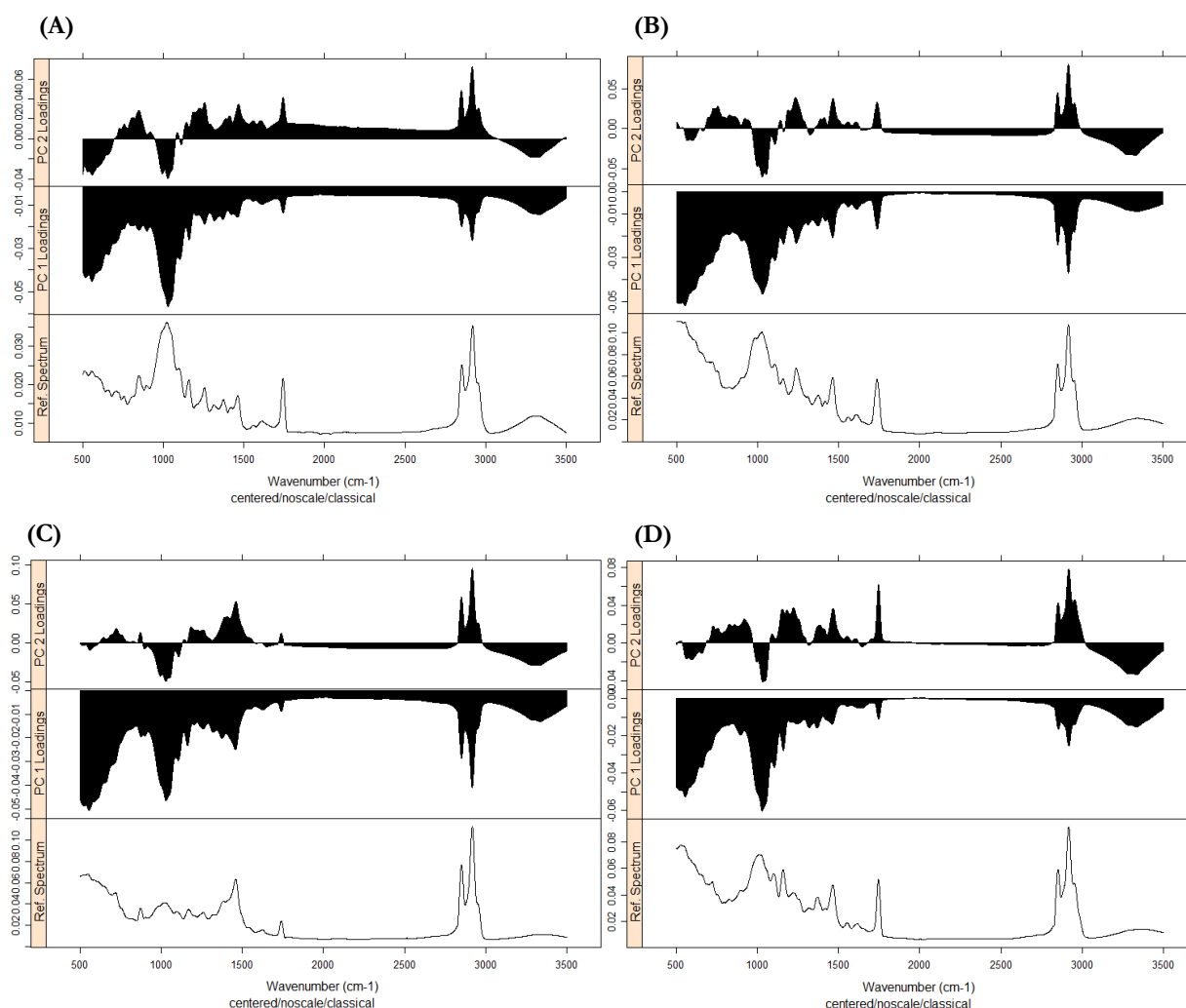


Figura 69. Gráficos demonstrativos das *loadings* das amostras A1(A), B6 (B), C9 (C) e D10 (D) depositadas no lenço de papel, com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias

Através da análise dos gráficos das *loadings*, nota-se a existência de concordância das bandas mais afetadas pelo envelhecimento da deposição para todas as amostras estudadas. É possível observar que a maior variância com o envelhecimento, nas quatro amostras, acontece nas bandas presentes a  $1000\text{ cm}^{-1}$  e na região inferior a  $750\text{ cm}^{-1}$ .

Destaca-se ainda nas amostras B6 e C9, comparativamente às outras amostras, a existência de maior variação nas bandas presentes a  $2900\text{ cm}^{-1}$ , com diminuição na intensidade destas bandas ao longo do tempo de envelhecimento. Estes dados vieram corroborar a conclusão retirada da comparação visual dos espectros.

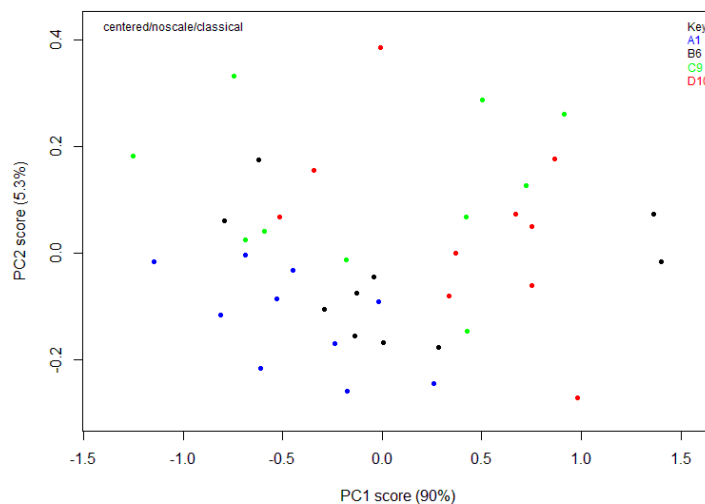
Para determinar em que tempos do estudo existe maior divergência entre os espectros, foram construídas matrizes de distâncias para cada amostra depositada no lenço de papel. Os gráficos demonstrativos das matrizes de distâncias construídas estão apresentados na **Figuras 1-4 do Anexo E**.

Através da construção de uma matriz de distâncias dos espectros da deposição da amostra A1 no lenço de papel, verificou-se que a análise da deposição após 60 dias, foi a situação com mais divergências nos espectros, representando a maior distância relativamente a todos os outros tempos em estudo; Relativamente à amostra B6, determinou-se que existe maior divergência entre os espectros dos seguintes pares: 6h-3d, 12h-3d, 3d-30d e 3d-45d, demonstrando que o espectro do 3º dia foi o que apresentou mais diferenças ao nível do espectro.

Da matriz de distâncias da amostra C9 no lenço de papel, verificou-se que a análise da deposição após 60 dias, foi o tempo com maior divergência nos espectros, representando a maior distância relativamente aos outros tempos em estudo. Os resultados do terceiro dia também apresentaram algumas divergências, exibindo distâncias maiores relativamente aos resultados de 6h, 24h, 2, 30 e 60 dias.

A deposição da amostra D10 no lenço de papel, apresenta menores valores quando comparada com as outras marcas, observando maior valor de distância entre os espectros dos seguintes pares: 15d-45d e 45d-60d.

Para complementar o estudo do efeito do envelhecimento da deposição, foram analisados todos os espectros das quatro amostras conjuntamente, através de ferramentas quimiométricas. O gráfico de *scores* a duas dimensões, obtido através de PCA, está apresentado na **Figura 70**.



*Figura 70. Gráfico 2D de scores do PCA para as quatro amostras depositadas no lenço de papel com variação no tempo pós-deposição (PC1-PC2)*

Através da análise do gráfico de *scores* 2D é possível determinar que o primeiro componente principal (PC1) foi responsável por 90% da variação no conjunto de dados. O segundo componente principal (PC2) foi responsável por 5,3% da variação no conjunto de dados. Portanto, a combinação desses dois PCs foi responsável pela variação de 95,3% no conjunto de dados. Conforme exposto na figura anterior, as amostras das várias marcas encontram-se dispersas pelo gráfico, observando-se que as amostras B6, C9 e D10 apresentam elevada dispersão, enquanto a amostra A1 apresenta os seus objetos com maior proximidade.

Para suplementar esta informação foi construído o dendrograma, representado na **Figura 71**.

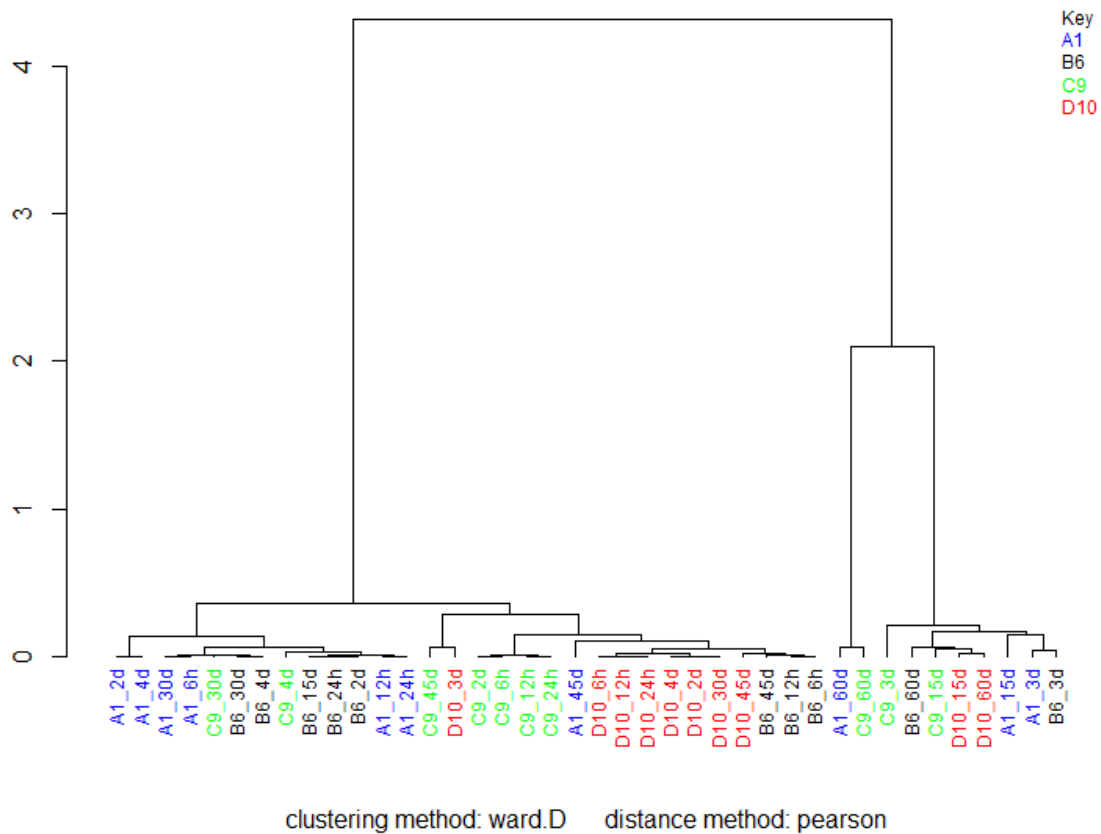
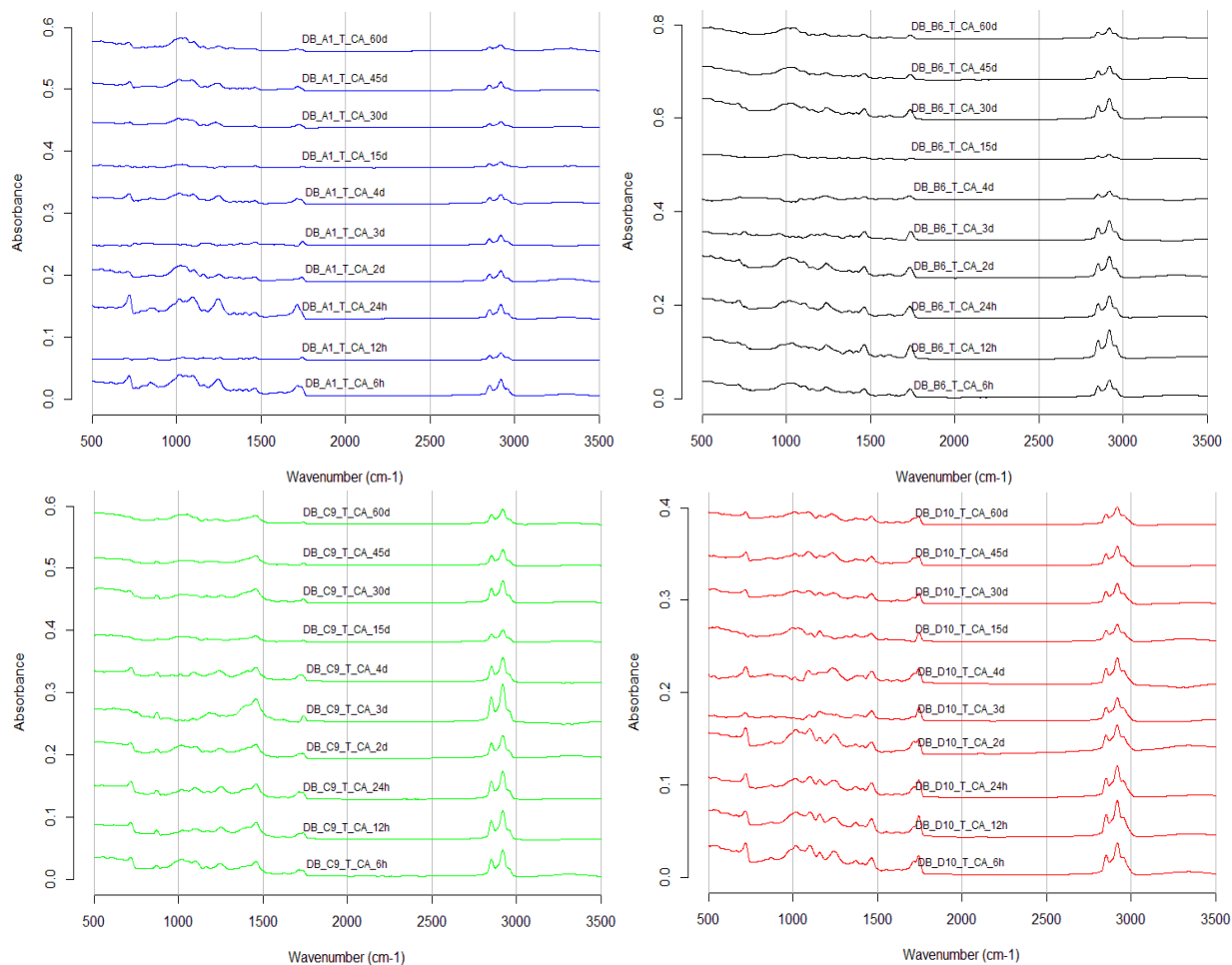


Figura 71. Dendrograma das amostras A1 (azul), B6 (preto), C9 (verde) e D10 (vermelho) depositadas no lenço de papel (LP) em condições de laboratório (CA) com variação do tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias

Os agrupamentos originados demonstraram que relativamente a outras amostras, os espectros da mesma amostra com variação do tempo pós-deposição encontram-se maioritariamente no mesmo grupo, demonstrando existir elevada semelhança nos espectros obtidos para cada amostra. Estes resultados comprovaram que os agrupamentos originados ocorreram de acordo com a marca da amostra depositada.

A análise dos efeitos do envelhecimento da deposição em lenço de papel, com base no estudo dos espectros com recurso a ferramentas quimiométricas demonstrou a ocorrência de variações mínimas nos espectros obtidos para cada amostra, não afetando a possível identificação da mesma.

Posteriormente também foi estudado o efeito do envelhecimento com a deposição das amostras no tecido. Os espectros obtidos da deposição das amostras A1, B6, C9 e D10 no lenço de papel, deixadas em condições atmosféricas estáveis (CA), estão representados na **Figura 72**.

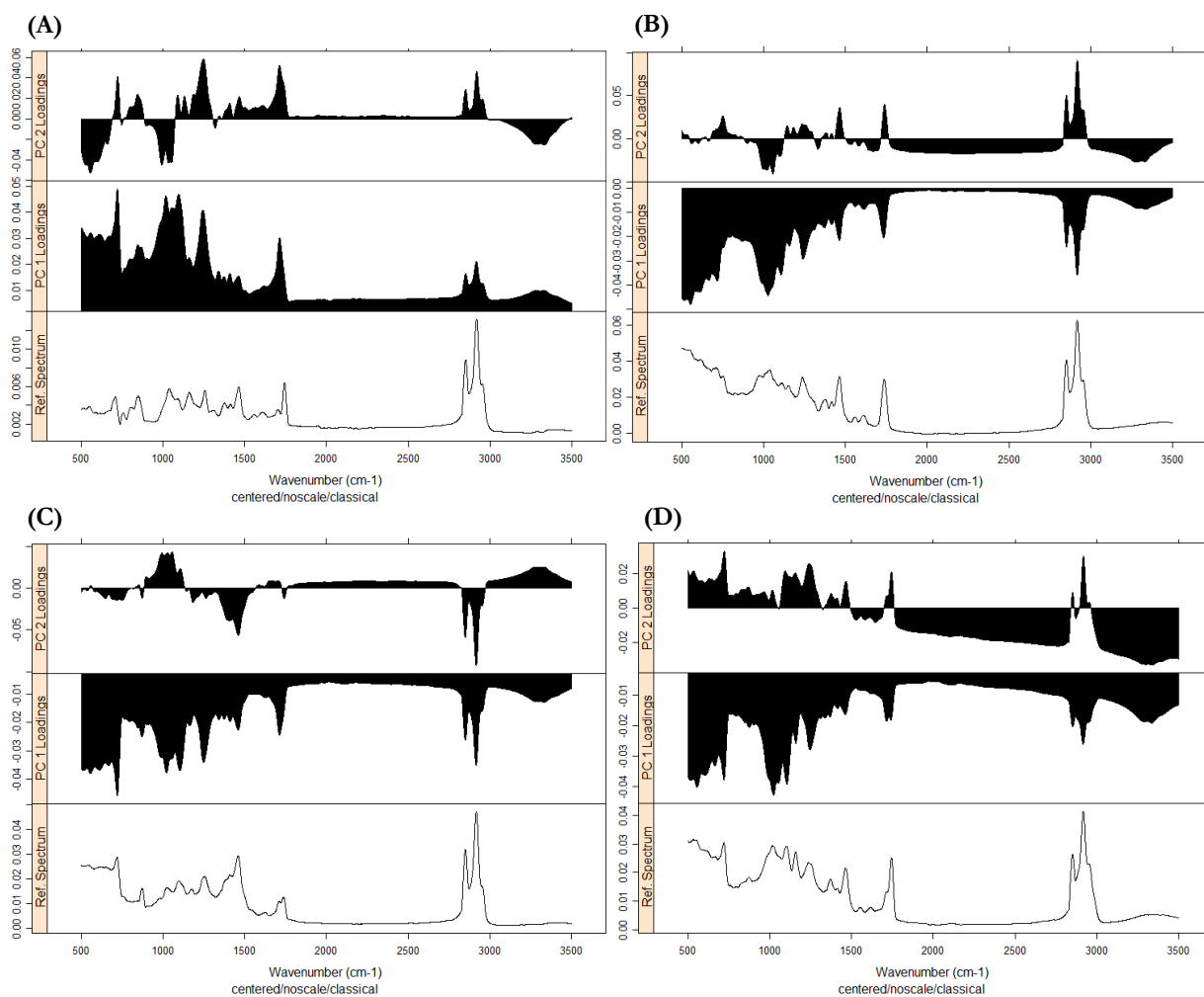


*Figura 72. Espectros FTIR-ATR das amostras A1, B6, C9 e D10 depositadas no tecido (T), deixadas em condições estáveis (CA) com variação do tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias*

A comparação visual dos espectros obtidos da deposição das quatro amostras no tecido, com variação no tempo pós-deposição, apontou a existência de algumas alterações, verificando-se a semelhança entre os espectros até ao terceiro dia de envelhecimento, notando-se mais diferenças nas bandas a partir do quarto dia do estudo. Em todas as amostras verifica-se uma diminuição gradual na absorção das bandas a 2900 e 1500 cm<sup>-1</sup>. Estas diferenças de intensidade de absorção ocorrem na generalidade das amostras estudadas e podem ter origem na ocorrência de reações com os grupos funcionais atribuídos às bandas que apresentam alterações, como referido anteriormente.

Da análise dos espectros de cada amostra destaca-se os tempos 6 e 24 horas da deposição da amostra A1 no tecido, com algumas alterações na região de impressão digital, nomeadamente nas bandas a 1200 e 750  $\text{cm}^{-1}$ ; na deposição da amostra B6 também ocorrem alterações na região de impressão digital, a aproximadamente 1000  $\text{cm}^{-1}$ , nos tempos de 3, 4 e 15 dias; já nas deposições no tecido da amostra C9 e D10, realça-se uma diminuição gradual na intensidade das bandas com o aumento do tempo de envelhecimento, observável nas bandas a 2900, 1500 e 750  $\text{cm}^{-1}$ .

Para complementar a comparação visual dos espectros, foram obtidos gráficos das *loadings* para cada amostra depositada, representados na **Figura 73**.



*Figura 73. Gráficos demonstrativos das loadings das amostras A1(A), B6 (B), C9 (C) e D10 (D) depositadas no tecido, com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias*



Através da análise dos gráficos das *loadings*, nota-se a existência de concordância das bandas mais afetadas pelo envelhecimento da deposição para todas as amostras estudadas. Tal como aconteceu nas deposições no lenço de papel, é possível observar que existe maior variação com o envelhecimento, nas quatro amostras, nas bandas presentes a  $1000\text{ cm}^{-1}$  e na região inferior a  $750\text{ cm}^{-1}$ . Verifica-se que a amostra A1, relativamente às outras amostras, apresenta maior variância nas bandas a  $1700\text{ cm}^{-1}$ ; destaca-se ainda as amostras B6 e C9 com a existência de maior variação nas bandas presentes a  $2900\text{ cm}^{-1}$ , com diminuição na intensidade destas bandas ao longo do tempo de envelhecimento; por sua vez, a amostra D10 demonstrou alguma variação na banda larga presente a  $3400\text{ cm}^{-1}$ .

Para determinar em que tempos do estudo existe maior divergência entre os espectros, foram construídas matrizes de distâncias para cada amostra depositada no tecido. Os gráficos demonstrativos das matrizes de distâncias construídas estão apresentados na **Figuras 5-8 do Anexo E**.

Através da construção de uma matriz de distâncias dos espectros da deposição da amostra A1 no tecido, verificou-se que a análise da deposição após 3 dias, foi a situação com mais divergências nos espectros, representando a maior distância relativamente a todos os outros tempos em estudo, exceto o tempo de 12 horas; Relativamente à amostra B6, determinou-se que existe maior divergência entre o espectro da deposição após 4 dias relativamente a todos os outros tempos, correspondendo a valores maiores de distância. Da matriz de distâncias da amostra C9 no tecido, verificou-se que esta deposição apresenta menor divergência entre os espectros, apresentando menores valores de distância entre todos os tempos em estudo. A deposição da amostra D10 no tecido, observa-se maiores valores de distância entre os espectros dos seguintes pares: 4d-2d e 4d-15d.

Para complementar o estudo do efeito do envelhecimento da deposição, foram analisados todos os espectros das quatro amostras conjuntamente, através de ferramentas quimiométricas. Assim com recurso a PCA, foi obtido o gráfico 2D de *scores*, apresentado na **Figura 74**.

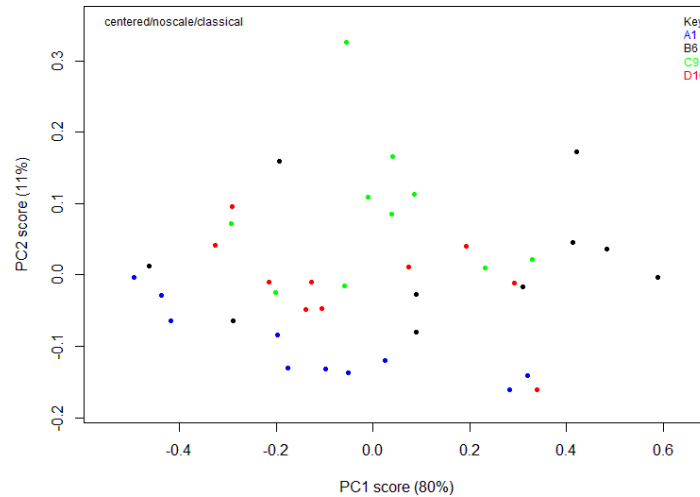


Figura 74. Gráfico 2D de scores do PCA para as quatro amostras depositadas no tecido com variação no tempo pós-deposição (PC1-PC2)

Através da análise do gráfico de *scores* 2D é possível determinar que o primeiro componente principal (PC1) foi responsável por 80% da variação no conjunto de dados. O segundo componente principal (PC2) foi responsável por 11% da variação no conjunto de dados. Portanto, a combinação desses dois PCs foi responsável pela variação de 91% no conjunto de dados. Conforme exposto no gráfico de *scores*, as amostras das várias marcas encontram-se dispersas pelo gráfico, observando-se que as amostras A1, C9 e D10 apresentam maior proximidade, enquanto a amostra B6 apresenta os seus objetos com maior dispersão.

Para complementar esta informação foi construído o dendrograma, representado na **Figura 75**.

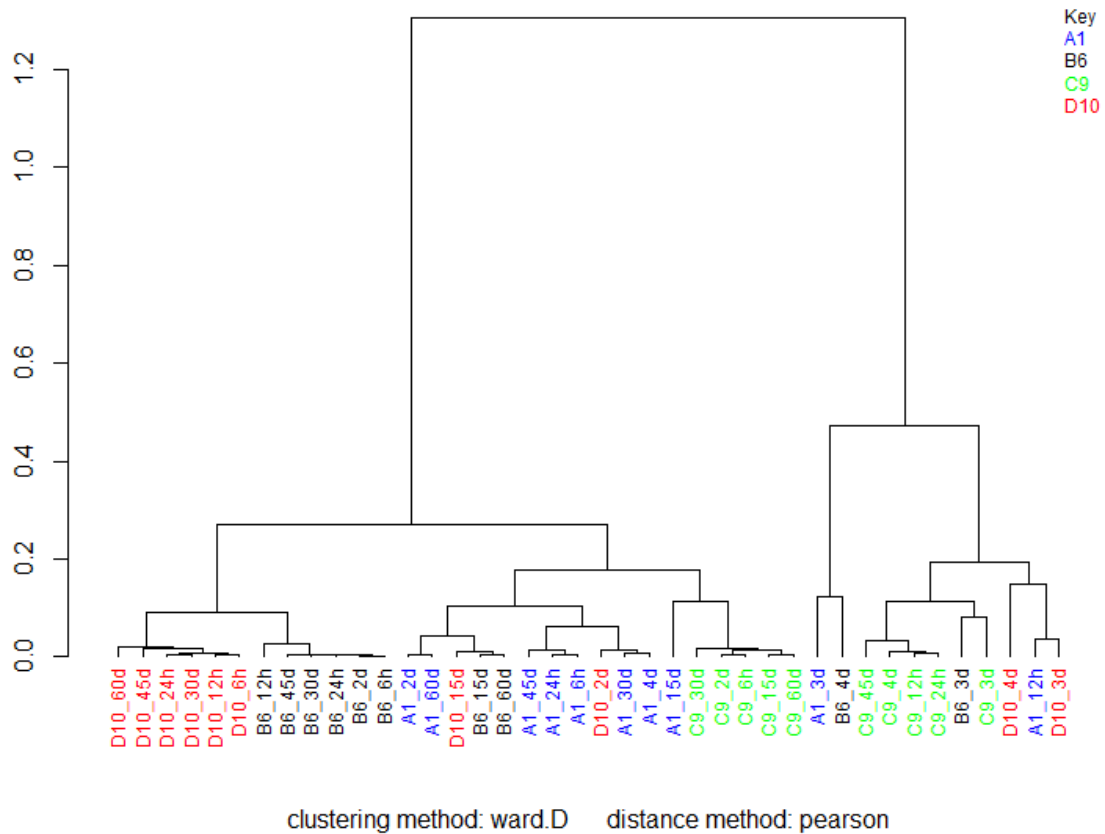


Figura 75. Dendrograma das amostras A1 (azul), B6 (preto), C9 (verde) e D10 (vermelho) depositadas no tecido (T) em condições de laboratório (CA) com variação do tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias

Os agrupamentos formados demonstraram que relativamente a outras amostras, os espectros da mesma amostra com variação do tempo pós-deposição encontram-se maioritariamente no mesmo grupo, demonstrando existir elevada semelhança nos espectros obtidos para cada amostra. Estes resultados comprovaram que os agrupamentos originados ocorreram de acordo com a marca da amostra depositada.

Tal como aconteceu com o substrato anteriormente estudado, a análise dos efeitos do envelhecimento da deposição no tecido, com base no estudo dos espectros com recurso a ferramentas quimiométricas demonstrou a ocorrência de variações mínimas nos espectros obtidos para cada amostra, não afetando a possível identificação da mesma.

### 3.10. AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS EM CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO DISTINTAS

O efeito das condições de armazenamento foi realizado paralelamente ao estudo do envelhecimento da deposição. Nesta etapa, as amostras de batom (A1, B6, C9 e D10) foram aplicadas num indivíduo e depositadas no lenço de papel e pedaço de tecido. As deposições foram deixadas em duas condições de armazenamento distintas, nomeadamente em condições atmosféricas estáveis, encontradas dentro de casa (CA) e ao ar livre (AL), com condições ambientais variáveis. A análise por FTIR-ATR foi realizada durante um período de 60 dias, em diferentes tempos designadamente 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias.

A análise quimiométrica do efeito provocado pelas condições de armazenamento foi realizada individualmente para os dois substratos onde ocorreu deposição.

Inicialmente foi estudado o efeito das condições de armazenamento na deposição das amostras no lenço de papel. Os espectros obtidos da deposição das amostras A1, B6, C9 e D10 no lenço de papel, deixadas em condições atmosféricas variáveis (AL), estão representados na **Figura 76**.

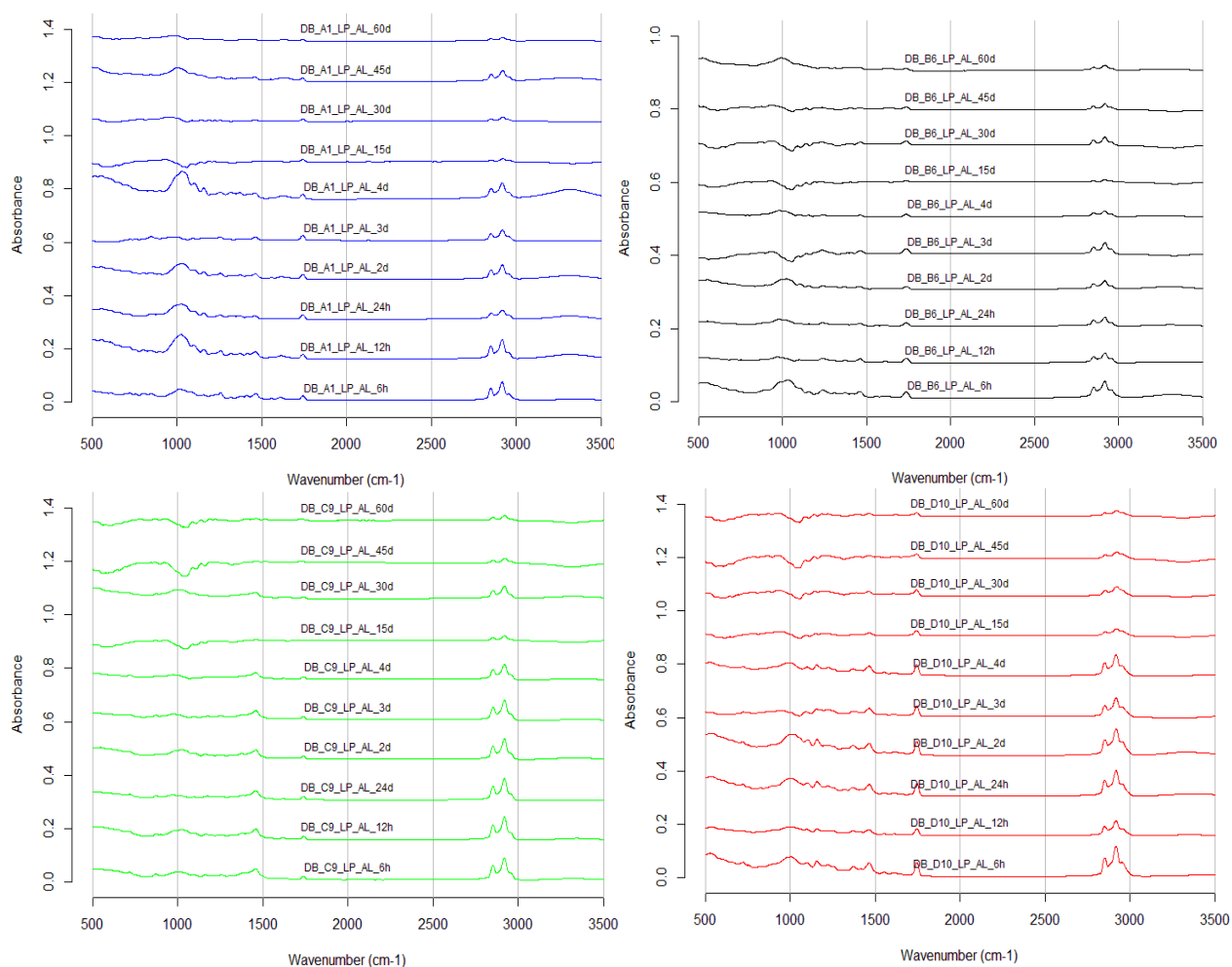


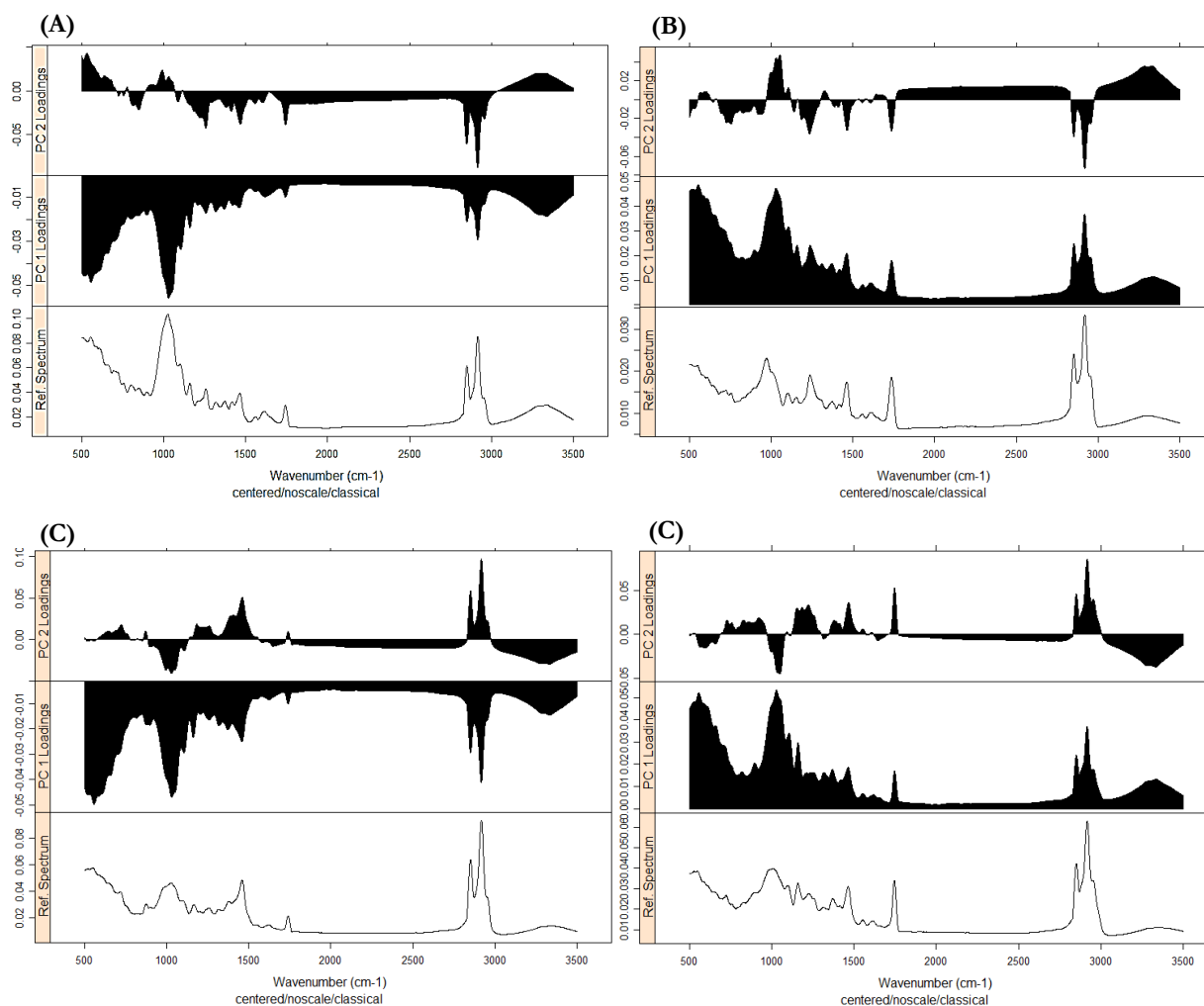
Figura 76. Espectros FTIR-ATR das amostras A1, B6, C9 e D10 depositadas no lenço de papel (LP), deixadas em condições variáveis (AL) com variação do tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias

A comparação visual dos espectros obtidos da deposição das quatro amostras no lenço de papel, com variação no tempo pós-deposição (6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias), demonstraram ocorrer algumas alterações em determinadas bandas. Verifica-se a semelhança nos espectros até ao segundo dia de envelhecimento, notando-se mais diferenças nas bandas a partir do terceiro dia do estudo, havendo ainda alguma semelhança entre os resultados do terceiro e quarto dia. Em todas as amostras verifica-se uma diminuição progressiva na intensidade de absorção das bandas perto de 3000 e 1500 cm<sup>-1</sup>, sendo neste caso a diminuição mais abrupta e rápida do que a verificada nos espectros das deposições deixadas em condições estáveis. Estas diferenças de intensidade, que ocorre na generalidade das amostras estudadas, poderão ter origem na ocorrência de possíveis reações com os grupos funcionais atribuídos às bandas que apresentam estas alterações. Essas bandas indicam a presença de hidrocarbonetos alifáticos, assim como a

existência de compostos aromáticos, as diminuições da intensidade de absorção dessas bandas poderão ocorrer devido a alterações nesses grupos funcionais, ao longo do tempo de envelhecimento da deposição. Como se verificou a existência de alterações nos espectros de todas as amostras, cujas deposições foram deixadas em condições variáveis, precocemente no tempo de envelhecimento, conclui-se que as reações com os grupos funcionais responsáveis pela absorção nestes números de onda, são promovidas pelas alterações atmosféricas, nomeadamente a variações na percentagem de humidade do ambiente.

Da análise dos espectros de cada amostra, nota-se no tempo de 4 dias da deposição da amostra A1 no lenço de papel, a presença de uma banda larga a  $3400\text{ cm}^{-1}$ , assim como o aumento da intensidade da banda a  $1100\text{ cm}^{-1}$ . As amostras B6 e C9 depositadas no lenço de papel, deixadas em condições variáveis demonstraram alterações ao longo do tempo, na região de impressão digital, nomeadamente nas bandas a aproximadamente  $1000\text{ cm}^{-1}$ . A deposição da amostra D10 no lenço de papel deixada em condições variáveis, demonstrou uma redução gradual bem visível das bandas presentes a  $2900$ ,  $1700$  e  $1500\text{ cm}^{-1}$ , aproximadamente.

Para complementar a comparação visual dos espectros, foram obtidos gráficos das *loadings* para cada amostra depositada, representados na **Figura 77**.



*Figura 77. Gráficos demonstrativos das loadings das amostras A1(A), B6 (B), C9 (C) e D10 (D) depositadas no lenço de papel, deixadas em condições variáveis (AL), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias*

Através da análise dos gráficos das *loadings*, nota-se a existência de concordância das bandas mais afetadas pelo envelhecimento da deposição em condições variáveis (AL) para todas as amostras estudadas. Tal como aconteceu nas deposições deixadas em condições estáveis (CA), é possível observar que existe maior variação com o envelhecimento, nas quatro amostras, nas bandas presentes a  $1000\text{ cm}^{-1}$  e na região inferior a  $750\text{ cm}^{-1}$ . Verifica-se que a banda larga presente a  $3400\text{ cm}^{-1}$ , apresenta maior variação em todas as amostras, quando compara com os resultados obtidos

das deposições em condições estáveis; destaca-se ainda as amostras B6 e C9 com a existência de maior variação nas bandas presentes a  $2900\text{ cm}^{-1}$ , com diminuição na intensidade destas bandas ao longo do tempo de envelhecimento.

Para determinar em que tempos do estudo existe maior divergência entre os espectros, foram construídas matrizes de distâncias para cada amostra depositada no lenço de papel, deixadas em condições atmosféricas estáveis (CA) e variáveis (AL). Os gráficos demonstrativos das matrizes de distâncias contruídas estão apresentados na **Figuras 1-4 do Anexo F**.

Através da construção de uma matriz de distâncias, verificou-se que os espectros da deposição da amostra A1 em lenço de papel deixada ao ar livre analisada após 15 dias e a deposição deixada em condições estáveis por 60 dias, foram as situações onde se observaram mais divergências nos espectros, representando os maiores valores de distância relativamente a todos os outros tempos em estudo. Relativamente à amostra B6, determinou-se que existe maior divergência entre os espectros da deposição deixada ao ar livre analisada após 3, 15, 30 e 45 dias, representando os maiores valores de distância relativamente a todos os tempos em estudo.

Da matriz de distâncias das deposições da amostra C9 no lenço de papel, observou-se que a análise da deposição deixada ao ar livre analisada após 15, 45 e 60 dias e a deposição deixada em condições estáveis por 60 dias, foram os tempos onde se observaram maior divergência entre os espectros, representando os maiores valores de distância com todos os outros tempos estudados. Por sua vez, a análise da deposição da amostra D10 no lenço de papel deixada ao ar livre analisada após 45 e 60 dias, foram as situações onde se observaram mais divergências relativamente a todos os outros tempos em estudo.

Com base na análise das várias matrizes de distâncias construídas, é possível concluir que ocorrem mais modificações nas bandas dos espectros e de forma mais precoce, nas deposições deixadas em condições variáveis, quando comparadas com os espectros das deposições das quatro amostras deixadas em condições estáveis.

Com recurso a PCA, foram obtidos os gráficos de *scores* de duas dimensões para cada amostra depositada no lenço de papel deixado em condições distintas, apresentados na **Figura 78**.



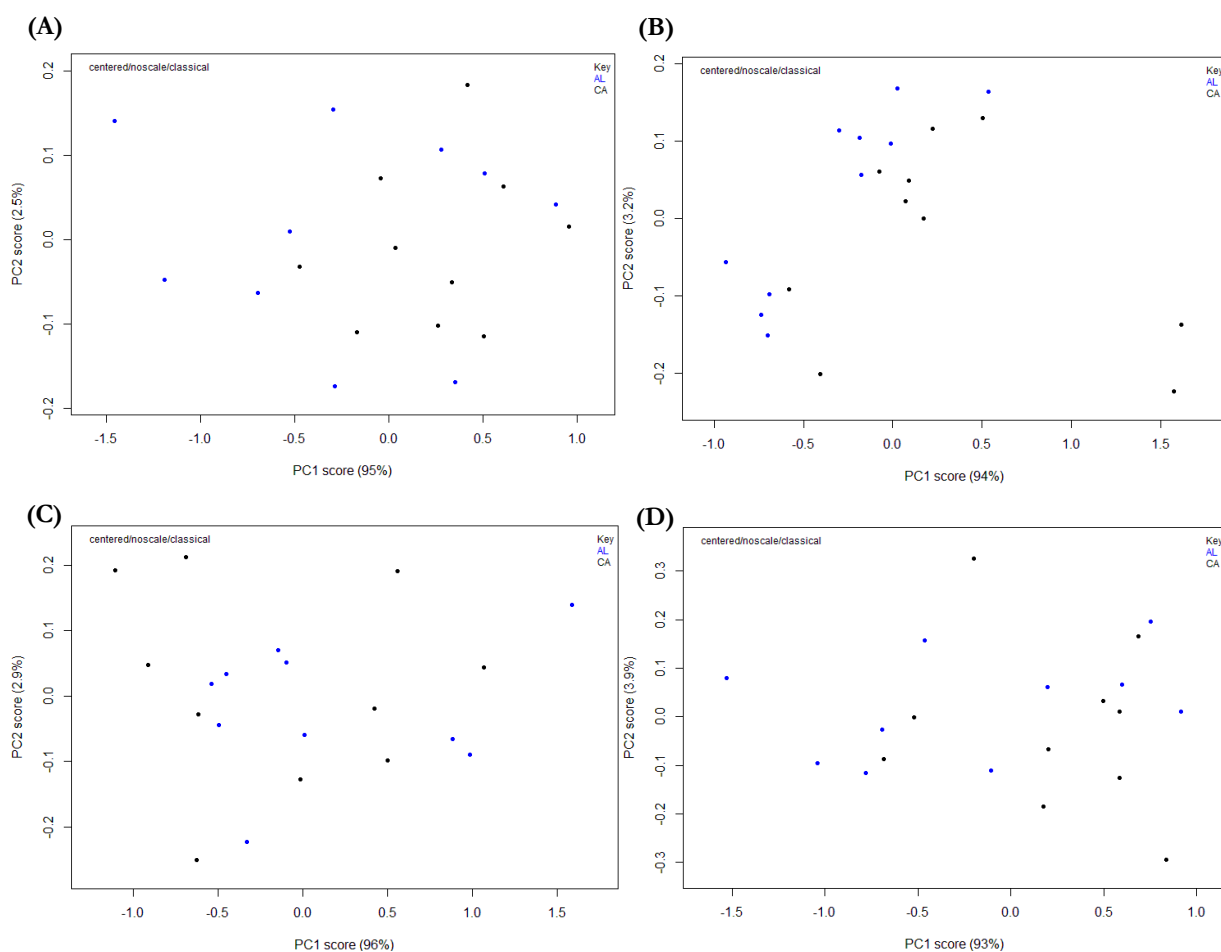


Figura 78. Gráficos de scores 2D das amostras A1(A), B6 (B), C9 (C) e D10 (D) depositadas no lenço de papel, deixadas em condições variáveis (AL) e estáveis (CA), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias

Através da análise do gráfico de scores 2D da amostra A1, B6, C9 e D10 é possível determinar que o primeiro componente principal (PC1) foi responsável por 95%, 94%, 96% e 93% da variação no conjunto de dados, respetivamente. O segundo componente principal (PC2) foi responsável por 2,5%, 3,2%, 2,9% e 3,9% da variação no conjunto de dados das amostras A1, B6, C9 e D10, respetivamente. Portanto, a combinação desses dois PCs foi responsável pela variação de 97,5%, 97,2%, 98,9% e 96,9% no conjunto de dados, das amostras A1, B6, C9 e D10, respetivamente.

No gráfico de scores da amostra A1, verifica-se que a deposição deixada em condições ambientais variáveis (AL) apresenta maior dispersão, quando comparada com a deposição deixada

em condições estáveis (CA), demonstram que as condições variáveis de armazenamento possibilitam o surgimento de variações nas bandas dos espectros FTIR-ATR obtidos desta amostra.

No gráfico de *scores* da amostra B6, observa-se que a deposição deixada em condições ambientais variáveis (AL) apresenta uma dispersão relativamente maior, quando comparada com a deposição deixada em condições estáveis (CA), no entanto não existe uma diferença muito acentuada nas dispersões como aconteceu com a amostra A1.

Por sua vez, nos gráficos de *scores das amostras C9 e D10*, as deposições deixadas em condições variáveis (AL) apresentam dispersão semelhante às deposições deixadas em condições estáveis (CA), demonstrando que as variações das condições de armazenamento não provocam alterações distintas das encontradas em condições estáveis.

Os resultados obtidos dos gráficos de *scores* permitiram concluir que a amostra A1 apresenta maior suscetibilidade às variações atmosféricas, originando maior dispersão nos resultados obtidos, demonstrando ocorrer maior variação nas bandas do espectro desta amostra.

Para estudar a influência das condições de armazenamento, foram selecionadas as deposições de todas as amostras depositadas no lenço de papel e deixadas em condições ambientais variáveis (AL) e em condições estáveis (CA) analisadas após: 24 horas, 15, 30 e 60 dias. A partir dessa seleção de dados foi construído o dendrograma, apresentado na **Figura 79**.

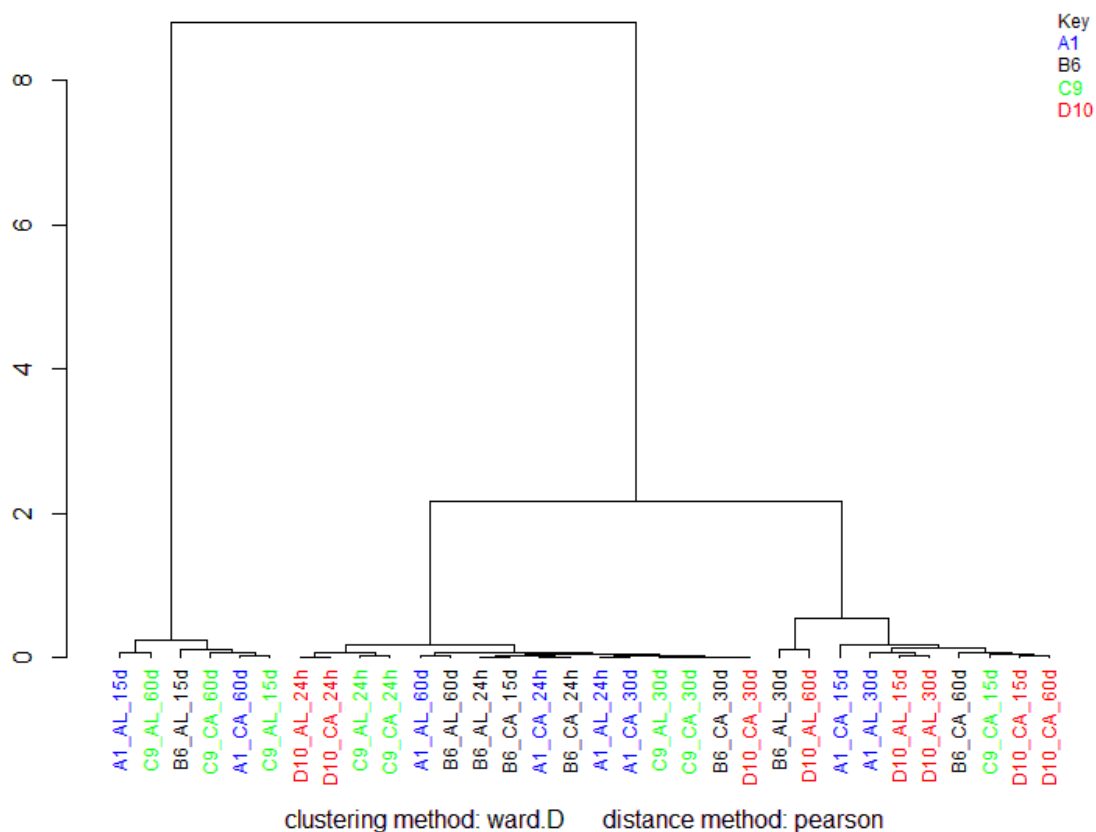
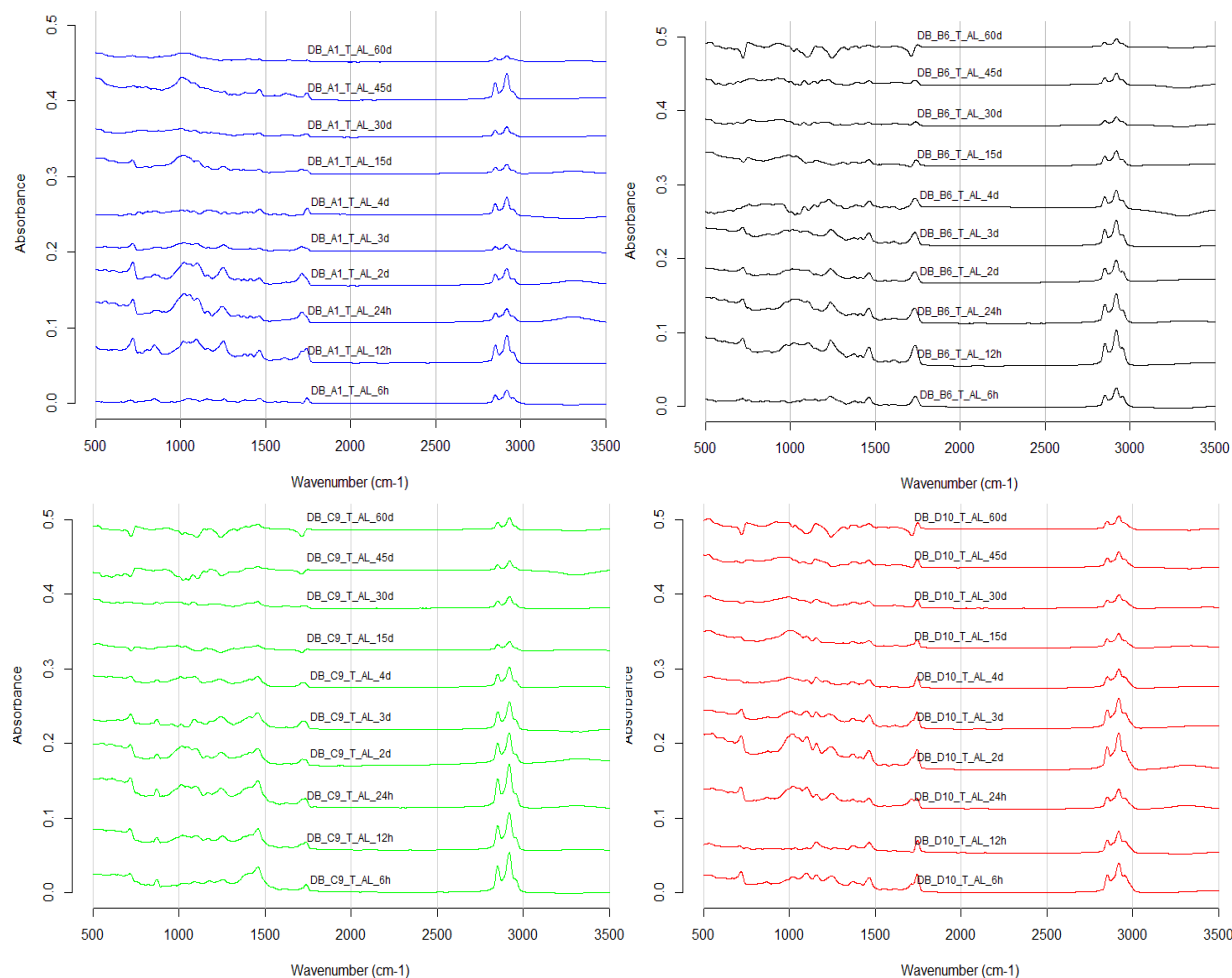


Figura 79. Dendrograma das amostras A1 (azul), B6 (preto), C9 (verde) e D10 (vermelho) depositadas no lenço de papel deixadas em condições estáveis (CA) e variáveis (AL) com variação do tempo pós-deposição – 24 horas, 15 dias, 30 dias e 60 dias

Os agrupamentos originados demonstraram que relativamente a outras amostras, alguns espectros da mesma amostra encontram-se no mesmo grupo, demonstrando existir elevada semelhança nos espectros obtidos para cada amostra, comprovando que os agrupamentos originados ocorreram de acordo com a marca da amostra depositada.

Assim a análise dos efeitos das condições de armazenamento na deposição do batom no lenço de papel, com base no estudo dos espectros com recurso a ferramentas quimiométricas demonstrou a ocorrência de algumas variações nos espectros obtidos para cada amostra, não afetando a possível identificação da mesma.

Paralelamente também foi estudado o efeito das condições de armazenamento na deposição das amostras de batom no tecido. Os espectros obtidos da deposição das amostras A1, B6, C9 e D10 no tecido, deixadas em condições atmosféricas variáveis (AL), estão representados na **Figura 80**.



*Figura 80. Espectros FTIR-ATR das amostras A1, B6, C9 e D10 depositadas no tecido (T), deixadas em condições variáveis (AL) com variação do tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias*

A comparação visual dos espectros mostra a semelhança nos espectros até ao segundo dia de envelhecimento, notando-se maiores diferenças na intensidade das bandas a partir do terceiro dia do estudo, havendo ainda alguma semelhança entre os resultados do segundo e terceiro dia, nas amostras B6, C9 e D10. Em todas as amostras verifica-se uma diminuição gradual na intensidade de absorção das bandas a  $2900$  e  $1500\text{ cm}^{-1}$ , verificando-se também neste substrato, que a diminuição

ocorre de forma mais abrupta e rápida do que a verificada nos espectros das deposições deixadas em condições estáveis. Estas diferenças de intensidade presentes em todas as amostras estudadas, poderão ter origem na ocorrência de possíveis reações com os grupos funcionais atribuídos às bandas que apresentam estas alterações. Essas bandas indicam a presença de hidrocarbonetos alifáticos e a existência de compostos aromáticos. As diminuições da intensidade de absorção dessas bandas poderão ocorrer devido a alterações nesses grupos funcionais, ao longo do tempo de envelhecimento da deposição. Neste substrato também se observou uma ocorrência precoce de alterações nos espectros de todas as amostras, corroborando a conclusão retirada do anterior substrato, ou seja, as reações com os grupos funcionais responsáveis pela absorção nestes números de onda, são promovidas pelas alterações atmosféricas, nomeadamente variações na humidade do ambiente.

Da análise dos espectros de cada amostra, nota-se nos tempos de 24 horas e 2 dias da deposição da amostra A1 no tecido, a presença de uma banda larga a  $3400\text{ cm}^{-1}$ , assim como diferenças nas bandas  $1200\text{ cm}^{-1}$ , aproximadamente  $1000\text{ cm}^{-1}$  e  $750\text{ cm}^{-1}$ , nos tempos 6 horas, 4, 30 e 60 dias. A deposição das amostras B6, C9 e D10 no tecido deixada em condições variáveis, demonstrou uma redução gradual bem visível das bandas presentes a  $2900$ ,  $1700$  e  $1500\text{ cm}^{-1}$ , aproximadamente.

Para complementar a comparação visual dos espectros, foram obtidos gráficos das *loadings* para cada amostra depositada, representados na **Figura 81**.

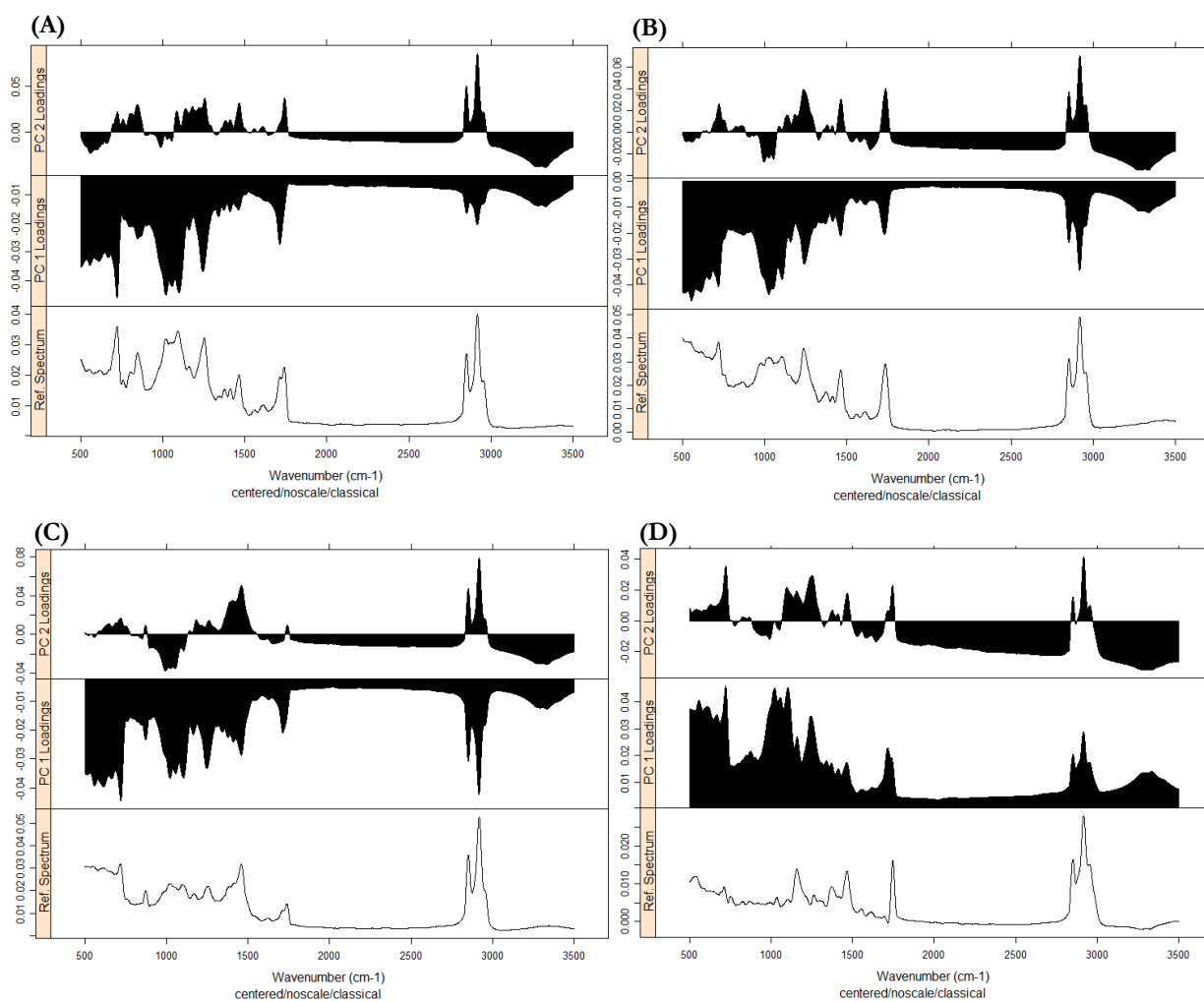


Figura 81. Gráficos demonstrativos das loadings das amostras A1(A), B6 (B), C9 (C) e D10 (D) depositadas no tecido, deixadas em condições variáveis (AL), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias

Através da análise dos gráficos das *loadings*, nota-se a existência de concordância das bandas mais afetadas pelo envelhecimento da deposição em condições variáveis (AL) para todas as amostras estudadas. Como aconteceu nas deposições no lenço de papel deixadas em condições variáveis e nas deposições dos dois substratos deixadas em condições estáveis (CA), é possível observar que existe maior variação com o envelhecimento, nas bandas presentes a  $1000\text{ cm}^{-1}$  e na região inferior a  $750\text{ cm}^{-1}$ , existindo ainda alguma variação nas bandas a  $1200$ ,  $1400$  e  $1700\text{ cm}^{-1}$ . Verifica-se que a banda larga presente a  $3400\text{ cm}^{-1}$ , apresenta maior variação em todas as amostras, quando compara com os resultados obtidos das deposições em condições estáveis; destaca-se ainda as amostras B6 e C9 com a existência de maior variação nas bandas presentes a  $2900\text{ cm}^{-1}$ , com diminuição na intensidade destas bandas ao longo do tempo de envelhecimento.

Para determinar em que tempos do estudo existe maior divergência entre os espectros, foram construídas matrizes de distâncias para cada amostra depositada no tecido, deixadas em condições atmosféricas estáveis (CA) e variáveis (AL). Os gráficos demonstrativos das matrizes de distâncias construídas estão apresentados na **Figuras 5-8 do Anexo F**.

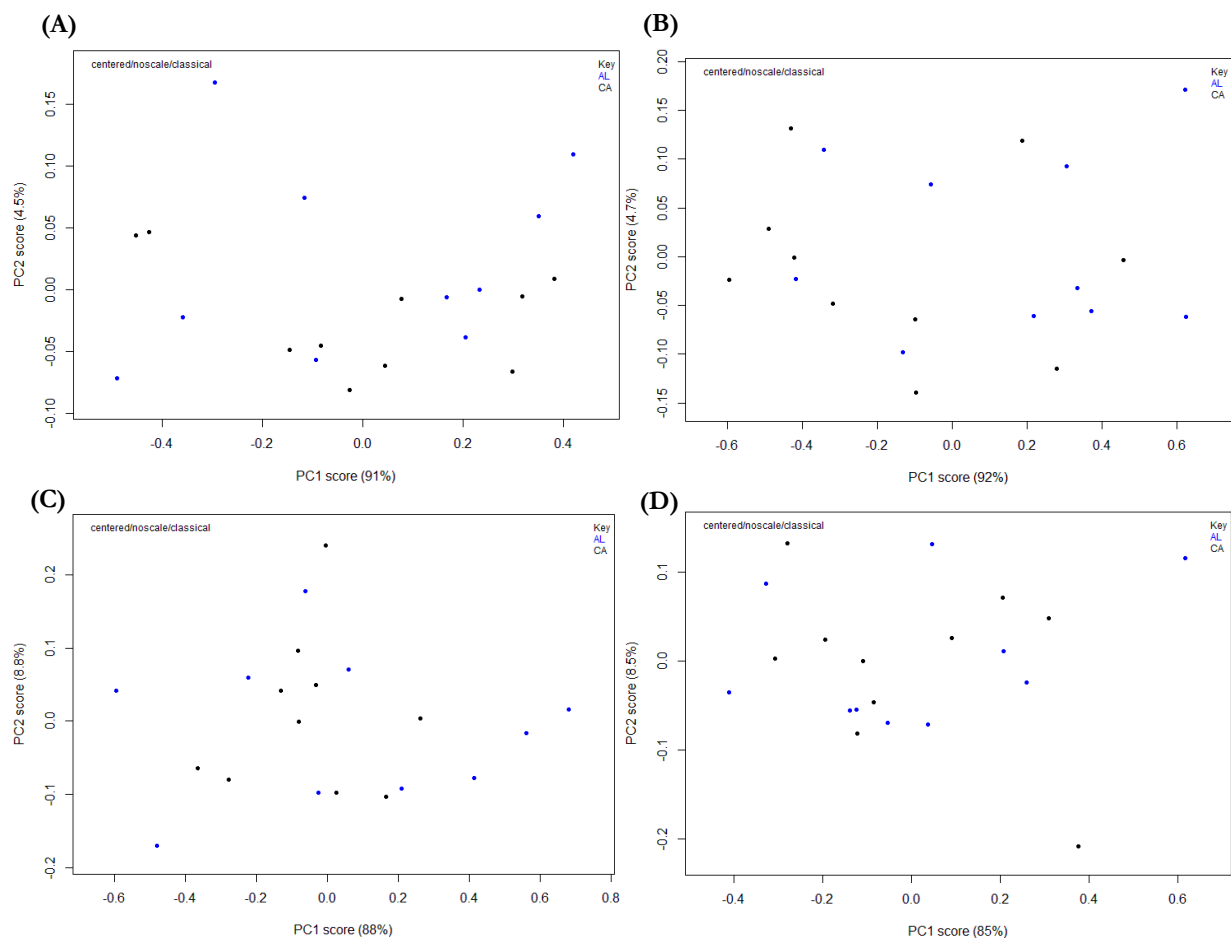
Através da construção de uma matriz de distâncias, verificou-se que os espectros da deposição da amostra A1 em tecido deixada ao ar livre analisada após 4 dias foi a situação onde se observaram mais divergências nos espectros, representando os maiores valores de distância relativamente aos outros tempos em estudo. Relativamente à amostra B6, determinou-se que existe maior divergência entre os espectros da deposição deixada ao ar livre analisada após 4 e 60 dias, representando os maiores valores de distância com todos os tempos em estudo.

Da matriz de distâncias das deposições da amostra C9 no tecido, observou-se que a análise da deposição deixada ao ar livre analisada após 45 e 60 dias, foram os tempos onde se observaram maior divergência entre os espectros, representando os maiores valores de distância com todos os outros tempos estudados.

Por sua vez, a análise da deposição da amostra D10 no tecido deixada ao ar livre analisada após 60 dias, foram as situações onde se observaram mais divergências relativamente a todos os outros tempos em estudo. Destaca-se nesta amostra uma maior proximidade dos resultados obtidos, apresentando valores de distância mais baixos quando comparada com todas as outras amostras estudadas.

Com base na análise das matrizes de distâncias das deposições no tecido, é possível concluir que ocorrem mais alterações nas bandas dos espectros e de forma mais precoce, nas deposições deixadas em condições variáveis, quando comparadas com os espectros das deposições deixadas em condições estáveis.

Com recurso a PCA, foram obtidos os gráficos de *scores* de duas dimensões para cada amostra depositada no tecido deixado em condições distintas, apresentados na **Figura 82**.



*Figura 82. Gráficos de scores 2D das amostras A1(A), B6 (B), C9 (C) e D10 (D) depositadas no tecido, deixadas em condições variáveis (AL) e estáveis (CA), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias*

Através da análise do gráfico de *scores* 2D da amostra A1, B6, C9 e D10 é possível determinar que o primeiro componente principal (PC1) foi responsável por 91%, 92%, 88% e 85% da variação no conjunto de dados, respetivamente. O segundo componente principal (PC2) foi responsável por 4,5%, 4,7%, 8,8% e 8,5% da variação no conjunto de dados das amostras A1, B6, C9 e D10, respetivamente. Portanto, a combinação desses dois PCs foi responsável pela variação de 95,5%, 96,7%, 96,8% e 93,5% no conjunto de dados, das amostras A1, B6, C9 e D10, respetivamente.



No gráfico de *scores* da amostra A1, verifica-se que a deposição deixada em condições ambientais variáveis (AL) apresenta maior dispersão, quando comparada com a deposição deixada em condições estáveis (CA), demonstrando que as condições variáveis de armazenamento possibilitam o surgimento de variações nas bandas dos espectros desta amostra. Estes resultados vieram corroborar os resultados obtidos da deposição desta amostra no lenço de papel, deixada nas mesmas condições.

No gráfico de *scores* da amostra C9, observa-se que a deposição deixada em condições ambientais variáveis (AL) apresenta uma dispersão relativamente maior, quando comparada com a deposição deixada em condições estáveis (CA), no entanto não existe uma diferença muito acentuada nas dispersões como aconteceu com a amostra A1.

Por sua vez, nos gráficos de *scores* das amostras B6 e D10, as deposições deixadas em condições variáveis (AL) apresentam dispersão semelhante às deposições deixadas em condições estáveis (CA), demonstrando que as variações das condições de armazenamento não provocam alterações distintas das encontradas em condições estáveis.

Tal como no estudo do substrato anterior, os resultados obtidos dos gráficos de *scores* permitiram concluir que a amostra A1 apresenta maior suscetibilidade às variações atmosféricas, originando maior dispersão nos resultados obtidos, demonstrando ocorrer maior variação nas bandas do espectro desta amostra.

Para estudar a influência das condições de armazenamento, foram selecionadas as deposições de todas as amostras depositadas no tecido e deixadas em condições ambientais variáveis (AL), e em condições estáveis (CA) analisadas após: 24 horas, 15, 30 e 60 dias. A partir dessa seleção de dados foi construído o dendrograma, apresentado na **Figura 83**.

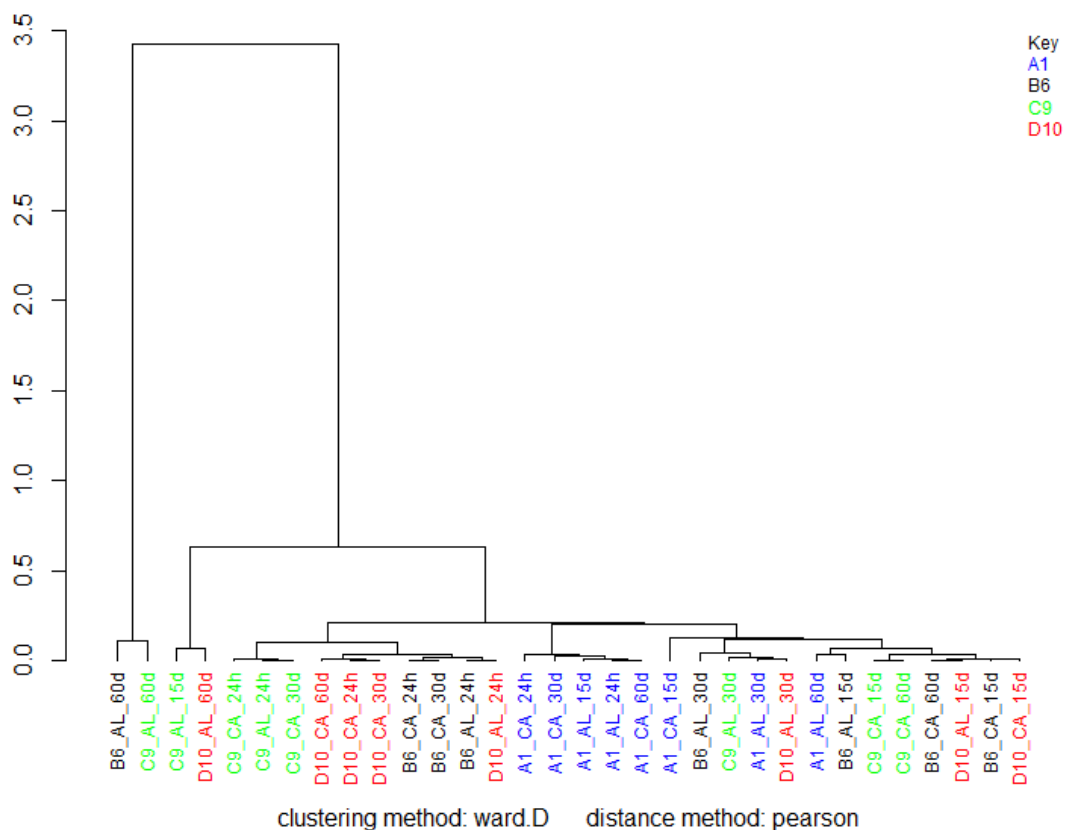


Figura 83. Dendrograma das amostras A1 (azul), B6 (preto), C9 (verde) e D10 (vermelho) depositadas no tecido deixadas em condições estáveis (CA) e variáveis (AL), com variação do tempo pós-deposição – 24 horas, 15 dias, 30 dias e 60 dias

Os agrupamentos formados demonstraram que relativamente a outras amostras, alguns espectros da mesma amostra encontram-se no mesmo grupo, demonstrando existir elevada semelhança nos espectros obtidos para cada amostra, comprovando que os agrupamentos originados ocorreram de acordo com a marca da amostra depositada. Destaca-se ainda a diminuta distância entre as amostras neste substrato, comparativamente às deposições no lenço de papel.

Tal como demonstrado nas deposições no lenço de papel, a análise dos efeitos das condições de armazenamento na deposição do batom no tecido, com base no estudo dos espectros com recurso a ferramentas quimiométricas demonstrou a ocorrência de algumas variações nos espectros obtidos para cada amostra, não afetando a possível identificação da mesma.

### 3.11. ANÁLISE DE AMOSTRAS CEGAS

Esta etapa tem como objetivo validar a utilização do método de FTIR-ATR em conjunto com a metodologia de pesquisa (HCA) utilizada no estudo atual, como métodos identificativos de amostras desconhecidas. Assim para realizar uma análise mais criteriosa destes resultados procedeu-se à comparação destes espectros com os espectros da análise direta obtidos ao longo do estudo. Para isso foi criada uma “base de dados” com os espectros das amostras conhecidas obtidos da análise direta dos batons e procedeu-se à comparação dos espectros desconhecidos a estes espectros.

Para tal, a matriz de distâncias por método de Pearson foi construída selecionando aleatoriamente quatro amostras cegas (VAL\_01, VAL\_02, VAL\_03 e VAL\_04) das amostras já analisadas, e foram investigadas sob o conjunto total das amostras analisadas diretamente. As identidades dessas amostras não foram reveladas ao analista até que as previsões fossem concluídas. Os espectros FTIR-ATR obtidos da análise das amostras cegas estão apresentados na **Figura 84**. A **Tabela 5** representa a matriz de distâncias obtida entre as amostras cegas e a totalidade das amostras do estudo.

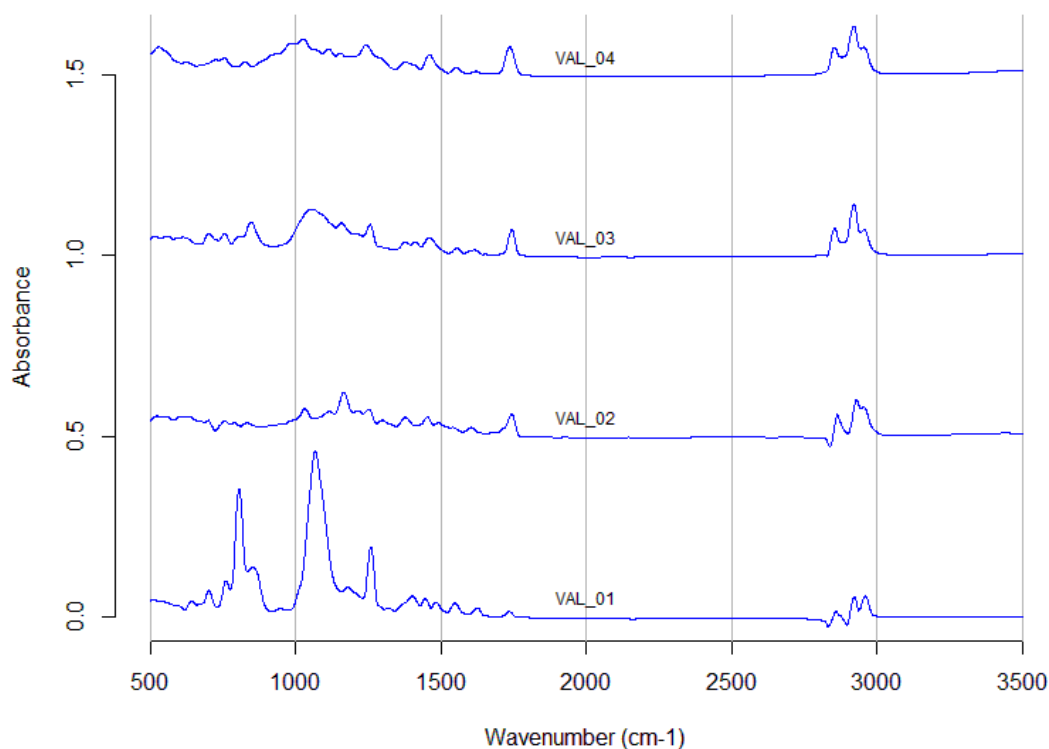


Figura 84. Espectros FTIR-ATR obtidos da análise direta das quatro amostras cegas

Tabela 5. Matriz de distância construída por método de Pearson entre as amostras cegas (VAL\_01, VAL\_02, VAL\_03 e VAL\_04) e as quinze amostras do estudo analisadas diretamente (AD)

	VAL_01	VAL_02	VAL_03	VAL_04
AD_A1	0.17976779	0.11293641	0.07094071	0.14881167
AD_A2	0.17626360	0.13233290	0.13137982	0.21901655
AD_A3	0.34983275	0.05399301	0.17515887	0.19330505
AD_A4	0.38096416	0.07495283	0.22451265	0.24075726
AD_A5	0.51943275	0.12036767	0.18261322	0.16752667
AD_B6	0.34665272	0.11665028	0.19524345	0.18559586
AD_B7	0.34929617	0.12788781	0.20648704	0.17127500
AD_C8	0.01944304	0.45579862	0.31110429	0.50956418
AD_C9	0.57662506	0.21870442	0.35162036	0.35629522
AD_D10	0.40783051	0.10157965	0.20988826	0.19750278
AD_D11	0.43507702	0.11863740	0.26203005	0.26872808
AD_D12	0.40320256	0.08337441	0.19839108	0.19898052
AD_D13	0.41064245	0.08305728	0.18705285	0.20181887
AD_D14	0.40510490	0.07361661	0.17283243	0.16302447
AD_D15	0.41936877	0.06281775	0.15765196	0.14803084

A matriz de distâncias permitiu apurar quais amostras do estudo analisadas diretamente apresentam maior similaridade com as quatro amostras cegas analisadas da mesma forma. Através da análise da tabela apresentada acima, observa-se que os valores de distância menores para cada amostra cega correlacionam a amostra cega 1 (VAL\_01) à amostra C8, a amostra cega 2 (VAL\_02) à amostra A3, a amostra cega 3 (VAL\_03) à amostra A1 e a amostra cega 4 (VAL\_04) à amostra D15, com os valores de distância 0.019, 0.054, 0.071 e 0.148, respectivamente. A atribuição através do valor mais baixo entre as amostras cegas e todas as amostras do estudo demonstram existir maior semelhança entre esses espectros, no entanto verifica-se que a atribuição correta só se verificou nas duas primeiras amostras cegas, VAL\_01 e VAL\_02. No caso da amostra cega 3 (VAL\_03), a amostra do estudo correspondente apresenta o segundo valor de distância mais baixo (0.131) correspondente à amostra A2, houve por isso uma troca entre as duas amostras com valores mais baixos, que pertencem à mesma marca, podendo por isso apresentar uma constituição semelhante, possibilitando alguma dificuldade na atribuição da amostra conhecida à amostra cega. A amostra cega 4 (VAL\_04) correspondente à amostra B7, apresenta o quinto menor valor de distância (0.171), neste caso existe maior similaridade da amostra cega com outras amostras, incluindo com amostras

de marcas diferentes da amostra correspondente, sendo que esta situação poderá dever-se à possibilidade de ocorrência do ruído gerado nos espectros das amostras.

Embora existam algumas divergências em algumas correspondências, a matriz de distâncias é um bom método para realizar a atribuição da amostra origem às amostras cegas analisadas por FTIR-ATR, visto que apesar de ocorrerem situações em que a amostra correspondente não é a mais semelhante, estas apresentam elevado nível de semelhança, demonstrando valores mais baixos de distância comparativamente à totalidade do grupo de amostras conhecidas.

Como os batons podem ser encontrados como evidências transferidas em diferentes substratos, a validação do método foi ainda avaliada através da análise de amostras cegas depositadas em substratos. Nesta etapa do estudo, quatro amostras selecionadas de forma aleatória e desconhecida entre as 15 amostras do estudo, foram depositadas diretamente em três substratos – cigarro, lenço de papel e tecido. Os espectros FTIR-ATR obtidos da análise das nove deposições estão apresentados na **Figura 85**.

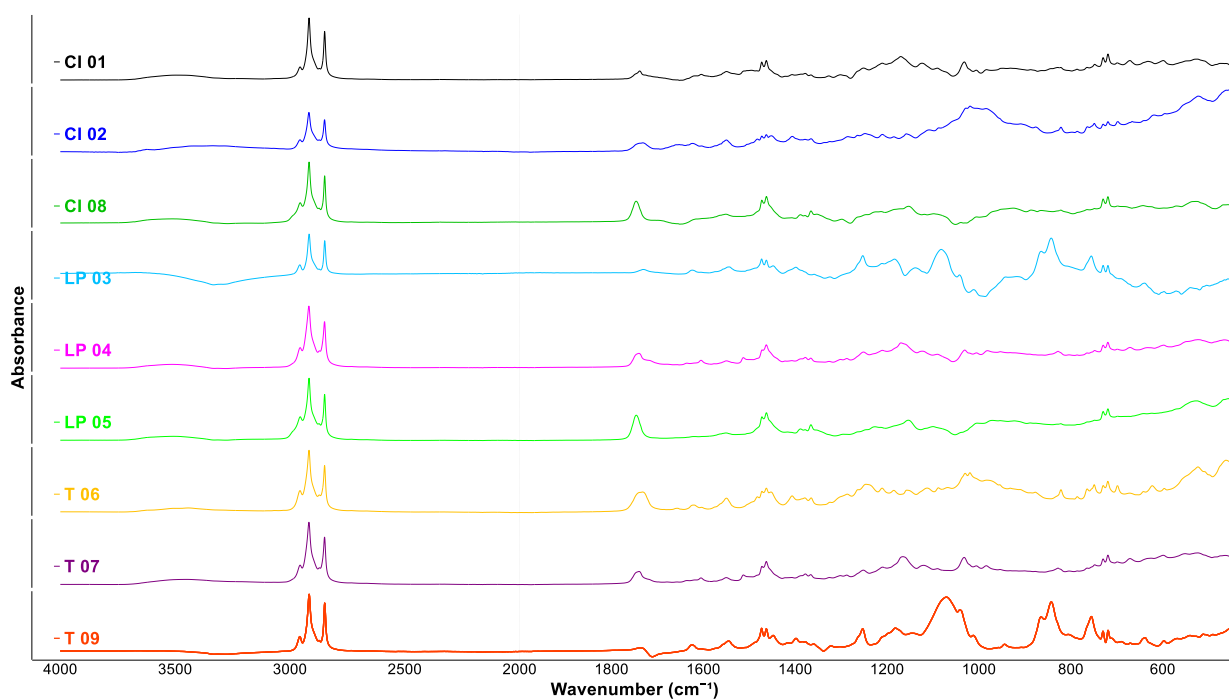


Figura 85. Espectros FTIR-ATR obtidos da deposição direta de quatro amostras desconhecidas em três substratos: Cigarro (CI 01; CI 02; CI 08), Lenço de papel (LP 03; LP 04; LP 05) e Tecido (T 06; T 07; T 09)

Embora as amostras sejam desconhecidas, os substratos em que estas foram depositadas são conhecidos, podendo assim as deposições serem agrupadas de acordo com o tipo de substrato. A análise dos espectros obtidos demonstra que a atribuição visual não é viável, visto que a grande maioria dos espectros apresentam uma aparência semelhante, exceto os LP 03 e T09 que apresentam algumas similaridades entre eles, mas estas semelhanças não permitem chegar a alguma conclusão, apenas à possibilidade de pertencerem à mesma amostra.

Como aconteceu no estudo das amostras cegas analisadas diretamente, a matriz de distâncias por método de Pearson foi construída entre as nove deposições das quatro amostras cegas e o conjunto total das amostras analisadas diretamente. A **Tabela 6** representa a matriz de distâncias obtida entre as amostras cegas e a totalidade das amostras do estudo.

*Tabela 6. Matriz de distância construída por método de Pearson entre as amostras cegas (VAL\_01 a VAL\_09) e as quinze amostras do estudo analisadas diretamente (AD)*

	VAL_01	VAL_02	VAL_03	VAL_04	VAL_05	VAL_06	VAL_07	VAL_08	VAL_09
AD_A1	0.31554614	0.22101216	0.8620656	0.26781824	0.31228843	0.16614467	0.25118780	0.45674488	0.1692944
AD_A2	0.40341616	0.20155260	1.0261938	0.33253835	0.35022918	0.21519651	0.29640672	0.56433896	0.2398147
AD_A3	0.32245063	0.17314021	1.1328203	0.25146509	0.26875427	0.18743440	0.22157893	0.47355982	0.3453033
AD_A4	0.34386166	0.19129877	1.1140831	0.27267760	0.27946208	0.20877082	0.25399002	0.47950612	0.3707296
AD_A5	0.21218798	0.40078947	0.7956190	0.20669125	0.25792831	0.23419498	0.22144014	0.23511667	0.3280922
AD_B6	0.33832567	0.13464490	1.1946544	0.26003716	0.23544807	0.15703092	0.22736220	0.45161783	0.3558506
AD_B7	0.41747920	0.22065190	1.1392650	0.33560332	0.33848224	0.19487423	0.31681895	0.53202169	0.3853391
AD_C8	0.67697483	0.52244064	0.7625599	0.64037964	0.66776037	0.52401369	0.60283373	0.80847788	0.2714036
AD_C9	0.33643191	0.29326003	1.0310784	0.28273159	0.25196096	0.29100759	0.27603992	0.36439239	0.4431731
AD_D10	0.38651982	0.28055958	1.0761731	0.31810105	0.30318333	0.23133479	0.30666192	0.43695285	0.3981376
AD_D11	0.41813414	0.26441576	1.1778850	0.33915741	0.30309070	0.27384217	0.31115950	0.47814085	0.4516324
AD_D12	0.33246417	0.21662255	1.1382033	0.26942680	0.24470976	0.20466691	0.24290921	0.40498972	0.3834075
AD_D13	0.36710582	0.36715361	0.9331849	0.31680428	0.33540084	0.27013985	0.31406086	0.41297213	0.3717275
AD_D14	0.28230213	0.17163329	1.1529562	0.21996315	0.19636496	0.16202118	0.19201663	0.36122223	0.3542617
AD_D15	0.26424820	0.22655076	1.0256427	0.20558764	0.18966324	0.16883994	0.19575890	0.29903726	0.3300261

A matriz de distâncias permitiu apurar quais amostras do estudo analisadas diretamente apresentam maior semelhança com as nove deposições analisadas. Através da análise da tabela apresentada acima, observa-se que os valores de distância menores para cada amostra cega correlacionam a amostra cega 1 e 8 (VAL\_01 e VAL\_08) à amostra A5, a amostra cega 2 e 6 (VAL\_02 e VAL\_06) à amostra B6, a amostra cega 3 (VAL\_03) à amostra C8, a amostra cega 4 e 5 (VAL\_04 e VAL\_05) à amostra D15, a amostra cega 7 (VAL\_07) à amostra D14, e a amostra cega 9 (VAL\_09) à amostra A1. A atribuição através do valor mais baixo entre as amostras cegas e todas as amostras do estudo demonstram existir maior semelhança entre esses espectros, no entanto verifica-se que a atribuição não aconteceu corretamente, visto ocorrer correspondências com seis amostras do estudo e apenas foram depositadas quatro amostras.

As amostras do estudo escolhidas para análise de amostras cegas foram A4, B7, C8 e D11, sendo a primeira depositada no cigarro (VAL\_01), no lenço de papel (VAL\_04) e no tecido (VAL\_07); a amostra B7 foi depositada no cigarro (VAL\_02) e no tecido (VAL\_06); a amostra C8 foi depositada no lenço de papel e no tecido (VAL\_03 e VAL\_09) e a amostra D11 foi depositada no lenço de papel (VAL\_05) e no cigarro (VAL\_08).

Comparando as atribuições obtidas da matriz de distâncias com as atribuições reais verifica-se que apenas a deposição da amostra C8 no lenço de papel, correspondente à VAL\_03, foi correlacionada corretamente. Estes resultados demonstram que sempre que se encontram evidências de batons transferidos em diferentes substratos, a identificação por análise direta da possível amostra correspondente não é viável, devendo sempre ter-se em consideração os substratos onde a amostra foi depositada. Contudo, mais estudos de validação são necessários para ligar as manchas de batom em diferentes substratos à sua fonte inicial de origem, possivelmente com a criação de uma “base de dados” tendo em conta os substratos onde é possível existir deposição.

## ***CAPÍTULO 4***

### *CONCLUSÕES*



## 4. CONCLUSÕES

Neste trabalho foram estudados batons vermelhos de quatro marcas utilizando a espectroscopia FTIR-ATR em conjunto com técnicas quimiométricas com o objetivo de avaliar a capacidade deste método para uma discriminação das amostras estudadas. Com a utilização deste método de análise, as amostras foram analisadas de forma não destrutiva e rápida. As técnicas quimiométricas, PCA e HCA, forneceram resultados mais objetivos, obtidos pelos gráficos de *scores* e *loadings*, assim como matrizes de distâncias e dendrogramas, em comparação com exames visuais de espectros. Assim, demonstra-se que essas metodologias quimiométricas são poderosos procedimentos objetivos que permitem a caracterização e discriminação de batons de diferentes marcas, contrariamente à comparação visual dos espectros que pode envolver alguma subjetividade.

O estudo de otimização do método de espectroscopia demonstrou que a análise deve ser realizada com recurso a 32 varrimentos, através da análise direta das deposições no cigarro, lenço de papel e tecido e com recurso a fita cola para estudo das deposições na chávena e copo de plástico. Verificou-se que deve ocorrer um pré-processamento dos dados espectrais obtidos, realizando a redução da janela espectral entre 3500-500  $\text{cm}^{-1}$  e a redução do ruído.

Os resultados dos testes de repetibilidade e reprodutibilidade obtidos usando a espectroscopia FTIR-ATR e analisados por métodos quimiométricos, demonstraram que existe repetibilidade e reprodutibilidade na análise das amostras de batom com esta técnica.

A discriminação de amostras de batom com base na presença/ausência de bandas características foi obtida antes da discriminação multivariada com base nas ferramentas quimiométricas. A comparação manual das bandas foi realizada para descobrir diferenças nas bandas e suas posições em todas as amostras de batom, sendo que a presença ou ausência de picos num determinado número de onda determina se duas amostras de batom são iguais ou não. O poder discriminante (DP) do método foi calculado, obtendo-se assim um poder discriminante de 100%. Complementarmente, os resultados obtidos da análise por PCA e HCA comprovam existir variação na composição dos constituintes das amostras ou alteração nas proporções destes, permitindo a distinção de amostras da mesma marca com base no espectro FTIR-ATR obtido, mesmo entre amostras onde a variação é mínima.

O estudo da influência do substrato no espectro da amostra adquirido comprovou que os substratos influenciam os resultados obtidos. A análise por HCA originou a formação de agrupamentos de acordo com o substrato onde a amostra foi depositada em vez da amostra em si.

A análise da influência da deposição após permanência do batom nos lábios em tempos diversos, demonstrou a ocorrência de variações nos espectros obtidos para cada amostra. Constatou-se que o substrato também tem influência na magnitude das alterações, sendo observadas mais modificações nos espectros das deposições na chávena, cigarro e copo de plástico. Embora se observem variações nos espectros das amostras depositadas no lenço de papel ou tecido, estas são pouco relevantes, não afetando a possível identificação da amostra. Os resultados obtidos neste estudo não garantem que a correspondência entre espectros ocorra para todos os casos, visto que podem ocorrer variações de sujeito para sujeito, hábitos alimentares e exposição a outros fatores que podem causar interferências, sendo por isso, um domínio que deve ser estudado com mais detalhe.

O estudo do efeito do envelhecimento da deposição e das condições de armazenamento realizado com recurso a deposições de quatro amostras em dois substratos – lenço de papel e tecido, ao longo de 60 dias, demonstrou a ocorrência de variações mínimas nos espectros obtidos para cada amostra nos dois substratos, não afetando a possível identificação da mesma. Concluiu-se que existe semelhança entre os espectros obtidos das deposições das quatro amostras, deixadas em condições estáveis, até ao terceiro dia de envelhecimento, notando-se maiores diferenças nas bandas a partir do quarto dia. Relativamente aos espectros obtidos das deposições deixadas em condições variáveis, verifica-se que a semelhança acontece até ao segundo dia de envelhecimento, revelando o acelerar das transformações nas bandas dos espectros devido à ocorrência de alterações no ambiente onde a deposição foi armazenada.

A metodologia de pesquisa utilizada também foi validada por testes de amostras cegas. Esta etapa teve como objetivo validar a utilização do método de infravermelhos (FTIR-ATR) em conjunto com a metodologia de pesquisa (HCA) utilizada no estudo atual, como métodos identificativos de amostras desconhecidas. Assim para realizar uma análise mais criteriosa destes resultados procedeu-se à comparação de espectros obtidos da análise de quatro amostras cegas com os espectros da análise direta obtidos ao longo do estudo. Através da construção duma matriz de distâncias verificou-se a seguinte atribuição: amostra cega 1 (C8); amostra cega 2 (A3); amostra cega 3 (A1); amostra cega 4 (D15). A atribuição através do valor mais baixo de distância entre as amostras cegas e todas as amostras do estudo demonstram existir maior semelhança entre esses espectros, no entanto verifica-se que a atribuição correta só se verificou nas duas primeiras amostras cegas. No entanto, no terceiro caso correspondeu ao segundo valor de distância mais baixo e no quarto caso corresponde ao quinto menor valor de distância. Embora existam algumas divergências em algumas

correspondências, a matriz de distâncias é um bom método para realizar a atribuição da amostra origem às amostras cegas analisadas por FTIR-ATR.

Como os batons podem ser encontrados como evidências transferidas em diferentes substratos, a validação do método foi ainda avaliada através da análise de amostras cegas depositadas em substratos. Nesta etapa do estudo, quatro amostras desconhecidas foram depositadas diretamente em três substratos – cigarro, lenço de papel e tecido. Através da comparação das atribuições obtidas da matriz de distâncias com as atribuições reais verificou-se que apenas a deposição da amostra C8 no lenço de papel foi correlacionada corretamente. Estes resultados demonstram que sempre que se encontram evidências de batons transferidos em diferentes substratos, a identificação por análise direta da possível amostra original pode introduzir um erro na análise, devendo sempre ter-se em consideração os substratos onde a amostra foi depositada. Contudo, mais estudos de validação são necessários para ligar as manchas de batom em diferentes substratos à sua fonte inicial de origem, possivelmente com a criação de uma “base de dados” tendo em conta os substratos onde é possível ocorrer deposição.

Este trabalho permitiu concluir que é possível analisar amostras de batons pelo método usado. Para uma verdadeira implementação deste método será necessária a criação de bases de dados de batons com a finalidade de permitir o perfil forense de amostras de batom desconhecidas. Embora essa abordagem possa parecer agradável para a comunidade forense, o custo de desenvolver bases de dados específicos de métodos e a imprevisibilidade nas composições dos batons fazem com que esta proposta pareça uma hipótese longínqua. Contudo, facilitaria muito o trabalho dos analistas a criação de bases de dados compartilhada onde os fabricantes de batons e outros cosméticos pudessem disponibilizar os seus documentos sobre a caracterização, composição e propriedades dos seus produtos; bem como a possibilidade de que esses mesmos fabricantes adicionassem componentes conhecidos em quantidades também conhecidas que serviriam como um identificador único para um produto específico.

## ***REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kumar, S. (2005). Exploratory analysis of global cosmetic industry: major players, technology and market trends. *Technovation*. **25**(11),1263–1272. <https://doi.org/10.1016/j.technovation.2004.07.003>
2. Draelos, Z. (1991). *Cosméticos em dermatologia*. **35**. V. M. F. Artes Médicas: 210 pp.
3. Lopes, C. A. M. (2010). *Cosmética decorativa: caracterização e aspectos tecnológicos* (Monografia para obtenção do grau Licenciada em Ciências Farmacêuticas). Universidade Fernando Pessoa, Porto, Portugal, 93pp. Obtido de <http://hdl.handle.net/10284/1604>
4. Amiralian, L., & Fernandes, C. R. (2017). Produtos Infantis: Maquiagem. *Fundam. da Cosmetol.* **29**,34–37.
5. Arquette, J., Cummings, M., & Reinhardt, J. (1998). *Ésteres de Jojoba em barra de lábios*. **4**. 23–27 pp.
6. Fonseca, A., & Prista, L. N. (1993). *Manual Da Terapêutica Dermatológica e Cosmetologia*. 1ª edição: Roca: São Paulo: 299–368 pp.
7. Jellinek, J. S. (1970). *Formulation and function of cosmetics*. Wiley-Interscience: New York: 428–437 pp.
8. Kirk, R. E., & Othmer, D. F. (1979). *Encyclopedia of chemical technology*. **7**. 3ª edição: Wiley/Interscience: New York: 143–175 pp.
9. Costa, T. L. (2006). *Características Físicas E Físico-Químicas Do Óleo De Duas Cultivares De Mamona* (Dissertação de mestrado em Engenharia Agrícola). Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba, Brasil, 113pp. Obtido de <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/3877>
10. Oliveira, F. F. de. (2003). *Contribuição da análise térmica no desenvolvimento de formulações de batons* (Dissertação de Mestrado em Química). Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 134pp.
11. Majewski, A. (2017). Óleo de Coco e suas propriedades. Obtido 25 de Março de 2021, de <https://www.farmaceuticas.com.br/oleo-de-coco-e-suas-propriedades/>
12. Sousa, T. A. (2018). *Acompanhamento do processo produtivo de batom na salutaris indústria de cosméticos* (Conclusão de Curso de Engenharia Química). Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró,

Brasil, 27pp. Obtido de <http://repositorio.ufersa.edu.br/handle/prefix/3676>

13. Butler, H. (2000). *Poucher's Perfumes, Cosmetics and Soaps*. **3**. 9<sup>a</sup> edição: Chapman & Hall: London: 213–243 pp.
14. Westfall, A. (2015). *Evaluation of the Efficacy of Anthocyanins as Biologically Active Ingredients in Lipstick Formulations* (Tese de doutoramento). The Ohio State University, Ohio, EUA, 135pp.
15. Draeos, Z. D. (2011). *Cosmetics and dermatologic problems and solutions*. 3<sup>a</sup> edição: CRC Press: 292 pp.
16. Atz, V. L. (2008). *Desenvolvimento de Métodos para Determinação de Elementos Traço em Sombra para Área dos Olhos e Batom* (Dissertação da Pós-Graduação em Química). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil, 75pp.
17. Salahioğlu, F., & Went, M. J. (2012). Differentiation of lipsticks by Raman spectroscopy. *Forensic Sci. Int.* **223**(1–3),148–152. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2012.08.018>
18. Choudhry, M. Y. (1991). Comparison of Minute Smears of Lipstick by Microspectrophotometry and Scanning Electron Microscopy/Energy-Dispersive Spectroscopy. *J. Forensic Sci.* **36**(2),366–375. <https://doi.org/10.1520/JFS13039J>
19. Ehara, Y., & Marumo, Y. (1998). Identification of lipstick smears by fluorescence observation and purge-and-trap gas chromatography. *Forensic Sci. Int.* **96**(1),1–10. [https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(98\)00103-0](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(98)00103-0)
20. Betton, C. I. (2007). *Questões Regulatórias Globais para a Indústria de Cosméticos*. **1**. William Andrew: New York.
21. Jin, W., Wang, W.-Y., Zhang, Y.-L., Yang, Y.-J., Chu, Q.-C., & Ye, J.-N. (2013). Determination of phenolic whitening agents in cosmetics by micellar electrokinetic capillary chromatography with amperometric detection. *Chinese Chem. Lett.* **24**(7),636–638. <https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2013.04.023>
22. Sainio, E. L., Henriks, M. L., & Kanerva, L. (2000). *Contact Dermatitis*. **42**.
23. Gondal, M. A., Seddigi, Z. S., Nasr, M. M., & Gondal, B. (2010). Spectroscopic detection of health hazardous contaminants in lipstick using Laser Induced Breakdown Spectroscopy. *J. Hazard. Mater.* **175**(1–3),726–732. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.10.069>
24. Tsalev, D. L., & Zaprianov, Z. K. (1995). *Atomic Absorption Spectrometry in Occupational and*

*Environmental Health Practice*. **3**. CRC Press: 368 pp.

25. Sadao, M. (2002). Intoxicação por chumbo. *Rev. Oxidologia*.
26. Agency for Toxic Substances and Disease Registry . Toxicological profile for lead. Department of Health and Human Services, Public Health Service. (2020). Obtido 23 de Março de 2021, de <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp13.pdf>
27. Araki, S., Sato, H., Yokoyama, K., & Murata, K. (2000). Subclinical neurophysiological effects of lead: A review on peripheral, central, and autonomic nervous system effects in lead workers. *Am. J. Ind. Med.* **37**(2),193–204. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0274\(200002\)37:2<193::AID-AJIM5>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0274(200002)37:2<193::AID-AJIM5>3.0.CO;2-J)
28. Khalil, N., Morrow, L. A., Needleman, H., Talbott, E. O., Wilson, J. W., & Cauley, J. A. (2009). Association of cumulative lead and neurocognitive function in an occupational cohort. *Neuropsychology*. **23**(1),10–19. <https://doi.org/10.1037/a0013757>
29. Minozzo, R., Wagner, S. C., Santos, C. H., Deimling, L. I., & Mello, R. S. (2009). Prevalência de anemia em trabalhadores expostos ocupacionalmente ao chumbo. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* **31**(2),94–97. <https://doi.org/10.1590/S1516-84842009005000018>
30. Zakaria, A., & Ho, Y. Bin. (2015). Heavy metals contamination in lipsticks and their associated health risks to lipstick consumers. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **73**(1),191–195. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.07.005>
31. International Agency for Research in cancer. (1993). *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Beryllium, Cadmium,Mercury and Exposures in the Glass Manufacturing Industry*. **58**. 453 pp.
32. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2007). *Toxicological Profile for Arsenic*. 559 pp.
33. Regulamento (CE) n. o 1223/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 30 de Novembro de 2009 , relativo aos produtos cosméticos. (2009). *Off. J. Eur. Union*.
34. van Ketel, W. G., & Liem, D. H. (1981). Eyelid dermatitis from nickel contaminated cosmetics. *Contact Dermatitis*. **7**(4),217. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.1981.tb04052.x>
35. Gamer, A. O., Leibold, E., & van Ravenzwaay, B. (2006). The in vitro absorption of microfine zinc oxide and titanium dioxide through porcine skin. *Toxicol. Vitr.* **20**(3),301–307. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2005.08.008>

36. Goltz, D. M., Charleton, K., Cloutis, E., Grinberg, P., & Collis, C. (2007). J. Anal. At. Spectrom. **22**,140.
37. Bentlin, F. R. S. (2007). *Desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação de metais e metalóides em tinta* (Dissertação de Mestrado em Química). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 73pp.
38. Hepp, N. M., Mindak, W. R., & Cheng, J. (2009). Determination of total lead in lipstick: Development and validation of a microwave-assisted digestion, inductively coupled plasma–mass spectrometric method. *J. Cosmet. Sci.* **60**(4),405–414.
39. Collasiol, A. (2004). *Extração de mercúrio de solos e sedimentos auxiliada por ultra-som* (Programa de Pós-Graduação em Química). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 57pp.
40. Woelfert, A. (2003). *Introdução à Medicina Legal*. Ulbra.
41. Reddy, L. V. K. (2011). Lip prints: An Overview in Forensic Dentistry. *J. Adv. Dent. Res.* **2**(1),17–20. <https://doi.org/10.1177/2229411220110104>
42. Murkey, P. N., Sutay, S., Khandekar, I. L., Tirpude, B. H., & Pawar, V. G. (2008). Cheiloscopia - Everything in nature is unique. *J. Indian Acad. Forensic Med.* **30**(4),194–197.
43. Prabhu, R., Dinkar, A., & Prabhu, V. (2010). Collection of lip prints as a forensic evidence at the crime scene - an insight. *J. Oral Heal. Res.* **1**(4),129–135.
44. Caldas, I. M., Magalhães, T., & Afonso, A. (2007). Establishing identity using cheiloscopia and palatoscopia. *Forensic Sci. Int.* **165**(1),1–9. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.04.010>
45. Pueyo, V., Garrido, B., & Sánchez, J. (1994). *Odontología Legal y Forense*. Masson.
46. Mishra, G., Ranganathan, K., & Saraswathi, T. (2009). Study of lip prints. *J. Forensic Dent. Sci.* **1**(1),28–31. <https://doi.org/10.4103/0974-2948.50885>
47. Sharma, P., Saxena, S., & Rathod, V. (2009). Cheiloscopia: The study of lip prints in sex identification. *J. Forensic Dent. Sci.* **1**(1),24–27. <https://doi.org/10.4103/0974-2948.50884>
48. Sharma, P., Saxena, S., & Rathod, V. (2009). Comparative reliability of cheiloscopia and palatoscopia in human identification. *Indian J. Dent. Res.* **20**(4),453–457. <https://doi.org/10.4103/0970-9290.59451>
49. Goonerathne, I. (2011). Establishing Lip Print Analysis/Cheiloscopia in Sri Lanka and it's Forensic Use. *Sri Lanka J. Forensic Med. Sci. Law.* **1**(1),28–29.



<https://doi.org/10.4038/sljfmsl.v1i1.2714>

50. Maheswari, T. N. U., & Gnanasundaram, N. (2011). Role of Lip prints in Personal Identification and criminalization. *J. Forensic Med. Toxicol.* **12**(1),4.
51. Dhanapal, R., Reena, K., Saraswathi, T., Ramachandran, C., & Nagasupriya, A. (2011). Patterns - «A crime solver». *J. Forensic Dent. Sci.* **3**(1),3–7. <https://doi.org/10.4103/0975-1475.85282>
52. Narang, R. S., Arora, P. C., & Randhawa, K. (2011). Cheiloscopy as an aid to forensic methodology. *Indian J. Compr. Dent. Care.* **1**(1),57–60.
53. Singh, H., Chhikara, P., & Singroha, R. (2011). Lip prints as evidence. *J. Punjab Acad. Forensic Med. Toxicol.* **11**(1),23–25.
54. Costa, V. A., & Caldas, I. M. (2012). Morphologic Patterns of Lip Prints in a Portuguese Population: A Preliminary Analysis. *J. Forensic Sci.* **57**(5),1318–1322. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2012.02118.x>
55. Utsuno, H., Kanoh, T., Tadokoro, O., & Inoue, K. (2005). Preliminary study of post mortem identification using lip prints. *Forensic Sci. Int.* **149**(2–3),129–132. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2004.05.013>
56. Sharma, P., Gupta, N., & Saxena, S. (2010). Experimental studies of forensic odontology to aid in the identification process. *J. Forensic Dent. Sci.* **2**(2),69–76. <https://doi.org/10.4103/0975-1475.81285>
57. Pereira, C. (2012). *Medicina Dentária Forense*. Lidel: Lisboa.
58. Seguí, M. A., Feucht, M. M., Ponce, A. C., & Pascual, F. A. V. (2000). Persistent lipsticks and their lip prints: new hidden evidence at the crime scene. *Forensic Sci. Int.* **112**(1),41–47. [https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(00\)00173-0](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(00)00173-0)
59. Castelló, A., Álvarez, M., Miquel, M., & Verdú, F. A. (2002). Long-lasting lipsticks and latent prints. *Forensic Sci Communic.* **4**(2).
60. Fisher, B. A. J., & Fisher, D. R. (1992). *Techniques of Crime Scene Investigation (Forensic and Police Science)*. Elsevier: New York.
61. Chauhan, S., Arora, A. S., & Kaul, A. (2010). A survey of emerging biometric modalities. *Procedia Comput. Sci.* **2**,213–218. <https://doi.org/10.1016/j.procs.2010.11.027>
62. Domiaty, M. A. El, Al-gaidi, S. A., Elayat, A. A., Safwat, M. D. E., & Galal, S. A. (2010).

Morphological patterns of lip prints in Saudi Arabia at Almadinah Almonawarah province. *Forensic Sci. Int.* **200**(1–3),179.e1-179.e9. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.03.042>

63. Vahanwala, S., Nayak, C., & Pagare, S. (2005). Study of Lip-Prints as Aid for sex Determination. *Medico-legal Updat.* **5**(3),93–98.

64. Gondivkar, S., Indurkar, A., Degwekar, S., & Bhowate, R. (2009). Cheiloscopy for sex determination. *J. Forensic Dent. Sci.* **1**(2),56–60. <https://doi.org/10.4103/0974-2948.60374>

65. Chugh, A., & Narwal, A. (2017). Oral mark in the application of an individual identification: From ashes to truth. *J. Forensic Dent. Sci.* **9**(2),51–55. [https://doi.org/10.4103/jfo.jfds\\_103\\_15](https://doi.org/10.4103/jfo.jfds_103_15)

66. Karim, B., & Gupta, D. (2014). Cheiloscopy and blood groups: Aid in forensic identification. *Saudi Dent. J.* **26**(4),176–180. <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2014.05.005>

67. Verma, Y., Einstein, A., Gondhalekar, R., Verma, A., George, J., Chandra, S., ... Samadi, F. (2015). A study of lip prints and its reliability as a forensic tool. *Natl. J. Maxillofac. Surg.* **6**(1),25–30. <https://doi.org/10.4103/0975-5950.168227>

68. Multani, S., Surana, P., Thombre, V., & Thombre, A. (2014). Assessment of lip print patterns and its use for personal identification among the populations of Rajnandgaon, Chhattisgarh, India. *J. Int. Soc. Prev. Community Dent.* **4**(3),170–174. <https://doi.org/10.4103/2231-0762.142018>

69. Ranganathan, K., Joshua, E., Selvajothi, P., Lavanya, C., & Rao, U. (2014). Awareness of forensic odontology among legal professionals, Chennai, India. *N. Am. J. Med. Sci.* **6**(11),553–557. <https://doi.org/10.4103/1947-2714.145459>

70. Kaul, R., Padmashree, S., Shilpa, P., Sultana, N., & Bhat, S. (2015). Cheiloscopic patterns in Indian population and their efficacy in sex determination: A randomized cross-sectional study. *J. Forensic Dent. Sci.* **7**(2),101–106. <https://doi.org/10.4103/0975-1475.156192>

71. Kumar, L., Jayaraman, V., Mathew, P., Ramasamy, S., & Austin, R. (2016). Reliability of lip prints in personal identification: An inter-racial pilot study. *J. Forensic Dent. Sci.* **8**(3),178. <https://doi.org/10.4103/0975-1475.195115>

72. Brian, J. R., & Forrest, J. F. (1996). Forensic Chemical Analysis of Lipstick. *John wesley powell student Res. Conf.*

73. Webb, L. G., Egan, S. E., & Turbett, G. R. (2001). Recovery of DNA for Forensic Analysis from Lip Cosmetics. *J. Forensic Sci.* **46**(6),1474–1479. <https://doi.org/10.1520/JFS15174J>

74. Engebretson, A., & Besemann, D. M. (2007). Forensic Lipstick Analysis Using Chemical Fingerprinting via Gas Chromatography. *J. Minnesota Acad. Sci.*
75. Russell, L. W., & Welch, A. E. (1984). Analysis of lipsticks. *Forensic Sci Int.* **25**,105–116.
76. Reuland, D. J., & Trinler, W. A. (1984). A Comparison of Lipstick Smears by High Performance Liquid Chromatography. Part II. The Effects of Wear-Time and Subject on the Chromatograms. *J. Forensic Sci. Soc.* **24**(5),509–518. [https://doi.org/10.1016/S0015-7368\(84\)72330-9](https://doi.org/10.1016/S0015-7368(84)72330-9)
77. Cho, L., & Hsui, K. C. (2006). *Analysis of lipstick smears by ATR micro spectroscopy.*
78. Andrasko, J. (1981). Forensic analysis of lipsticks. *Forensic Sci. Int.* **17**,235–251.
79. Misra, G., & Mittal, V. K. (2004). Neutron Activation Analysis of Lipsticks Using  $\gamma$ -Ray Spectrometry. *J. Appl. Spectrosc.* **71**,270–274.
80. Scalia, S., & Simeoni, S. (2001). Assay of xanthene dyes in lipsticks by inverse supercritical fluid extraction and HPLC. *Chromatographia.* **53**(9–10),490–494. <https://doi.org/10.1007/BF02491609>
81. Challinor, J. M. (1996). A rapid simple pyrolysis derivatisation gas chromatography-mass spectrometry method for profiling of fatty acids in trace quantities of lipids. *J. Anal. Appl. Pyrolysis.* **37**(2),185–197. [https://doi.org/10.1016/0165-2370\(96\)00946-1](https://doi.org/10.1016/0165-2370(96)00946-1)
82. Lucas, D. M., & Eijgelaar, G. (1961). An evaluation of a technique for the examination of lipstick smears. *J. Forensic Sci.* **6**(3),354–362.
83. Marchena, J. P. (2020). El uso de cosméticos como evidencia forense. *Rev. Ciencias la Univ. Pablo Olavide.* (36),37–41.
84. Chopi, R., Sharma, S., Sharma, S., & Singh, R. (2019). Trends in the forensic analysis of cosmetic evidence. *Forensic Chem.* **14**,100165. <https://doi.org/10.1016/j.forc.2019.100165>
85. Barker, A. M. L., & Clarke, P. D. B. (1972). Examination of Small Quantities of Lipsticks. *J. Forensic Sci. Soc.* **12**(3),449–451. [https://doi.org/10.1016/S0015-7368\(72\)70712-4](https://doi.org/10.1016/S0015-7368(72)70712-4)
86. Deshusses, J., & Desbaumes, P. (1953). Identification of dyes from lipsticks by paper chromatography. *Mitt Leb. Heluntersuchung Hyg.* **44**(6),500–507.
87. Gagliardi, L., Cavazzutti, G., Amato, A., Basili, A., & Tonelli, D. (1987). Identification of cosmetic dyes by ion-pair reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*

A. **394**(2),345–352. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)94186-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)94186-X)

88. Gordon, A., & Coulson, S. (2004). The Evidential Value of Cosmetic Foundation Smears in Forensic Casework. *J. Forensic Sci.* **49**(6),1–9. <https://doi.org/10.1520/JFS2004176>

89. Vítek, P., Ali, E. M. A., Edwards, H. G. M., Jehlička, J., Cox, R., & Page, K. (2012). Evaluation of portable Raman spectrometer with 1064nm excitation for geological and forensic applications. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **86**,320–327. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2011.10.043>

90. Salahioğlu, F., Went, M. J., & Gibson, S. J. (2013). Application of Raman spectroscopy for the differentiation of lipstick traces. *Anal. Methods.* **5**(20),5392–5401. <https://doi.org/10.1039/c3ay41274a>

91. Stuart, B. H. (2004). *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, UK. <https://doi.org/10.1002/0470011149>

92. Chalmers, J. M., Edwards, H. G. M., & Hargreaves, M. D. (2012). *Infrared and Raman Spectroscopy in Forensic Science*. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, UK. <https://doi.org/10.1002/9781119962328>

93. Gauglitz, G., & Vo-Dinh, T. (2003). *Handbook of Spectroscopy*. Wiley. <https://doi.org/10.1002/3527602305>

94. Coates, J. P. (2010). *Process Analytical Technology: Spectroscopic Tools and Implementation Strategies for the Chemical and Pharmaceutical Industries*. 2ª edição: Oxford: Blackwell Publishing Ltd: 91–132 pp.

95. Khan, J. I., Kennedy, T. J., & Christian, D. R. (2012). *Basic Principles of Forensic Chemistry*. Humana Press.

96. Silverstein, R. M., & Bassler, G. C. (1962). Spectrometric identification of organic compounds. *J. Chem. Educ.* **39**(11),546. <https://doi.org/10.1021/ed039p546>

97. Gomes, T. F. R. (2015). *Análise de toners remanufaturados por espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier (FTIR)* (Dissertação apresentada para provas de Mestrado em Química Forense). Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal, 117pp.

98. Sharma, S. P., & Lahiri, S. C. (2009). A preliminary investigation into the use of FTIR microscopy as a probe for the identification of bullet entrance holes and the distance of firing. *Sci. Justice.* **49**(3),197–204. <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2008.07.002>

99. Zhang, J., Li, B., Wang, Q., Wei, X., Feng, W., Chen, Y., ... Wang, Z. (2017). Application of Fourier transform infrared spectroscopy with chemometrics on postmortem interval estimation based on pericardial fluids. *Sci. Rep.* **7**(1),18013. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18228-7>
100. Zhang, J., Li, B., Wang, Q., Li, C., Zhang, Y., Lin, H., & Wang, Z. (2017). Characterization of postmortem biochemical changes in rabbit plasma using ATR-FTIR combined with chemometrics: A preliminary study. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **173**,733–739. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2016.10.041>
101. López-López, M., Ferrando, J. L., & García-Ruiz, C. (2012). Comparative analysis of smokeless gunpowders by Fourier transform infrared and Raman spectroscopy. *Anal. Chim. Acta.* **717**,92–99. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.12.022>
102. Mou, Y., Lakadwar, J., & Rabalais, J. W. (2008). Evaluation of Shooting Distance by AFM and FTIR/ATR Analysis of GSR. *J. Forensic Sci.* **53**,1381–1386. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2008.00854.x>
103. Ng, P. H. R., Walker, S., Tahtouh, M., & Reedy, B. (2009). Detection of illicit substances in fingerprints by infrared spectral imaging. *Anal. Bioanal. Chem.* **394**(8),2039–2048. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-2806-9>
104. Banas, K., Banas, A., Moser, H. O., Bahou, M., Li, W., Yang, P., ... Lim, S. K. (2010). Multivariate Analysis Techniques in the Forensics Investigation of the Postblast Residues by Means of Fourier Transform-Infrared Spectroscopy. *Anal. Chem.* **82**(7),3038–3044. <https://doi.org/10.1021/ac100115r>
105. Bottegal, M., Lang, L., Miller, M., & McCord, B. (2010). Analysis of ascorbic acid based black powder substitutes by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **24**(9),1377–1386. <https://doi.org/10.1002/rcm.4520>
106. Skoog, D. A., Holler, F. J., & Nieman, T. A. (2009). *Princípios de Análise Instrumental*. 6ª edição: Bookman.
107. Sharma, S., Sahota, S. S., & Garg, R. K. (2016). Investigation on the aged lip-gloss stains by TLC and FT-IR. *Int. J. Med. Toxicol. Leg. Med.* **19**(1–2),36–41.
108. Gładysz, M., Król, M., & Kościelniak, P. (2017). Differentiation of red lipsticks using the attenuated total reflection technique supported by two chemometric methods. *Forensic Sci. Int.*

280,130–138. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2017.09.019>

109. Kulikov, E. (2003). *Spectroscopic Analysis and Characterisation of Cosmetic Powders* (Tese de doutoramento). RMIT- University Melbourne City Campus, Austrália, 206pp.

110. Rohman, A., & Che Man, Y. B. (2011). Analysis of lard in cream cosmetics formulations using FT-IR Spectroscopy and chemometrics. *Middle-East J. Sci. Res.* **7**(5),726–732.

111. Zhang, C., Guo, S., & Huang, C. (2011). Determination of Compositions in Cosmetics by Multiple-Instrument. *Am. J. Anal. Chem.* **2**(8),857–862. <https://doi.org/10.4236/ajac.2011.28098>

112. Mai, H., Yang, Y., Abuduresule, I., Li, W., Hu, X., & Wang, C. (2016). Characterization of cosmetic sticks at Xiaohe Cemetery in early Bronze age Xinjiang, China. *Sci. Rep.* **6**,1–9.

113. Gamberini, M. C., Baraldi, C., Palazzoli, F., Ribechini, E., & Baraldi, P. (2008). MicroRaman and infrared spectroscopic characterization of ancient cosmetics. *Vib. Spectrosc.* **47**(2),82–90. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2008.02.005>

114. Atitar, M. F., Belhadj, H., Dillert, R., & Bahnem, D. W. (2015). The Relevance of ATR-FTIR Spectroscopy in Semiconductor Photocatalysis. Em *Emerg. Pollut. Environ. - Curr. Furth. Implic.* (pp. 202–227). InTech. <https://doi.org/10.5772/60887>

115. Silva, C. S. (2017). *Espectroscopia no Infravermelho para Aplicações Forenses: documentoscopia e identificação de sêmen em tecidos* (Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação). Universidade Federal de Pernambuco, Brasil, 141pp.

116. Lee, L. C., Liong, C.-Y., & Jemain, A. A. (2017). A contemporary review on Data Preprocessing (DP) practice strategy in ATR-FTIR spectrum. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **163**,64–75. <https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2017.02.008>

117. Hayes, P. A., Vahur, S., & Leito, I. (2014). ATR-FTIR spectroscopy and quantitative multivariate analysis of paints and coating materials. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **133**,207–213. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.05.058>

118. Dirwono, W., Park, J. S., Agustin-Camacho, M. R., Kim, J., Park, H.-M., Lee, Y., & Lee, K.-B. (2010). Application of micro-attenuated total reflectance FTIR spectroscopy in the forensic study of questioned documents involving red seal inks. *Forensic Sci. Int.* **199**(1–3),6–8. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.02.009>

119. Peets, P., Leito, I., Pelt, J., & Vahur, S. (2017). Identification and classification of textile fibres using ATR-FT-IR spectroscopy with chemometric methods. *Spectrochim. Acta Part A Mol.*

*Biomol. Spectrosc.* **173**,175–181. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2016.09.007>

120. Bueno, J., Sikirzhytski, V., & Lednev, I. K. (2013). Attenuated Total Reflectance-FT-IR Spectroscopy for Gunshot Residue Analysis: Potential for Ammunition Determination. *Anal. Chem.* **85**(15),7287–7294. <https://doi.org/10.1021/ac4011843>

121. Aziz, M. E., Jaleeli, K. A., & Ahmad, A. (2017). FTIR Spectroscopic Analysis of Keratinised Tissue – The Hair. *Int. J. Sci. Eng. Technol.* **6**(3),105–107.

122. Rodrigues, N. V. S., Cardoso, E. M., Andrade, M. V. O., Donnici, C. L., & Sena, M. M. (2013). Analysis of Seized Cocaine Samples by using Chemometric Methods and FTIR Spectroscopy. *J. Braz. Chem. Soc.* **24**,507–517. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20130066>

123. Gasteiger, J., & Engel, T. (2003). *Chemoinformatics*. Wiley. <https://doi.org/10.1002/3527601643>

124. Wold, S. (1995). Chemometrics; what do we mean with it, and what do we want from it? *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **30**(1),109–115. [https://doi.org/10.1016/0169-7439\(95\)00042-9](https://doi.org/10.1016/0169-7439(95)00042-9)

125. Salles, M. O., Bertotti, M., & Paixão, T. R. L. C. (2012). Use of a gold microelectrode for discrimination of gunshot residues. *Sensors Actuators B Chem.* **166–167**,848–852. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.02.097>

126. Brereton, R. G. (2003). *Chemometrics*. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, UK. <https://doi.org/10.1002/0470863242>

127. Bro, R., & Smilde, A. K. (2014). Principal component analysis. *Anal. Methods.* **6**(9),2812–2831. <https://doi.org/10.1039/C3AY41907J>

128. Pharmacopeia, E. (2017). *Chemometric methods applied to analytical data*. 9ª edição: Council of Europe.

129. Ghazali, F. M., & Ismail, D. (2018). Forensic discrimination of lipstick smears using Attenuated Total Reflectance-Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) Spectroscopy with chemometrics techniques. *Int. J. Med. Sci.* **3**(1),48–52.

130. Chopi, R., Sharma, S., & Singh, R. (2020). Forensic analysis of red lipsticks using ATR-FTIR spectroscopy and chemometrics. *Forensic Chem.* **17**,100209. <https://doi.org/10.1016/j.forc.2019.100209>

131. Wong, J. X. W., Sauzier, G., & Lewis, S. W. (2019). Forensic discrimination of lipsticks using

visible and attenuated total reflectance infrared spectroscopy. *Forensic Sci. Int.* **298**,88–96. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2019.02.044>

132. Kaur, K., Yadav, P. K., Bumbrah, G. S., & Sharma, R. M. (2020). Forensic classification of lipsticks using attenuated total reflectance – Fourier transform infrared (ATR-FTIR) spectroscopy. *Vib. Spectrosc.* **110**,103146. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2020.103146>

133. Gladysz, M., Król, M., Chudecka, A., & Kościelniak, P. (2020). Application of spectroscopic and separation techniques to the examination of the chemical composition stability of lipsticks exposed to various factors and storage conditions. *Forensic Sci. Int.* **309**,110230. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2020.110230>

134. Supmuang, P. (2006). *Analysis of lipsticks by ATR FT-IR microspectroscopy* (Dissertação de mestrado). Chulalongkorn University, Tailândia, 136pp.

135. Sharma, V., Bharti, A., & Kumar, R. (2019). On the spectroscopic investigation of lipstick stains: Forensic trace evidence. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **215**,48–57. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2019.02.093>

136. Pasieczna-Patkowska, S., & Olejnik, T. (2014). Analysis of Cosmetic Products Using Different IR Spectroscopy Techniques. *Ann. UMCS, Chem.* **68**(1–2),95–106. <https://doi.org/10.2478/umcschem-2013-0008>

137. Belurkar, R. S., & Yadawe, M. S. (2017). Analysis of Heavy Metals in Lipstick by the Various PhysioChemical and Instrumental Methods. *IOSR J. Appl. Chem.* **10**(07),01–06. <https://doi.org/10.9790/5736-1007010106>

138. Smalldon, K. W., & Moffat, A. C. (1973). The Calculation of Discriminating Power for a Series of Correlated Attributes. *J. Forensic Sci. Soc.* **13**(4),291–295. [https://doi.org/10.1016/S0015-7368\(73\)70828-8](https://doi.org/10.1016/S0015-7368(73)70828-8)



***ANEXOS***

## Anexo A: Otimização do método de análise (FTIR-ATR)

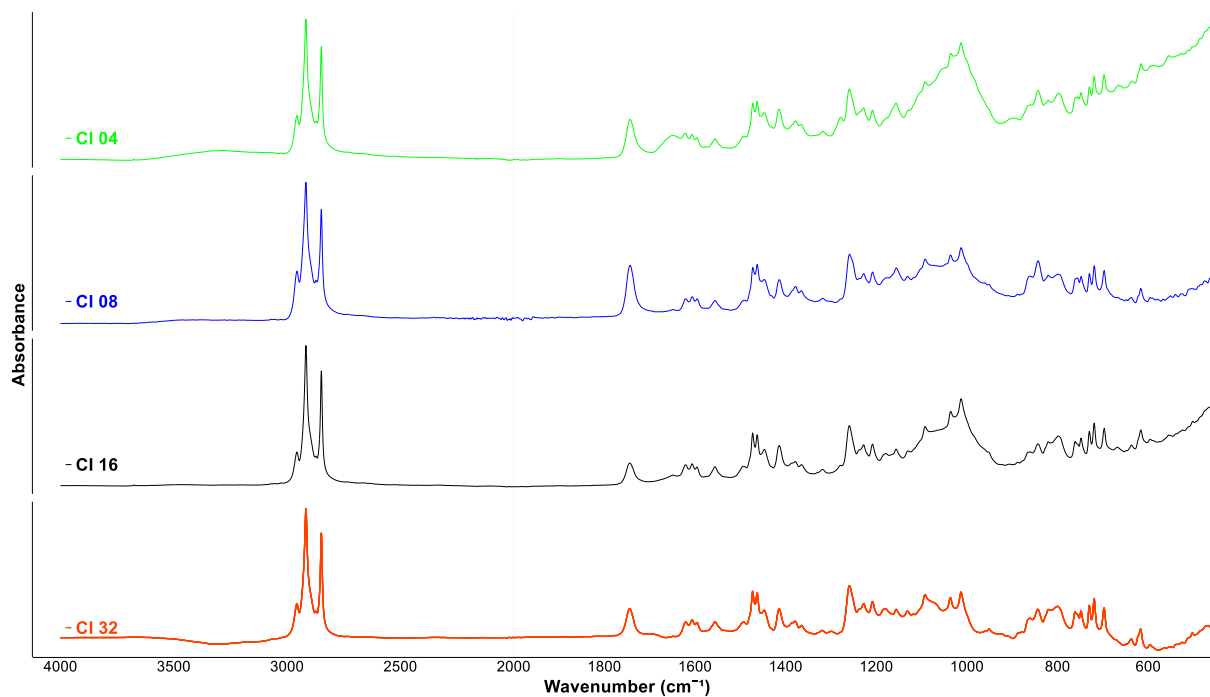


Figura A1. Espectros FTIR-ATR obtidos através da deposição da amostra A1 no cigarro (CI) com variação do número de varrimentos: 4 (verde), 8 (azul), 16 (preto), 32 (vermelho)

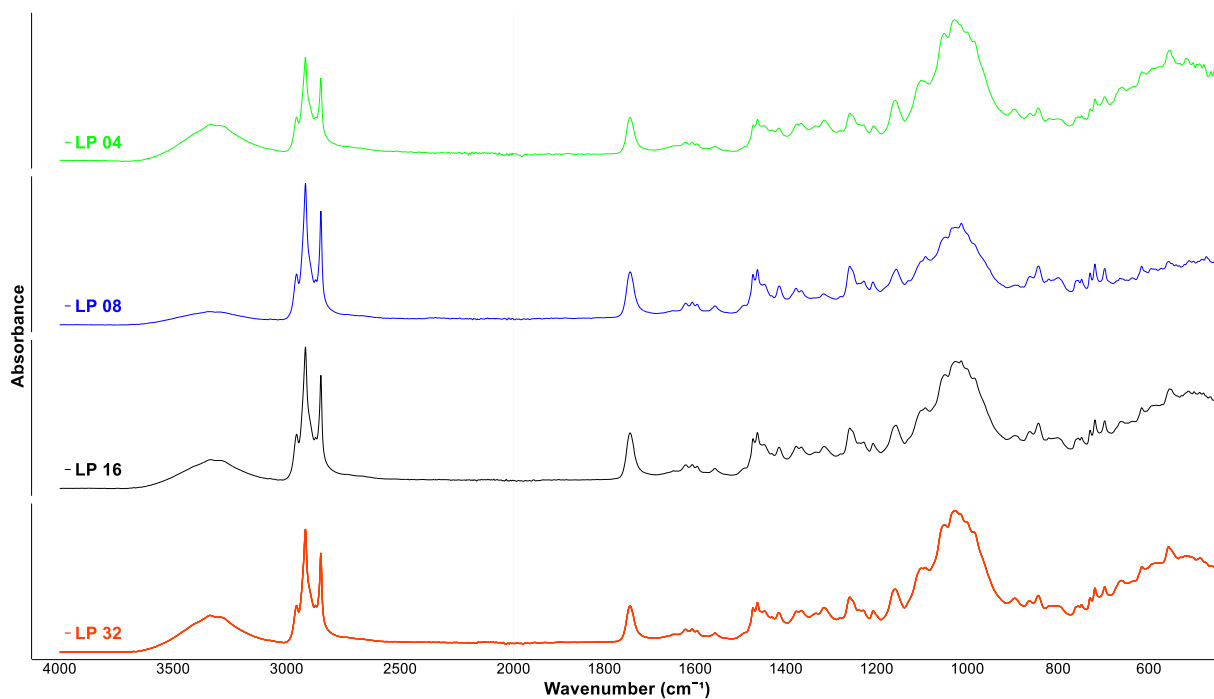


Figura A2. Espectros FTIR-ATR obtidos através da deposição da amostra A1 no lenço de papel (LP) com variação do número de varrimentos: 4 (verde), 8 (azul), 16 (preto), 32 (vermelho)

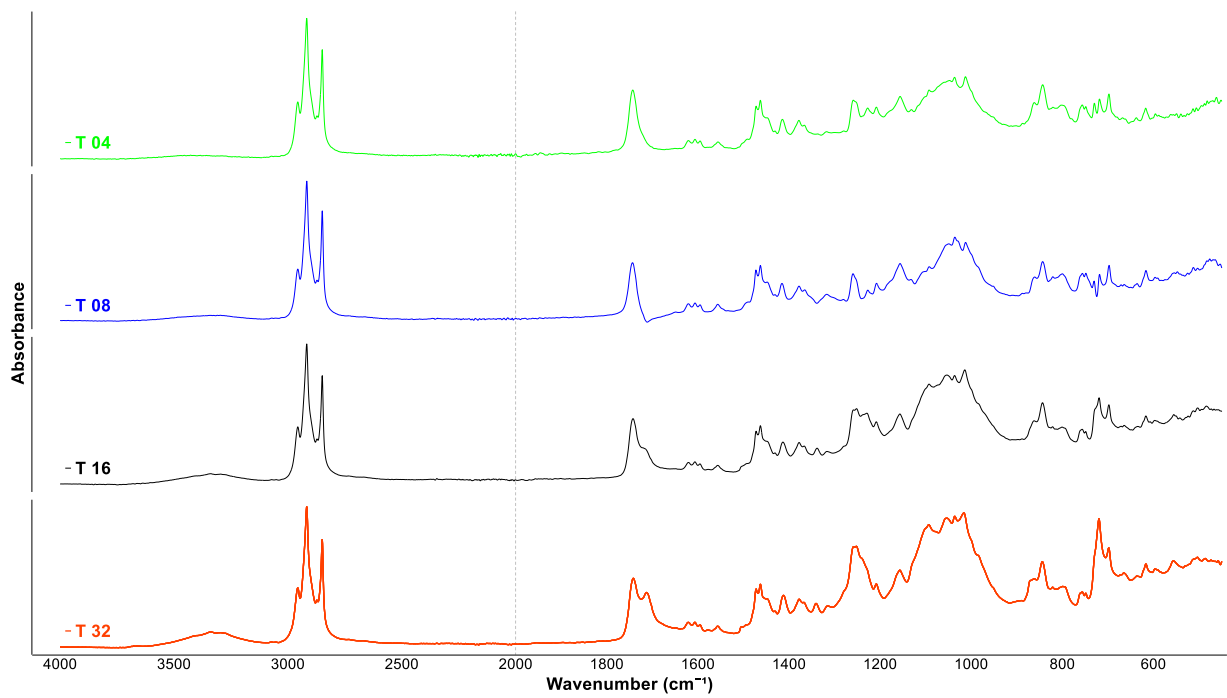


Figura A3. Espectros FTIR-ATR obtidos através da deposição da amostra A1 no tecido (T) com variação do número de varrimentos: 4 (verde), 8 (azul), 16 (preto), 32 (vermelho)

## Anexo B: Pré-processamento dos espectros das amostras A1-A5

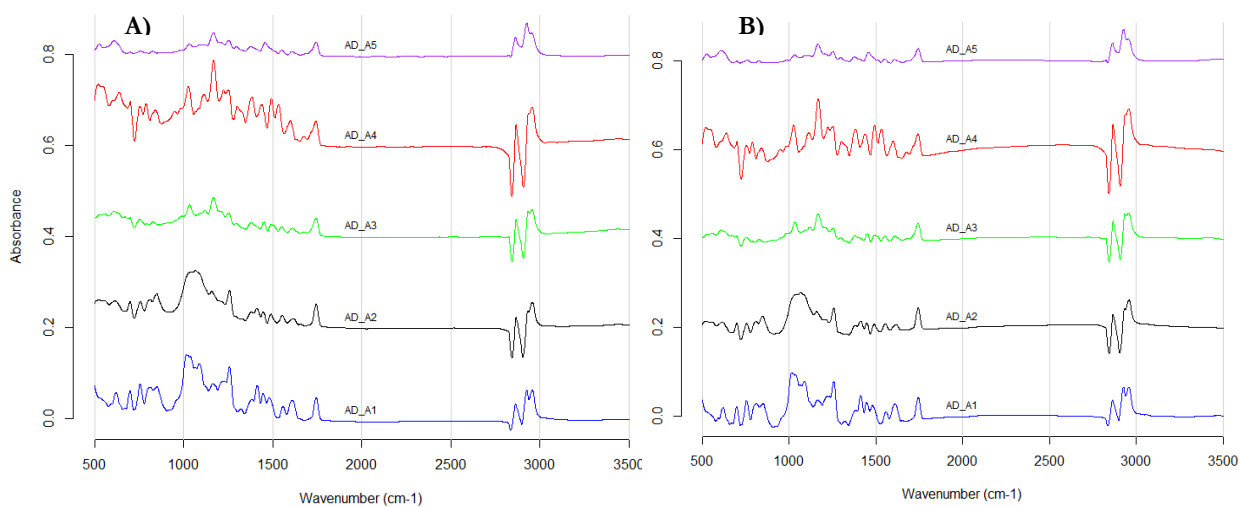


Figura B1. Espectros das cinco amostras da marca A obtidos da análise direta dos batons: após corte do espectro e redução do ruído (A) e após corte do espectro, redução do ruído e ajuste da linha de base (B)

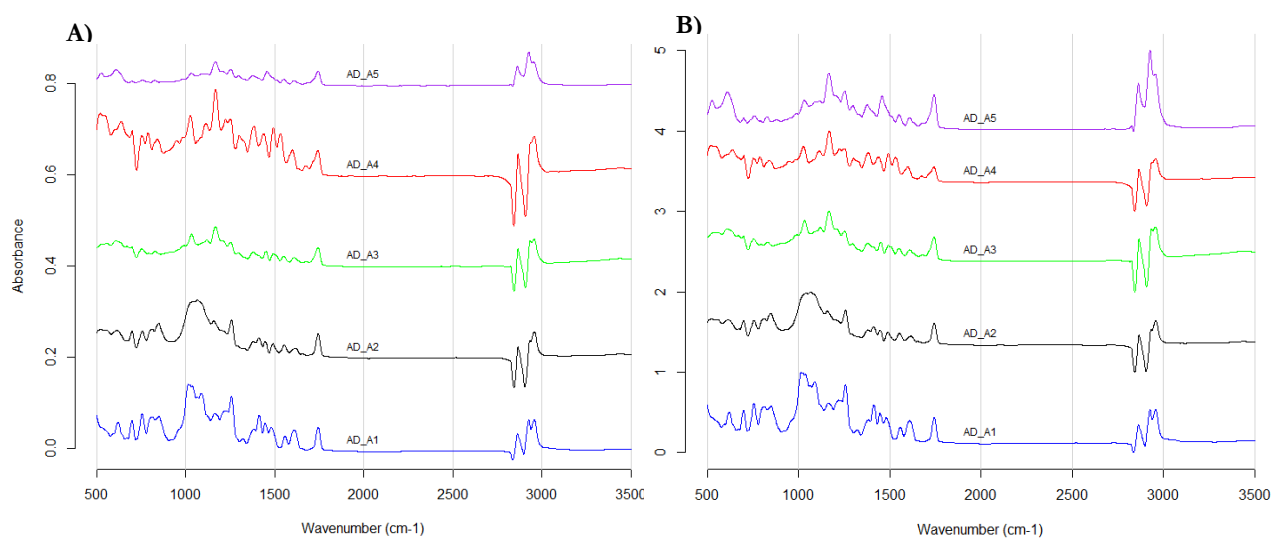


Figura B2. Espectros das cinco amostras da marca A obtidos da análise direta dos batons: após corte do espectro e redução do ruído (A) e após corte do espectro, redução do ruído e normalização (B)

A)	AD_A1	AD_A2	AD_A3	AD_A4	AD_A5
AD_A1	0.00000000	0.05683022	0.14362211	0.15259264	0.2633792
AD_A2	0.05683022	0.00000000	0.06842977	0.09551927	0.3544068
AD_A3	0.14362211	0.06842977	0.00000000	0.04212700	0.2738811
AD_A4	0.15259264	0.09551927	0.04212700	0.00000000	0.3095961
AD_A5	0.26337923	0.35440684	0.27388114	0.30959612	0.0000000

B)	AD_A1	AD_A2	AD_A3	AD_A4	AD_A5
AD_A1	0.00000000	0.05013442	0.12610075	0.13735839	0.2560914
AD_A2	0.05013442	0.00000000	0.06528406	0.09146823	0.3562755
AD_A3	0.12610075	0.06528406	0.00000000	0.03841757	0.2733818
AD_A4	0.13735839	0.09146823	0.03841757	0.00000000	0.3076743
AD_A5	0.25609136	0.35627549	0.27338177	0.30767428	0.0000000

C)	AD_A1	AD_A2	AD_A3	AD_A4	AD_A5
AD_A1	0.00000000	0.05876274	0.14580894	0.16003970	0.2669550
AD_A2	0.05876274	0.00000000	0.06960676	0.10013828	0.3593164
AD_A3	0.14580894	0.06960676	0.00000000	0.04226797	0.2715686
AD_A4	0.16003970	0.10013828	0.04226797	0.00000000	0.3115805
AD_A5	0.26695501	0.35931641	0.27156863	0.31158048	0.0000000

D)	AD_A1	AD_A2	AD_A3	AD_A4	AD_A5
AD_A1	0.00000000	0.1565357	0.4046105	0.4874088	0.3990395
AD_A2	0.1565357	0.00000000	0.2092509	0.3458744	0.5326913
AD_A3	0.4046105	0.2092509	0.00000000	0.1299086	0.3528585
AD_A4	0.4874088	0.3458744	0.1299086	0.00000000	0.4503937
AD_A5	0.3990395	0.5326913	0.3528585	0.4503937	0.0000000

E)	AD_A1	AD_A2	AD_A3	AD_A4	AD_A5
AD_A1	0.00000000	0.050545601	0.077479749	0.068084851	0.1055438
AD_A2	0.05054560	0.000000000	0.005304182	0.006104082	0.1647260
AD_A3	0.07747975	0.005304182	0.000000000	0.002979304	0.1685323
AD_A4	0.06808485	0.006104082	0.002979304	0.000000000	0.1610305
AD_A5	0.10554379	0.164725956	0.168532263	0.161030521	0.0000000

Figura B3. Matrizes de distâncias entre as amostras da marca A: Iniciais (A), com redução espectral para 3500-500 cm-1 (B), após redução do ruído (C), com ajuste da linha de base (D) e após normalização entre 0 e 1 (E)

## Anexo C: Espectros das quinze amostras do estudo com identificação de bandas

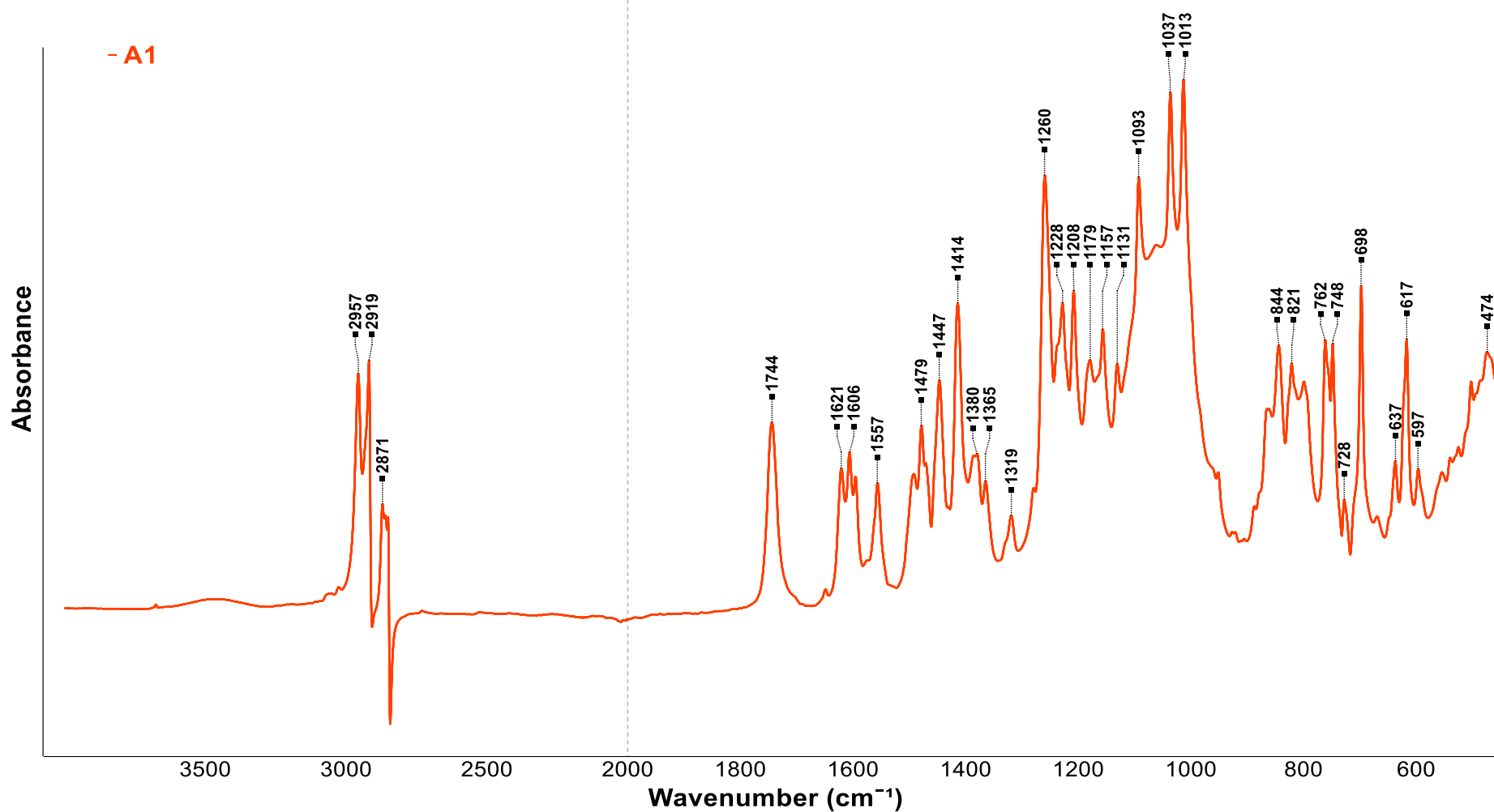


Figura C1. Espectros resultantes da análise direta da amostra A1 com identificação das bandas características

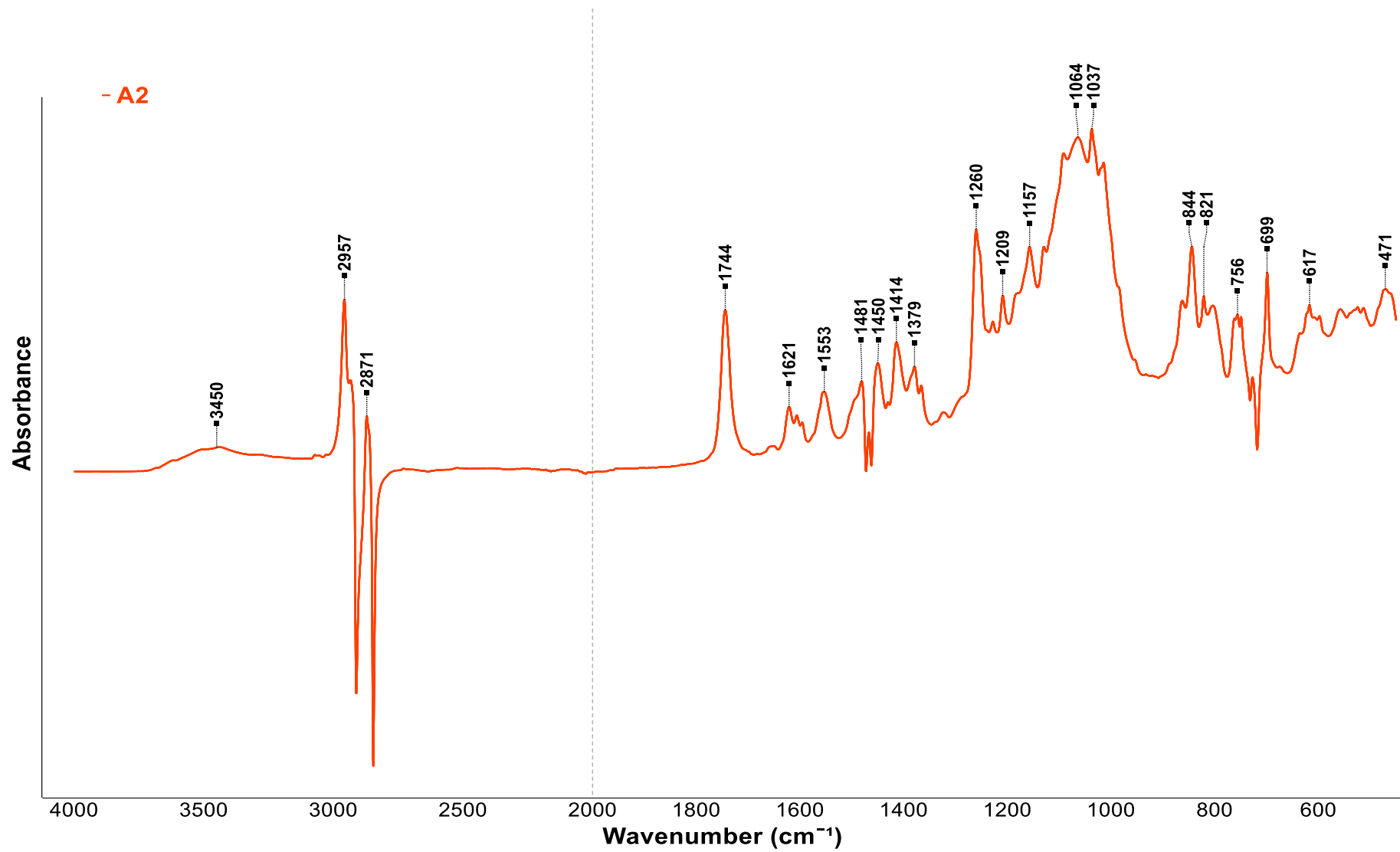


Figura C2. Espectros resultantes da análise direta da amostra A2 com identificação das bandas características

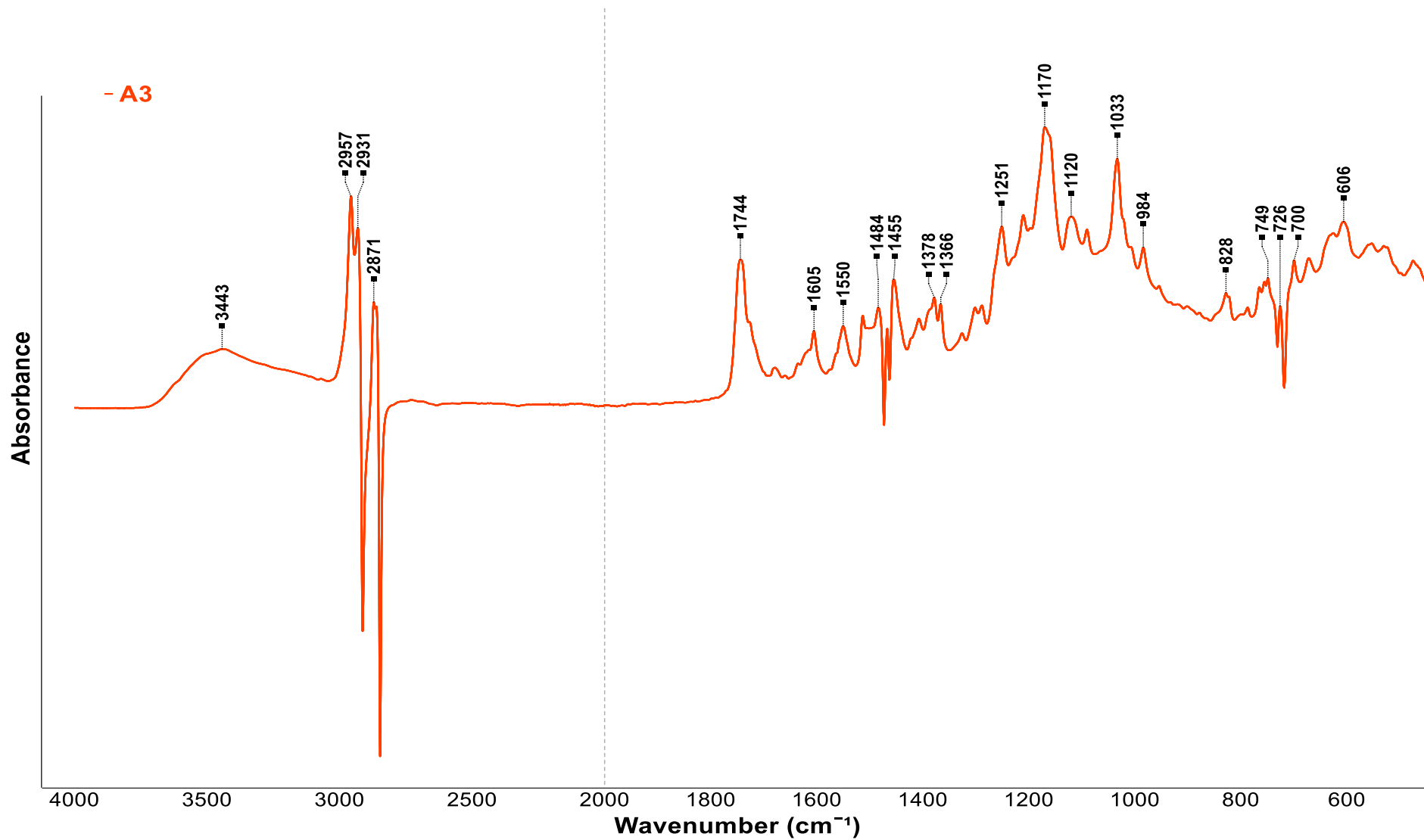


Figura C3. Espectros resultantes da análise direta da amostra A3 com identificação das bandas características



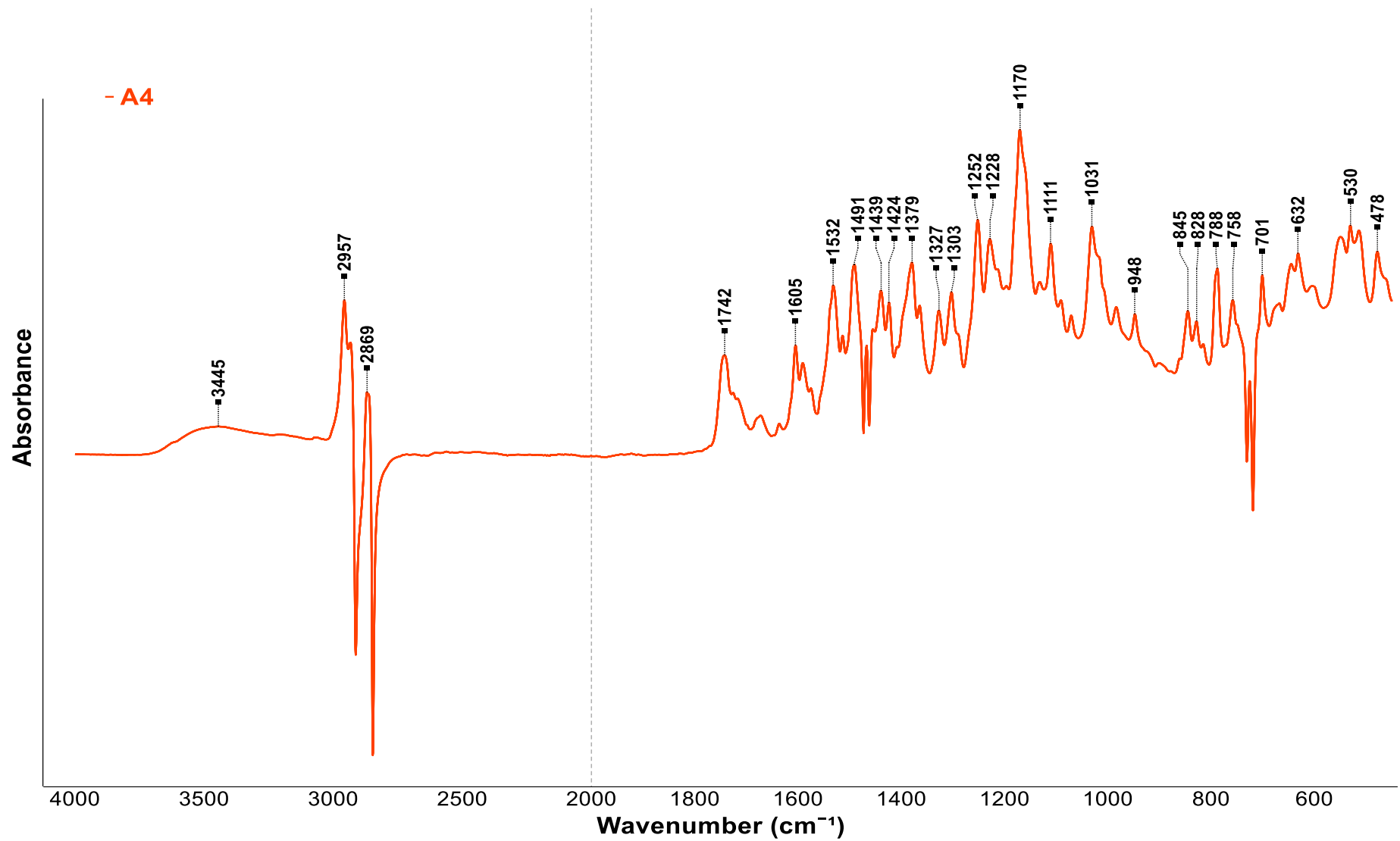


Figura C4. Espectros resultantes da análise direta da amostra A4 com identificação das bandas características

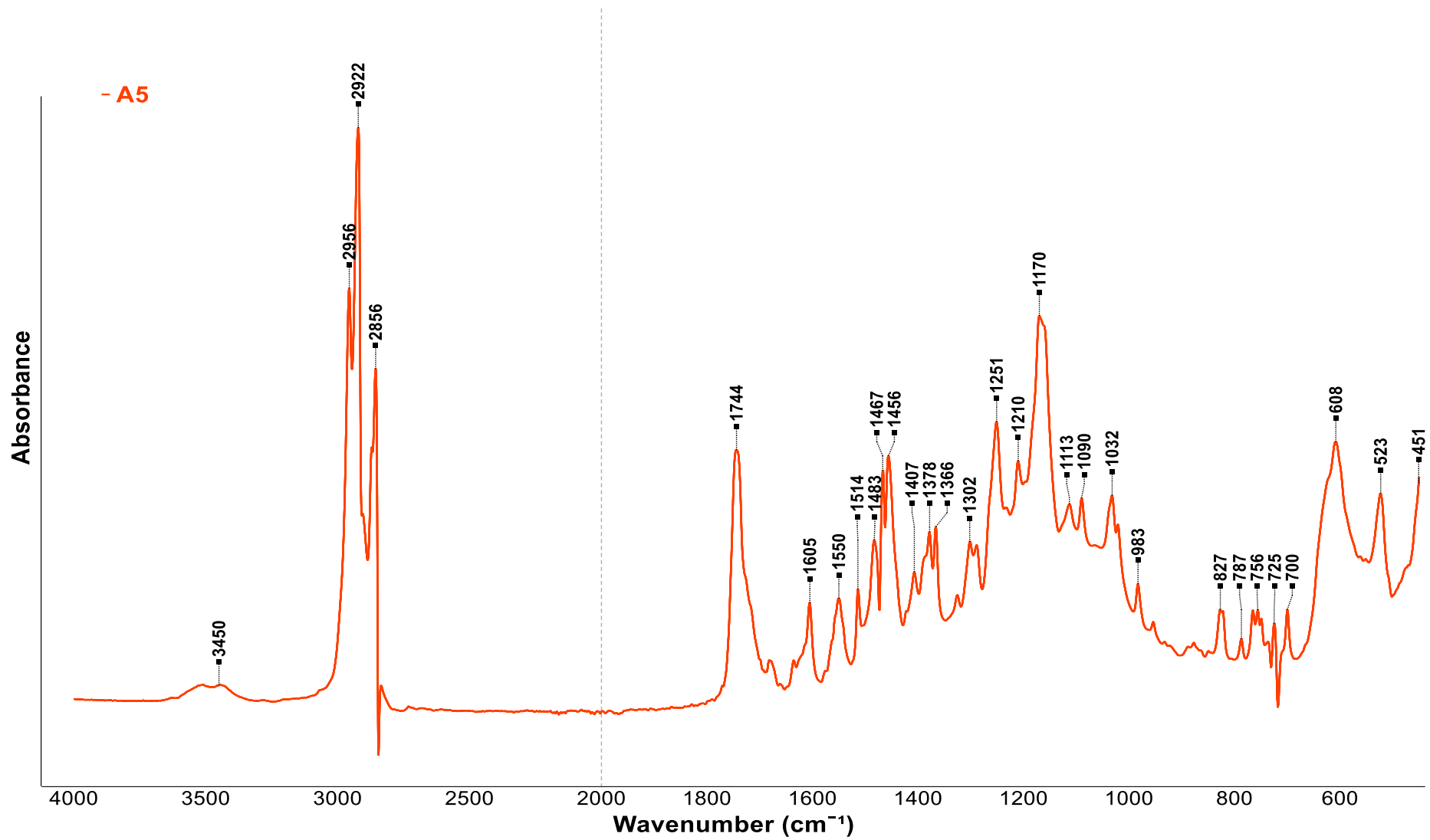


Figura C5. Espectros resultantes da análise direta da amostra A5 com identificação das bandas características

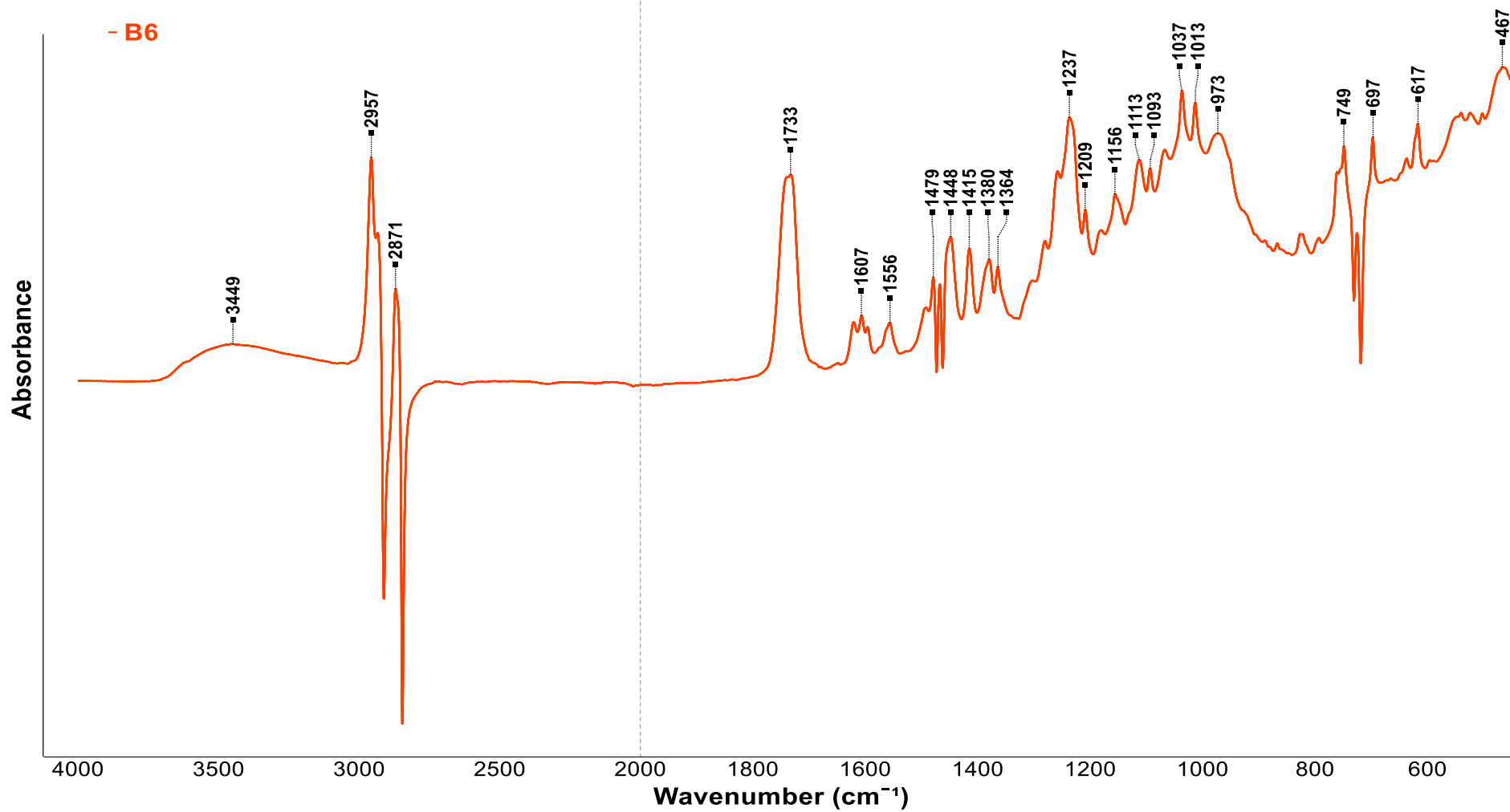


Figura C6. Espectros resultantes da análise direta da amostra B6 com identificação das bandas características

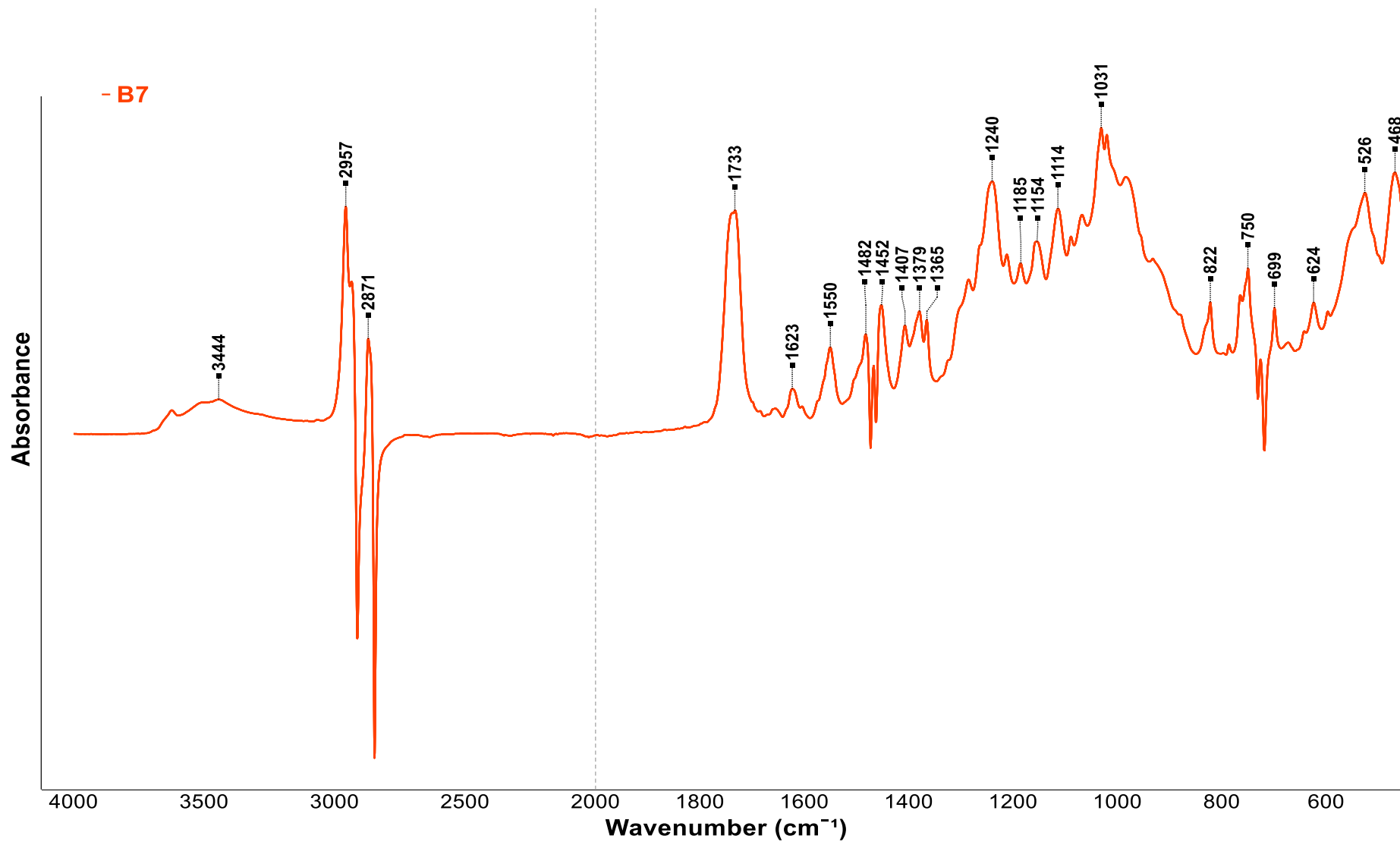


Figura C7. Espectros resultantes da análise direta da amostra B7 com identificação das bandas características

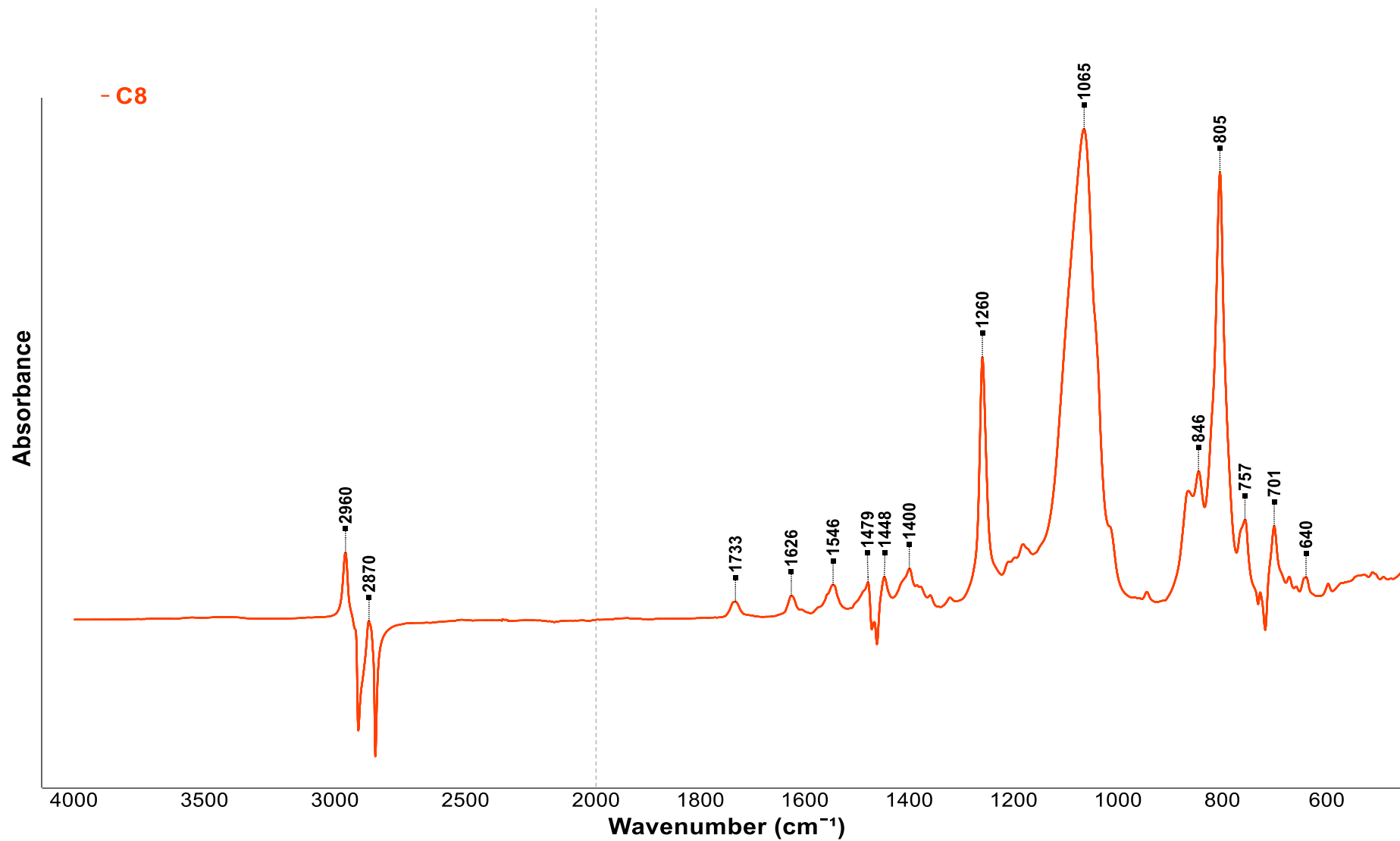


Figura C8. Espectros resultantes da análise direta da amostra C8 com identificação das bandas características

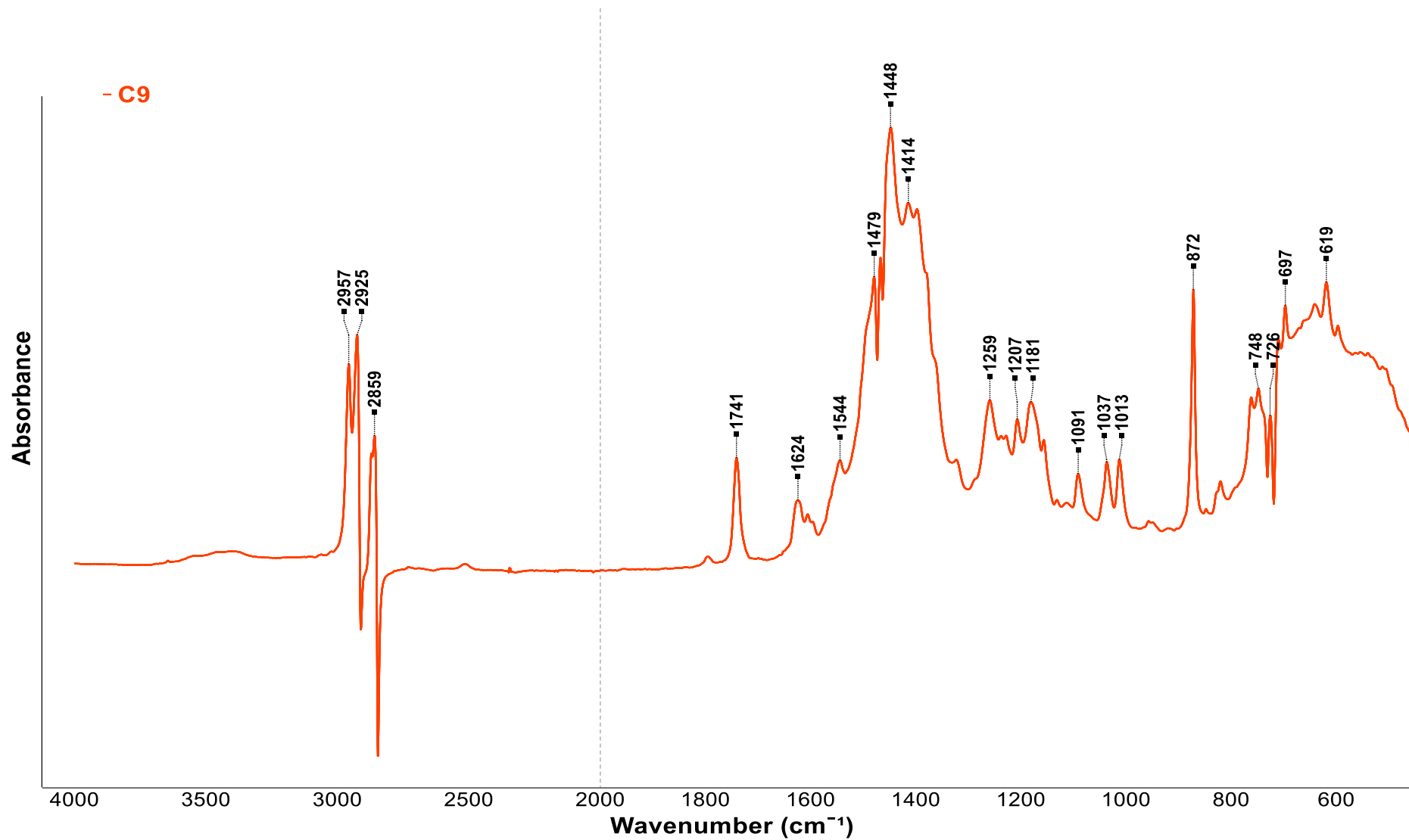


Figura C9. Espectros resultantes da análise direta da amostra C9 com identificação das bandas características

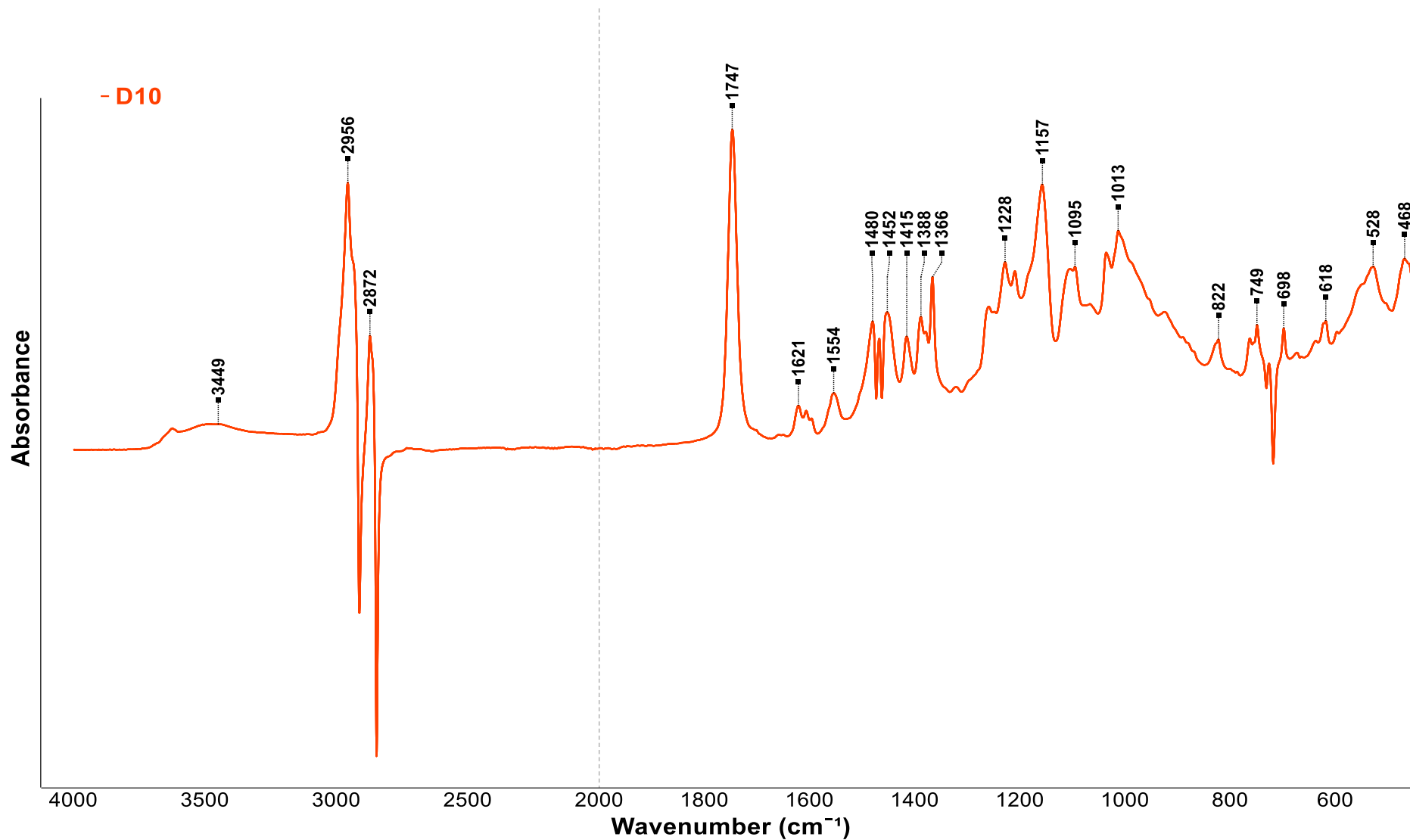


Figura C10. Espectros resultantes da análise direta da amostra D10 com identificação das bandas características

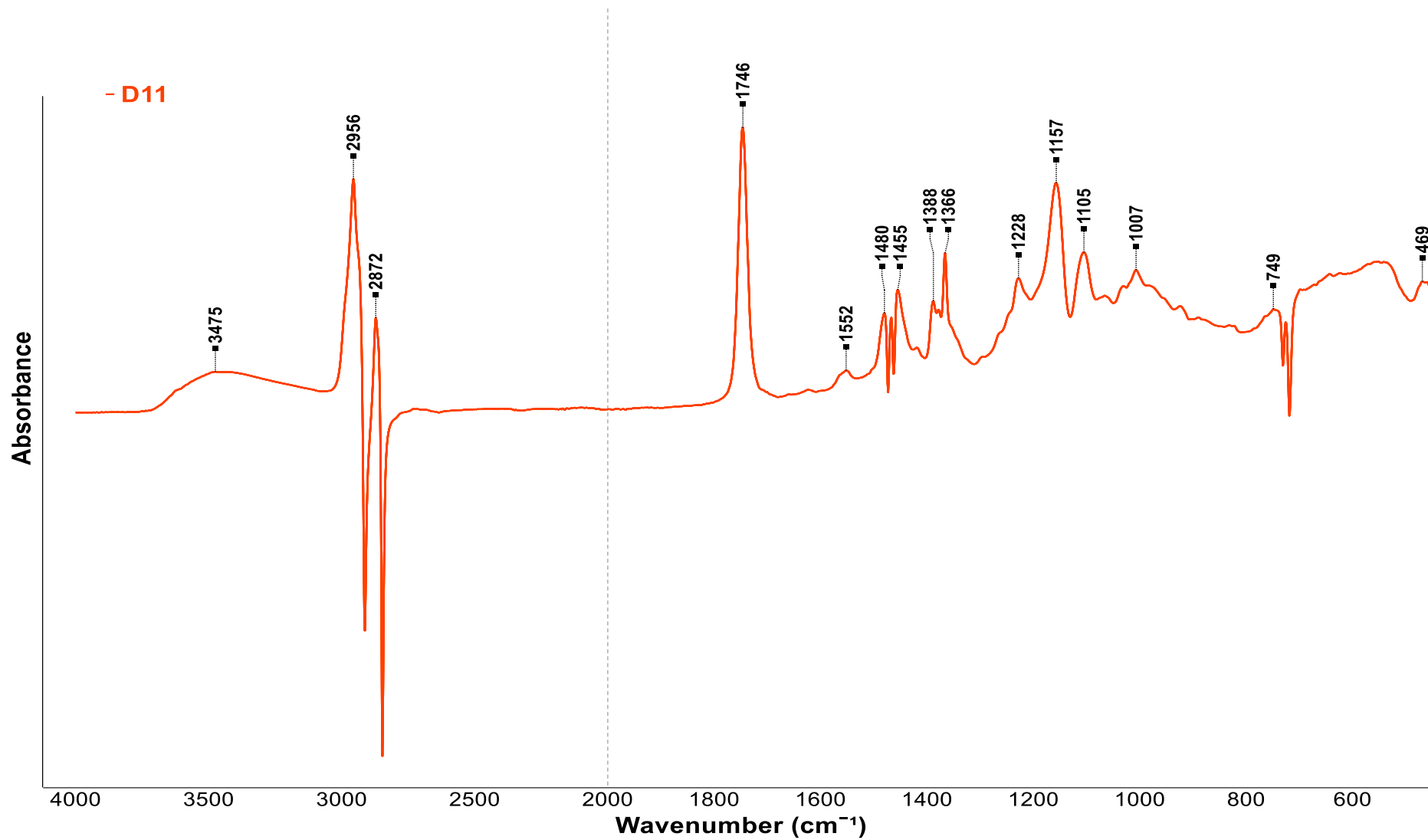


Figura C11. Espectros resultantes da análise direta da amostra D11 com identificação das bandas características



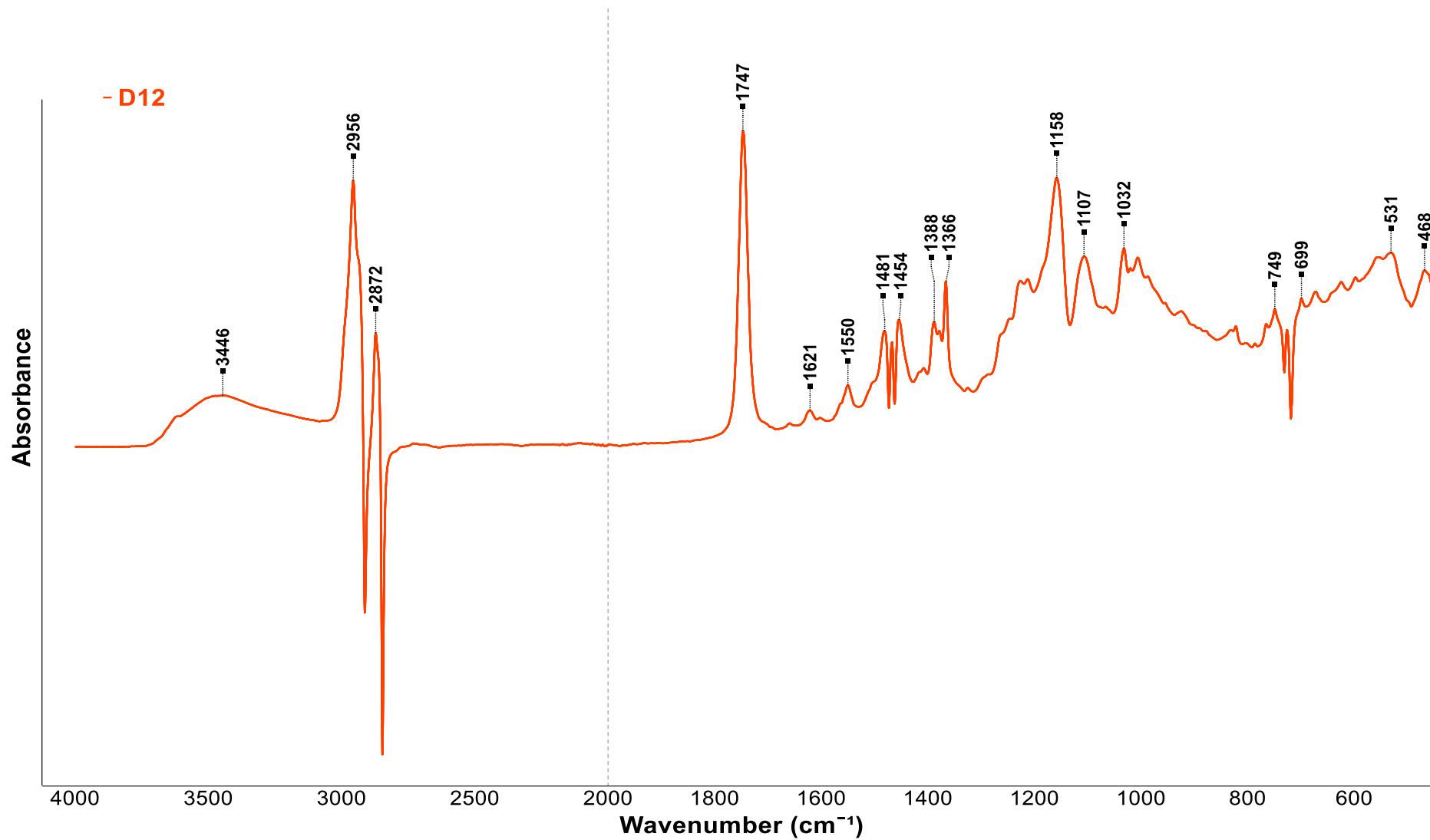


Figura C12. Espectros resultantes da análise direta da amostra D12 com identificação das bandas características

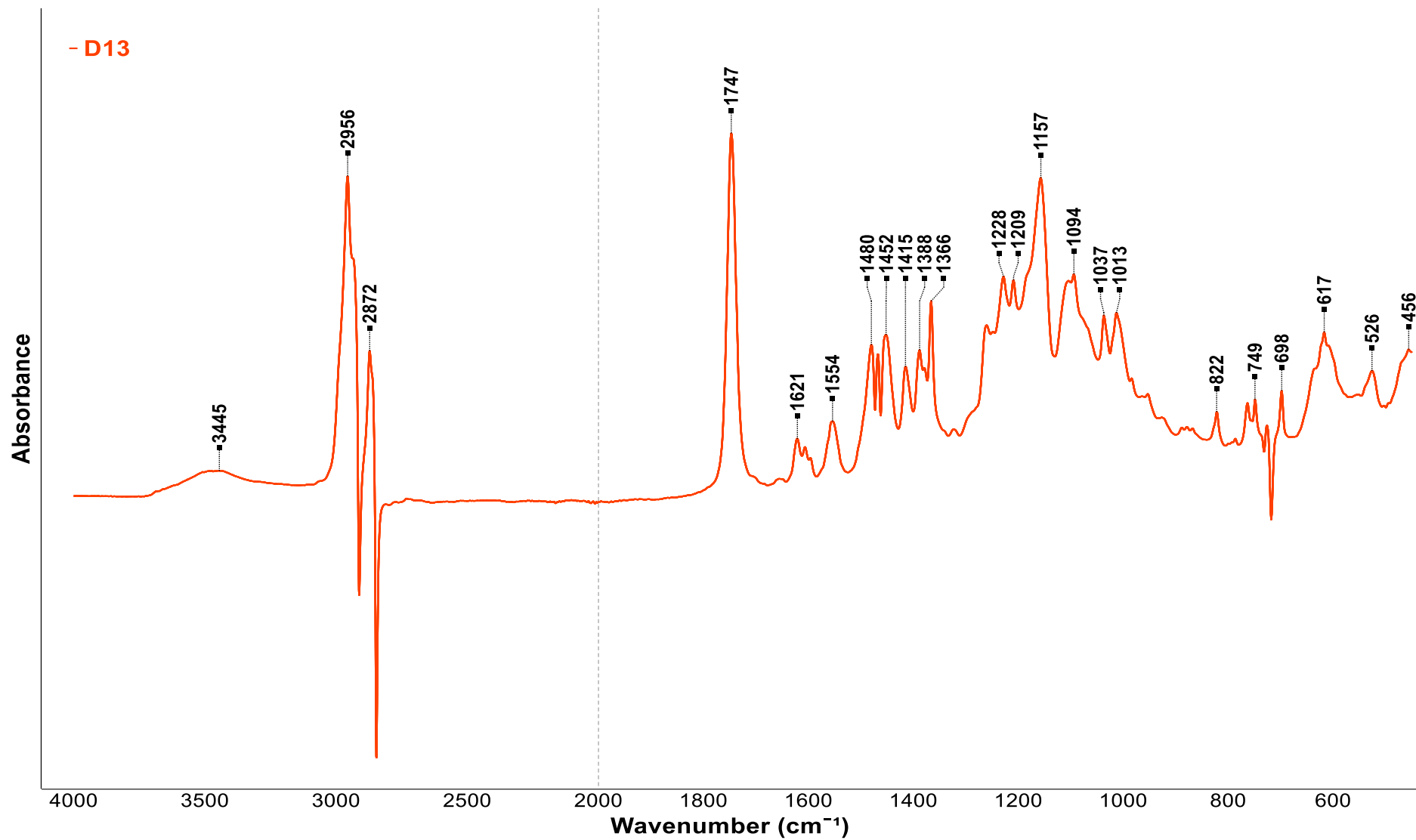


Figura C13. Espectros resultantes da análise direta da amostra D13 com identificação das bandas características

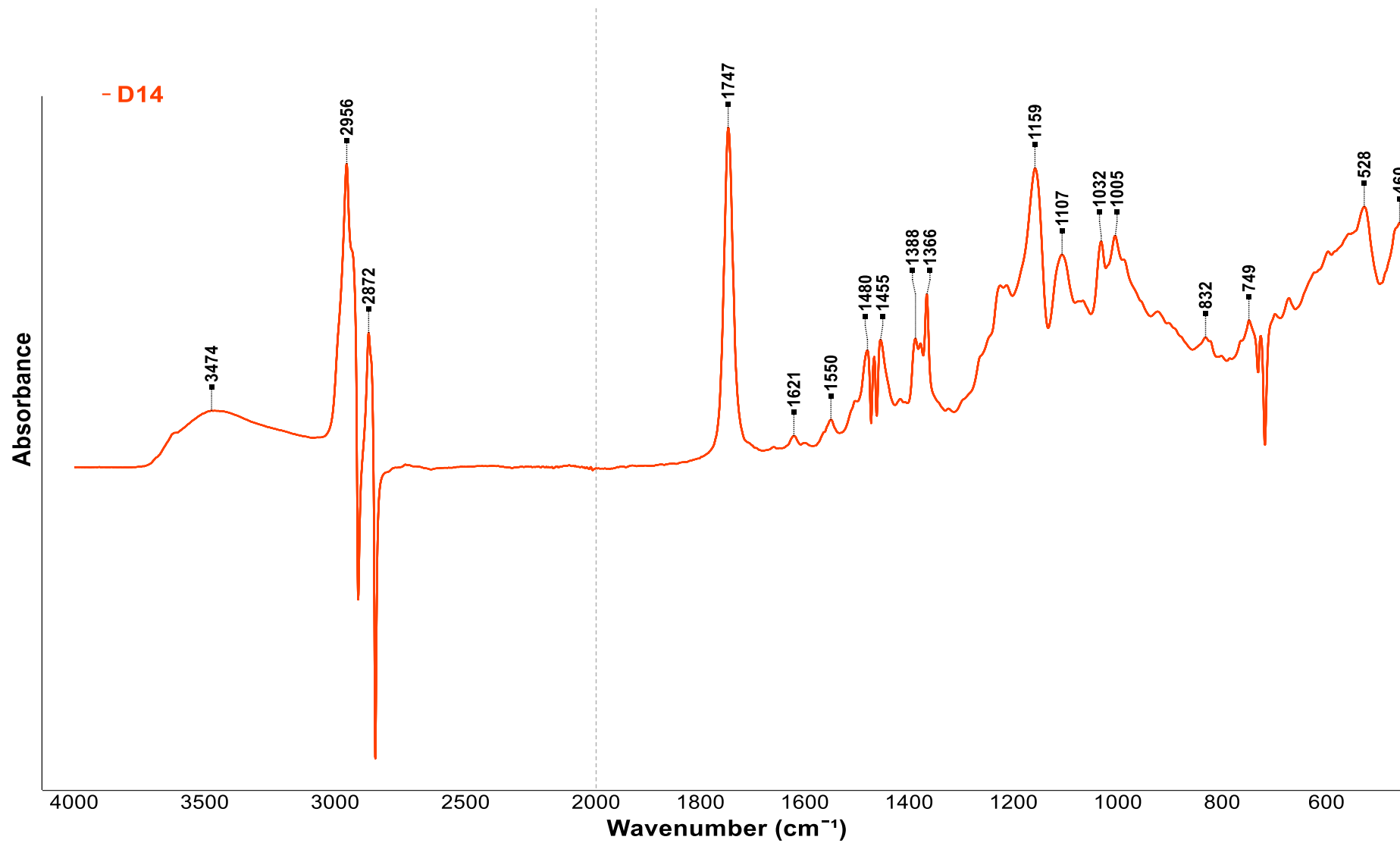


Figura C14. Espectros resultantes da análise direta da amostra D14 com identificação das bandas características

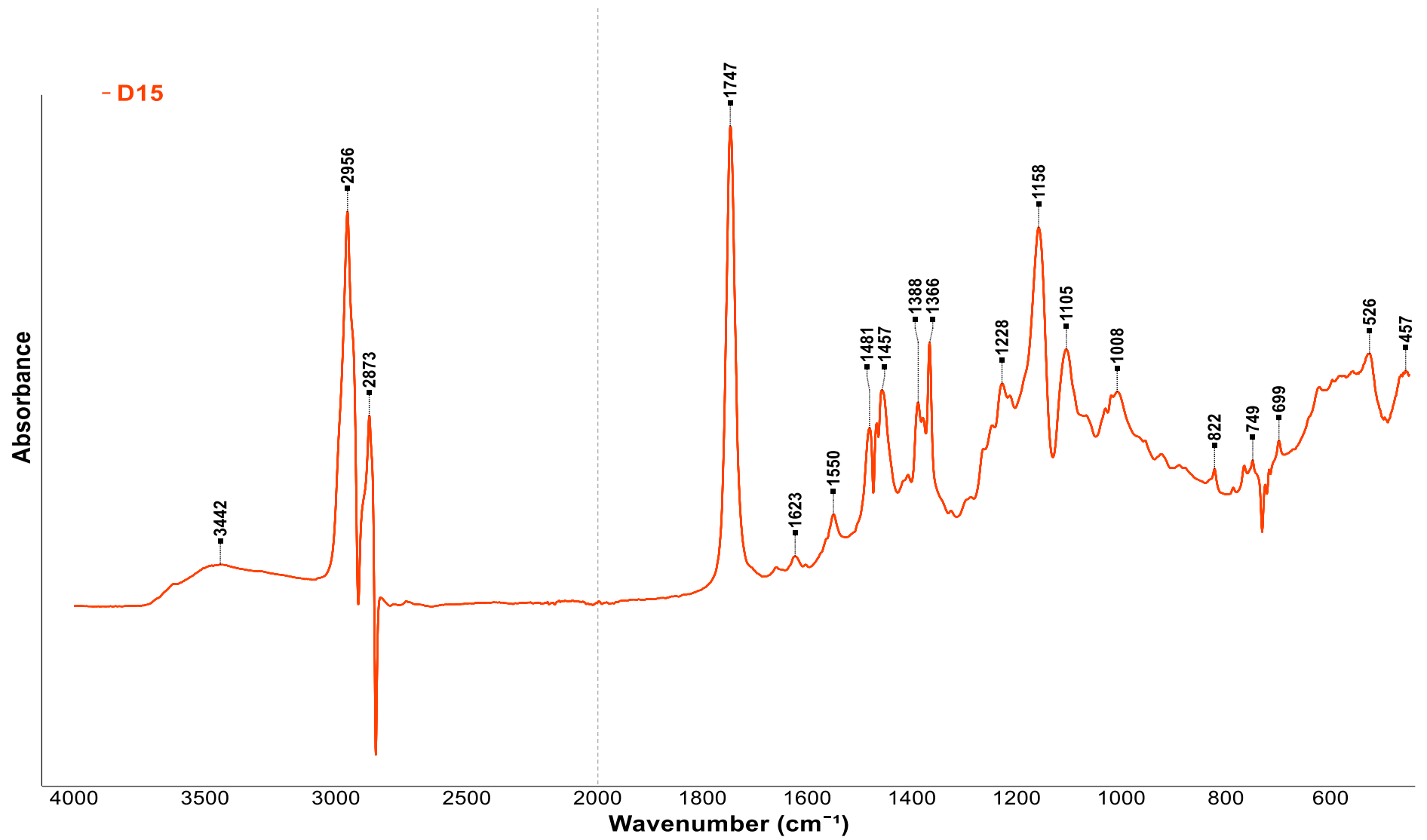


Figura C15. Espectros resultantes da análise direta da amostra D15 com identificação das bandas características

## Anexo D: Espectros obtidos da análise direta das quinze amostras do estudo

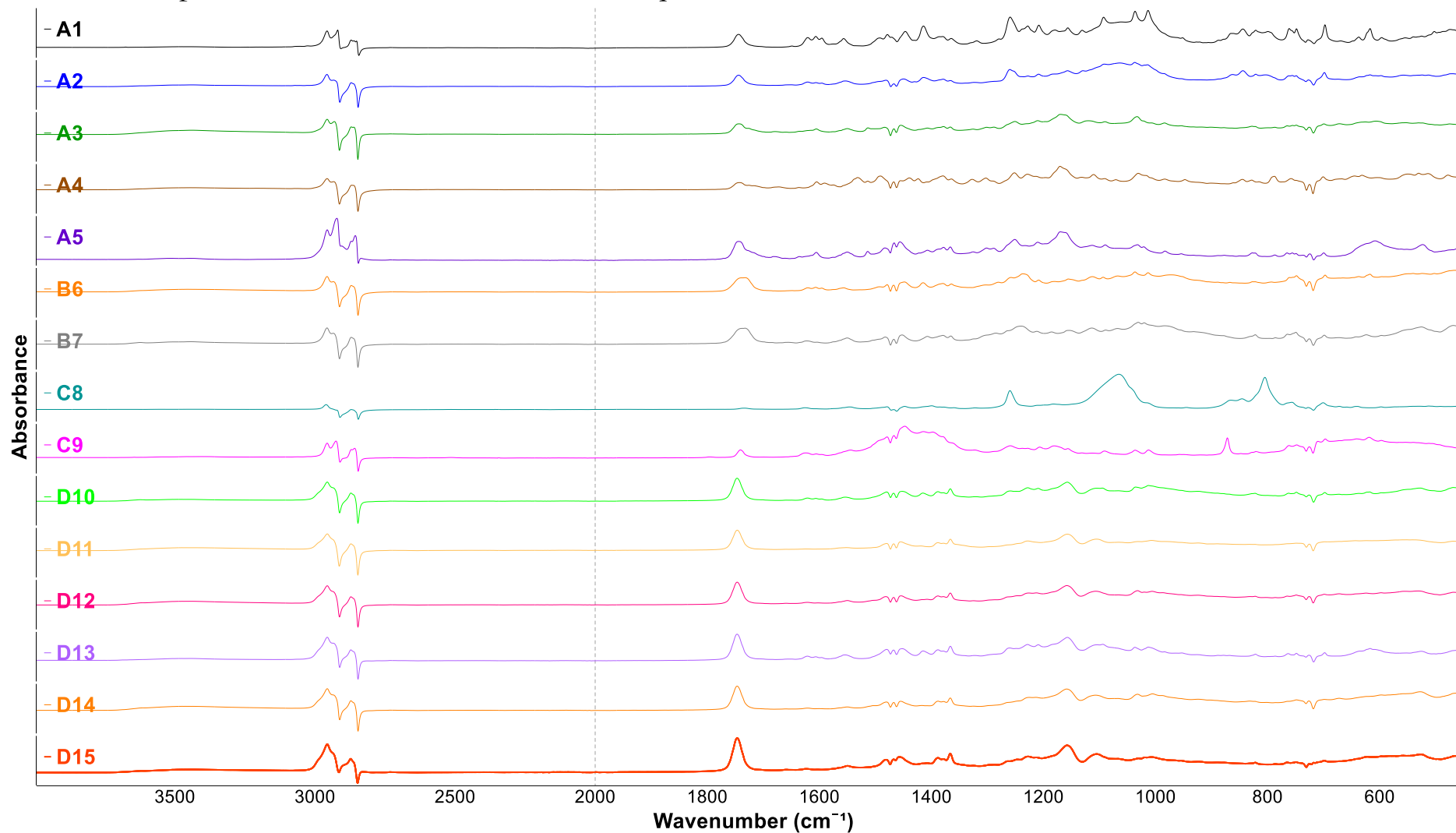


Figura D1. Espectros FTIR-ATR obtidos da análise direta das 15 amostras em estudo

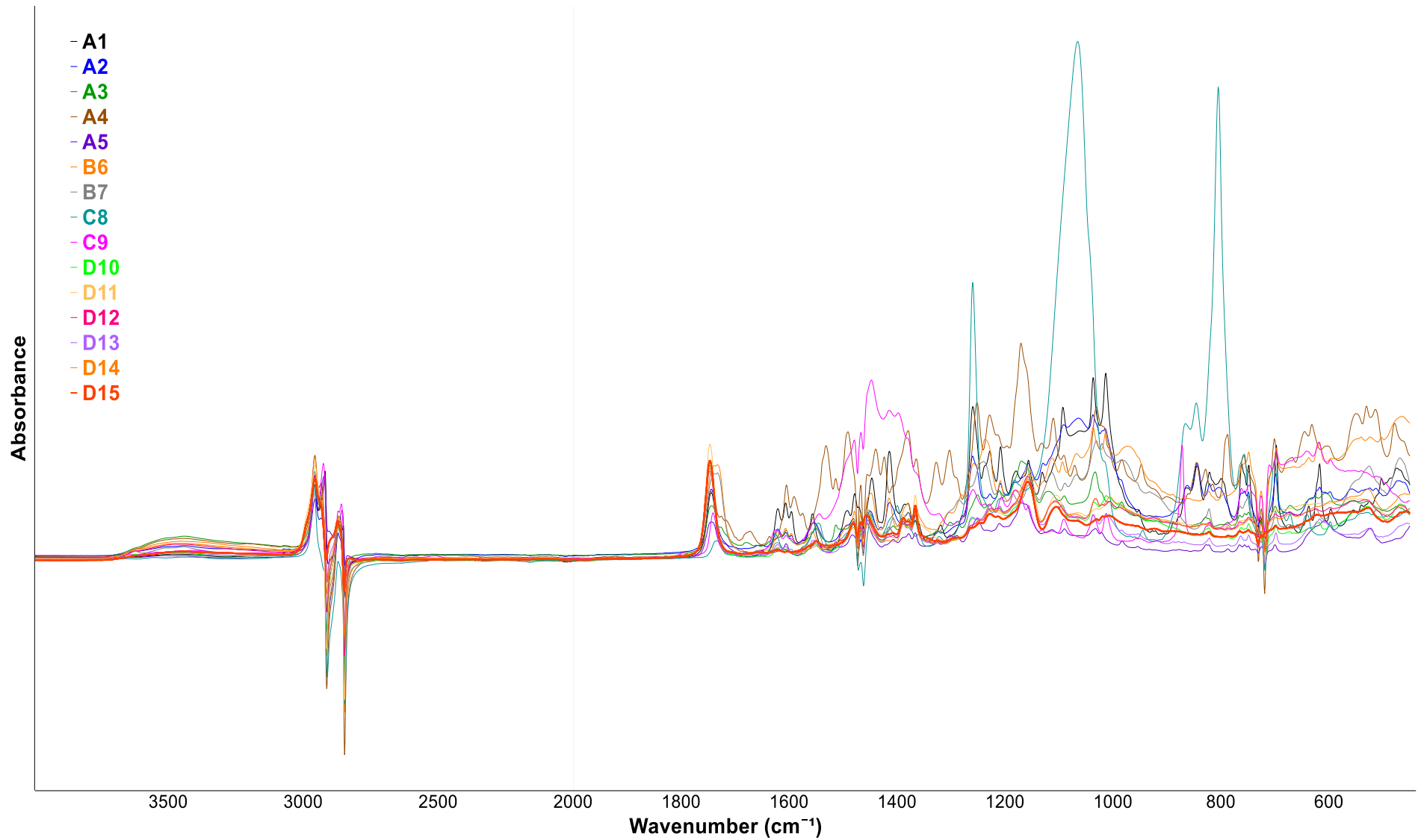


Figura D2. Espectros FTIR-ATR sobrepostos obtidos da análise direta das 15 amostras em estudo

## Anexo E: Gráficos demonstrativos das matrizes de distâncias

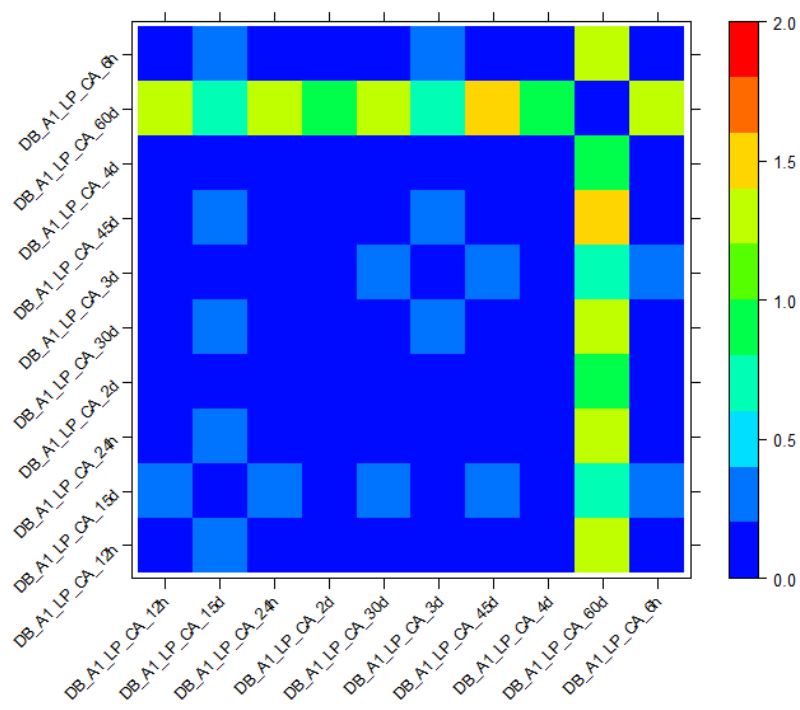


Figura E1. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra A1 num lenço de papel (LP), deixada em condições estáveis (CA), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias

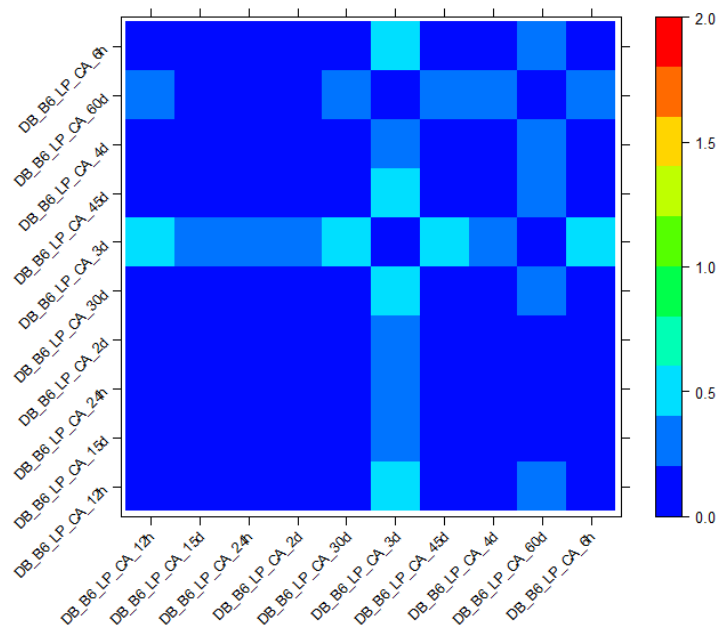


Figura E2. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra B6 num lenço de papel (LP), deixada em condições estáveis (CA), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias

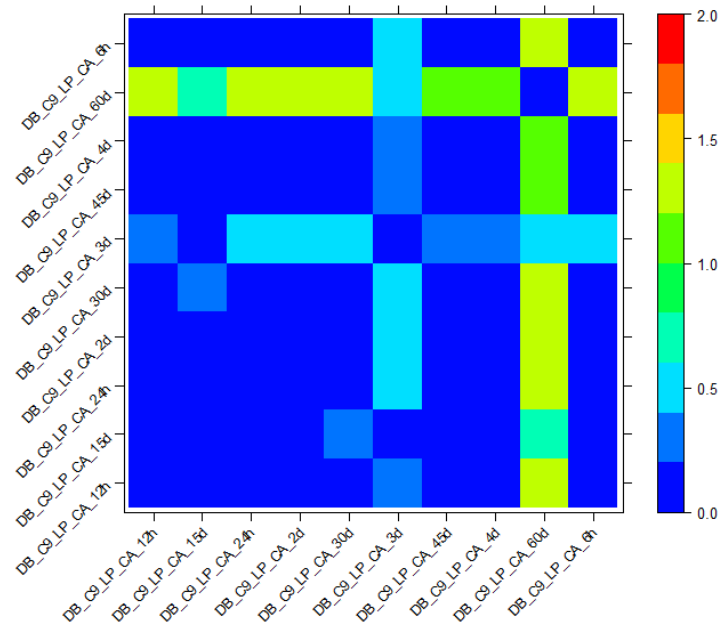


Figura E3. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra C9 num lenço de papel (LP), deixada em condições estáveis (CA), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias

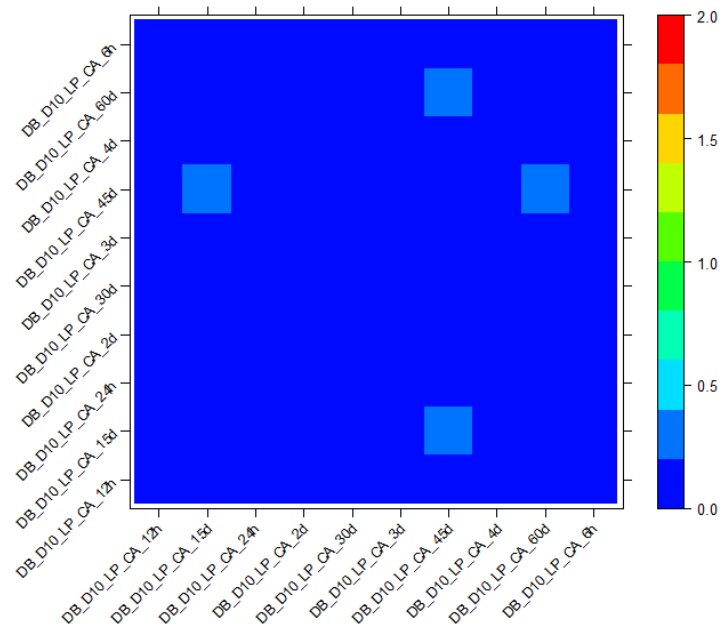


Figura E4. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra D10 num lenço de papel (LP), deixada em condições estáveis (CA), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias



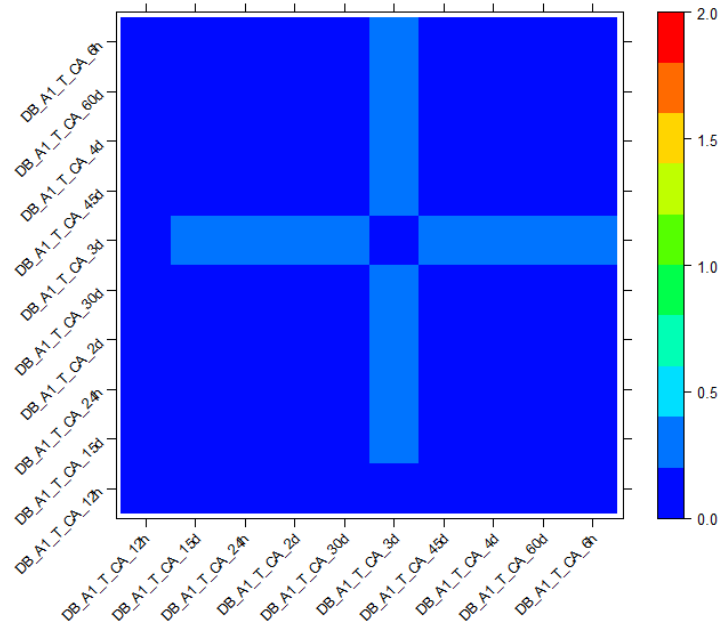


Figura E5. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra A1 no tecido (T), deixada em condições estáveis (CA), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias

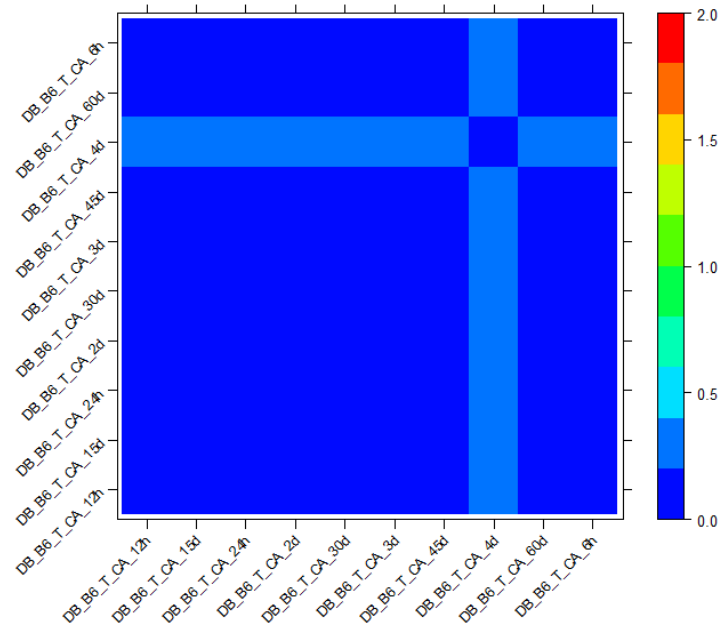


Figura E6. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra B6 no tecido (T), deixada em condições estáveis (CA), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias

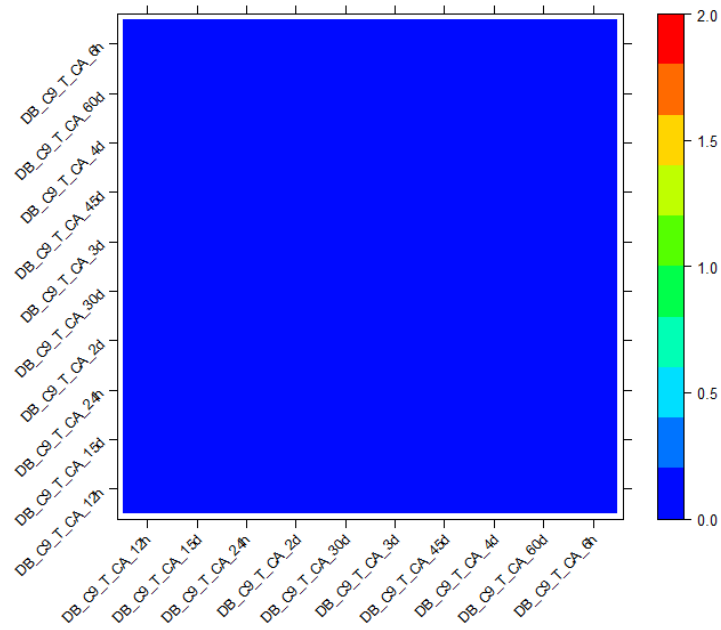


Figura E7. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra C9 no tecido (T), deixada em condições estáveis (CA), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 14 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias

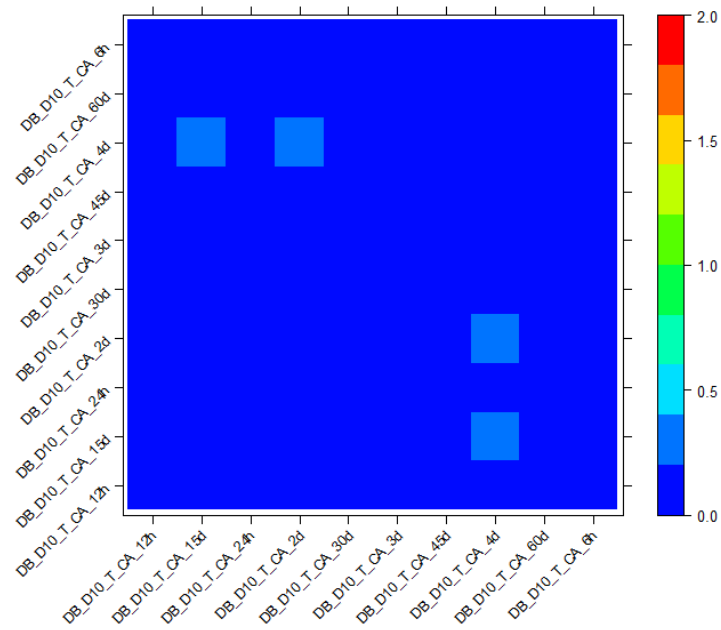


Figura E8. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra D10 no tecido (T), deixada em condições estáveis (CA), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 14 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias

## Anexo F: Gráficos demonstrativos das matrizes de distâncias

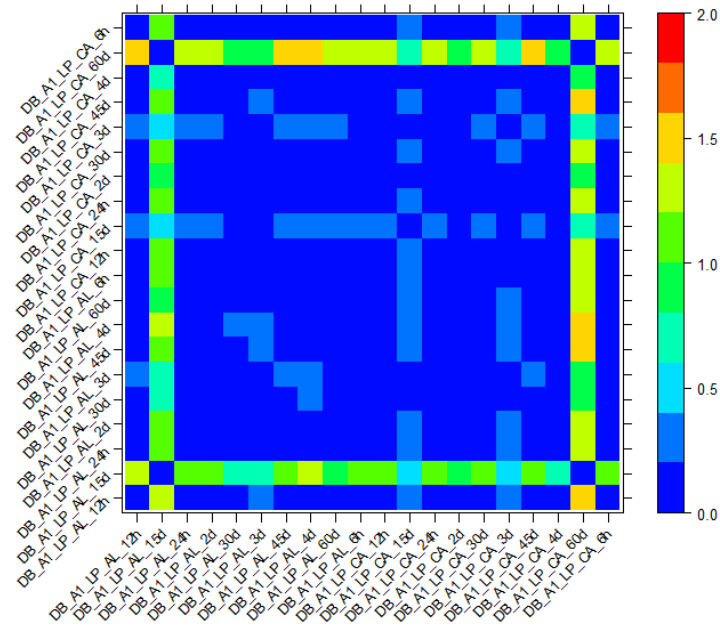


Figura F1. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra A1 num lenço de papel (LP), deixada em condições estáveis (CA) e variáveis (AL), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias

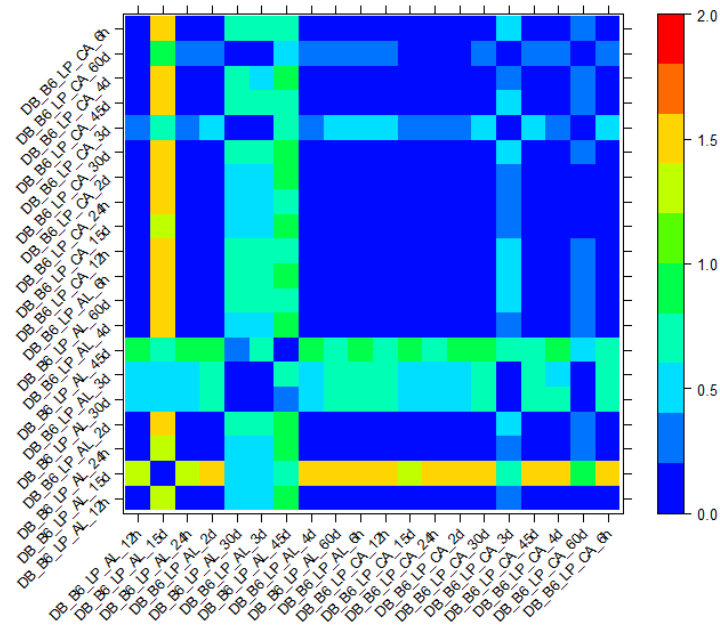


Figura F2. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra B6 num lenço de papel (LP), deixada em condições estáveis (CA) e variáveis (AL), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias

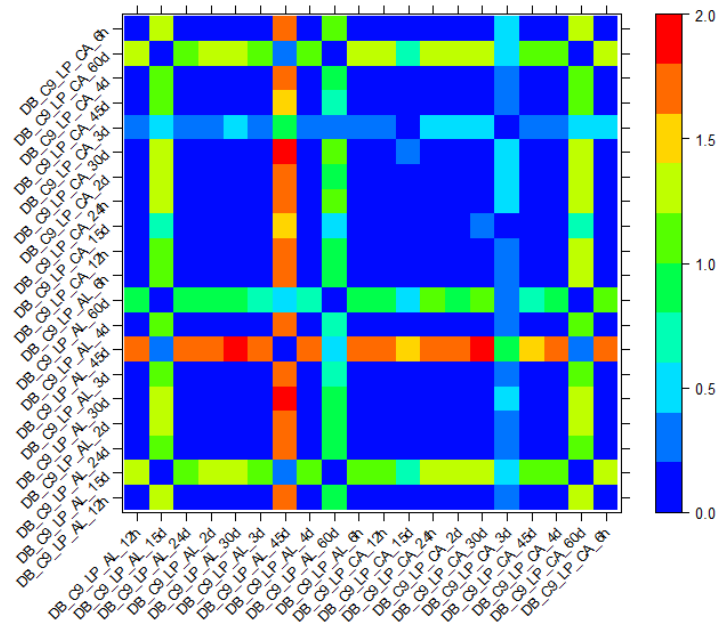


Figura F3. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra C9 num lenço de papel (LP), deixada em condições estáveis (CA) e variáveis (AL), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias

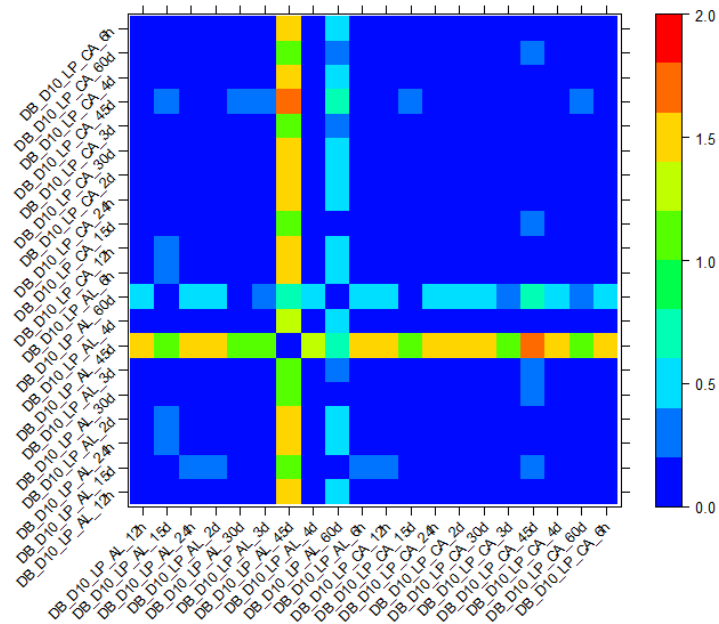


Figura F4. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra D10 num lenço de papel (LP), deixada em condições estáveis (CA) e variáveis (AL), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias

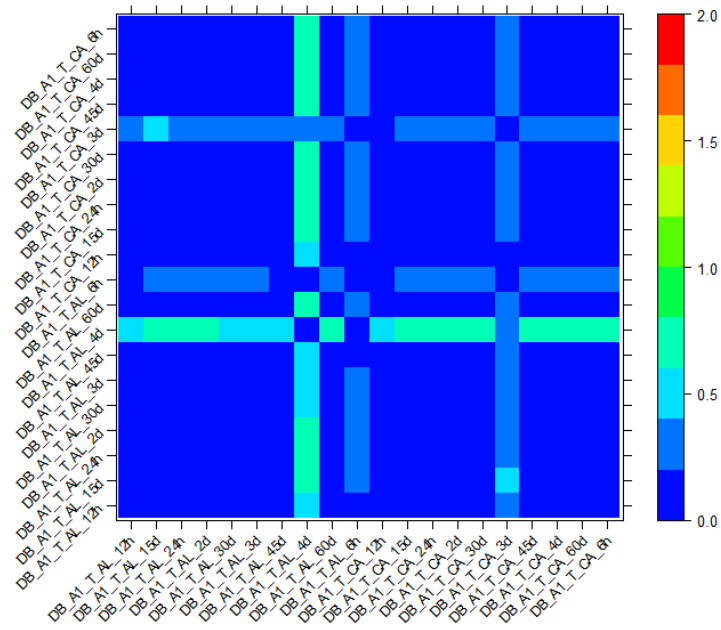


Figura F5. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra A1 no tecido (T), deixada em condições estáveis (CA) e variáveis (AL), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias

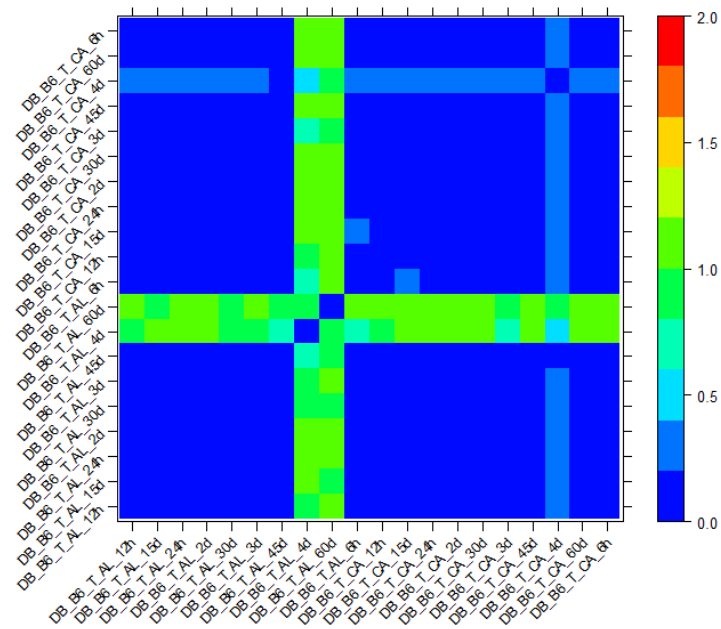


Figura F6. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra B6 no tecido (T), deixada em condições estáveis (CA) e variáveis (AL), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias

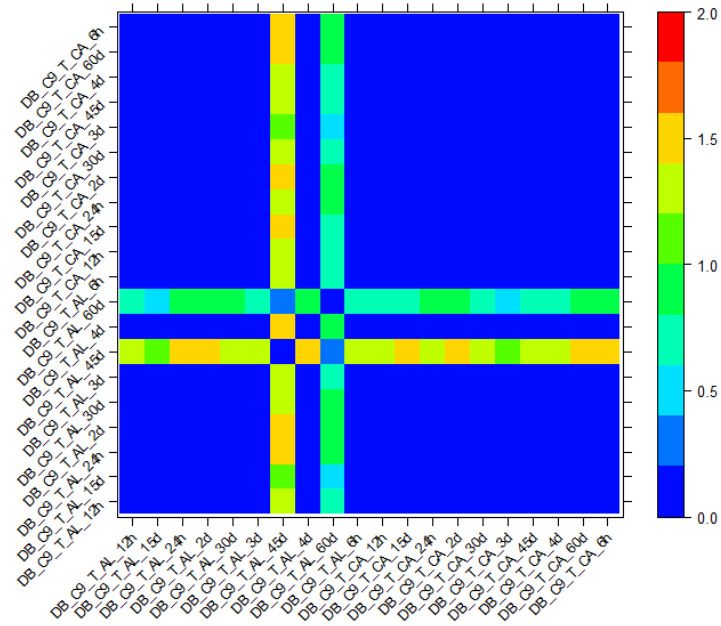


Figura F7. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra C9 no tecido (T), deixada em condições estáveis (CA) e variáveis (AL), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias

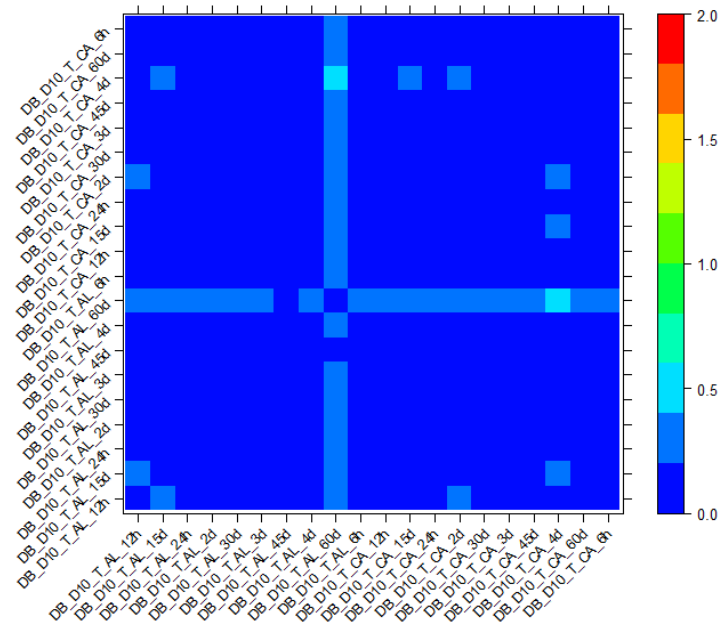


Figura F8. Gráfico resultante da construção da matriz de distâncias da deposição da amostra D10 no tecido (T), deixada em condições estáveis (CA) e variáveis (AL), com variação no tempo pós-deposição – 6 horas, 12 horas, 1-4 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias