

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA  
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

DESARROLLO Y VERIFICACIÓN DE METODOLOGÍAS  
ELECTROQUÍMICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE ANTIMONIO,  
PLOMO Y OTROS COMPONENTES ORGÁNICOS PRESENTES EN  
RESIDUOS DE DISPARO

Tesis sometida a la consideración de la Comisión del Programa de  
Estudios de Posgrado en Química para optar al grado y título de  
Maestría Académica en Química

PEDRO JOSÉ CALDERÓN ARCE

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

2022

## Dedicatoria

A mis padres: Mauricio y Xinia, que siempre han estado a mi lado apoyándome en cada etapa de mi vida y sin cuya compañía, guía y comprensión nada de esto habría sido posible.

A mi hermana Paula por ser siempre un modelo a seguir por su gran dedicación al estudio y al trabajo, además de ser siempre esa compañía que no me va a abandonar.

A mi sobrina Jazmín por siempre hacerme reír en los momentos difíciles y a mi perrito Newton por acompañarme en las largas horas de escritura.

## Agradecimientos

Deseo expresar mi gratitud a todas las personas que, de algún modo, me ayudaron a alcanzar esta meta.

Deseo destacar, en primer lugar, la labor de mi Tutora, la profesora Dra. Ana Lorena Alvarado Gámez. Tuve el privilegio de trabajar con ella durante todo el tiempo que tardó la maestría, compartir las primeras ideas del proyecto, la formulación del proyecto y el arduo trabajo de su ejecución. Ha sido una extraordinaria experiencia que, sin duda, ha marcado con fuerza mi formación académica y profesional.

Las profesoras Dra. Miriam Barquero Quirós y la M.Sc Paola Fuentes Schweizer las cuales han sido mis asesoras. Les agradezco en todo lo que vale haber destinado parte de su valioso tiempo para dedicarse a este trabajo y por sus valiosas observaciones.

También deseo expresar mi agradecimiento al Centro de Electroquímica y Energía Química de la Universidad de Costa Rica (CELEQ), por favorecerme con el apoyo que me brindaron por medio del beneficio para estudiantes denominados “Apoyos Orlando Bravo”, de acuerdo al oficio **CELEQ-0244-2019** para realizar mi maestría en la Universidad de Costa Rica, misma institución de donde soy egresado de mi bachillerato.

Esta investigación implicó, entre muchas otras cosas, trabajar con técnicas y muestras que requerían algunos tratamientos y conocimientos previos, cuyas bases realmente empecé a conocer desde el día que comencé a buscar los artículos relacionados con este tema. Desde ese momento, dado que nuestra formación en Costa Rica no implica conocimientos en esta área, tuve que trabajar mucho tiempo extra para tener el conocimiento necesario para manipular muestras y técnicas de conocimiento nuevo. Sin embargo, la superación que he vivido en

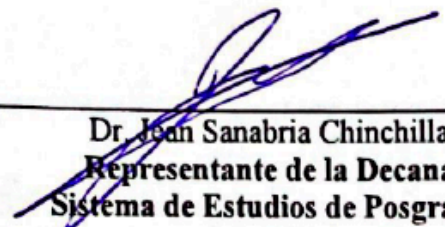
este campo no hubiera sido posible sin la generosa ayuda de las personas de la Universidad de West Virginia, WV, Estados Unidos, especialmente al Dr. Luis Arroyo, y a la Dra. Tatiana Trejos, los cuales tuvieron la disposición y amabilidad para darme su apoyo y valiosa ayuda. Fueron aportes muy importantes en el desarrollo de este proyecto y siempre les estaré profundamente agradecido.

No quiero dejar pasar la oportunidad de expresar mi gratitud a una persona que me ayudó en todo lo que estuvo a su alcance, y un poco más. Me refiero a mi compañera y amiga Yorleni Corrales González, cuya bondad y apoyo se extendió al punto de apoyarme hasta en los ámbitos emocionales y motivacionales.

Finalmente deseo mencionar a mi compañero y confidente Roberto González León, quien siempre estuvo presente ante cualquier guía que pudiera brindarme y además ha representado un apoyo importante en otros ámbitos que trascienden el académico.

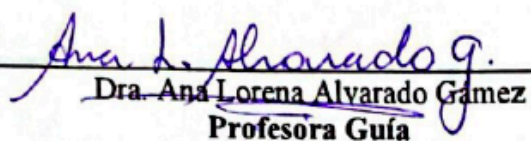
A mi madre, a mi padre y a mi gran hermana les agradezco por estar siempre a mi lado.

“Esta Tesis fue aceptada por la Comisión del Programa de estudios de Posgrado en Química de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar al grado y título de Maestría Académica en Química.”



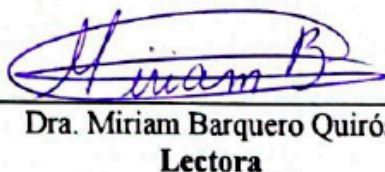
---

Dr. Juan Sanabria Chinchilla  
Representante de la Decana  
Sistema de Estudios de Posgrado



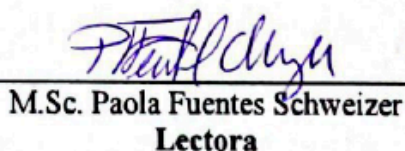
---

Dra. Ana Lorena Alvarado Gamez  
Profesora Guía



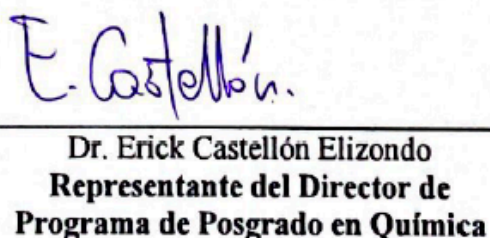
---

Dra. Miriam Barquero Quirós  
Lectora



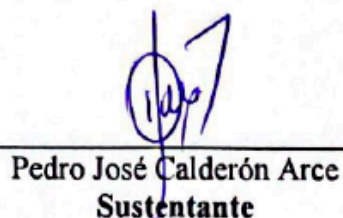
---

M.Sc. Paola Fuentes Schweizer  
Lectora



---

Dr. Erick Castellón Elizondo  
Representante del Director de  
Programa de Posgrado en Química



---

Pedro José Calderón Arce  
Sustentante

## Tabla de Contenidos

<i>Dedicatoria</i> .....	<i>ii</i>
<i>Agradecimientos</i> .....	<i>iii</i>
<i>Hoja de aprobación</i> .....	<i>v</i>
<i>Resumen</i> .....	<i>x</i>
<i>Lista de Cuadros</i> .....	<i>xii</i>
<i>Lista de Figuras</i> .....	<i>xiv</i>
<i>Lista de Anexos</i> .....	<i>xviii</i>
<i>Lista de Abreviaturas</i> .....	<i>xx</i>
<i>Capítulo 1.</i> .....	<i>1</i>
<i>Introducción</i> .....	<i>1</i>
1.1. Armas y Armas de Fuego .....	1
1.1.1. Anatomía de un cartucho de bala.....	3
1.1.1.1. Composición externa .....	3
1.1.1.2. Composición interna.....	5
1.2. Residuos de descarga de armas de fuego .....	9
1.3. Tipo de muestras analizadas .....	12
1.4. Técnicas de análisis.....	15
1.4.1. Microscopía electrónica de barrido con rayos X característicos (SEM-EDX) .....	15
1.4.2. Espectroscopía de emisión óptica con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES).....	18
1.4.3. Espectroscopía Raman de superficie mejorada (SERS).....	20
1.4.4. Técnicas empleadas en muestras biológicas.....	24
1.5. Técnicas electroanalíticas.....	26
1.5.1. Voltamperometría de pulso .....	26

1.5.1.1.	Voltamperometría de pulso diferencial (DPV)	26
1.5.1.2.	Voltamperometría de onda cuadrada (SWV)	28
<i>Capítulo 2.</i>		36
<i>Sección Experimental</i>		36
1.6.	Reactivos y Equipo	36
1.6.1.	Electrodos sólidos y serigrafiados	36
1.6.2.	Disoluciones patrón	37
1.6.3.	Otras disoluciones y reactivos empleados	37
1.7.	Preparación de electrodos de carbón vítreo	38
1.7.1.	Limpieza de los electrodos sólidos	38
1.7.2.	Limpieza de electrodos serigrafiados	39
1.8.	Preparación de las películas delgadas de diferentes metales	40
1.8.1.	Película delgada de mercurio	40
1.8.2.	Película delgada de bismuto	41
1.8.3.	Película delgada de oro	43
1.9.	Preparación de monocapa de mercaptanos	44
1.10.	Caracterización de electrodos	45
1.11.	Mediciones electroanalíticas	46
1.11.1.	Método de celda con película delgada de mercurio	47
1.11.2.	Método de celda con película delgada de bismuto	47
1.11.3.	Método de celda con película delgada de oro	48
1.11.4.	Método de gota con película delgada de oro	49
1.11.5.	Método de gota sobre el electrodo serigrafiado de carbón	50
1.12.	Preparación y toma de muestras de GSR	50
1.13.	Preprocesamiento de datos y análisis estadístico	54
<i>Capítulo 3.</i>		55
<i>Resultados y Discusión</i>		55

3.1.	Tipos de Recubrimientos .....	55
3.2.	Caracterización de las películas delgadas.....	61
3.3.	Sensibilidad Analítica .....	64
3.4.	Calibración y Límites de detección y cuantificación de los diferentes electrodos empleados .....	66
3.5.	Respuesta electroquímica utilizando diferentes metodologías .....	68
3.6.	Estimaciones de calibración y límites de detección para los electrodos de oro	72
3.7.	Precisión de las metodologías electroanalíticas con película delgada de oro	75
3.8.	Validación cualitativa del rendimiento del método para la detección de residuos de disparo utilizando muestras de GSR .....	78
3.8.1.	Parámetros cualitativos para la Validación del rendimiento del método para la detección de residuos de disparo utilizando muestras auténticas de disparos.....	83
3.9.	Errores e interferencias en la validación del rendimiento del método para la detección de residuos de disparo .....	86
3.9.1.	Presencia de cobre.....	86
3.9.2.	Recomendaciones para la colocación de la gota sobre el electrodo	93
3.10.	Análisis preliminar de mercaptanos .....	97
<i>Capítulo 4. ....</i>		<i>103</i>
<i>Conclusiones y Recomendaciones.....</i>		<i>103</i>
1.	Conclusiones.....	103
2.	Recomendaciones .....	110
<i>Bibliografía.....</i>		<i>111</i>
<i>Anexos.....</i>		<i>130</i>



1.	Cuadros de resultados de sensibilidad y límites de detección y cuantificación de las diferentes metodologías con electrodo serigrafiado de carbón desnudo y con películas delgadas de bismuto y oro por la técnica de voltamperometría de pulso diferencial (DPA).....	130
2.	Curvas de calibración por el método de la celda con electrodo desnudo de carbón empleando metodología de celda .....	132
3.	Curvas de calibración por el método de la celda con electrodo de carbón con película delgada de bismuto empleando metodología de celda.....	134
4.	Curvas de calibración por el método de la celda con electrodo de carbón con película delgada de oro empleando metodología de celda .....	136
5.	Curvas de calibración por el método de la celda con electrodo de carbón con película delgada de oro empleando metodología de gota.....	139
6.	Voltamperogramas de muestras de pistola Springfield XD9, cartucho Winchester 200 rondas 9 mm empleando metodología de la celda con electrodo de carbón modificado con película delgada de oro.....	142
7.	Voltamperogramas de muestras de pistola Springfield XD9, cartucho Winchester 200 rondas 9 mm empleando metodología de la gota con electrodo de carbón modificado con película delgada de oro.....	145
8.	Voltamperogramas de muestras de revolver Taurus Modelo 608, cartucho Cargado por el fabricante American Eagle Federal .38 special empleando metodología de la gota con electrodo de carbón modificado con película delgada de oro .....	148
9.	Voltamperogramas de muestras de pistola Springfield XD9, cartucho Cargado por el fabricante Remington 9 mm empleando metodología de la gota con electrodo de carbón modificado con película delgada de oro .....	151
10.	Artículos publicados .....	154

## Resumen

El análisis de residuos de disparo tanto inorgánicos como orgánicos, presentes en escenas del crimen, ha sido uno de los problemas más complicados en la ciencia forense debido a que la cantidad de muestra es muy limitada y las concentraciones de los residuos son a niveles traza o ultratrazas, por lo que, metodologías y técnicas que faciliten este estudio están en constante renovación e investigación.

Si bien es cierto, existen muchas técnicas analíticas que se han empleado para este tipo de muestras como son la microscopía electrónica de barrido con rayos X característicos (SEM-EDX), cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (HPLC-MS), electroforesis capilar (CE), técnicas electroanalíticas, entre otras; todas presentan sus aspectos positivos e igualmente negativos.

En los últimos años, las técnicas electroanalíticas han jugado un papel muy importante en el campo de las ciencias forenses, ya que se han desarrollado metodologías más eficientes, análisis más rápidos y sobre todo menos costosos; lo más importante es que en un inicio estas técnicas solo se empleaban para el análisis de metales pesados en concentraciones traza y ultratrazas, pero actualmente el análisis de componentes orgánicos presentes en estos residuos ha generado una mayor especificidad en estas pruebas.

El presente trabajo tiene como objetivo principal desarrollar metodologías electroanalíticas para el análisis de metales como antimonio y plomo y algunos compuestos orgánicos presentes en los residuos de disparo, mediante la modificación de electrodos sólidos con películas delgadas de diferentes metales como son mercurio, bismuto y oro modificado con tioles de cadenas lineales. En Costa Rica, el análisis de residuos de explosivos detonados y sin detonar le corresponde a la Unidad de Pólvora y Explosivos del Organismo de Investigación

Judicial (OIJ), así como la determinación de distancia de disparo por medio del análisis de prendas de vestir y residuos de disparo en diferentes superficies, el cual se realiza por medio de Microscopía Electrónica de Barrido con Rayos X Característicos (SEM-EDX), pero la implementación de una técnica electroanalítica puede hacer más factible y confiable por comparación, la determinación de estos componentes en residuos de disparo, además de que la toma de muestra se puede realizar in situ.

**Palabras clave:** Plomo, antimonio, componentes orgánicos, residuos de disparo de arma de fuego, técnicas electroanalíticas, electrodo sólido, películas delgadas, voltamperometría de pulso diferencial

## Lista de Cuadros

<b>Cuadro I.</b> Características físicas de algunas balas según su calibre. Resumido de RENAR: Registro Nacional de Armas, 2001 .....	8
<b>Cuadro II.</b> Análisis de metales pesados en muestra histológicas por diferentes técnicas de detección y cuantificación.....	12
<b>Cuadro III.</b> Análisis realizados en microscopía electrónica de barrido con rayos X característicos (SEM-EDX).....	16
<b>Cuadro IV.</b> Análisis de metales pesados en residuos de disparo mediante la técnica de microfluorescencia de rayos X.....	23
<b>Cuadro V.</b> Análisis de residuos de disparo en muestras biológicas por medio de técnicas de identificación.....	24
<b>Cuadro VI.</b> Análisis de residuos de disparo, principalmente metales pesados por técnicas electroanalíticas de diferentes matrices. ....	31
<b>Cuadro VII.</b> Análisis de residuos orgánicos de disparo por medio de diferentes técnicas.....	32
<b>Cuadro VIII.</b> Parámetros electroquímicos para la deposición de película delgada de mercurio sobre electrodos sólido de carbón vítreo por la técnica de voltamperometría de onda cuadrada con redisolución anódica (SWASV).....	41
<b>Cuadro IX.</b> Parámetros electroquímicos para la deposición de la película delgada de bismuto sobre electrodos serigrafiados de carbón por la técnica de voltamperometría anódica de onda cuadrada SWASV .....	43
<b>Cuadro X.</b> Parámetros electroquímicos para la deposición de la película delgada de oro sobre electrodos serigrafiados de carbón por la técnica de voltamperometría de pulso diferencial DPV .....	44
<b>Cuadro XI.</b> Parámetros por optimizar en el estudio del efecto de modificación con capas autoensambladas de mercaptanos en electrodos serigrafiados de carbono cubiertos con capas delgadas de oro .....	45
<b>Cuadro XII.</b> Parámetros de los métodos DPV y SWASV para el análisis de residuos de disparos con electrodos serigrafiados de carbón y electrodos sólidos de carbón vítreo con películas delgadas de diferentes metales.....	46

<b>Cuadro XIII.</b> Información sobre armas y cartuchos empleadas en el estudio de análisis electroanalítico de residuos de disparo .....	51
<b>Cuadro XIV.</b> Comparación entre curvas de calibración para las metodologías utilizadas para identificar GSR con electrodos de carbón serigrafiados y modificados con una película delgada de oro. ....	74
<b>Cuadro XV.</b> Resultados de la precisión en términos de repetibilidad y repetibilidad intermedia para la metodología de película delgada de oro. Para n=8 .....	76
<b>Cuadro XVI.</b> Determinación de significancia estadística por medio de prueba t para la comparación de las pendientes de las curvas de calibración para las metodologías empleadas a un nivel de significancia de 0,05 para n=8. ....	77
<b>Cuadro XVII.</b> Medidas de confiabilidad del análisis cualitativo de GSR con electrodos serigrafiados de carbón con diferentes metodologías .....	84
<b>Cuadro XVIII.</b> Medidas de confiabilidad del análisis cualitativo de residuos de disparo para la combinación del análisis en electrodo desnudo de carbón y electrodo con película delgada oro.....	86

## Lista de Figuras

<b>Figura 1.</b> Disparo con arma de fuego. Fotografía de elaboración propia .....	2
<b>Figura 2.</b> Diagrama general de un cartucho para arma de fuego. Tomado de RENAR, 2001 .....	4
<b>Figura 3.</b> Principales sustancias químicas encontradas en la fabricación de balas utilizadas en municiones y armas de fuego. Tomado y resumido de Smyth Wallace, 2008.....	7
<b>Figura 4.</b> Diagrama general de los residuos de disparo encontrados al disparar una bala con un arma de fuego. Elaboración propia .....	10
<b>Figura 5.</b> Estructura esquelética de (a) 1,3-dietil-1,3-difenilurea y (b) difenilamina .....	22
<b>Figura 6.</b> Señal de excitación para la técnica de voltamperometría de pulso diferencial. Imagen tomada y traducida de Joseph Wang, 2000.....	27
<b>Figura 7.</b> Señal de excitación para la técnica de voltamperometría de pulso diferencial. Imagen tomada y traducida de Joseph Wang, 2000.....	29
<b>Figura 8.</b> Metodología empleada para pulir los electrodos sólidos de carbón vítreo. Imagen tomada, traducida y modificada de Bioanalytical Systems, Inc, 2001 .....	38
<b>Figura 9.</b> Diagrama esquemático de los electrodos de carbón: <b>(a)</b> electrodo serigrafiado impreso, <b>(b)</b> electrodo serigrafiado comercial. Elaboración propia....	39
<b>Figura 10.</b> Preparación de las muestras de GSR de residuos de disparo recolectadas en la Universidad de West Virginia, WV, Estados Unidos, tratadas en el laboratorio de análisis forenses de la misma universidad durante octubre 2019 – enero 2020: <b>(a)</b> talón de aluminio con cinta de carbón donde se encuentra la muestra, <b>(b)</b> colocación de una gota de disolución amortiguadora de acetato 0,1 mol·L <sup>-1</sup> y pH 4,5 para extracción de residuos inorgánicas y <b>(c)</b> colocación de una gota de acetonitrilo para la extracción de componentes orgánicos. Fotografías propias .....	52
<b>Figura 11.</b> Toma de muestras de blancos poblacionales recolectadas con un talón de aluminio y cinta de carbón preparadas para ser utilizado en la Universidad de West Virginia, WV, Estados Unidos, tratadas en el laboratorio de análisis forenses de la misma universidad durante diciembre 2019 – enero 2020: <b>(a)</b> toma de muestra	

en la palma de la mano, <b>(b)</b> y <b>(c)</b> toma de muestra en la parte posterior de la mano de diferentes personas. Fotografías propias .....	53
<b>Figura 12.</b> Voltamperograma de pulso diferencial para análisis de la película delgada de mercurio con un electrodo sólido de carbón vítreo [0,01 cm <sup>2</sup> ] <b>(a)</b> en buffer de acetato de sodio 0,1 mol/L, pH 4,5 y <b>(b)</b> con alícuota de 20 µL de Pb y Sb 1 mg/L en buffer de acetato de sodio 0,1 mol·L <sup>-1</sup> , pH 4,5 .....	56
<b>Figura 13.</b> Voltamperograma de pulso diferencial para análisis de la película delgada de bismuto con un electrodo sólido de carbón vítreo [0,01 cm <sup>2</sup> ] en buffer de acetato de sodio 0,1 mol·L <sup>-1</sup> , pH 4,5.....	58
<b>Figura 14.</b> Voltamperometría de onda cuadrada para análisis de Pb, Sb y 2,4-DNT con electrodo de carbón [0,01 cm <sup>2</sup> ] con película delgada de bismuto en disolución amortiguadora de acetato de sodio 0,1 mol·L <sup>-1</sup> , pH 4,5. ....	59
<b>Figura 15.</b> Voltamperograma de pulso diferencial (DPV) para el análisis de la película delgada de oro con un electrodo de carbono [0,01 cm <sup>2</sup> ] en buffer de acetato de sodio. 0,1 mol·L <sup>-1</sup> , pH 4,5. ....	60
<b>Figura 16.</b> Caracterización AFM de la superficie modificada con película delgada de oro: <b>(a)</b> electrodo desnudo, <b>(b)</b> con película delgada de bismuto y <b>(c)</b> con película delgada de oro .....	62
<b>Figura 17.</b> Caracterización AFM de la superficie del electrodo serigrafado de carbón: <b>(a)</b> sin modificar y <b>(b)</b> modificada con película delgada de oro. ....	63
<b>Figura 18.</b> Caracterización SEM-EDS para <b>(a)</b> la morfología de la superficie de las SPCE modificadas con película delgada de oro <b>(b)</b> los picos espectroscópicos de oro en la superficie del carbono.....	64
<b>Figura 19.</b> Sensibilidad para el análisis de Pb, Sb, 2,4-DNT, NG y DPA por voltamperometría de pulso diferencial (DPV) con un electrodo de carbono [0,01 cm <sup>2</sup> ] desnudo y con película delgada de bismuto y oro en buffer de acetato de sodio 0,1 mol·L <sup>-1</sup> , pH 4,5. ....	65
<b>Figura 20. a)</b> Límites de detección y <b>(b)</b> Límite de cuantificación para el análisis de Pb, Sb, 2,4-DNT, NG y DPA por Voltamperometría de pulso diferencial (DPV); n = 5.....	68

<b>Figura 21.</b> Comparación de las señales de voltamograma de una mezcla estándar de $1,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ cada una por las diferentes metodologías <b>(a)</b> electrodo de carbón con película delgada de oro con metodología de celda por técnica DPV y <b>(b)</b> electrodo de carbón con película delgada de oro con metodología de gota por técnica DPV.....	71
<b>Figura 22.</b> Comparación entre el tirador y las muestras de control negativo con el <b>(a)</b> método de la celda y <b>(b)</b> el método de gota, ambos usando un electrodo serigrafiado de carbón con una película delgada de oro.....	72
<b>Figura 23.</b> Voltamperogramas del análisis poblacional, blanco (disolución amortiguadora de acetato $0,1 \text{ M}$ pH 4,5), control negativo del análisis y el Taurus 357 Magnum modelo 608 con munición federal American Eagle cargada por el fabricante 38 Muestra especial FMJ de 130 granos en <b>(a)</b> SWASV con SPCE desnudo y <b>(b)</b> DPV con SPCE modificado con película fina de oro por el método de la gota.....	80
<b>Figura 24.</b> Diagrama de caja de la relación tirador / no tirador obtenida por análisis electroquímico en 75 muestras. La línea central de cada cuadro es la mediana, los bordes del cuadro son los percentiles 25 y 75, y los bigotes se extienden hasta los puntos de datos máximo y mínimo que no se consideran valores atípicos. SPCE por técnica SWV y SPCE con película fina de oro por técnica DPV <b>(a)</b> Pb, <b>(b)</b> Sb, <b>(c)</b> NG, <b>(d)</b> 2,4-DNT <b>(e)</b> Cu.....	82
<b>Figura 25.</b> Voltamperometría diferencial de pulso (DPV) para la disolución amortiguadora de acetato de sodio. $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 4,5, con la metodología de gota sobre el electrodo de carbón serigrafiado [ $0,13 \text{ cm}^2$ ] con película delgada de oro.....	88
<b>Figura 26.</b> Comparación entre las diferentes pruebas en el método de gota utilizando electrodo serigrafiado con película delgada de oro.....	89
<b>Figura 27.</b> Voltamperograma cíclico de una solución de oro utilizando un electrodo serigrafiado con una fina película de oro.....	90
<b>Figura 28.</b> Voltamperometría diferencial de pulso (DPV) y curva de pseudocalibración para análisis de cobre, con la metodología de una gota sobre un electrodo serigrafiado de carbón con película delgada de oro [ $0,13 \text{ cm}^2$ ] en disolución amortiguadora de acetato de sodio, $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 4,5. ....	91



<b>Figura 29.</b> Voltamperometría diferencial de pulso (DPV) disoluciones amortiguadoras de acetato de sodio, 0,1 mol·L <sup>-1</sup> , pH 4,5, con la metodología de una gota en un electrodo serigrafiado de carbón con una película delgada de oro [0,13 cm <sup>2</sup> ]	92
<b>Figura 30.</b> Voltamperometría diferencial de pulso (DPV) disoluciones amortiguadoras de acetato de sodio, 0,1 mol·L <sup>-1</sup> , pH 4,5, con la metodología de una gota en un electrodo serigrafiado de carbón vítreo con una película delgada de oro [0,13 cm <sup>2</sup> ] tomados en el mes de abril, 2021.	93
<b>Figura 31.</b> Diagrama de la colocación de la gota de 50 µL sobre el electrodo serigrafiado de carbón vítreo desnudo o modificado con película de oro. Elaboración propia	94
<b>Figura 32.</b> Voltamperogramas del análisis poblacional, blanco (disolución amortiguadora de acetato 0,1 M pH 4,5), control negativo del análisis y el Taurus 357 Magnum modelo 608 con munición federal American Eagle cargada por el fabricante 38 Muestra especial FMJ de 130 granos al agregar <b>(a)</b> una alícuota de 50 µL sin adición de oxígeno <b>(b)</b> una alícuota de 50 µL con varias adiciones de oxígeno	96
<b>Figura 33.</b> Esquema de electrodo recubierto con una película delgada de oro en contacto con una disolución de electrolitos de estudio. Imagen tomada, modificada y traducida de Kochana et al., 2019	98
<b>Figura 34.</b> Análisis de la sensibilidad de los electrodos serigrafiados de carbón modificados con película delgada de oro en contacto con diferentes mercaptanos: <b>(a)</b> Butanotiol, <b>(b)</b> Hexanotiol, <b>(c)</b> Ácido 3-mercaptopropiónico y <b>(d)</b> 2-Mercaptoetanol	100
<b>Figura 35.</b> Análisis del límite de detección (LOD) de los electrodos serigrafiados de carbón modificados con película delgada de oro y contacto con diferentes mercaptanos: <b>(a)</b> Butanotiol, <b>(b)</b> Hexanotiol, <b>(c)</b> Ácido 3-mercaptopropiónico y <b>(d)</b> 2-Mercaptoetanol	102

## Lista de Anexos

<b>Anexo 1.</b> Comparación del parámetro sensibilidad en el análisis de Pb, Sb, 2,4-DNT, NG y DPA mediante la técnica de voltamperometría de pulso diferencial, con electrodo serigrafiado de carbón [0,01 cm <sup>2</sup> ] desnudo y con película delgada de bismuto y oro en disolución amortiguadora de acetato de sodio 0,1 mol·L <sup>-1</sup> , pH 4,5 .....	130
<b>Anexo 2.</b> Comparación entre los límites de detección y cuantificación de las diferentes metodologías utilizadas para el análisis de GSR para n=8 .....	131
<b>Anexo 3.</b> Curvas de calibración para el análisis de: <b>(a)</b> Pb, <b>(b)</b> Sb, <b>(c)</b> 2,4-DNT y <b>(d)</b> NG por voltamperometría diferencial de pulsos (DPV) con un electrodo serigrafiado de carbón [0,13 cm <sup>2</sup> ] en disolución amortiguadora de acetato de sodio 0,1 mol·L <sup>-1</sup> , pH 4,5 .....	133
<b>Anexo 4.</b> Curvas de calibración para el análisis de: <b>(a)</b> Pb, <b>(b)</b> Sb y <b>(c)</b> 2,4-DNT por voltamperometría diferencial de pulsos (DPV) con un electrodo serigrafiado de carbono [0,13 cm <sup>2</sup> ] modificado con película delgada de bismuto en disolución amortiguadora de acetato de sodio 0,1 mol·L <sup>-1</sup> , pH 4,5 .....	135
<b>Anexo 5.</b> Curvas de calibración para el análisis de: <b>(a)</b> Pb, <b>(b)</b> Sb, <b>(c)</b> 2,4-DNT, <b>(d)</b> NG y <b>(e)</b> DPA por voltamperometría diferencial de pulsos (DPV) con un electrodo serigrafiado de carbón [0,13 cm <sup>2</sup> ] modificado con película delgada de oro con metodología de celda en disolución amortiguadora de acetato de sodio 0,1 mol·L <sup>-1</sup> , pH 4,5 .....	138
<b>Anexo 6.</b> Curvas de calibración para el análisis de: <b>(a)</b> Pb, <b>(b)</b> Sb, <b>(c)</b> 2,4-DNT, <b>(d)</b> NG y <b>(e)</b> DPA por voltamperometría diferencial de pulsos (DPV) con un electrodo serigrafiado de carbón [0,13 cm <sup>2</sup> ] modificado con película delgada de oro con metodología de gota en disolución amortiguadora de acetato de sodio 0,1 mol·L <sup>-1</sup> , pH 4,5 .....	141
<b>Anexo 7.</b> Voltamperogramas de las muestras de pistola Springfield XD9, cartucho Winchester 200 rondas 9 mm empleando metodología de la celda con electrodo de carbón modificado con película delgada de oro siendo falsos negativos: <b>(a)</b> OPT_110619_1_PLH_WIN_EC_cell_LP; <b>(b)</b>	

OPT_110619_2_PLH_WIN_EC_cell_LP	y verdaderos positivos	(c)
OPT_110619_15_PLH_WIN_EC_cell_LP;		(d)
OPT_110619_19_PLH_WIN_EC_cell_LP.....		144

**Anexo 8.** Voltamperogramas de las muestras de pistola Springfield XD9, cartucho Winchester 200 rondas 9 mm empleando metodología de la gota con electrodo de carbón modificado con película delgada de oro siendo falsos negativos: (a)

OPT_110619_1_PLH_WIN_EC_drop_LP;		(b)
OPT_110619_13_PLH_WIN_EC_drop_LP	y verdaderos positivos	(c)
OPT_110619_5_PLH_WIN_EC_drop_LP;		(d)
OPT_110619_10_PLH_WIN_EC_drop_LP.....		147

**Anexo 9.** Voltamperogramas de las de muestras de revolver Taurus Modelo 608, cartucho Cargado por el fabricante American Eagle Federal .38 special empleando metodología de la gota con electrodo de carbón modificado con película delgada de oro siendo falsos negativos: (a)

121019_400_RRH_NAC_SU_LP_EC_drop;		(b)
121019_433_RRH_NAC_SU_LP_EC_drop	y verdaderos positivos	(c)
121019_410_RRH_NAC_SU_LP_EC_drop;		(d)
121019_435_RRH_NAC_SU_LP_EC_drop.....		150

**Anexo 10.** Voltamperogramas de las de muestras de pistola Springfield XD9, cartucho Cargado por el fabricante Remington 9 mm empleando metodología de la gota con electrodo de carbón modificado con película delgada de oro siendo falsos negativos: (a)

121019_453_PLH_NAC_SU_LP_EC_drop;		(b)
121019_469_PLH_NAC_SU_LP_EC_drop	y verdaderos positivos	(c)
121019_465_PLH_NAC_SU_LP_EC_drop;		(d)
121019_470_PLH_NAC_SU_LP_EC_drop.....		153

**Anexo 11.** Artículo publicado en la revista “Journal of Forensic Sciences” en colaboración con el Laboratorio de Análisis Forenses de la Universidad de West Virginia, WV, Estados Unidos..... 154

## Lista de Abreviaturas

2,4-DNT	2,4-dinitrotolueno
AFM	Microscopía de fuerza atómica
CE	Electroforesis capilar
CELEQ	Centro de Electroquímica y Energía Química de la Universidad de Costa Rica
CMES	Electrodos químicamente modificados
CSWV	Voltamperometría de separación de onda cuadrada cíclica
Cu	Cobre
CV	Voltamperometría cíclica
DPA	Difenilamina
DPCAdSV	Voltamperometría de adsorción catódica de impulso diferencial
DPV	Voltamperometría de pulso diferencial
EC	Etil centralita
FN	Falsas negativas
FP	Falsos positivos
FT-NIR	Espectrofotometría en infrarrojo cercano con transformada de Fourier
GC-MS	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas
GFAAS	Espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito
GSR	Residuos de disparo
HPLC-MS	Cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas
ICP-MS	Espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo
ICP-OES	Espectroscopía de emisión óptica con plasma de acoplamiento inductivo
IGSR	Residuos de disparo inorgánicos
INAA	Análisis instrumental de activación de neutrones
LC-MS/MS	Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem
LIBS	Espectroscopia de plasma inducido por láser

LOD	Límite de detección
LOQ	Límite de cuantificación
MC-ICP/MS	Espectrometría de masas con fuente de plasma de acoplamiento inductivo con múltiples colectores
NG	Nitroglicerina
OGSR	Residuos de disparo orgánicos
Pb	Plomo
RSD	Desviación estándar relativa (Coeficiente de variación)
Sb	Antimonio
ScFN	Nebulizador de fluido subcrítico
SEM-EDX	Microscopía electrónica de barrido con rayos X característicos
SERS	Espectroscopía Raman de superficie mejorada
SF-HR-ICP-MS	Espectrometría de masas de campo sectorizado de alta resolución con plasma de acoplamiento inductivo
SLA-ICP/MS	Espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo
SPCE	Electrodos serigrafiados de carbón
SWASV	voltamperometría de arrastre anódico de onda cuadrada
SWCAdSV	Voltamperometría de onda cuadrada por adsorción catódica
SWV	Voltamperometría de onda cuadrada
TEM	Microscopía electrónica de transmisión
TN	Negativas verdaderas
TP	Positivos verdaderos
WVU	Universidad de West Virginia, Estados Unidos



**Autorización para digitalización y comunicación pública de Trabajos Finales de Graduación del Sistema de Estudios de Posgrado en el Repositorio Institucional de la Universidad de Costa Rica.**

Yo, Pedro José Calderón Arce, con cédula de identidad 402080692, en mi condición de autor del TFG titulado DESARROLLO Y VERIFICACIÓN DE METODOLOGÍAS ELECTROQUÍMICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE ANTIMONIO, PLOMO Y OTROS COMPONENTES ORGÁNICOS PRESENTES EN RESIDUOS DE DISPARO

Autorizo a la Universidad de Costa Rica para digitalizar y hacer divulgación pública de forma gratuita de dicho TFG a través del Repositorio Institucional u otro medio electrónico, para ser puesto a disposición del público según lo que establezca el Sistema de Estudios de Posgrado. **SI**  **NO** \*

\*En caso de la negativa favor indicar el tiempo de restricción: \_\_\_\_\_ año (s).

Este Trabajo Final de Graduación será publicado en formato PDF, o en el formato que en el momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre, con el fin de permitir la consulta e impresión, pero no su modificación.

Manifiesto que mi Trabajo Final de Graduación fue debidamente subido al sistema digital Kerwá y su contenido corresponde al documento original que sirvió para la obtención de mi título, y que su información no infringe ni violenta ningún derecho a terceros. El TFG además cuenta con el visto bueno de mi Director (a) de Tesis o Tutor (a) y cumplió con lo establecido en la revisión del Formato por parte del Sistema de Estudios de Posgrado.

**FIRMA ESTUDIANTE**

Nota: El presente documento constituye una declaración jurada, cuyos alcances aseguran a la Universidad, que su contenido sea tomado como cierto. Su importancia radica en que permite abreviar procedimientos administrativos, y al mismo tiempo genera una responsabilidad legal para que quien declare contrario a la verdad de lo que manifiesta, puede como consecuencia, enfrentar un proceso penal por delito de perjurio, tipificado en el artículo 318 de nuestro Código Penal. Lo anterior implica que el estudiante se vea forzado a realizar su mayor esfuerzo para que no sólo incluya información veraz en la Licencia de Publicación, sino que también realice diligentemente la gestión de subir el documento correcto en la plataforma digital Kerwá.

# Capítulo 1.

## Introducción

---

Durante un delito, la interacción entre el perpetrador y su entorno dejan múltiples residuos en la escena del crimen, los cuales pueden ser importantes a la hora de tomar decisiones sobre la responsabilidad de estas personas en la comisión de tal crimen, por ello, los investigadores deben tener pruebas contundentes, que generen más evidencia y se pueda recrear fielmente la escena del crimen.

### **1.1. Armas y Armas de Fuego**

Desde la antigüedad, las armas de mano fueron muy utilizadas por el ser humano, estas fueron diseñadas para matar o incapacitar a larga distancia; empezaron siendo garrotes de madera y palos puntiagudos, los cuales con el pasar de los años fueron evolucionando en lanzas con punta de piedra y cuchillos, dagas y espadas hechas de madera o piedra.

El deseo de lanzar algún tipo de misil por el aire para matar o herir a algún enemigo presenta sus orígenes desde los hombre primitivos, debido a la necesidad de la caza de animales peligrosos para alimentarse. De acuerdo con Smyth Wallace, 2008, los primeros proyectiles encontrados son piedras y palos de mandera, los cuales fueron lanzados a mano.

Uno de los avances más importantes para la humanidad fue el descubrimiento del metal y la capacidad que tiene este para moldearlo de diferentes formas, lo cual condujo rápido a la fabricación de cuchillos, dagas, espadas de metal, felchas, lanzas con punta de metal, las cuales presentaban mejores condiciones que las armas diseñadas anteriormente.

De acuerdo a Di Maio & Vincent J. M, 2016, la palabra “arma de fuego”, es origina a partir de la llama que se produce en el extremo de la boca del cañon, por donde sale la bala, cuando se dispara un arma, **Figura 1**,.



**Figura 1.** Disparo con arma de fuego. Fotografía de elaboración propia

Cuando se trata de armas de fuego, la palabra “pistola” es uno de los nombres alternativos que es muy aceptado cuando se trata de armas de fuego. Existen muchos tipos de armas de fuego, desde aquellas que tienen una gran boca de cañón, las cuales se utilizan regularmente en las guerras terrestres o marítimas, los cuales entran en la categoría de artillería; por otro lado están las armas pequeñas, las cuales pueden ser llevadas por una persona con entrenamiento y entre estas se encuentra la pistola paralizante, la cual inhabilita a la persona temporalmente al aplicar una descarga eléctrica de alta voltaje no letal.

Específicamente la balística es la ciencia del desempeño de los proyectiles, esta se relaciona con su trayectoria, energía, velocidad, alcance, penetración, entre otros aspectos importantes de las municiones. La balística exterior se ocupa del disparo de la bala después de que esta sale por la boca del arma; la balística interior tiene que ver con el encendido del cebador, la combustión del polvo propulsor y las presiones internas y los pares de torsión resultantes cuando la bala es forzada a



través del cañón; finalmente la balística terminal es el estudio de la interacción del proyectil con el objetivo.

### **1.1.1. Anatomía de un cartucho de bala**

#### **1.1.1.1. Composición externa**

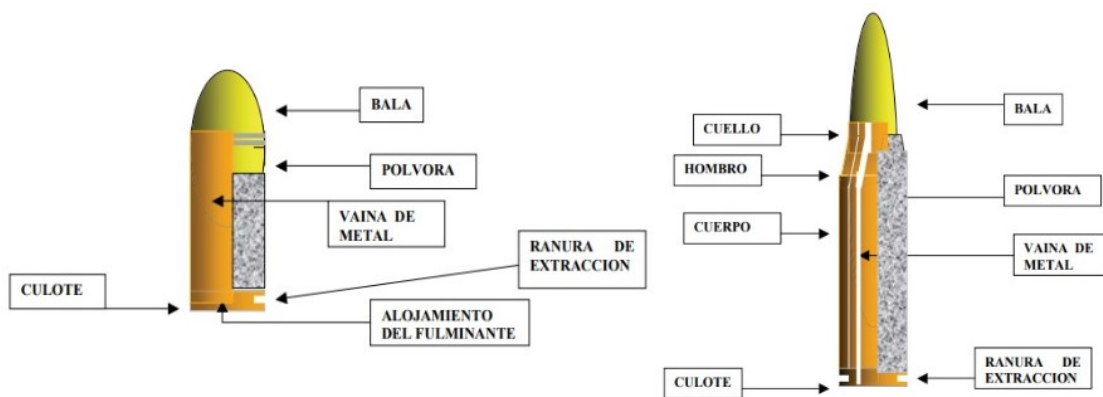
Cada cartucho de bala está diseñado de una forma en específico para albergar el cebador, el propulsor y para retener de forma segura la bala en el cuello de la caja. El diseño de la caja del cartucho se ve afectado por varios factores, siendo los más importantes los siguientes:

- El papel de la munición.
- El tipo de arma.
- El diseño de la bala a utilizar.
- El tipo de sistema de ignición.

De acuerdo con Smyth Wallace, 2008 y Børvik et al., 2015, mencionan que la mayoría de las cápsulas que son fabricadas a nivel mundial están hechas de latón (es decir, aproximadamente un 70 % de cobre y 30 % de zinc), pero también se utilizan otros materiales como el acero, las cuales pueden estar recubiertas de zinc, latón, metal dorado (aproximadamente 90% de cobre y 10% de zinc), cobre enlacado o cobre obscurecido, latón niquelado, aleación entre níquel y cobre (aproximadamente 80 % cobre y 20 % níquel), así como también aluminio y aluminio recubierto con teflón. Estas últimas tienen un efecto lubricante y reduce la posibilidad de cocción (descarga accidental por calor generado por cocciones recientes anteriores) ya que el teflón tiene un coeficiente de fricción muy bajo.

Ahora bien, el segundo material en cuanto a popularidad después del latón es el acero, el cual debe cumplir ciertas especificaciones para ser ideal para la carcasa del cartucho: carbono 0,08 % – 0,12 %, cobre 0,25 %, manganeso 0,6 %, fósforo 0,035 %, azufre 0,03 % y silicio 0,12 %, de acuerdo a Smyth Wallace, 2008, Børvik et al., 2015 y Chen & Chen, 2012.

Por otro lado, Hallett et al., 2020, describen que los cartuchos de escopeta suelen ser de plástico con una base de latón o acero revestido, aunque también se pueden encontrar de papel con el mismo tipo de base o hasta de plástico. Además Smyth Wallace, 2008 menciona que para las escopetas existían cartuchos completamente de latón, los cuales son municiones antiguas y se fabricaban con fines de recarga, aunque aún existen aquellos que son de calibre .410 los cuales son totalmente de aluminio. Cabe mencionar que cada tipo de bala es distinta, además de que presenta diferentes dimensiones, velocidad, masa y demás características como se menciona en el **Cuadro I**.



**Figura 2.** Diagrama general de un cartucho para arma de fuego. Tomado de RENAR, 2001

Entre los componentes de una bala, la pólvora es lo menos estudiado, debido a su complejidad en compuestos y su difícil acceso para la toma de la muestra, como se presenta en la **Figura 2**.

Las estrictas especificaciones y los procedimientos de control de calidad para la fabricación de cartuchos reflejan el papel tan importante que desempeña la caja del cartucho en el proceso de descarga. Cuando se desarrolla este proceso, el cartucho de munición del arma de fuego, la presión interna del gas y en mucho menor grado el aumento de temperatura, hacen que la caja del cartucho se expanda firmemente contra las paredes de la recámara (obturación). Esta es una función extremadamente importante de la caja del cartucho, ya que evita el escape de gas hacia atrás. Tal escape de gas reduciría la velocidad del proyectil y en consecuencia,

la eficiencia del arma de fuego lo que podría causar un mal funcionamiento del mecanismo del arma de fuego.

#### **1.1.1.2. Composición interna**

La composición interna de las balas va a variar según el tipo de munición con la que se cuente, pero de forma general son mezclas que, cuando se someten a percusión, proporcionan una explosión repentina que sirve para encender el propulsor dentro de la vaina del cartucho (**Figura 2**). La composición de esta mezcla debe entregar un volumen relativamente grande de gases calientes y partículas sólidas, sin que se desarrolle una onda detonante, como lo menciona O'Mahony & Wang, 2013.

De acuerdo con RENAR, 2001, la composición de imprimación ideal, consiste en un compuesto químico que sea simple, barato, fácilmente disponible y relativamente seguro de manipulación, de granulación uniforme que, cuando se somete a un impacto, ocurra una descomposición rápida y altamente exotérmica. El único compuesto que incluso se acerca a estas especificaciones es el dinitrorresorcinato de plomo; sin embargo, es demasiado sensible a las condiciones ambientales, por lo que en la práctica, ningún compuesto químico individual cumple todos los requisitos de una imprimación ideal.

Según Heard, 2008, la mayoría de las municiones a nivel mundial son una mezcla de compuestos que, aunque individualmente no son explosivos, se sensibilizan entre sí a la ignición y a la combustión rápida. Estas mezclas están compuestas de uno o más agentes detonantes iniciales, con agentes oxidantes, combustibles, sensibilizadores y agentes aglutinantes. El efecto neto de las adiciones es diluir el agente detonante inicial para convertir su descomposición por detonación en combustión rápida. En algunos casos, una sola adición puede tener dos propósitos: por ejemplo, el sulfuro de antimonio actúa como combustible y como sensibilizador a la fricción, y la goma arábica actúa como combustible y agente aglutinante. Los agentes oxidantes proporcionan oxígeno para apoyar la combustión

del combustible, dentro del pequeño espacio de la caja del cartucho. Los combustibles son necesarios para prolongar la combustión el tiempo suficiente para encender el propulsor. Las adiciones también pueden servir para aumentar el volumen de gases, producidos por unidad de peso de composición de imprimación, para evitar que los gases tengan una temperatura demasiado alta y para contribuir con partículas sólidas incandescentes, a los productos de descomposición.

La velocidad de combustión, el volumen de gases, el peso de las partículas sólidas producidas y la duración de la llama son las principales influencias en el funcionamiento eficiente de una composición de imprimación. Para una composición de imprimación típica de 0,15 g, el volumen de gases a temperatura y presión ambiente es del orden de 1,5 centímetros cúbicos. El porcentaje del peso transportado como partículas incandescentes por los gases calientes variará con la composición, pero puede estar en aproximadamente un 70 %, de acuerdo con Guy & Pate, 1973; Heard, 2008; O'Mahony & Wang, 2013; Smyth Wallace, 2008.

En términos generales los cebadores para armas pequeñas consisten en un explosivo, un oxidante, un combustible y un friccionador, además otros compuestos actúan como sensibilizadores y aglutinantes. Algunos de estos se muestran en la **Figura 3**.

Además Heard, 2008, muestra que la cantidad de oxidante en la mezcla se calcula para suministrar al menos suficiente oxígeno para la combustión completa de la imprimación; de lo contrario, podrían formarse productos de combustión que sean dañinos para el arma de fuego, así como también puede existir más de un explosivo, oxidante, combustible y agente de fricción en una sola composición de imprimación y a veces, se agrega un tinte como característica de identificación o como una ayuda en la producción.

Smyth Wallace, 2008, muestra que durante el año 1805, se utilizó fulminato de mercurio como base de la composición de imprimación y, a partir de ese momento,

el sistema de percusión se convirtió en las composiciones de imprimación de percusión de uso universal y altamente fiables de la actualidad. Este desarrollo que comenzó en 1805 aún continúa hoy, y los fabricantes son muy reacios a publicar detalles de sus composiciones, pero como lo mencionan De Donato & Gutz, 2005 y Vollset et al., 2019, la producción de municiones con mercurio ha disminuido debido al daño ambiental que puede producir.

<b>Explosivos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• azidas, fulminatos, compuestos diazo y compuestos nitro o nitroso; por ejemplo, plomo o azida de plata, fulminato de mercurio, estifnato de plomo, TNT y PETN.</li> </ul>
<b>Oxidantes</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• nitrato de bario, clorato de potasio, dióxido de plomo y nitrato de plomo.</li> </ul>
<b>Combustibles</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• sulfuro de antimonio, goma arábica, siliciuro de calcio, nitrocelulosa, negro de humo, tiocianato de plomo y metales en polvo como aluminio, magnesio, circonio o sus aleaciones.</li> </ul>
<b>Friccionadores</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• vidrio esmerilado y polvo de aluminio.</li> </ul>
<b>Sensibilizadores</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• tetraceno, TNT y PETN.</li> </ul>
<b>Aglutinantes</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• goma arábica, goma de tragacanto, cola, dextrina, alginato de sodio, cemento de caucho y goma karaya.</li> </ul>

**Figura 3.** Principales sustancias químicas encontradas en la fabricación de balas utilizadas en municiones y armas de fuego. Tomado y resumido de Smyth Wallace, 2008.

Cabe destacar que los compuestos presentados en la **Figura 3** no son los únicos empleados en la fabricación de municiones, ya que Dujay, 2003, utilizó la técnica de SEM-EDX, para este análisis y detectó específicamente plomo, bario y antimonio. Esto representa el comienzo para el estudio de la detección y

caracterización de partículas pirotécnicas de residuos de reacción (PRRP) producidas por explosión o combustión.

Martiny, Campos, Sader, y Pinto 2008 realizaron su estudio en dos tipos de municiones libres de plomo producidas en Brasil y comercializadas distintamente en Europa y Estados Unidos. Los resultados indicaron que las municiones que se vendían a Europa tenían estroncio como único elemento detectado, mientras que las que se vendían a Estados Unidos presentaban potasio, aluminio, silicio y calcio, por lo que se concluyó que la identificación de los residuos de disparo presentes en las manos de los sospechosos se haría imposible sin la adición de un marcaje metálico distinto en la composición del cartucho de la bala.

Mediante el uso de la técnica de microscopía electrónica tiene la ventaja de que la destrucción de la muestra es prácticamente nula y la cantidad de metales pesados encontrados es muy grande. La desventaja que presentan estos tipos de estudio es el tiempo de medición y que se trata de un análisis superficial que no logra abarcar la muestra en su totalidad y por lo tanto no se puede distinguir fielmente, si los residuos encontrados son de disparo o son residuos de otros componentes encontrados en la escena del crimen, ni mucho menos su concentración.

Por otro lado, Romolo y colaboradores, 2017 analizaron todo el arma de fuego para la búsqueda de estos residuos en casos específicos, ya que los metales que más se encuentran son plomo, bario y antimonio pero también se pueden encontrar trazas de selenio, resultado de los productos de limpieza que se utilizan para borrar cualquier evidencia que incrimine a una persona en específico, por lo que este análisis elemental proporciona información valiosa para recrear la escena del crimen.

**Cuadro I.** Características físicas de algunas balas según su calibre. Resumido de RENAR: Registro Nacional de Armas, 2001

Calibre	Diámetro (mm)	Masa (g)	Longitud (mm)	Velocidad (m/s)	Alcance máximo (m)	Alcance efectivo (m)
.22 LR	5,67 – 5,70	2,77 – 2,80	11,70 – 11,90	350	1600	50

.25 Auto	6,35 – 6,38	3,15 – 3,35	11,70 – 12,00	250	900	30
.32 Auto	7,80 – 7,83	4,35 – 4,40	1,50 – 11,70	325	1600	30
.380 Auto	9,00 – 9,03	5,75 – 5,95	11,40 – 11,70	285	1500	35
9 x 18 mm	9,23	7,62	11,12	340	1500	25 – 40
9 x 19 mm	8,90 – 9,02	7,33 – 8,40	14,61 – 16,00	425	2800	50
.357 Magnum	9,05 – 9,10	5,80 – 11,70	16,10 – 17,38	490	2500	75
.38 SPL	9,03 – 9,20	9,10 – 10,10	17,30 – 19,00	310	2500	50
.38 Corto	9,05 – 9,15	9,90 – 10,25	17,30 – 19,00	240	1800	50
.45 Auto	11,43	14,80 – 15,30	17,00	260	1400	25
7,62 x 39 mm	7,78	7,50 – 8,00	27,80	755	2500	300

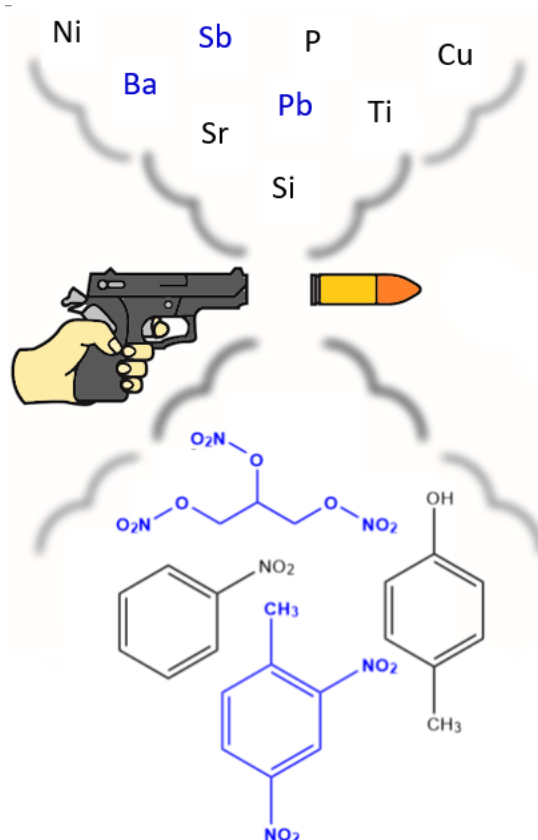
**Notas:**

- **LR:** Long Rifle.
- **Auto:** del inglés Automatic Colt Pistol.
- **Magnum:** proviene de la casa fabricante S&W Magnum (Smith & Wesson).
- **SPL:** cartucho especial mágnun.
- **Corto:** De su nombre en inglés "short".
- **Alcance máximo:** mayor distancia a la que puede viajar un proyectil disparado por un arma de fuego cuando el cañón ha sido posicionado en el ángulo óptimo
- **Alcance efectivo:** máxima distancia a la cual se espera que la bala sea letal.

## 1.2. Residuos de descarga de armas de fuego

Los gases, vapores y partículas formadas por la descarga de municiones en un arma de fuego, se conocen colectivamente como residuos de descargas de armas de fuego (FDR), residuos de disparos (GSR) o residuos de descargas de cartuchos (CDR) (**Figura 4**).

Cualquier partícula presente en la munición puede contribuir, junto con una posible contribución del arma de fuego en sí. Cabe destacar que los residuos pueden ser tanto de tipo orgánico como de tipo inorgánico.



**Figura 4.** Diagrama general de los residuos de disparo encontrados al disparar una bala con un arma de fuego. Elaboración propia

De acuerdo con Dalby et al., 2010 y Goudsmits et al., 2019, los componentes inorgánicos pueden provenir de la mezcla de imprimación, copa, disco de sellado, la caja del cartucho, los aditivos inorgánicos del propulsor, el núcleo y la camisa de la bala, los pigmentos que contienen metales en las lacas de colores, selladores, lubricantes, trazas de impurezas inorgánicas en cualquier componente y también de la recámara, interior del cañón, boca del arma de fuego, además de los residuos inorgánicos ya presentes dentro del arma de fuego antes de la descarga. En general, la principal fuente de residuos de descarga inorgánicos son la bala y la imprimación.

Por otro lado, los componentes orgánicos provienen de la mezcla de imprimación, propulsor, selladores, lacas, lubricantes de la munición, y también



lubricantes y desechos orgánicos ya presentes en el interior del arma de fuego antes de la descarga, por lo que la principal fuente de residuos de vertidos orgánicos es el propulsor, como menciona Goudsmits et al., 2019.

Los residuos que se encuentran en las descargas de armas de fuego, como se observa en la **Figura 4**, de acuerdo con Castellanos et al., 2016 y Zeichner, 2012, consisten en una mezcla heterogénea compleja, la cual es mayoritariamente material particulado. El material particulado se puede detectar en un sospechoso, pero también existe la posibilidad de que los productos vaporizados se adsorben en la piel o en las superficies de la ropa.

De acuerdo con Smyth Wallace, 2008 y Castellanos et al., 2016, la descarga de una munición en un arma de fuego va a producir alta temperatura y alta presión durante un período corto de tiempo, el cual típicamente es de 0,03 segundos desde que el martillo o el percutor golpea el cebador hasta la bala o el disparo que sale de la boca del cañón. Como resultado del período de tiempo y la naturaleza del proceso de descarga, solo se produce una mezcla parcial de los componentes y esto explica la naturaleza muy heterogénea de los residuos de la descarga de armas de fuego.

Cabe destacar que cuando se dispara una ronda de munición en un arma de fuego, además del proyectil, se emiten residuos de descarga de arma de fuego, principalmente desde la boca del cañón, pero también desde los huecos de los cilindros, los orificios de expulsión y otras rejillas de ventilación del arma de fuego, **Figura 1**.

El análisis químico de los gránulos, de acuerdo con Zeichner, 2012 puede proporcionar información útil para fines de comparación con municiones sospechosas. Sin embargo, un aspecto importante que se debe tener en cuenta es que un propulsor puede cambiar, tanto de color como de composición química, porque los revestimientos superficiales pueden explotarse o quemarse durante la descarga y los gránulos originales pueden no tener una composición uniforme.

### 1.3. Tipo de muestras analizadas

Se ha observado que el análisis de cada una de las partes de una munición, así como todo el casquillo, son importantes para la determinación de residuos, ya que cada uno podría proporcionar diferente información de residuos de metales pesados, así como también la pólvora lo hace.

Ahora bien, de acuerdo al **Cuadro II**, con las muestras analizadas además de residuos de disparo o inorgánicos, también se pueden analizar tejidos histológicos, como es el caso de Amadasi *et al.*, 2014 y Große Perdekamp, Nadjem, *et al.*, 2011, los cuales analizaron directamente los tejidos carbonizados de las víctimas de disparos; también Berryman *et al.*, 2010 utilizaron muestras tomadas en heridas de bala en costillas de cerdo con músculo intacto y en residuos encontrados a uno y a seis pies de distancia realizadas con balas calibre .45 pulgadas. Freitas *et al.*, 2012 emplearon, además de muestras tomadas de un revólver de calibre de .38 pulgadas y pistolas de calibre de 9 y .40 pulgadas, tejidos de aproximadamente 2,25 cm<sup>2</sup>. En todos los casos los metales que se detectaron fueron los mismos: plomo, bario y antimonio, lo cual tiene mucho sentido ya que son los principales componentes del material de las balas, además este tipo de muestras nos presentan la posibilidad que tienen las técnicas para tratar tanto con muestras inorgánicas como muestras de tejidos e inclusive muchas veces con residuos de músculo, lo cual podría ser interferencia para otras técnicas.

**Cuadro II.** Análisis de metales pesados en muestra histológicas por diferentes técnicas de detección y cuantificación

Metales detectados	Matriz empleada	Técnica empleada	Referencia
Plomo, bario y antimonio	Tejidos carbonizados de las víctimas de disparos	Microscopía electrónica de barrido con rayos X característicos (SEM-EDX)	Amadasi, Borgonovo, Brandone, Di Giancamillo, y Cattaneo, 2014
	Muestras tomadas de un revólver de calibre de 0,38 pulg y pistolas de calibre de 9 y 0,40 pulg, además de muestras de tejidos de aprox. 2,25 cm <sup>2</sup> .	Espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS)	Freitas, Sarkis, Neto, y Viebig, 2012
	Tejidos carbonizados de las víctimas de disparos	Microscopía electrónica de barrido con rayos X característicos (SEM-EDX)	Große Perdekamp, Nadjem, <i>et al.</i> , 2011
	Muestras tomadas en heridas de bala en costillas de cerdo con músculo	Microscopía electrónica de barrido con rayos X característicos (SEM-EDX)	Berryman, Kutyla, y Russell Davis, 2010

La comparación de metodologías en estos campos de investigación siempre son importantes para asegurar una buena detección de metales en las muestras, por lo que Yañez *et al.*, 2012, utilizaron espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS) y espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito (GFAAS) en muestras tomadas de las manos de tiradores y no tiradores con municiones de dos marcas diferentes, de esta manera determinaron metales característicos como plomo, bario, antimonio, cobre, zinc y calcio, y lograron diferenciar inclusive la marca de munición que se utilizó en algún crimen. Se concluyó que la mejor técnica era la espectrometría de masas con plasma de

acoplamiento inductivo (ICP-MS), ya que los niveles de detección y cuantificación eran más bajos que con la espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito (GFAAS).

También Cid y *colaboradores*, 2016, tomaron muestras de las manos de los tiradores y analizaron estaño por la técnica de espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito (GFAAS). Como se conoce que su detección es difícil, aplicaron un nuevo sistema de introducción de muestras, el nebulizador de fluido subcrítico (ScFN), el cual combinado con la absorción atómica mejoró la determinación de estaño inorgánico en disoluciones acuosas.

En el caso de Costa y *colaboradores*, 2016 utilizaron la técnica de microscopía electrónica de barrido con rayos X característicos (SEM-EDX) pero la cual comparó con la técnica de espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS) para muestras que se tomaron directamente de una pistola y un revólver. En su estudio emplearon municiones calibre 0,40 pulg para la pistola y 0,38 pulg para el revólver y su análisis se enfocó principalmente en la cantidad de residuos generados después de cada tiro hasta un máximo de 7 tiros, los resultados por ambas técnicas mostraron que los metales presentes son hierro, plomo, bario y antimonio, aunque por la técnica de espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS) se encontraron muchos residuos de hierro por lo que se concluyó que la presencia de hierro se debe solamente al material de que están hechos cada una de estas y no específicamente era un residuo producto de la detonación de la misma, se observó que con esta técnica, ICP-MS, se puede obtener más información de la muestra.

Cabe destacar que las muestras no siempre son municiones, tejidos humanos o de animales e inclusive aquellas que son tomadas directamente del arma de fuego. En su estudio Roeterdink, Dadour, y Watling, 2004 analizaron, mediante la técnica de espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS), este tipo de residuos de metales directamente de las larvas de la mosca *Calliphora dubia*

las cuales fueron extraídas de trozos de carne de vacunos contaminadas con residuos de disparo. Se encontraron concentraciones altas de plomo, bario y antimonio, comparando con grupos control. Además, se estudió si estos metales eran bioacumulativos en las moscas y como resultado se observó que las concentraciones disminuían conforme avanzaban las generaciones de las mismas, lo cual se puede atribuir a que los residuos que se habían encontrado son característicos solamente de los residuos de disparo, lo cual podría brindar información importante para un caso determinado.

#### **1.4. Técnicas de análisis**

El campo del análisis de residuos de disparo se encuentra actualmente en constante cambio, la búsqueda de nuevas tecnologías que sean rápidas, seguras y poco costosas es el objetivo principal, ya que cada muestra es diferente y única, por lo que los límites de detección y cuantificación de estos métodos deben ser a nivel trazas y ultrazas, para lo cual se utilizan metodologías como microscopía electrónica de barrido con rayos X característicos (SEM-EDX), cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (HPLC-MS), electroforesis capilar (CE), técnicas electroquímicas, entre otras, las cuales se detallan a continuación:

##### **1.4.1. Microscopía electrónica de barrido con rayos X característicos (SEM-EDX)**

De acuerdo con Stokes, 2008, la microscopía electrónica de barrido es un tipo de microscopio que logra producir imágenes de la muestra escaneando únicamente la superficie de la misma con un haz de electrones. Los electrones interactúan con los átomos de la muestra, produciendo una serie de señales que van a brindar información importante sobre la topografía de la superficie y muchas veces también de la composición de la muestra. Ahora bien, Goldstein et al., 2018 mencionan que el haz de electrones se combina con la intensidad de la señal que se detecta en la muestra para de esta manera generar una imagen, además en el modo SEM, el cual

es el más común, los electrones secundarios emitidos por los átomos excitados por el haz de electrones son detectadas por medio de un detector de electrones secundario.

Como lo menciona E30 Committee, 2017, p. 30 en el campo de las ciencias forenses, específicamente con muestras de residuos de disparo o inclusive en materiales orgánicos, esta técnica es una de las más utilizadas, ya que pueden alcanzar resoluciones superiores hasta 1 nm, siempre en condiciones de alto vacío.

Como se observa en el **Cuadro III**, la técnica de microscopía electrónica de barrido con rayos X característicos (SEM-EDX) se utilizó para el análisis de diferentes metales en los residuos de disparo y lo más interesante que se aprecia es la versatilidad de las matrices empleadas, como en los trabajos de Kara, Sarikavak, Lisesivdin y Kasap (2016) y Brozek-Mucha (2009), son muestras tomadas directamente del cuerpo de la persona que dispara, mientras que Brozek-Mucha y Jankowicz (2001), Yilmaz, Turşucu, Uzunoğlu y Korucu (2014) y Rijnders, Stamouli, y Bolck (2010) utilizaron directamente la bala o lugares alrededor de su detonación.

**Cuadro III.** Análisis realizados en microscopía electrónica de barrido con rayos X característicos (SEM-EDX)

Metales detectados	Matriz empleada	Referencia
Bario, aluminio, silicio, potasio y trazas de titanio, hierro y azufre	Municiones libres de plomo	Fambro, Vandebos, Rosenberg, y Dockery, 2017
Plomo, bario, antimonio, aluminio, azufre, cobre, potasio y magnesio	Muestras tomadas de las manos de tiradores por medio del método de la cinta especial	Kara, Sarikavak, Lisesivdin y Kasap, 2016
Plomo y antimonio	Muestras de bala (cartucho, casquillo, núcleo y pólvora)	Yilmaz, Turşucu, Uzunoğlu y Korucu, 2014

Metales detectados	Matriz empleada	Referencia
Plomo, bario, antimonio, titanio y zinc	Muestras de siete lugares diferentes, alrededor del origen del disparo (a diferentes distancias) y del arma.	Rijnders, Stamouli, y Bolck, 2010
Plomo, antimonio y bario	Muestras las toman tanto de las manos de la persona que dispara, como de la ropa en diferentes áreas	Brozek-Mucha, 2009
Plomo, bario y antimonio	Trozos de aluminio con pestañas adhesivas de carbono negro	Brozek-Mucha y Jankowicz, 2001
Estroncio, potasio, aluminio, silicio y calcio	Trozos de aluminio con pestañas adhesivas de carbono negro	Brozek-Mucha y Jankowicz, 2001
Plomo, estroncio, bario y antimonio	Disparador del arma, comúnmente llamado gatillo	Harris, 1995

Otra de las partes del arma que se estudia poco por esta técnica de microscopía es directamente el disparador o comúnmente conocido como el gatillo, en donde se coloca el dedo para accionar el arma y provocar un disparo. Harris, 1995 analiza principalmente plomo, el cual es tóxico por bioacumulación. Antes de disparar el único metal encontrado fue estroncio, sin embargo, después de disparar se encuentran bario, antimonio y plomo. Esto mismo lo estudian Fambro, Vandenbos, Rosenberg, y Dockery, 2017 los cuales analizaron municiones libres de plomo y por esta técnica logran la detección de bario, aluminio, silicio, potasio y trazas de titanio, hierro y azufre; en esta ocasión no se detectó la presencia de plomo, ya que este metal se encuentra principalmente en el núcleo de la bala y sale expulsado durante la reacción de explosión.

Metales como el plomo y el antimonio fueron estudiados por Melo, Martiny, y Pinto, 2014 quienes emplearon, además de la microscopía electrónica de barrido con rayos X característicos (SEM-EDX), la microscopía electrónica de transmisión (TEM) para municiones de diferentes calibres producidas en Brasil, en donde la gran

capacidad de aumento de esta segunda técnica, confirmó la presencia de partículas nanométricas que generaron patrones de difracción específicos para el óxido de plomo, además se determinó que el bario no es un elemento muy común encontrado en estas nanopartículas.

La aparición de falsos positivos en el análisis de residuos de disparo es muy común, por lo que las metodologías empleadas deben prevenir este tipo de resultado. Aksoya, Akmana, Erguna, Uzekb, y Aydinc, 2013 en su estudio determinaron antimonio, por medio de espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito (GFAAS), en quince tipos diferentes de cintas adhesivas empleadas en escenas del crimen, para el muestreo de residuos de disparo y propusieron un método sencillo, selectivo, barato y rápido para el antimonio que combina la metodología de espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito (GFAAS) y la microscopía electrónica de barrido con rayos X característicos (SEM-EDX).

#### **1.4.2. Espectroscopía de emisión óptica con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES)**

La técnica de espectroscopía de emisión óptica con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES) es una herramienta analítica para la determinación de metales, simple, rápida debido a su alta sensibilidad y versatilidad. De acuerdo con McClenathan et al., 2006, es una de las técnicas más empleadas para la determinación de diferentes elementos químicos, utilizando plasma acoplado inductivamente para de esta manera producir átomos e iones excitados, los cuales van a emitir radiación electromagnética en longitudes de onda que son característicos. Lee, 2018, menciona que el plasma es una fuente de gas ionizado a alta temperatura, la cual puede alcanzar desde los 6000 K a 10000 K. Cabe destacar que la intensidad de las emisiones a diferentes longitudes de onda es proporcional a la concentración de los elementos dentro de la muestra.

Vanini *et al.*, 2015 la emplearon y determinaron las condiciones óptimas para la detección y análisis de metales como plomo, bario y antimonio principalmente en



municiones disparadas por un revólver 0,38 pulgadas, por medio de un estudio de tres variables diferentes como son potencia de radiofrecuencia, flujo de gas nebulizador y tasa de aspiración.

En este mismo campo Halim, Safian, Elias, y Shazali, 2013, analizaron los residuos obtenidos de las manos de personas que dispararon un arma de fuego que fueron recolectados en tres eventos diferentes: antes de disparar el arma, después de disparar el arma y finalmente lavando las manos de las personas y tomando la muestra, los resultados determinaron altas concentraciones de plomo, bario y cobre e inclusive se observó que la concentración de plomo siempre se mantuvo después de disparar y después de limpiar la mano del disparador, por lo que esta técnica sería muy útil para ayudar a la policía o investigador forense cuando se trate de casos de crímenes con arma de fuego. Así mismo Herrera Castillo, 2011, en su tesis de licenciatura utiliza esta técnica para el análisis de estos mismos metales en las manos de personas que dispararon armas de fuego, obteniendo buenos resultados para el plomo y el bario, más no así para el antimonio, ya que los límites de detección son menores. Se demostró también que las muestras, al ser tratadas en medio ácido, son estables en un periodo de 6 meses sin que exista la absorción de metales por parte de los tubos de propileno empleados para contener las muestras.

Asímismo, Motta y colaboradores, 2015, Vanini y colaboradores, 2014, por medio de un método colorimétrico basado en la reacción de Feigl-Suter, analizaron las larvas de moscas *Chrysomya albiceps*. Comparando con los obtenidos por medio de la técnica de espectroscopía de emisión óptica con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES), consiguió determinar residuos de plomo, bario y antimonio en ambos casos, pero con el ICP-OES la sensibilidad fue mayor.

Otra técnica derivada de estas, es la espectrometría de masas con fuente de plasma de acoplamiento inductivo con múltiples colectores (MC-ICP/MS), la cual de acuerdo con Lin et al., 2016 y Yang, 2009, esta técnica combina una fuente de plasma de acoplamiento inductivo (ICP), un filtro de energía, un analizador de sector

magnético y múltiples colectores para la medición de iones. Los iones se producen al introducir la muestra en el plasma de acoplamiento inductivo que elimina los electrones creando así iones cargados positivamente. Estos iones se aceleran a través de un gradiente de potencial eléctrico y se enfocan en un haz a través de una serie de rendijas y placas cargadas electrostáticamente. Este haz de iones luego pasa a través de un filtro de energía, lo que da como resultado un espectro de energía constante en el haz de iones y luego a través de un campo magnético donde los iones se separan en función de su relación masa/carga. Zeichner, Ehrlich, Shoshani, y Halicz 2006, utilizaron esta técnica para examinar la variabilidad de las composiciones isotópicas de plomo en balas y cartuchos de bala. Las muestras fueron municiones de plomo de calibre 0,22 pulgadas y municiones de chaqueta de metal Luger de 9 mm con pistolas semiautomáticas. Demostraron que el análisis de la composición isotópica de plomo puede brindar evidencia en la investigación, de determinados escenarios de incidentes de tiro.

Otra de las técnicas utilizadas es la espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito (GFAAS), la cual de acuerdo con Aliste & Chávez, 2016, es un tipo de espectrofotometría que utiliza un horno recubierto de grafito para vaporizar la muestra, la cual se basa en el hecho de que los átomos libres absorberán luz a longitudes de onda característicos del elemento de interés, los cuales se van a producir en una muestra mediante la aplicación de altas temperaturas. Además Ozbek & Ozcan, 2016, mencionan que las muestras se depositan en un pequeño tubo de grafito que luego se puede calentar para vaporizar y atomizar los analitos de interés. Gagliano-Candela, Colucci, y Napoli, 2008, emplearon esta técnica para el análisis de plomo presente en agujeros de bala producidos en blancos de prueba con un revólver Colt 38 a diferentes distancias entre 5 y 100 cm, lo que dio como resultados algoritmos específicos para este metal y determinar la distancia del disparo de acuerdo al área y concentración del mismo.

#### **1.4.3. Espectroscopía Raman de superficie mejorada (SERS)**

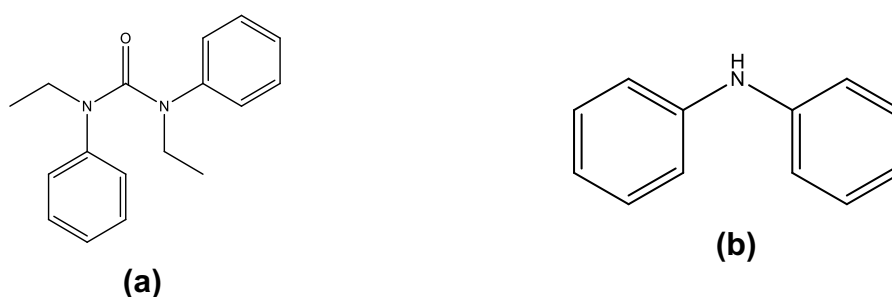
La Espectroscopía Raman de superficie mejorada (SERS), de acuerdo con Baia et al., 2008, es una técnica que ofrece incrementos de órdenes de magnitud en la intensidad de la señal, superando las señales obtenidos por la técnica Raman convencional, los factores de mejora pueden ser tan altos como  $10^{14}$  -  $10^{15}$ , lo cual es suficiente energía para permitir incluso la detección de una sola molécula utilizando esta técnica.

La mejora tiene lugar en una superficie de metal que tiene una rugosidad a nanoescala, y son las moléculas adsorbidas en esa superficie, las que pueden experimentar una mejora. Los metales típicos que se utilizan son el oro o la plata; la preparación de la superficie puede realizarse mediante desgaste electroquímico, recubrimiento metálico de un sustrato nanoestructurado o deposición de nanopartículas metálicas (a menudo en forma coloidal), como lo expone Lombardi & Birke, 2008.

Esta técnica fue utilizada por Panarin, Khodasevich, Gladkova, y Terekhov 2014, para la determinación de antimonio, mediante un complejo con fenilfluorona (Sb-PhF), lo cual da como resultado una metodología rápida y altamente sensible para el análisis de metales en residuos de disparo.

Otras de las técnicas utilizadas para el análisis de residuos de disparo son la espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICPMS) y microespectroscopía Raman, la cual de acuerdo con Huang et al., 2010, esta es una técnica de análisis químico la cual es no destructiva y va a proporcionar información de la estructura química, fase y polimorfía cristalina e inclusive las interacciones moleculares en la muestra. La técnica Raman, como menciona Pawlyta et al., 2015, se basa en la dispersión inelástica de fotones, la cual utiliza una fuente de luz monocromática (laser en el rango visible, infrarrojo cercano o UV). Esta luz va a interactuar con las vibraciones moleculares, lo que provoca un cambio de energía referente a la muestra y esta es la que proporciona información sobre los modos vibratorios del sistema.

Abrego et al., 2014, utilizaron estas técnicas para el análisis de residuos de disparo en muestras de municiones sin plomo, detectaron metales como cobre, zinc, estaño, circonio, estroncio, aluminio y titanio por SLA-ICPMS, mientras que por Raman se detectaron algunos compuestos orgánicos como 1,3-dietil-1,3-difenilurea (**Figura 5.a**), difenilamina (**Figura 5.b**) o sus derivados nitrados, los cuales son propios de este tipo de residuos.



**Figura 5.** Estructura esquelética de (a) 1,3-dietil-1,3-difenilurea y (b) difenilamina

De acuerdo al **Cuadro IV**, la técnica de microfluorescencia de rayos X es una de las técnicas de análisis elemental que se basa en los mismos principios de fluorescencia de rayos X, la cual exponen rayos X de onda corta o también rayos gamma, que pueden producir la ionización de los átomos que componen el material. Carpenter, 1989; Kanngießner et al., 2003, indican que la ionización consiste en la expulsión de uno o más electrones del tipo de átomos que compone el material, además este tipo de rayos pueden ser suficientemente enérgicos como para expulsar también electrones fuertemente retenidos de los orbitales internos del átomo. También, Aden, Monte C. Nichols, et al., 2019, mencionan que la energía se libera en forma de fotón, y que es igual a la diferencia de energía de los dos orbitales involucrados, por lo que el material emite radiación, que corresponde a la energía característica de los átomos presentes.

En el campos de las ciencias forenses Große Perdekamp, Arnold, et al., 2011, analizaron muestras tomadas tanto de los orificios de entrada de diferentes tipos de balas, así como de los orificios de salida de las mismas, utilizando microfluorescencia de rayos X; ya que estos residuos podrían encontrarse en mayor cantidad a la salida o en el trayecto y no en la entrada de la bala; además, se ayudaron con una cámara de movimiento de alta velocidad, la cual demostró que en el corto periodo del trayecto de la bala, la cavidad se extiende desde la entrada a la salida facilitando la acumulación de residuos en su trayectoria y, se encontraron residuos de plomo, bario y antimonio. Charpentier y Desrochers, 2000, analizaron a diferentes distancias del objetivo, muestras tomadas del iniciador del arma libre de plomo y determinaron que esta metodología brinda una buena detección y cuantificación de residuos de estroncio en el blanco hasta una distancia de 45 cm. Por último, Brazeau y Wong, 1997, analizaron la ropa del tirador y la víctima, así como tejido humano y lograron detectar residuos de plomo, antimonio y bario provenientes del casquillo de la bala, cobre y zinc usualmente de la bala y el hierro posiblemente del cañón del arma utilizada.

**Cuadro IV.** Análisis de metales pesados en residuos de disparo mediante la técnica de microfluorescencia de rayos X

Metales detectados	Matriz empleada	Referencia
Plomo, bario y antimonio	Muestras tomadas tanto de los orificios de entrada como de salidos de diferentes tipos de balas	Große Perdekamp, Arnold, <i>et al.</i> , 2011
Estroncio	Muestras tomadas del iniciador del arma libre de plomo	Charpentier y Desrochers, 2000
Plomo, bario y antimonio	Ropa del tirador y víctima, así como tejido humano	Brazeau y Wong, 1997

Esta técnica, al igual que la microscopía electrónica de barrido con rayos X característicos (SEM-EDX), presenta versatilidad en las muestras que se pueden emplear en los diferentes análisis y la poca interferencia por parte de los demás componentes de la matriz, debido a la especificidad y sensibilidad de la señal analizada.

#### 1.4.4. Técnicas empleadas en muestras biológicas

En la detección de residuos de disparo, también son importantes las muestras biológicas de fluidos corporales, como por ejemplo la mucosa nasal de los sospechosos. Merli, Brandone, Amadasi, Cattaneo y Profumo, 2016 aplicaron la técnica del análisis instrumental de activación de neutrones (INAA) para la determinación de residuos de antimonio, plomo y bario. En su estudio determinaron que, al tratar con este tipo de muestras, se cuenta con un lapso de tiempo de 6 horas aproximadamente, sin que se pierdan los residuos de disparo, lo cual puede ser prometedor para un futuro en este campo de estudio.

Como se observa en el **Cuadro V**, las técnicas empleadas por los diferentes autores son solo para identificar analitos, ya que por el fundamento de las mismas no se logra cuantificar la cantidad del metal encontrado.

**Cuadro V.** Análisis de residuos de disparo en muestras biológicas por medio de técnicas de identificación

Metales detectados	Matriz empleada	Técnica empleada	Referencia
Plomo, bario y antimonio	Treinta muestras de costillas de bovino carbonizadas	Tomografía computarizada, resonancia magnética y radiografías digitales	Amadasi <i>et al.</i> , 2014

	Cuerpos de personas a quienes les dispararon	Técnicas de rayos X	Thali <i>et al.</i> , 2003
	Muestras de piel de cerdo	Tomografías computacionales y reconstrucciones tridimensionales	Stein, Bahner, Merkel, Ain, y Mattern, 2000

En todas las muestras los metales fueron siempre los mismos: plomo, bario y antimonio, ya que estos son los metales más abundantes en estos tipos de residuos, como ya se ha mencionado anteriormente.

Al igual que en todos los campos de análisis, el muestreo requiere mucho estudio y un arduo trabajo para no dañar la muestra y preservarla hasta su momento de análisis, tal es el caso de estudio de Sarkis, Neto, Viebig, y Durrant, 2007, quienes utilizaron hisopos impregnados con ácido etilendiaminotetraacético (AEDT) para la recolección de residuos de revolver calibre 0,38 pulgadas y la cuantificación principalmente de metales como plomo, bario y arsénico en concentraciones mayores a  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , por lo que se pueden preservar las muestras al formar compuestos de coordinación tipo quelatos. En este caso en particular la muestra se analizó por espectrometría de masas de campo sectorizado de alta resolución con plasma de acoplamiento inductivo (SF-HR-ICP-MS), la cual de acuerdo con Lin et al., 2016; Yang, 2009, presenta el mismo funcionamiento de la espectrometría de masas con fuente de plasma de acoplamiento inductivo (ICP), pero la diferencia radica en la fuente de energía, ya que el filtro de puede modular de acuerdo a las necesidades propias de la muestra. Sarkis et al., 2007

## **1.5. Técnicas electroanalíticas**

Entre las técnicas más prometedoras para este tipo de residuos, están las técnicas electroquímicas, que permiten límites de detección y cuantificación realmente bajos.

### **1.5.1. Voltamperometría de pulso**

Las técnicas de voltamperometría de pulso, de acuerdo con Joseph Wang, 2000, tiene como objetivo fundamenta el reducir los límites de detección de las medidas voltamperométricas realizadas. Al aumentar la relación entre las corrientes faradaicas y no faradaicas, estas técnicas permiten una cuantificación hasta el nivel de concentración de  $10^{-8}$  mol/L, como lo menciona Bagótskiĭ, 2006. Además las técnicas modernas de pulso han cambiado y suplantado en gran medida a la polarografía clásica en el campo del electroanálisis.

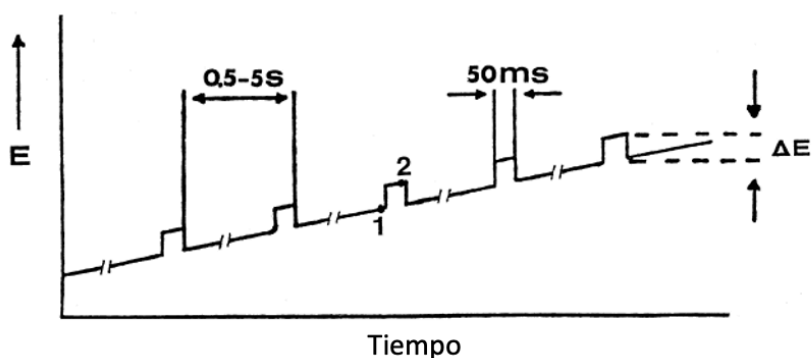
Como lo explican Bard & Faulkner, 2001, estas técnicas de pulso se basan en un experimento de paso de potencial de corriente muestreado. Se aplica al electrodo de trabajo una secuencia de potenciales, cada uno con una duración de aproximadamente 50 ms. Después de que se escalona el potencial, la corriente capacitiva decae más rápidamente, por lo que la corriente se muestrea antes y después del pulso, por lo que la corriente neta es la diferencia entre los dos puntos de muestreo.

La diferencia entre las diversas técnicas voltamétricas de pulsos rige en la forma de onda de excitación y el régimen de muestreo.

#### **1.5.1.1. Voltamperometría de pulso diferencial (DPV)**



La voltamperometría de pulso diferencial es una de las técnicas más útiles y se emplea para el análisis de muestras a niveles traza o ultratrazas de especies orgánicas e inorgánicas. En esta técnica, de acuerdo con Bard & Faulkner, 2001, los pulsos de magnitud fija, superpuestos a una rampa de potencial lineal, se aplican al electrodo de trabajo en un momento antes del final de la medición, tal como se esquematiza en la **Figura 6**. Se realiza un doble muestreo de la corriente: antes de la aplicación del pulso y de nuevo al final del pulso. Instrumentalmente, la primera corriente se resta de la segunda, y esta diferencia de corriente se traza frente al potencial aplicado.



**Figura 6.** Señal de excitación para la técnica de voltamperometría de pulso diferencial. Imagen tomada y traducida de Joseph Wang, 2000

El voltamperograma de pulso diferencial que resulta va a constar de señales de corriente en forma de pico cuya altura es directamente proporcional a la concentración de los analitos correspondientes. Además, el potencial al cual aparece esta señal o pico se utiliza para la identificación de cada uno de los analitos en estudio.

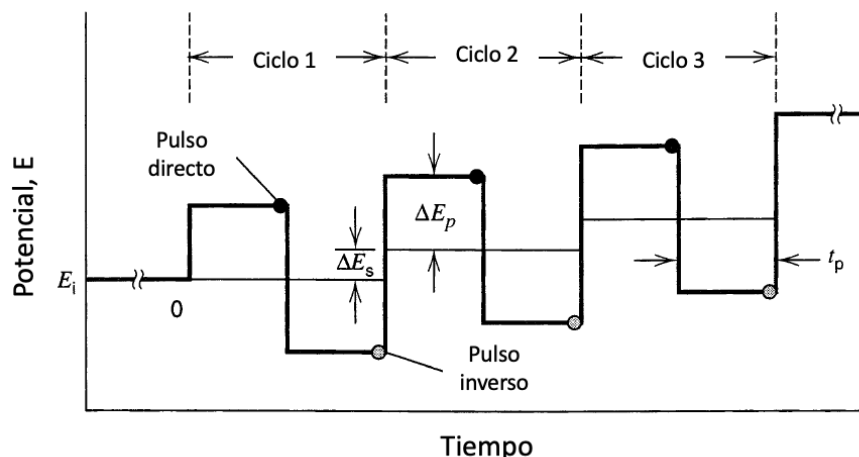
La respuesta en forma de pico de las mediciones de pulso diferencial da como resultado una resolución mejorada entre dos especies con potenciales redox similares. En diversas situaciones, se pueden medir picos separados por 50 mV, la cual depende no sólo de los correspondientes picos potenciales sino también de las anchuras del pico. La respuesta en forma de pico, junto con la corriente de fondo

plana, hace que la técnica sea particularmente útil para el análisis de mezclas. Según menciona Joseph Wang, 2000, además de las mejoras en la sensibilidad y la resolución, la técnica puede proporcionar información sobre la forma química en la que aparece el analito.

#### **1.5.1.2. Voltamperometría de onda cuadrada (SWV)**

Por otro lado, la voltamperometría de onda cuadrada, a diferencia de la técnica de DPV, tiene la ventaja de ser más versátil, ya que este presenta una combinación entre algunos aspectos de varios métodos de voltamperometría de pulso, incluida la supresión de fondo y la sensibilidad de la voltamperometría de pulso diferencial. También ofrece acceso a una gama más amplia de escalas de tiempo que las que se pueden lograr con cualquiera de las técnicas polarográficas de pulsos, como lo menciona Joseph Wang, 2000.

De acuerdo con Bard & Faulkner, 2001 esta técnica presenta gran amplitud en la que una forma de onda compuesta de una onda cuadrada simétrica, superpuesta a un potencial de escalera base, la cual se aplica al electrodo de trabajo. La corriente se muestrea dos veces durante cada ciclo de onda cuadrada, una vez al final del pulso directo y una vez al final del pulso inverso, **Figura 7**. Dado que la amplitud de modulación de onda cuadrada es muy grande, los pulsos inversos provocan la reacción inversa del producto (del pulso directo). La diferencia entre las dos medidas se traza frente al potencial de la escalera base



**Figura 7.** Señal de excitación para la técnica de voltamperometría de pulso diferencial. Imagen tomada y traducida de Joseph Wang, 2000

El voltamperograma en forma de pico resultante es simétrico con respecto al potencial de media onda y la corriente de la señal es proporcional a la concentración. Además, presenta una excelente sensibilidad que se debe a que la corriente neta es mayor que los componentes directo o inverso (ya que es la diferencia entre ellos); la sensibilidad es mayor que la de la polarografía de pulsos diferencial (en la que no se utiliza la corriente inversa).

La comparación de la voltamperometría de pulso diferencial y de onda cuadrada para casos reversibles e irreversibles indicó que las corrientes de onda cuadrada son 4 y 3.3 veces más altas, respectivamente, que la respuesta de pulso diferencial análoga, esto debido a que al restar una corriente positiva y una corriente negativa al final se suman en una corriente mayor, de acuerdo con Joseph Wang, 2000.

Como se nota en el **Cuadro VI**, las técnicas electroanalíticas se pueden emplear en gran cantidad de muestras y a algunos se les pueden realizar modificaciones para mejorarlas. Kovaleva et al., 2001, incrementan la detección de bario al emplear una película delgada de plata en el electrodo de carbón vítreo. Al emplear películas delgadas de diferentes metales como bismuto, oro y mercurio a electrodos sólidos como el de carbón vítreo, se mejora la sensibilidad del mismo,

además, aumenta la ventana de potencial, logrando de esta manera una mejor detección y cuantificación de los residuos de metales pesados que se oxidan o reducen a potenciales superiores a los 2,0 V.

Por otro lado, Erden *y colaboradores*, 2011, además de las técnicas electroanalíticas empleadas, compararon sus resultados con la técnica de espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito (GFAAS) y obtuvieron mayor sensibilidad por los métodos electroquímicos, ya que las señales obtenidas son mucho más confirmatorias que por el método de espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito (GFAAS), debido a las pocas interferencias instrumentales que se podrían tener, como es la contaminación cruzada.

Uno de los aportes más importante de estas técnicas lo mostró O'Mahony *et al.*, 2012, quienes propusieron que estos dispositivos podrían ayudar en forma rápida y segura, la toma de muestras y la detección in situ, de estos metales en manos y ropa de delincuentes, lo que favorece la toma de muestras, ya que se eliminaría el proceso de disolver la muestra en algún disolvente, la pérdida de muestras a bajas concentraciones al tomar la muestra directamente con el electrodo, esto facilitaría el análisis y se disminuirían las pérdidas en gran medida.

En los residuos de disparo no solo se encuentran metales pesados como los que se han mencionado, también se encuentran residuos orgánicos producto de la detonación como son dinitroglicerina, dinitrotolueno, nitrodifenilamina, nitrobenceno, entre otros.

En el **Cuadro VI** se muestran varias técnicas electroquímicas para la detección y cuantificación de diferentes componentes orgánicos propuestos por varios autores y en el

**Cuadro VII** se muestran varias técnicas electroquímicas para la detección y cuantificación de diferentes componentes orgánicos propuestos por varios autores. La ventaja que presentan estas técnicas para el análisis de componentes orgánicos es la gran cantidad de analitos que se pueden detectar en una sola corrida. Las diferentes matrices son un punto crucial en estos análisis, lo cual brinda una ventana bastante amplia de donde se pueden obtener las muestras.

**Cuadro VI.** Análisis de residuos de disparo, principalmente metales pesados por técnicas electroanalíticas de diferentes matrices.

Metales detectados	Matriz empleada	Técnica empleada	Referencia
Plomo, bario y antimonio	Muestras tomadas de las manos de personas que estuvieron en contacto con algún arma de fuego, tanto antes como después del disparo	Microscopía electrónica de barrido con rayos X característicos (SEM-EDX) y voltametría de resolución en onda cuadrada (SWV)	O'Mahony, Samek, Sattayasamitsathit, y Wang, 2014
Plomo, antimonio y cobre	Muestras tomadas en las manos y ropa de delincuentes	Sensores de carbón microfabricados	O'Mahony, Windmiller, Samek, Bandodkar, y Wang, 2012
Plomo, bario y antimonio	Muestras de revólver de 0,38 pulgadas, escopeta de acción de bomba calibre 0,12 pulgadas, rifle de repetición de 0,38 pulgadas y rifle semiautomático de calibre 0,22 pulgadas, además de seis marcas de municiones diferentes.	Microelectrodo de oro desnudo	Salles, Naozuka, y Bertotti, 2012
Plomo y antimonio	Muestras preparadas en laboratorio	Voltamperometría de adsorción catódica de impulso diferencial (DPCAdSV) y onda	Erden, Durmus, y Kılıç, 2011

Metales detectados	Matriz empleada	Técnica empleada	Referencia
		cuadrada por adsorción catódica (SWCAdSV)	
Plomo	Muestras tomadas de las manos de los tiradores.	Gota colgante de mercurio	De Donato y Gutz, 2005
Bario	Muestras de balas o tomadas de las manos de los tiradores	Electrodo de carbón vítreo con diferentes películas delgadas	McIntire y Dewald, 2001; Kovaleva, Gladyshev, y Chikineva, 2001
Plomo y bario	Muestras preparadas en laboratorio	Voltamperometría de redisolución anódica de pulso diferencial	Woolever y Dewald, 2001
Antimonio	Muestras preparadas en laboratorio	Voltamperometría por adsorción catódica por impulsos diferenciales (DPCAdSV) y onda cuadrada por adsorción catódica (SWCAdSV)	Briner, Chouchoiy, Webster, y Popham, 1985

**Cuadro VII.** Análisis de residuos orgánicos de disparo por medio de diferentes técnicas

Metales detectados	Matriz empleada	Técnica empleada	Referencia
difenilamina y 1,3-dietil-1,3-difenilurea	Partículas macroscópicas tanto en las municiones como en los residuos encontrados en ropa	Espectroscopía Raman de superficie mejorada (SERS)	López-López, Merk, García-Ruiz, y Kneipp, 2016
Componentes orgánicos con enlaces C-H, N-H, O-H y S-H	Tiros a distintas distancias	Espectrofotometría en infrarrojo cercano con transformada de Fourier (FT-NIR)	Sarraguça <i>et al.</i> , 2016

Metales detectados	Matriz empleada	Técnica empleada	Referencia
32 compuestos orgánicos	Muestras preparadas en laboratorio	Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detector UV	Taudte <i>et al.</i> , 2015
1,3-dietil-1,3-difenilurea, 2-nitrofenilamina, 4-difenilamina, dimetilftalato y difenilamina	Muestras de revólver de 0,38 in, escopeta de acción de bomba de calibre 12, rifle de repetición de 0,38 in y rifle semiautomático de calibre 0,22 in, además de seis marcas de municiones diferentes.	Cromatografía de gases acoplada a masas (GC-MS)	Moran y Bell, 2014
2,4-dinitrotolueno, 1,3-dietil-1,3-difenilurea, 1,3-bis(metilamino)propano, 2-nitrodifenilamina, 4-nitrodifenilamina, difenilnitrosamina y difenilamina	Muestras de seis municiones distintas y muestras con interferencias como arena, sangre o inclusive tinta de bolígrafo.	Espectroscopia infrarroja de efecto Raman	López-López, Delgado, y García-Ruiz, 2012
43 compuestos orgánicos	Muestras de cartuchos gastados encontrados en las escenas del crimen	Cromatografía de gases acoplada a masas (GC-MS)	Weyermann, Belaud, Riva, y Romolo, 2009
difenilamina, 1,3-dietil-1,3-difenilurea, difenilnitrosamina, 2-nitrodifenilamina, 4-nitrodifenilamina y 1,1-difenil-2-metilurea	Muestras tomadas en las manos de los tiradores	Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS)	Laza, Nys, Kinder, Kirsch-De Mesmaeker, y Moucheron, 2007

Las metodologías anteriores presentan la limitante de analizar los componentes inorgánicos, como los metales pesados, separados de los orgánicos, ya que las muestras tanto de las municiones como las tomadas de las manos de los tiradores presentan ambos tipos de componentes. Por esta razón Evans-Nguyen *et al.* (2016), por medio de la técnica de plasma acoplado por microondas hacia un

espectrómetro de masas de trampa de iones analizaron rápidamente y sin tratamiento previo, muestras de residuos de disparo para determinar componentes como 1,3-bis(metilamino)propano, cromo, cobre, hierro, magnesio, manganeso, silicio, titanio y zinc simultáneamente.

Por otro lado, Cruces-Blanco, Gámiz-Gracia, y García-Campaña, 2007, por medio de electroforesis capilar (CE) analizaron muestras de residuos de disparo y de tintas y colorantes, para presentar una forma mucho más rápida de análisis de metales como hierro, bario, calcio, magnesio, aluminio, níquel, zinc, plomo y cobre, además de compuestos orgánicos como dimetilftalato, dinitrotolueno, dietilftalato, difenilamina, 1,3-bis(metilamino)propano, 1,3-dietil-1,3-difenilurea y dibutilftalato, siendo esta una de las técnicas más nuevas y con mayor número de compuestos simultáneos reportados al mismo tiempo.

De la misma forma, Bernal Morales y Revilla Vázquez, 2004, utilizaron esta técnica para el análisis de 11 componentes orgánicos como nitroglicerina, dinitrotolueno, metilftalato, etilftalato, difenilamina entre otros, además, por la técnica de espectroscopía de absorción atómica electrotrémica se analizaron 10 componentes inorgánicos como plomo, bario, antimonio, cobre, zinc, níquel, hierro, etc. Al comparar las metodologías se logró asegurar que la electroforesis capilar es una metodología muy útil y además rápida para este tipo de análisis, y se obtuvieron resultados similares.

Finalmente, Vuki, Shiu, Galik, O'Mahony y Wang, 2012, son los primeros en proponer un método electroquímico para el análisis simultáneo de componentes orgánicos e inorgánicos y utilizaron la técnica de voltamperometría cíclica (CV) y la voltamperometría de separación de onda cuadrada cíclica (CSWV), y detectaron compuestos propulsores comunes, tales como nitroglicerina y dinitrotolueno, junto con los constituyentes de metales pesados como antimonio, plomo, zinc y bario, lo cual es una ventaja sobre cualquiera de las otras técnicas, ya que se utiliza una sola



una técnica y se presenta una metodología a menor costo y más rápida que cualquier otra, con menos cantidad de desechos generados.

Finalmente, el objetivo de esta investigación es disponer de metodologías electroanalíticas rápidas, confiables, de bajo costo y con poco tratamiento de muestra para el análisis de componentes inorgánicos como antimonio, bario, plomo y algunos compuestos orgánicos como por ejemplo nitroglicerina, 2,4-dinitrotolueno y difenilamina presentes en residuos de disparo mediante el uso de electrodos sólidos modificados, así como también electrodos serigrafiados de carbón modificados con películas delgadas de diferentes metales como bismuto y oro para mejorar la sensibilidad.

# Capítulo 2.

## Sección Experimental

---

En esta sección se menciona todo el procedimiento utilizado para el desarrollo de las diferentes técnicas electroanalíticas utilizadas en este trabajo, así como la preparación de los electrodos (sólidos y serigrafiados) y también la preparación de las diferentes películas delgadas de diferentes metales para el análisis de residuos de disparo.

### **1.6. Reactivos y Equipo**

#### **1.6.1. Electrodos sólidos y serigrafiados**

Se utilizaron electrodos sólidos de carbón vítreo para voltamperometría de 3,0 mm de diámetro de la marca Basi® junto con un soporte de celda C-3 de la misma marca, este soporte es una caja de Faraday con una placa de agitación y purga de nitrógeno a través del programa de control propio del equipo.

También, se utilizó un potencióstato Autolab PGSTAT128N y el software NOVA (Versión 2.1.4) (Metrohm USA, Inc.). Los electrodos serigrafiados comerciales (Dropsens 110) utilizados para fabricar los sensores electroquímicos consisten en un electrodo de trabajo de carbono (4 mm de diámetro), un contraelectrodo de carbono y un electrodo de pseudo-referencia de Ag/AgCl. Los valores de pH se midieron con un medidor de pH Mettler Toledo FiveEasy F20.

### 1.6.2. Disoluciones patrón

Se adquirieron disoluciones estándar de nitroglicerina (NG) ( $0,1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  en etanol) y 2,4-dinitrotolueno (2,4-DNT) ( $1000 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$  en metanol) de AccuStandard® (New Haven, CT). La difenilamina (DPA) ( $1000 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  en metanol) y el patrón de antimonio (Sb) ( $1000 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  en agua, trazas de ácido tartárico al 0,6 % y ácido nítrico) se adquirieron de SPEX Certiprep® (Metuchen, NJ). El estándar de plomo y cobre (Pb, Cu) ( $10.000 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  en agua con ácido nítrico diluido) se adquirió de Ultra Scientific® (Kingstown, RI).

### 1.6.3. Otras disoluciones y reactivos empleados

Para el desarrollo del trabajo, se utilizó una disolución amortiguadora de acetato de sodio  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  a un pH de 4,5, para esto el acetato de sodio anhidro se adquirió de Fisher BioReagents (Fair Lawn, NJ). El ácido acético glacial (grado HPLC) adquirido de Sigma-Aldrich®. Además, para el tratamiento de las muestras tanto de GSR como los patrones orgánicos se utilizó acetonitrilo (grado Optima® LC / MS) el cual se adquirió de Fisher Chemical (Fair Lawn, NJ).

Para el desarrollo de las diferentes películas delgadas de los metales se utilizó una disolución estándar de oro para ICP ( $999 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1} \pm 2 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  en ácido clorhídrico al 5 %) la cual se adquirió de Sigma-Aldrich® (St. Louis, MO). Para el desarrollo de la película delgada de mercurio se preparó una disolución de  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  de mercurio a partir de nitrato de mercurio(II) ( $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ ) adquirido de la empresa Sigma-Aldrich® y para la película delgada de bismuto se preparó una disolución de  $100 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  en bismuto, a partir de nitrato de bismuto(III) ( $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ ) adquirida de la misma empresa.

Finalmente, en todas las mediciones se suministró agua desionizada ( $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$ ) a través de un sistema de purificación de agua Direct-Q® 3 UV (Millipore Sigma) y el equipo Milli-Q® Direct 8 (Millipore Sigma) para la preparación de todas las disoluciones. Todas las mediciones electroquímicas se realizaron en una disolución

amortiguadora de acetato  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  a pH 4,5. Se obtuvo nitrógeno de Matheson® (Irving, TX) para secar las muestras.

## 1.7. Preparación de electrodos de carbón vítreo

### 1.7.1. Limpieza de los electrodos sólidos

Se sigue el procedimiento descrito por el instructivo de Bioanalytical Systems, Inc, 2001. Para este tipo de electrodos, primero se debe humedecer la almohadilla de pulido con un poco de agua desionizada, añadiendo después una gota de la disolución de alúmina de  $0,05 \mu\text{m}$ , seguidamente el electrodo se limpia sobre esta almohadilla por tres minutos aproximadamente (un minuto girando en el sentido de las agujas del reloj y un minuto en el sentido contrario a las agujas del reloj y un minuto de forma aleatoria), como se observa en la **Figura 8**.



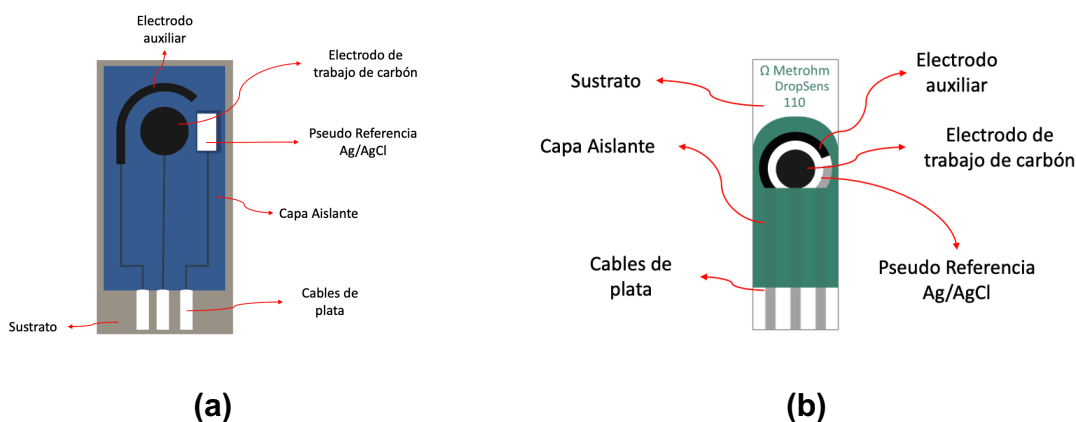
**Figura 8.** Metodología empleada para pulir los electrodos sólidos de carbón vítreo. Imagen tomada, traducida y modificada de Bioanalytical Systems, Inc, 2001

Seguidamente, se limpió la superficie del electrodo con abundante agua desionizada para eliminar por completo el material incrustado en la superficie, este proceso se repitió con metanol para eliminar cualquier otro compuesto que afecte la superficie.

En algunos casos, para eliminar por completo las partículas abrasivas residuales, se colocó el electrodo en una cantidad de agua desionizada poco profunda y se puso en un baño ultrasónico a 150 W o menos y se mantuvo de esta forma por un periodo no mayor a cinco minutos, periodos más prolongados pueden sobrecalentar y dañar el electrodo. Cabe destacar que dependiendo del tipo de compuestos con los que se trabaja, el electrodo se puede limpiar por 10 segundos en una disolución de mezcla piraña (tres partes de ácido sulfúrico y una parte de peróxido de hidrógeno), pero esta mezcla lo que hace es desgastar la superficie del electrodo, por tanto, se debe realizar de nuevo el tratamiento de pulido.

### 1.7.2. Limpieza de electrodos serigrafiados

Los electrodos serigrafiados de carbón (SPCE) se pueden obtener de dos formas diferentes, la primera, por medio de la impresión de electrodos como lo explica Domínguez Renedo & Arcos Martínez, 2007, de acuerdo con la **Figura 9.a**.



**Figura 9.** Diagrama esquemático de los electrodos de carbón: **(a)** electrodo serigrafiado impreso, **(b)** electrodo serigrafiado comercial. Elaboración propia

Si bien es cierto, estos electrodos son muy utilizados en el campo de las técnicas electroanalíticas, actualmente se pueden comprar los electrodos serigrafiados comerciales de la marca Metrohm®, **Figura 9.b**.

Para este trabajo se utilizaron los tres tipos de electrodos: el electrodo sólido se utilizó para formar la película delgada de mercurio, los electrodos impresos para formar la película delgada de bismuto y los electrodos comerciales de la marca Metrohm® para la formación de la película delgada de oro

## **1.8. Preparación de las películas delgadas de diferentes metales**

De acuerdo con Bard & Faulkner, 2001, la electrodeposición es uno de los tratamientos electroquímicos donde se reducen cationes metálicos que se encuentra en una disolución acuosa para ser depositados sobre un electrodo para crear una capa de diferentes tamaños.

Para la preparación de estas películas delgadas se debe utilizar una corriente eléctrica para reducir los cationes metálicos que se encuentran en la disolución y se depositen sobre toda la superficie del electrodo de trabajo de los electrodos de carbón. Uno de los aspectos más importantes que se deben tomar a la hora de realizar este tipo de películas es el tiempo de deposición, ya que de este parámetro dependerá el grosor de la misma.

### **1.8.1. Película delgada de mercurio**

Para la preparación de esta película delgada de mercurio, se siguió el procedimiento descrito por McIntire & Dewald, 2001, la cual describe la electrodeposición de mercurio *in situ* en un electrodo de carbón vítreo previamente pulido con alúmina en una almohadilla de pulido o también en un electrodo serigrafiado.

Se preparó una disolución de mercurio  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  en agua desionizada y acidificada a un pH de 2,3 con ácido nítrico concentrado, a partir de nitrato de mercurio(II) ( $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ ). Las condiciones experimentales se presentan en el **Cuadro VIII**.

**Cuadro VIII.** Parámetros electroquímicos para la deposición de película delgada de mercurio sobre electrodos sólido de carbón vítreo por la técnica de voltamperometría de onda cuadrada con redisolución anódica (SWASV)

Parámetro	Valor
Potencial de deposición (mV)	800
Tiempo de deposición (s)	180
Potencial inicial (mV)	-950
Potencial final (mV)	1150
Paso de potencial (mV)	4
Amplitud de onda cuadrada (mV)	25
Frecuencia (Hz)	8
Muestras por punto	256
Tiempo de espera (s)	5
Sensibilidad ( $A \cdot V^{-1}$ )	$1 \times 10^{-6}$

Aplicadas las condiciones que se presentan en el **Cuadro VIII** el electrodo de carbón vítreo se modifica con esta película delgada de mercurio. Un punto importante de destacar acá es que la técnica se utiliza tanto con electrodos sólidos de carbón vítreo como con electrodos serigrafiados de carbón, la diferencia va a radicar en el color de la película, ya que con los electrodos sólidos se observa una película gris brillante, mientras que en los electrodos serigrafiados de carbono se obtiene una película gris opaco.

### 1.8.2. Película delgada de bismuto

Para la modificación de los electrodos con una película delgada de bismuto se siguió el procedimiento descrito por Pauliukaitė & Brett, 2005 y Prior & Walker, 2006, los cuales describen la electrodeposición de bismuto *in situ* en un electrodo sólido de carbón vítreo o también en un electrodo serigrafiado de carbón cuyo sustrato sea PVC.

Se preparó una disolución de bismuto(III)  $100 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  en una disolución amortiguadora de acetato a un pH de 4,45, a partir de nitrato de bismuto(III) ( $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ ), previamente a su uso, se filtró para eliminar cualquier impureza presente en la disolución. Las condiciones experimentales se presentan en el **Cuadro IX**.

Una de las condiciones que se tomaron en cuenta a la hora de realizar la película delgada de bismuto sobre este tipo de electrodos, fue la eliminación del oxígeno en la disolución por medio de un burbujeo constante con nitrógeno, esto debido a que, de acuerdo con Banks et al., 2004 y Simões et al., 2009 esta atmósfera ayuda a la estabilidad de la película delgada por más tiempo y se evita la oxidación de la película.

Otro de los aspectos importantes es el material empleado para los electrodos, con los electrodos sólidos de carbón vítreo no se presentó ningún problema aparente ya que se formó una película delgada de bismuto de color gris oscuro sobre el electrodo de trabajo. Con los electrodos serigrafiados de carbón comerciales con sustrato de cerámica si se presentaron problemas, pues no se formó la película delgada *in situ*. Según los estudios de Frena et al., 2011 y Mandil & Amine, 2009, ellos utilizan este tipo de materiales por la interacción entre los espacios vacíos del sustrato y el bismuto, lo que lo hace uno de los metales más utilizados para el estudio de cerámicas. Por esta razón se deben utilizar electrodos de plástico para que no exista esta interacción y se pueda formar la película delgada de bismuto.



**Cuadro IX.** Parámetros electroquímicos para la deposición de la película delgada de bismuto sobre electrodos serigrafiados de carbón por la técnica de voltamperometría anódica de onda cuadrada SWASV

Parámetro	Valor
Potencial de deposición (mV)	-1400
Tiempo de deposición (s)	300
Potencial inicial (mV)	-1400
Potencial final (mV)	400
Paso de potencial (mV)	4
Amplitud de onda cuadrada	25
Frecuencia (Hz)	25
Muestras por punto	256
Tiempo de espera (s)	15
Sensibilidad ( $A \cdot V^{-1}$ )	$1 \times 10^{-6}$

### 1.8.3. Película delgada de oro

Los electrodos serigrafiados de carbón se limpiaron previamente con agua desionizada y se colocaron en una celda con 10 mL de una disolución patrón de oro ( $999 \pm 2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  en ácido clorhídrico al 5 %). La deposición de la película delgada se logró mediante la aplicación del método electroquímico descrito en el **Cuadro X**. A continuación, los electrodos se enjuagaron con agua desionizada y se dejaron secar al aire por un periodo de 30 minutos aproximadamente.

**Cuadro X.** Parámetros electroquímicos para la deposición de la película delgada de oro sobre electrodos serigrafiados de carbón por la técnica de voltamperometría de pulso diferencial DPV

Parámetro	Valor
Tiempo de espera (s)	5
Potencial de deposición (mV)	-200
Tiempo de deposición (s)	15
Potencial inicial (mV)	-1000
Potencial final (mV)	400
Potencial de paso (mv)	5
Amplitud (mv)	25
Tiempo de espera (s)	0,5

La verificación de la formación de esta película delgada es muy evidente ya que se puede observar la aparición de una película dorada sobre el electrodo de trabajo de los electrodos serigrafiados. Esta película delgada no se realizó sobre el electrodo sólido de carbón vítreo, pues se contaba con un electrodo sólido de oro.

### 1.9. Preparación de monocapa de mercaptanos

Para el análisis de mercaptanos se sigue y modifica el procedimiento descrito por Granot et al., 2004, Rentsch et al., 2007 y Silva et al., 2010. Se prepararon disoluciones patrón con 5,0 mL de cada uno de los mercaptanos cuya concentración fuera de 1,0 mM.

Para este estudio se utilizaron electrodos serigrafiados de carbón con película delgada de oro previamente colocada de acuerdo con las condiciones del **Cuadro X**, se utilizaron electrodos con sustrato de plástico, ya que los electrodos comerciales de cerámica se disolvían por la disolución.

Se colocaron sobre los electrodos serigrafiados de carbón funcionalizados con la película delgada de oro, alícuotas de cada uno de los mercaptanos de interés,

de manera que esta cubriera la superficie del electrodo de trabajo, por un tiempo determinado de acuerdo con las variables estudiadas en el **Cuadro XI**.

**Cuadro XI.** Parámetros por optimizar en el estudio del efecto de modificación con capas autoensambladas de mercaptanos en electrodos serigrafiados de carbono cubiertos con capas delgadas de oro

Variable	Condiciones por optimizar
<b>Tipo de electrodo</b>	Plástico y Cerámica
<b>Grupo funcional</b>	Sin grupo funcional, alcohol, ácido carboxílico
<b>Tiempo de contacto</b>	10 s, 15 s, 30 s y 45 s

Los mercaptanos que se estudiaron en este estudio preliminar son: butanotiol, hexanotiol, octanotiol, 2-mercaptoetanol y ácido 3-mercaptopropiónico.

### 1.10. Caracterización de electrodos

La caracterización de la superficie del electrodo de trabajo se realizó usando SEM-EDX y microscopía de fuerza atómica (AFM). Se realizaron imágenes de superficie por SEM-EDX en un JEOL JSM-6490LV utilizando electrones secundarios a 10 kV con un aumento de 500X. El análisis elemental de la superficie del electrodo se realizó usando un INCAx-sight 7623 equipado de Oxford Instruments para demostrar la adición de la película delgada de oro.

La proyección de imagen de la superficie AFM se realizó utilizando un microscopio de fuerza atómica Asylum MFP-3D en modo de tapping para la topología en un área de 20  $\mu\text{m}$  x 20  $\mu\text{m}$  para los electrodos desnudos y modificados.

Todos estos análisis fueron desarrollados en la Universidad de West Virginia, WV, Estados Unidos, durante enero 2020 – mayo 2020. Además, algunos de los análisis de superficie AFM fueron desarrollados en el Laboratorio de Microscopía de

la Unidad de Investigación en Física Aplicada (IFA) de la Universidad Nacional de Costa Rica.

### 1.11. Mediciones electroanalíticas

Se utilizaron técnicas de voltamperometría de pulso diferencial (DPV) y voltamperometría de despojo anódico de onda cuadrada (SWASV) para evaluar la presencia de residuos de disparo. Los parámetros optimizados finales se describen en el **Cuadro XII**.

**Cuadro XII.** Parámetros de los métodos DPV y SWASV para el análisis de residuos de disparos con electrodos serigrafados de carbón y electrodos sólidos de carbón vítreo con películas delgadas de diferentes metales

	<b>Electrodo desnudo</b>	<b>Película delgada de Hg</b>	<b>Película delgada de Bi</b>	<b>Película delgada de Au</b>
<b>Técnica</b>	SWASV	DPV	SWASV	SWASV
<b>Potencial de deposición (mV)</b>	-950	-800	-1400	-1000
<b>Tiempo de deposición (s)</b>	120	180	300	120
<b>Potencial inicial (mV)</b>	-1000	-950	-1400	-1000
<b>Potencial final (mV)</b>	1200	1150	400	800
<b>Paso de Potencial (mv)</b>	4	4	4	5
<b>Modulación de la amplitud (mV)</b>	25	25	25	25
<b>Modulación del tiempo (s)</b>	-	-	-	0,05
<b>Frecuencia (Hz)</b>	8	8	25	-
<b>Tiempo de espera (s)</b>	0,125	5	15	0,5

A continuación, se describe el tratamiento con cada una de las metodologías y electrodos.

#### 1.11.1. Método de celda con película delgada de mercurio

El electrodo sólido de carbón vítreo se preparó en una primera etapa aplicando la técnica de pulido presente en la **Figura 8**. Seguidamente, este electrodo se sumergió en la disolución de mercurio (II)  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  y se aplicó las condiciones presentadas en el **Cuadro VIII** por medio de la técnica de voltamperometría de onda cuadrada con redisolución anódica (SWASV). Después de preparada la película delgada, el electrodo se introdujo en una celda electroquímica que contenía  $10,0 \text{ mL}$  de una disolución amortiguadora de acetato  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  y pH 4,5 para realizar las mediciones electroanalíticas correspondientes.

Para las curvas de calibración se prepararon disoluciones de  $10 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  de cada uno de los analitos estudiados (Pb, Sb, 2,4-DNT y NG) y se añadieron alícuotas de  $10,00 \mu\text{L}$  en la disolución mediante adiciones estándar para construir la curva de adiciones estándar.

Todos los parámetros estadísticos como son los límites de detección y cuantificación, linealidad, coeficiente de correlación se estimaron por el método de mínimos cuadrados como lo indican B. Magnusson & U. Örnemark, 2014 y Miller & Miller, 2010.

#### 1.11.2. Método de celda con película delgada de bismuto

El electrodo sólido de carbón vítreo se preparó en una primera etapa aplicando la técnica de pulido como se indica en la **Figura 8**. Seguidamente, este electrodo se sumergió en la disolución de bismuto(III)  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  y se aplicaron las condiciones presentadas en el **Cuadro IX** por medio de la técnica de voltamperometría de onda cuadrada con redisolución anódica (SWASV). Después de preparada la película delgada, el electrodo se introdujo en una celda

electroquímica que contenía 10,0 mL de una disolución amortiguadora de acetato  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  y pH 4,5 para de esta forma y realizar las mediciones electroanalíticas correspondientes.

El electrodo serigrafiado de carbón con sustrato de plástico se conectó al equipo y de la misma forma, se sumergió en la disolución de bismuto(III)  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  bajo las mismas condiciones. Después de la electrodeposición del bismuto, el electrodo se lavó con agua desionizada para eliminar cualquier rastro de metal no depositado en la superficie.

Para las curvas de calibración se prepararon disoluciones de  $10 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  de cada uno de los analitos estudiados (Pb, Sb, 2,4-DNT y NG) y se añadieron alícuotas de  $10 \mu\text{L}$  en la disolución mediante adiciones estándar para de esta forma construir la curva de calibración por adición estándar.

Todos los parámetros estadísticos como son los límites de detección y cuantificación, linealidad, coeficiente de correlación se estimaron por el método de mínimos cuadrados de acuerdo a B. Magnusson & U. Örnemark, 2014 y Miller & Miller, 2010.

### **1.11.3. Método de celda con película delgada de oro**

El electrodo serigrafiado de carbón con sustrato de cerámica primero se enjuagó con agua desionizada y luego se secó y se sumergió en una celda electroquímica con 5 mL de una disolución patrón de oro  $999 \pm 2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  en ácido clorhídrico al 5 % en masa. Aplicando las condiciones descritas en el **Cuadro X** se realizó la electrodeposición del oro en el electrodo. Después de preparada la película delgada, el electrodo se lavó de nuevo con agua desionizada y se sumergió en una celda electroquímica que contenía un volumen inicial de 5,00 mL de una disolución amortiguadora de acetato  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  cuyo pH es de 4,5 y realizar las mediciones electroanalíticas correspondientes.

Para la cuantificación por adición estándar, se preparó una disolución patrón combinada de Pb, Sb, 2,4-DNT, DPA y NG de  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de cada analito, a partir de disoluciones madre de cada analito de  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Se añadieron alícuotas de  $20,00 \mu\text{L}$  en la celda con el amortiguador mediante adiciones estándar para la cuantificación.

Todos los parámetros estadísticos como son los límites de detección y cuantificación, linealidad, coeficiente de correlación se estimaron por el método de mínimos cuadrados de acuerdo a B. Magnusson & U. Örnemark, 2014 y Miller & Miller, 2010.

#### **1.11.4. Método de gota con película delgada de oro**

El electrodo serigrafiado de carbón con sustrato de cerámica primero se enjuagó con agua desionizada y se sumergió en una celda electroquímica con  $5 \text{ mL}$  de una disolución patrón de oro  $999 \pm 2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  en ácido clorhídrico al  $5 \%$  en masa. Aplicando las condiciones descritas en el **Cuadro X** se realizó la electrodeposición del oro en el electrodo.

El análisis se realizó aplicando gotas de  $50 \mu\text{L}$  de disolución que contenían los compuestos estudiados en disolución amortiguadora de acetato  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  y pH  $4,5$ . La gota de  $50 \mu\text{L}$  se colocó sobre el electrodo serigrafiado de carbón modificado con una película delgada de oro para cubrir toda el área activa del mismo (es decir, el electrodo de trabajo modificado, el contraelectrodo y el electrodo de referencia). Luego se aplicó la técnica de voltamperometría de pulso diferencial DPV para medir cada analito directamente como se describe en el **Cuadro XII**. Se prepararon curvas de calibración a partir de una disolución madre combinada de Pb, Sb, 2,4-DNT, DPA y NG con una concentración de  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de cada uno de ellos.

Para la preparación de cada estándar, se tomaron alícuotas de  $1 \mu\text{L}$ ,  $3 \mu\text{L}$ ,  $5 \mu\text{L}$ ,  $7 \mu\text{L}$  y  $10 \mu\text{L}$  de la disolución madre, luego las respectivas alícuotas se evaporaron a sequedad con un flujo constante de nitrógeno y se reconstituyeron con

1000  $\mu\text{L}$  de la disolución amortiguadora de acetato de pH 4,5. A continuación, se prepararon los patrones de la curva de calibración a concentraciones que iban desde  $0,1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  -  $1,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .

Todos los parámetros estadísticos como son los límites de detección y cuantificación, linealidad, coeficiente de correlación se estimaron por el método de mínimos cuadrados de acuerdo a B. Magnusson & U. Örnemark, 2014 y Miller & Miller, 2010.

#### **1.11.5.Método de gota sobre el electrodo serigrafiado de carbón**

Para esta metodología se siguió lo descrito por Trejos et al., 2018. Se utilizó voltamperometría de onda cuadrada con redisolución anódica (SWASV) en la superficie de los electrodos serigrafiados de carbón sin ninguna modificación aparente en su superficie. Se analizó una gota de disolución amortiguadora de acetato  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  y pH 4,5 que contenía los analitos estudiados de acuerdo con las condiciones instrumentales descritas en el **Cuadro XII**.

Se prepararon disoluciones individuales y mezclas de componentes inorgánicos y orgánicos que se encuentran comúnmente en los residuos de disparo para la optimización del método (disoluciones de Pb, Sb, Cu, NG, 2,4-DNT, DPA y EC). Se evaporaron a sequedad aquellas disoluciones que contenían analitos orgánicos usando un flujo constante de nitrógeno y se reconstituyeron en disolución amortiguadora de acetato. Se analizaron las curvas de calibración para cada compuesto en diferentes ámbitos de linealidad.

Los límites de detección se estimaron como 3 veces la desviación estándar del patrón más bajo, dividida por la pendiente de la curva de calibración, utilizando las áreas de las señales analíticas y la altura de las señales, de acuerdo con Brunetti B, 2015 y Lavagnini et al., 2007.

#### **1.12. Preparación y toma de muestras de GSR**



Para validar el rendimiento del método, se obtuvo un conjunto de muestras auténticas de residuos de disparo de las manos de los tiradores utilizando un talón de aluminio con dos capas de adhesivo de carbono (Ted Pella, Inc, Redding, CA).

La recolección de muestras se realizó como se describió anteriormente por, Trejos et al., 2018. Para este estudio se utilizaron tres armas de fuego diferentes para la recolección de muestras auténticas de tiradores como se enumera en el **Cuadro XIII**. Se recolectaron muestras de la palma derecha, el dorso derecho, la palma izquierda y el dorso izquierdo de las manos de diferentes tiradores cada cinco disparos sin lavarse las manos después de disparar. Se lavaron las manos entre disparos de diferentes armas de fuego. Las muestras se almacenaron a 4 °C antes del análisis. Las muestras de palma izquierda fueron analizadas por métodos electroquímicos, mientras que las muestras del dorso izquierdo se analizaron por otras técnicas como son la espectroscopia de plasma inducido por láser (LIBS) y cromatografía líquida de alta resolución acoplada a masas (HPLC-MS) de acuerdo con lo descrito en Menking-Hoggatt et al., 2019.

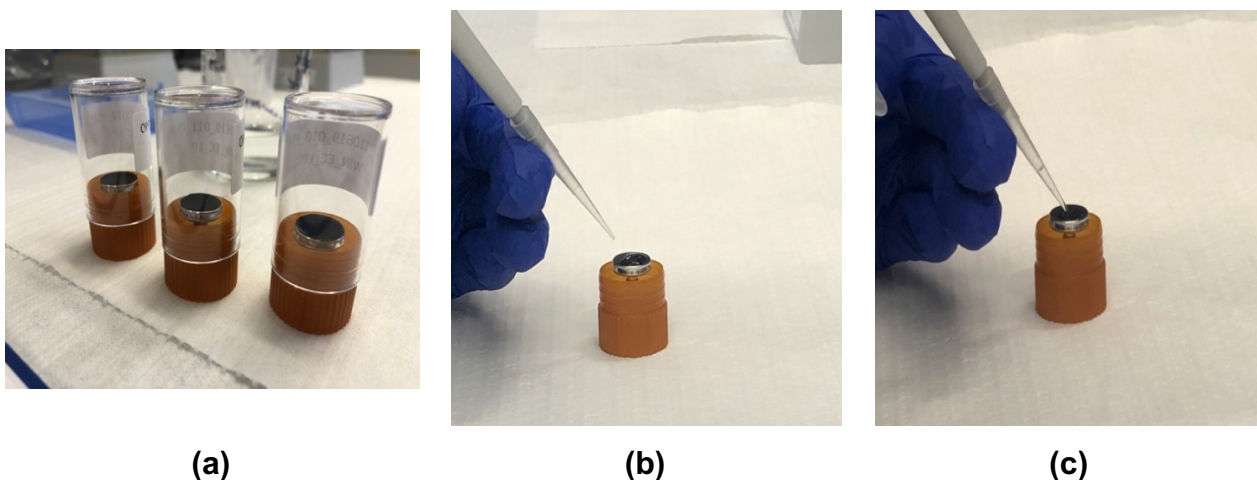
**Cuadro XIII.** Información sobre armas y cartuchos empleadas en el estudio de análisis electroanalítico de residuos de disparo

Arma de fuego	Tipo	Cartucho de munición	Cartucho	Tipo de bala	Calibre	Muestras tomadas
Springfield XD9	Pistola	Winchester 200 rondas	Latón	FMJ 115 grain	9 mm	20
Taurus Modelo 608	Revolver	Cargado por el fabricante American Eagle Federal	Latón	FMJ 130 grain	.38 Special	50
Springfield XD9	Pistola	Cargado por el fabricante Remington	Latón	FMJ 115 grain	9 mm	25

Para asegurar el análisis electroanalítico completo de cada una de las muestras, la superficie del talón de la muestra se lavó con 2 adiciones de 50 µL de

disolución amortiguadora de acetato  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  y pH 4,5 por medio de la adición de una alícuota de la gota hacia arriba y hacia abajo varias veces sobre la superficie del talón de carbono antes de combinar las dos alícuotas de  $50 \mu\text{L}$  en un tubo de microcentrífuga.

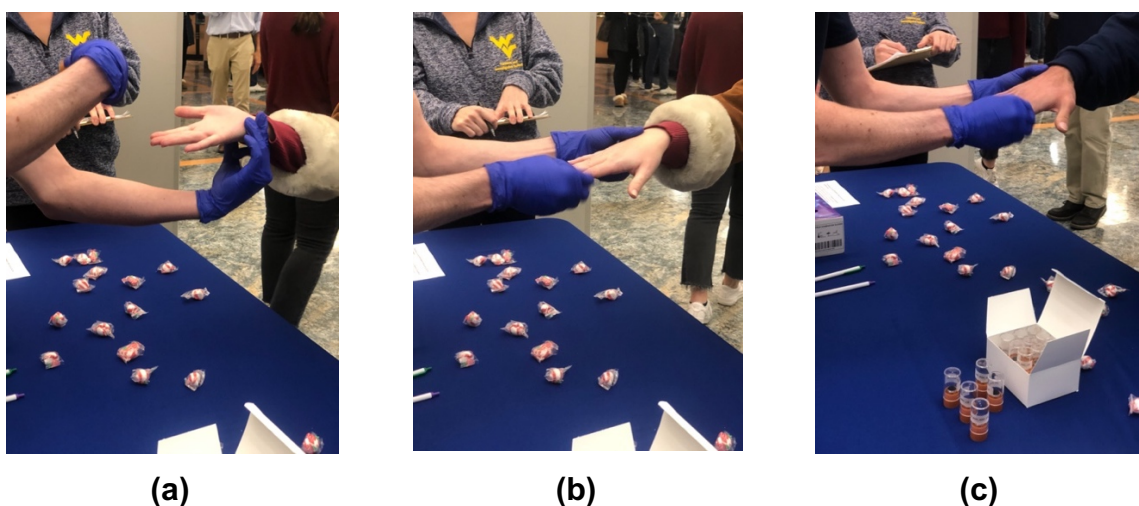
El trozo de cinta de carbón se lavó de forma similar con 2 adiciones de  $50 \mu\text{L}$  de acetonitrilo para extraer los componentes orgánicos de residuos de disparo (OGSR). Estas alícuotas se colocaron en un tubo de microcentrífuga separado seguido de evaporación hasta sequedad usando un flujo de nitrógeno constante dentro de una campana extractora sin ductos con un filtro de carbón de Air Science® (Fort Myers, FL), como se observa en la **Figura 10**.



**Figura 10.** Preparación de las muestras de GSR de residuos de disparo recolectadas en la Universidad de West Virginia, WV, Estados Unidos, tratadas en el laboratorio de análisis forenses de la misma universidad durante octubre 2019 – enero 2020: **(a)** talón de aluminio con cinta de carbón donde se encuentra la muestra, **(b)** colocación de una gota de disolución amortiguadora de acetato  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  y pH 4,5 para extracción de residuos inorgánicos y **(c)** colocación de una gota de acetonitrilo para la extracción de componentes orgánicos. Fotografías propias

La muestra evaporada se reconstituyó luego con los  $100 \mu\text{L}$  de lavado con disolución amortiguadora del talón de muestra de la extracción de residuos de disparo inorgánico (IGSR) y se agitó con vórtex.

Por otro lado, se tomaron muestras de blancos de población, las cuales se recolectaron al azar de una población de individuos de las cercanías de la Universidad de West Virginia en Morgantown, WV, Estados Unidos. Estas muestras de antecedentes se obtuvieron de las manos de personas que informaron no haber manipulado o disparado un arma de fuego en las últimas 24 horas, como se observa en la **Figura 11**.



**Figura 11.** Toma de muestras de blancos poblacionales recolectadas con un talón de aluminio y cinta de carbón preparadas para ser utilizado en la Universidad de West Virginia, WV, Estados Unidos, tratadas en el laboratorio de análisis forenses de la misma universidad durante diciembre 2019 – enero 2020: **(a)** toma de muestra en la palma de la mano, **(b)** y **(c)** toma de muestra en la parte posterior de la mano de diferentes personas. Fotografías propias

Para asegurar la toma de muestras y evitar la contaminación cruzada entre cada una de las muestras se recogió un blanco del talón de aluminio con cinta de carbón durante la actividad de la toma de muestras y la cual corresponde a la medición del medio de análisis. También, se utilizó un talón de aluminio con cinta de carbón como control negativo, el cual corresponde a un talón de prueba para toma de residuos de disparo que no se utilizó durante la toma de muestras, así como también varios análisis tomados en las manos del analista que se asignó para tomar las muestras y asegurar que no existió ninguna interferencia en el análisis.

### **1.13. Preprocesamiento de datos y análisis estadístico**

Los datos electroquímicos se procesaron con el software NOVA (versión 2.1.4) (Metrohm USA, Inc.) y luego se procesaron con Excel 2019 (versión 16.32, Microsoft® Corporation). El análisis de errores y la representación gráfica también se realizaron utilizando el software RStudio 2019 (versión 1.2.1335, RStudio, Inc), con la versión R 3.6.1.

# Capítulo 3.

## Resultados y Discusión

---

En esta sección se presenta la discusión de todos los resultados obtenidos en este proyecto de investigación, así mismo los resultados generados con su respectivo análisis y explicación detallada de los mismos.

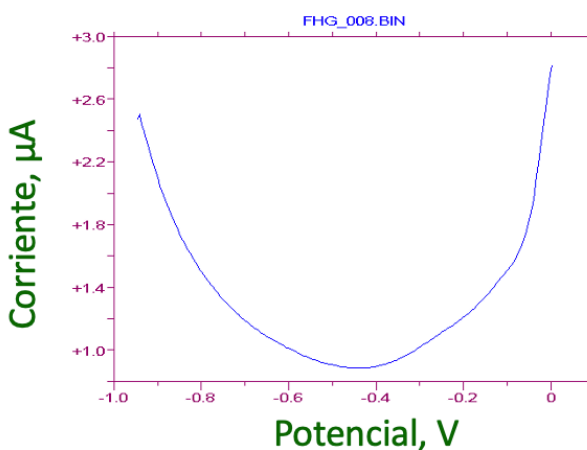
### 3.1. Tipos de Recubrimientos

Uno de los primeros objetivos establecidos al inicio de la investigación fue seleccionar la mejor técnica de modificación de electrodos sólidos para la determinación por métodos electroanalíticos de plomo, antimonio y algunos componentes orgánicos presente en residuos de disparo. Lo fundamental en este punto fue la búsqueda de materiales que aumentaran la sensibilidad del electrodo, de acuerdo con B. Magnusson & U. Örnemark, 2014. La sensibilidad analítica se define como la respuesta del instrumento que corresponde a una variación de la magnitud medida.

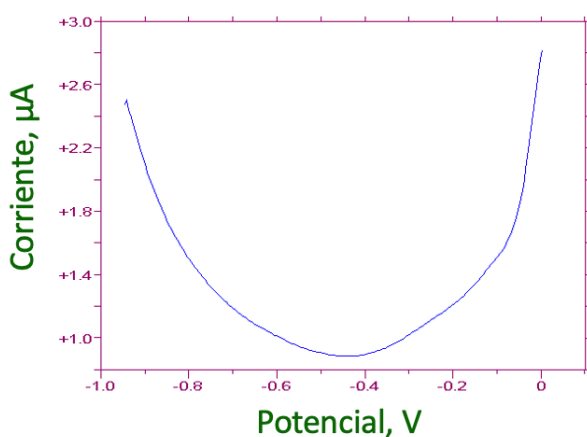
De acuerdo a O'Mahony et al., 2012 y Domínguez Renedo & Arcos Martínez, 2007, la técnica de formación de películas delgadas de diferentes metales sobre el electrodo de trabajo puede aumentar la sensibilidad que se busca, por lo que se aplicó el principio de electrodeposición de películas de diferentes metales en electrodos serigrafados de carbón desechables o proporcionados por la Universidad de Burgos y electrodos sólidos de carbón vítreo.

De acuerdo con la metodología propuesta, se trabajó en la formación de una película delgada de mercurio, para aumentar la sensibilidad en el análisis de los

diferentes metales, como lo recomiendan de Oliveira et al., 2004; Frenzel, 1993; Monterroso et al., 2004. Sin embargo, en la mayoría de los casos las películas de mercurio se oxidaban y no permitían ver las señales de los metales de interés. Tanto en la figura 12.a como en la 12.b, no se notó el cambio, aún al agregar alícuotas de Pb o de Sb, por lo que se descartó seguir con ese tipo de película. Además, el mercurio por su toxicidad se ha dejado de utilizar tanto en los electrodos de gota de mercurio como las propias películas, por lo que se descartó ese tipo de película.



(a)



(b)

**Figura 12.** Voltamperograma de pulso diferencial para análisis de la película delgada de mercurio con un electrodo sólido de carbón vítreo [ $0,01 \text{ cm}^2$ ] **(a)** en buffer de acetato de sodio  $0,1 \text{ mol/L}$ , pH 4,5 y **(b)** con alícuota de  $20 \mu\text{L}$  de Pb y Sb  $1 \text{ mg/L}$  en buffer de acetato de sodio  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 4,5

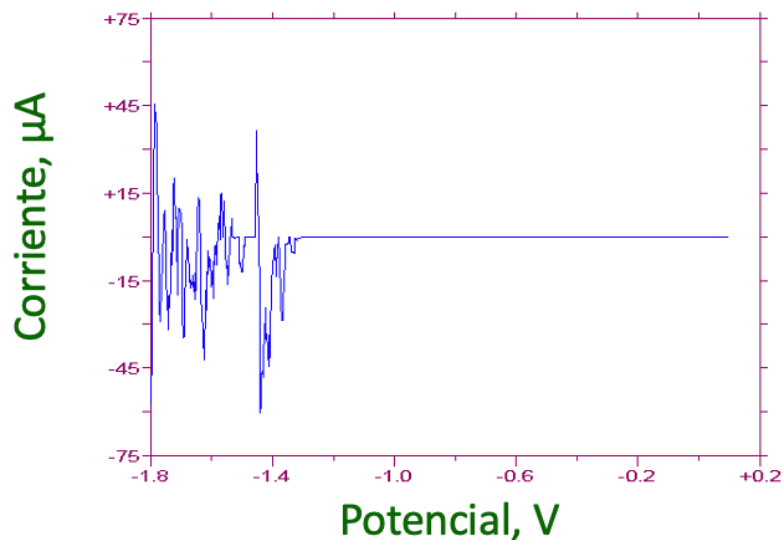
Si bien es cierto, autores como Ensafi et al., 2010; Pinchin & Newham, 1977 logran hacer determinaciones de diferentes analitos y muestras a partir de un electrodo de carbón modificado con películas delgadas de mercurio y obtuvieron corrientes muy altas, pero esto se debe principalmente al gran área superficial que presentan los electrodos utilizados (52 veces más grande que lo utilizado en este trabajo), por lo que de acuerdo con Bard & Faulkner, 2001 la corriente aumenta de acuerdo con el área superficial del electrodo, lo cual implica que la relación señal/ruido para los autores es más grande que la presentada en este trabajo.

Las señales del mercurio presenta interferencia en el análisis de plomo y antimonio, con potenciales de -700 mV y -400 mV respectivamente, como lo presentan Galik et al., 2011; O'Mahony & Wang, 2013.

Al descartar por completo la utilización del mercurio para este tipo de análisis, se probó la formación de la película delgada de bismuto. De acuerdo con Saturno et al., 2011, en los últimos años este elemento ha tenido especial interés en áreas como la bioactividad, catálisis, química de agrupaciones y síntesis orgánica, pero también en la química electroanalítica, ya que ha sido propuesto como idóneo a la hora de preparar películas delgadas en electrodos para sustituir al mercurio por su alta toxicidad, ya que de acuerdo con Martín-Yerga et al., 2013, es uno de los principales inconvenientes al trabajar con mercurio, ya que cada especie de mercurio (elemental, inorgánica y orgánica) es diferente, pero cualquiera de ellas plantea una amenaza a la salud humana y el medio ambiente. En el ser humano esta se puede observar en el hígado, el cerebro, el tejido óseo de los organismos.

Economou, 2005 menciona que los electrodos que han sido modificados con películas delgadas de bismuto presentan una gran ventaja, ya que este metal tiene la capacidad de formar "aleaciones fundidas" las cuales son comparables con las amalgamas que se pueden formar con las películas delgadas de mercurio; por otro lado, el bismuto presenta otras ventajas, su baja toxicidad, además no se ve

afectado por el oxígeno disuelto y reacciona fácilmente con compuestos orgánicos, lo cual se va a tratar más adelante.



**Figura 13.** Voltamperograma de pulso diferencial para análisis de la película delgada de bismuto con un electrodo sólido de carbón vítreo [0,01 cm<sup>2</sup>] en buffer de acetato de sodio 0,1 mol·L<sup>-1</sup>, pH 4,5

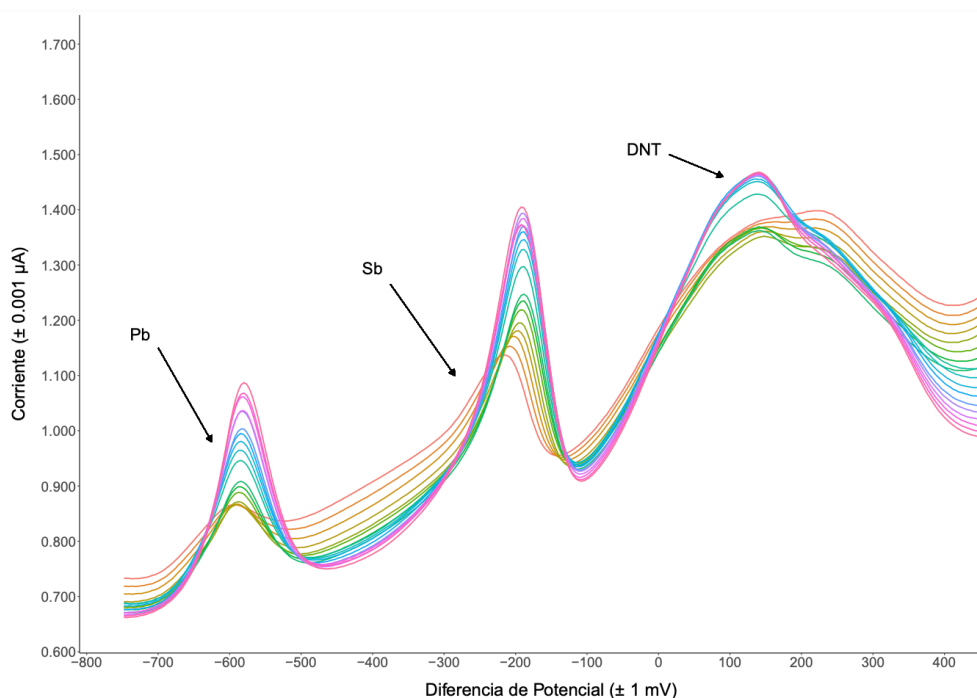
Como se observa en la **Figura 13** la película delgada de bismuto sobre el electrodo sólido de carbón vítreo, no presenta ninguna interferencia en el rango de -1300 mV y 200 mV, por lo que se pueden determinar metales de interés con potenciales de óxido-reducción en ese ámbito de potencial.

Un punto importante que menciona Economou, 2005, es la desventaja de estas películas delgadas de metales como el bismuto y el mercurio, ya que se sabe que el análisis está restringido para elementos con potenciales superiores a los -2000 mV. Sin embargo, de acuerdo a los resultados experimentales observados en la **Figura 13**, la interferencia comienza a potenciales menores que -1400 mV, lo cual dificultaría cualquier tipo de análisis. Por otro lado, Economou, 2005, menciona también que las películas delgadas de bismuto son propensas a la adsorción de



compuestos tensoactivos, formación intermetálica, falta de resolución en algunos casos y degradación mecánica.

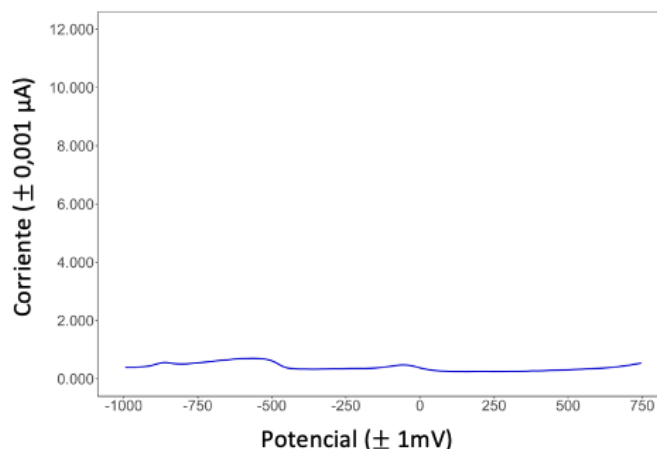
Cabe destacar que la electrodeposición del bismuto en el electrodo de carbón vítreo se hizo por medio de una metodología *ex situ*, es decir, se generó la película delgada mediante la deposición a partir de una disolución ácida; la técnica *in situ* se descarta del análisis de residuos de disparo debido a la codeposición de diferentes metales que podrían afectar toda la determinación. La estabilidad de esta película delgada depende del potencial de recubrimiento y de la composición de la disolución empleada para generarlo, Grinciené et al., 2009; Hočevár et al., 2002; Kefala, 2003; Królicka & Bobrowski, 2004.



**Figura 14.** Voltamperometría de onda cuadrada para análisis de Pb, Sb y 2,4-DNT con electrodo de carbón [0,01 cm<sup>2</sup>] con película delgada de bismuto en disolución amortiguadora de acetato de sodio 0,1 mol·L<sup>-1</sup>, pH 4,5.

Finalmente, como se observa en la **Figura 14**, el electrodo de carbón con película delgada de bismuto presentó una considerable ventaja en la detección de Pb, Sb y 2,4-DNT, ya que hay señales particulares de este análisis, pero el problema

radica en su baja sensibilidad en comparación con otro tipo de modificaciones, por lo que se realizó una tercera película delgada, la cual era de oro, esto para intentar aumentar la sensibilidad y selectividad en el análisis.



**Figura 15.** Voltamperograma de pulso diferencial (DPV) para el análisis de la película delgada de oro con un electrodo de carbono [0,01 cm<sup>2</sup>] en buffer de acetato de sodio. 0,1 mol·L<sup>-1</sup>, pH 4,5.

Ahora bien, al observar la **Figura 15** las interferencias son mucho más pequeñas que en cualquier otra de las utilizadas para esta determinación. Se observa una señal muy marcada alrededor de -500 mV y 0 mV, la cual se debe a una interferencia de cobre presente en los reactivos utilizados en la preparación de las disoluciones. Además, Domínguez Renedo & Arcos Martínez, 2007; Libansky et al., 2017; J. Wang et al., 1996 mencionan que las películas delgadas de oro han sido ampliamente utilizadas en la construcción de sensores electroquímicos debido a la detección de la rugosidad de la interfaz, las propiedades catalíticas y conductoras y la mejora del transporte de masa.

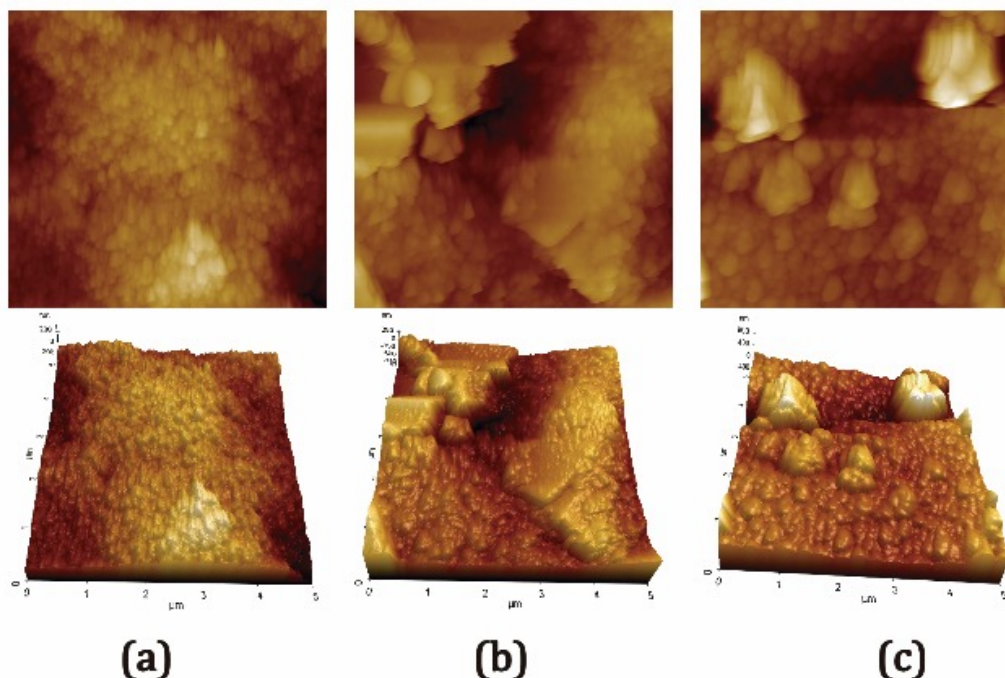
Grzelczak et al., 2008; Z. Wang & Ma, 2009, indican que la preparación de las películas delgadas de oro también puede influir mucho en el estudio que se quiere hacer; se pueden sintetizar estas partículas sobre el electrodo o adicionar mediante

métodos físicos como la pulverización catódica magnética, por métodos radiolíticos y fotolíticos; a pesar de lo anterior Dai et al., 2004; Mohanty, 2011, señalan que la electrodeposición va a proporcionar una alternativa fácil, rápida y económica para preparar estas películas.

### **3.2. Caracterización de las películas delgadas**

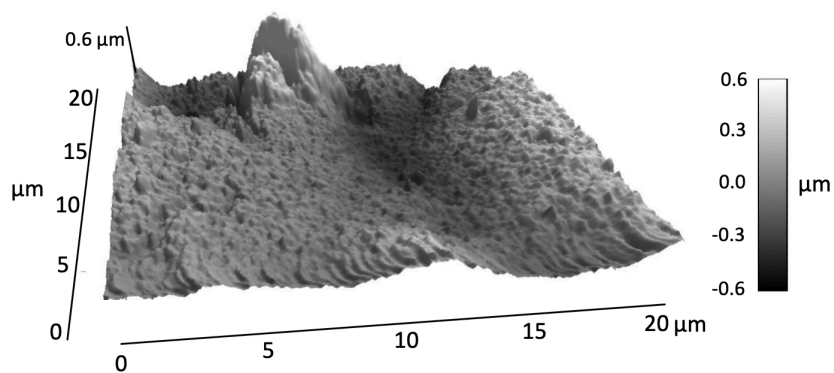
La caracterización de los electrodos se llevó a cabo mediante la colaboración de la Universidad Nacional de Costa Rica y la Universidad de West Virginia. Para esta sección se utilizaron técnicas como la Microscopías electrónica de barrido con rayos X característicos (SEM-EDX) y microscopia de fuerza atómica (AFM).

La **Figura 16**, presenta la morfología de la superficie de los electrodos estudiados mediante la técnica de Microscopía de fuerza atómica (AFM): la **Figura 16.a**, corresponde al electrodo de carbón sin ninguna modificación, sin embargo la superficie del mismo no es totalmente lisa, sino que presenta ligeras rugosidades, que corresponden a la gran porosidad que presenta este material, de acuerdo a lo explicado por Q.-L. Zhao et al., 2008; la **Figura 16.b**, corresponde al electrodo de carbón recubierto con una película de bismuto, se logra apreciar un incremento del espesor de la superficie, además de que se denotan diferentes capas o estructuras sobre el electrodo, lo cual se puede deber a la distribución del bismuto sobre el electrodo de carbón y finalmente en la **Figura 16.c** se evidencia la presencia del oro, pero con una distribución diferente, ya que se presenta en forma nanoparticulada.

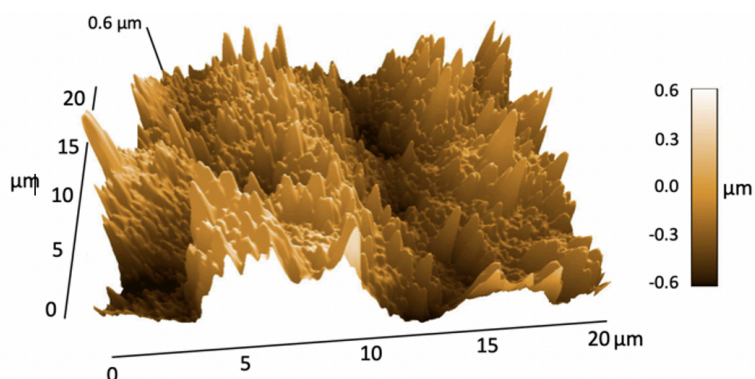


**Figura 16.** Caracterización AFM de la superficie modificada con película delgada de oro: **(a)** electrodo desnudo, **(b)** con película delgada de bismuto y **(c)** con película delgada de oro

De este último, como se presenta en la **Figura 17**, puede proporcionar un mejor análisis de la morfología de la superficie, ya que se pueden visualizar cambios muy pequeños en la topografía utilizando esta técnica. Se analizaron varias áreas de  $20 \times 20 \mu\text{m}$  para el electrodo de carbono sin modificar y para el electrodo modificado con película delgada de oro. A pesar de la apariencia visual de una superficie de carbono lisa, se observaron defectos en el carbono como picos o valles en la superficie del electrodo. Sin embargo, la característica general de la superficie del carbono era suave en comparación con la película fina de oro. El análisis de la película de oro demostró muchos picos en la superficie del electrodo de altura y tamaño variables a través de una dimensión z de aproximadamente 600 nm, lo que revela el aumento del área de superficie del electrodo de trabajo y el éxito de la modificación.



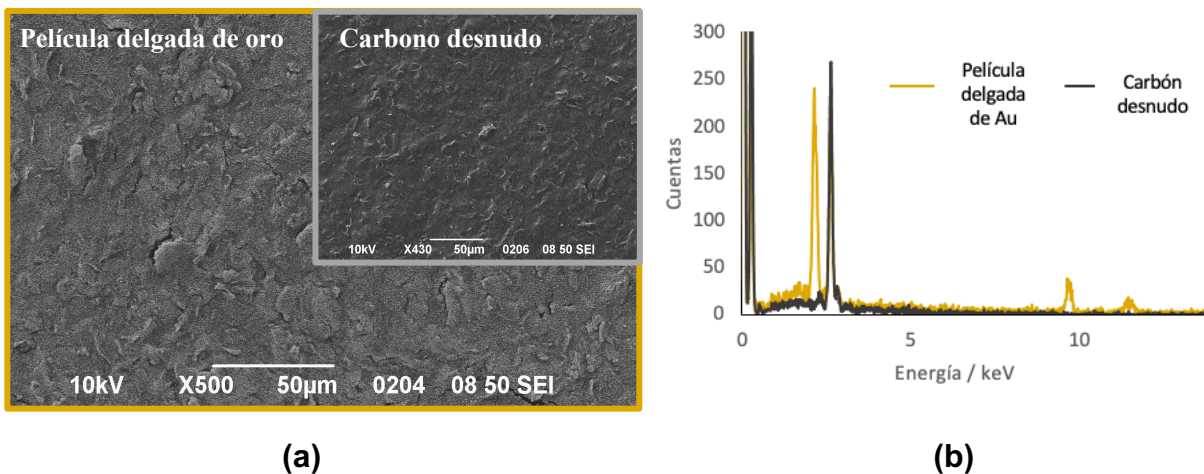
(a)



(b)

**Figura 17.** Caracterización AFM de la superficie del electrodo serigrafiado de carbón: **(a)** sin modificar y **(b)** modificada con película delgada de oro.

Utilizando SEM-EDS con un aumento de 500X (**Figura 18**), se pueden ver pequeñas diferencias en la superficie del carbono frente al oro; sin embargo, las superficies de los dos electrodos de trabajo parecen muy similares. Tras el análisis mediante espectroscopia de rayos X de dispersión de energía, la presencia del oro en la superficie se puede ver en la **Figura 18.b** mediante la detección de tres líneas de rayos X características principales ( $M\alpha$  2.12 KeV,  $L\alpha$  9.71 KeV, and  $L\beta$  11.44KeV keV).



**Figura 18.** Caracterización SEM-EDS para **(a)** la morfología de la superficie de las SPCE modificadas con película delgada de oro **(b)** los picos espectroscópicos de oro en la superficie del carbono.

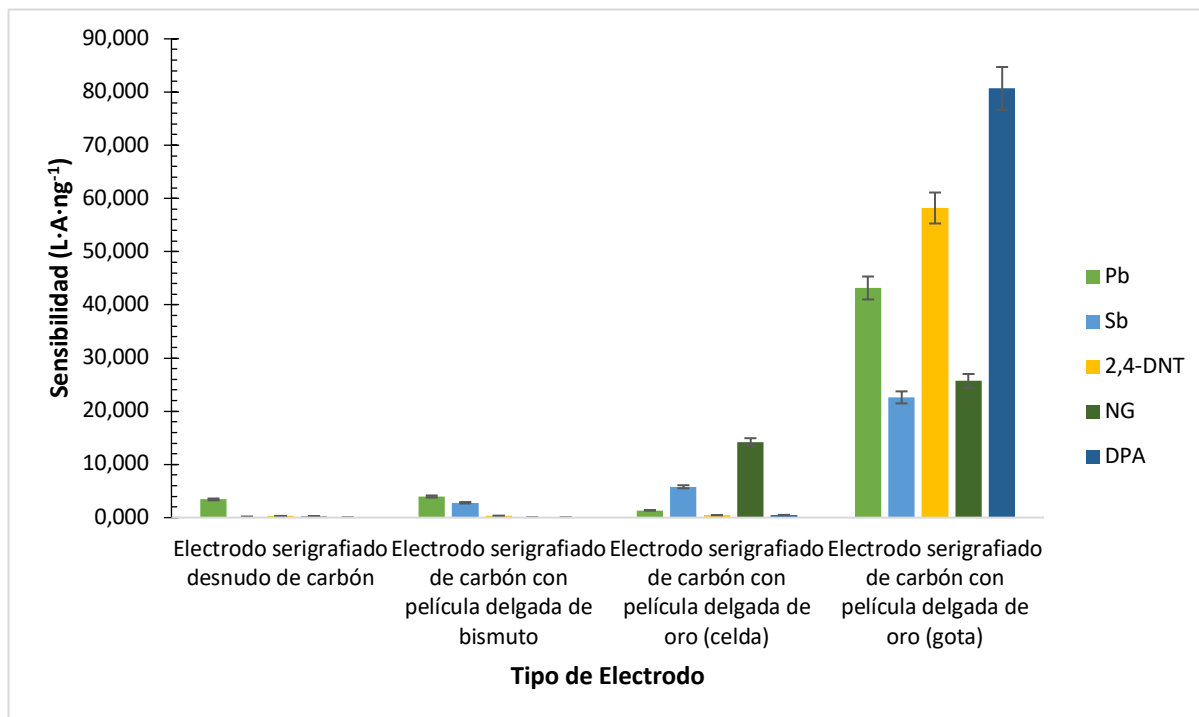
### 3.3. Sensibilidad Analítica

De acuerdo con B. Magnusson & U. Örnemark, 2014 y Miller & Miller, 2010, la sensibilidad analítica se define como la variación de la respuesta del instrumento que corresponde a una variación de la magnitud medida.

Para esta determinación se realizó el análisis de los diferentes analitos presentes en los residuos de disparo y se utilizaron los electrodos de carbono y los electrodos modificados con distintas películas delgadas utilizando regresiones lineales mediante el análisis de mínimos cuadrados, con el fin de comparar las pendientes respectivas.

De acuerdo con los datos obtenidos en la **Figura 19** se demuestra cómo la sensibilidad aumenta cuando se utiliza un método con una película delgada, ya sea de bismuto o de oro. Al emplear el electrodo desnudo de carbón, la sensibilidad obtenida fue realmente pequeña, por lo que se consideró que no era un buen método para la determinación de estos analitos presentes en residuos de disparo. El empleo de películas delgadas de metales mejoró en gran medida la determinación de estos analitos, lo cual es un aspecto positivo para los objetivos de esta investigación. La

película delgada de bismuto presentó una mejora significativa en relación con el electrodo desnudo de carbón, con la desventaja de que no logró la determinación de nitroglicerina (NG) y difenilamina (DPA) por el método empleado.



**Figura 19.** Sensibilidad para el análisis de Pb, Sb, 2,4-DNT, NG y DPA por voltamperometría de pulso diferencial (DPV) con un electrodo de carbono [0,01 cm<sup>2</sup>] desnudo y con película delgada de bismuto y oro en buffer de acetato de sodio 0,1 mol·L<sup>-1</sup>, pH 4,5.

La película de oro presentó mayor sensibilidad para todos los analitos de interés, por lo que se escogió esta película para continuar con la investigación. Se utilizaron dos métodos para trabajar con las película de oro. La primera fue utilizar alícuotas de cada analito disueltas en un volumen fijo de 5,00 mL de disolución de buffer de acetato de sodio 0,1 mol·L<sup>-1</sup>, pH 4,5. En un segundo caso se utilizó la alícuota directamente en el electrodo serigrafiado, formando una gota que cubriera los tres electrodos (pseudoelectrodo indicador de Ag/AgCl, electrodo de trabajo y electrodo auxiliar).

Cuando se utilizó el electrodo de carbono modificado con la película delgada de oro, tanto en celda como en gota, se observó un aumento significativo de más de 100 % en la sensibilidad de cada uno de los analitos, en las dos metodologías empleadas, como se nota en la **Figura 19**. De acuerdo con O'Mahony & Wang, 2013, en el campo de las ciencias forenses, específicamente en el campo del análisis de residuos de disparo por métodos electroanalíticos, el uso de películas delgadas de diferentes metales, entre ellos el oro, es uno de los avances más prometedores en este campo de estudio. Esto se evidencia en los resultados.

También se puede observar una particularidad importante al comparar las diferentes metodologías con película delgada de oro. Si bien es cierto, la sensibilidad obtenida por el método de la gota es superior a la obtenida por el método de la celda, cabe destacar que una de las inquietudes estudiadas fue el posible empleo de la técnica *in situ* en escenas del crimen, por lo que el uso de gota es más versátil para uso de campo, pues las mediciones se realizan directamente sobre el electrodo, sin necesidad de diluir la muestra ya tratada. Más adelante se mencionará el análisis de resolución y rango lineal de las técnicas.

### **3.4. Calibración y Límites de detección y cuantificación de los diferentes electrodos empleados**

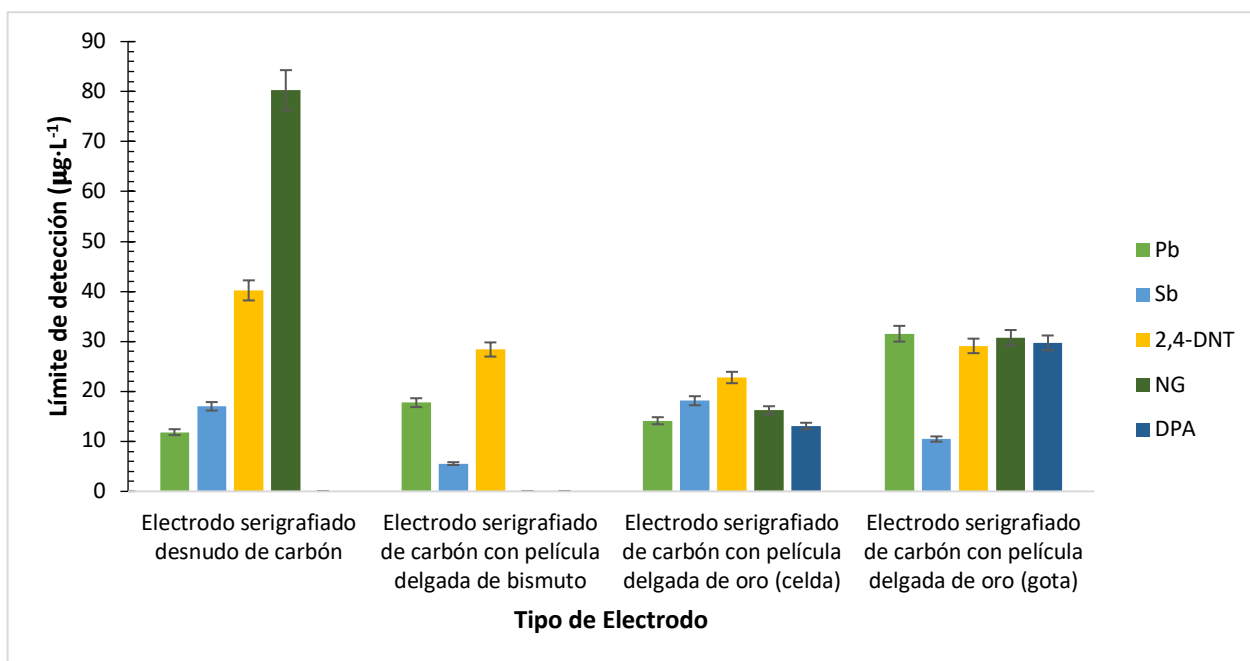
De acuerdo con Joseph Wang, 2000 y Miller & Miller, 2010, una de las características de cualquier método analítico es el límite de detección, que se define como la concentración mínima a la que se puede detectar un analito con un grado específico de certeza. El límite de detección para todos los métodos se determinó a partir del error mínimo obtenido por cada una de las curvas de calibración de cada analito estudiado.

Los límites de detección fueron menores en el electrodo con película delgada de oro en comparación con el electrodo desnudo o el electrodo modificado con una película delgada de bismuto, lo que denota el aumento de la interacción entre el

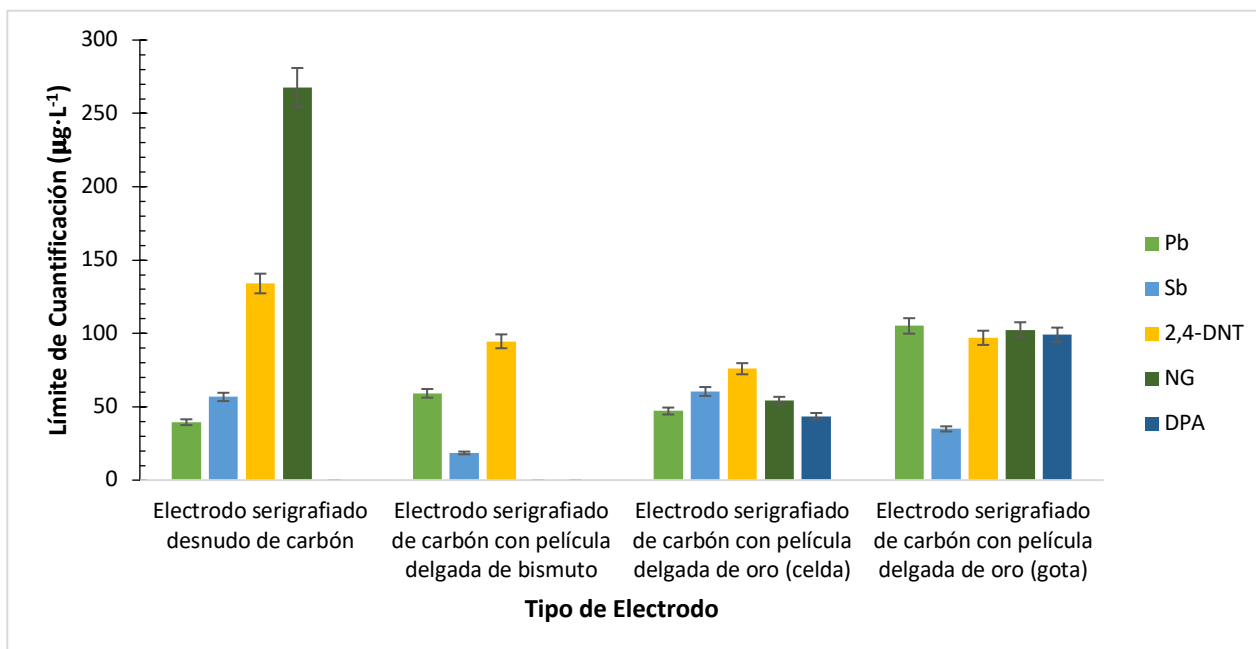


analito y el electrodo debido a la presencia de oro en el medio de reacción, mejorando las señales obtenidas de cada uno de los analitos estudiados. Esto era de esperar debido a una mayor área de superficie activa, una catálisis más efectiva y el transporte de masa rápido. Varios estudios realizados por Domínguez Renedo & Arcos Martínez, 2007 y Libansky et al., 2017, apoyan estas conclusiones demostrando que la modificación de este tipo de electrodo con una película fina de oro tiene un mejor rendimiento electroanalítico.

Al comparar las metodologías utilizadas, de acuerdo con la **Figura 20**, al utilizar películas delgadas de oro, los límites de detección y cuantificación mejoran en gran medida, aunque la metodología que utiliza la celda tenía límites de detección y cuantificación de cada uno de los analitos más bajos, con excepción del antimonio, lo que sugiere una detección a concentraciones más bajas debido a la interacción con la capa del electrodo y los analitos, así como la difusión en el medio de reacción. Por otro lado, en la gota, la difusión es menos efectiva debido al uso de volúmenes más bajos y la incapacidad de agitar la solución, de acuerdo a lo explicado por Bard & Faulkner, 2001.



(a)



(b)

**Figura 20. a)** Límites de detección y **(b)** Límite de cuantificación para el análisis de Pb, Sb, 2,4-DNT, NG y DPA por Voltamperometría de pulso diferencial (DPV); n = 5

Otro de los aspectos que se puede notar en la **Figura 20** es la mejora significativa que se encuentra con respecto a los límites de detección y cuantificación, que son más bajos cuando se emplea la metodología de la película delgada de algún metal con respecto al electrodo de carbono desnudo. Si bien es cierto, las películas delgadas de bismuto y de oro, en la metodología de la celda, también mejoraban la linealidad de estos analitos; hay que recalcar que el uso del electrodo con la película delgada con oro, agregando una gota directamente sobre el electrodo, mejoró mucho la respuesta analítica y se pudieron observar las señales más nítidas de los cinco analitos de interés.

### 3.5. Respuesta electroquímica utilizando diferentes metodologías

Como se mencionó anteriormente, en este trabajo se emplearon dos metodologías distintas para el análisis de componentes orgánicos e inorgánicos

presentes en muestras de residuos de disparo tomadas directamente en las manos de posibles tiradores, en celda y de gota.

Estas metodologías se probaron únicamente en los electrodos de carbón serigrafiados modificados con una película delgada de oro, esto debido a la alta sensibilidad y selectividad que presentó sobre los demás tipos de electrodos modificados. En ambas técnicas se emplean los mismos reactivos, el único cambio aparente es la dilución que se está aplicando:

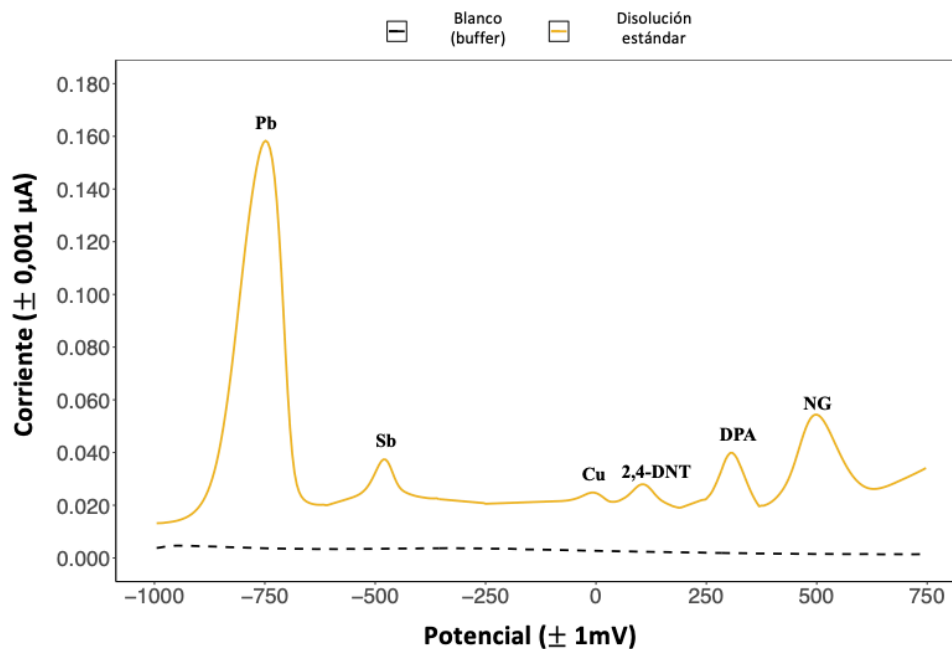
1. **Metodología de celda:** Se colocó una cantidad de 50  $\mu\text{L}$  de la muestra diluida en 100  $\mu\text{L}$  de una disolución amortiguadora de acetato de sodio con un pH de 4,5, colocados directamente en una celda de análisis que contenía 5,0 mL de la disolución amortiguadora de acetato de sodio con un pH de 4,5.
2. **Metodología de gota:** Se colocó una cantidad de 50  $\mu\text{L}$  de la muestra diluida en 100  $\mu\text{L}$  de la disolución amortiguadora de acetato de sodio con un pH de 4,5 directamente sobre el electrodo modificado con una película delgada de oro.

Se estudiaron estas dos metodologías debido al tipo de muestras que se pueden recolectar en una posible escena del crimen, ya que, si la muestra se puede llevar a un laboratorio de análisis, se podría utilizar la técnica de la celda, mientras que si se requiere una técnica de análisis rápido e *in situ* se tiene la posibilidad de utilizar la técnica de la gota. Por otro lado, se debe pensar en la cantidad de la muestra y réplicas que se podrían llevar a cabo. Costa et al., 2016, mencionan que en la mayoría de los casos se cuenta con una cantidad muy pequeña de muestra, por lo que se requieren técnicas con alta sensibilidad y selectividad para el análisis de muestras de índole forense, como son los residuos de disparo.

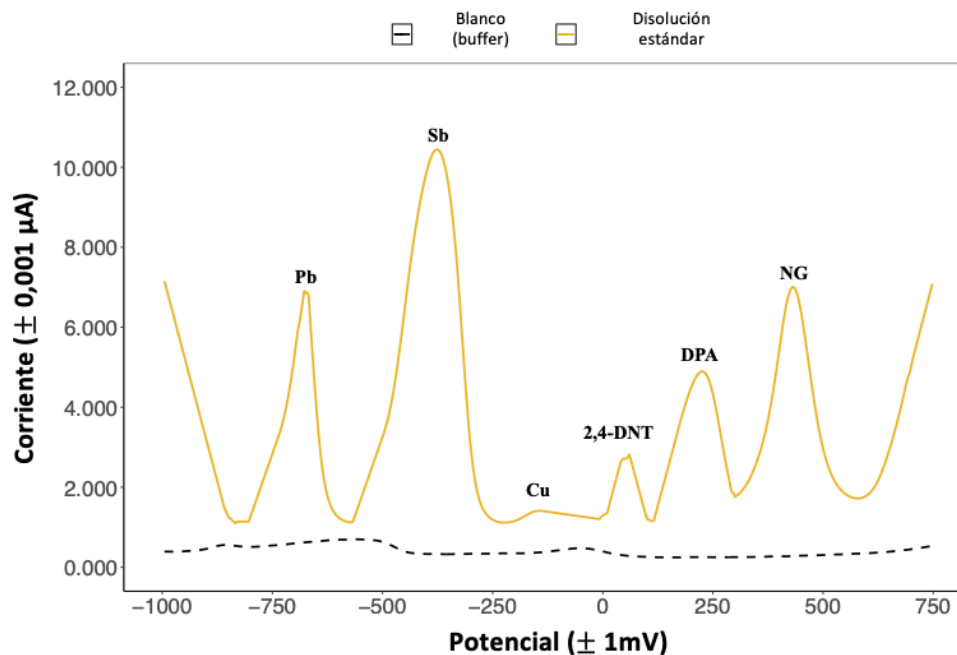
En las **Figura 21.a y 21.b** se muestran las señales obtenidas por la metodología de celda y de gota respectivamente, donde se utilizó la misma técnica electroanalítica de voltamperometría de pulso diferencial (DPASV), para una mezcla

de disolución estándar de componentes orgánicos e inorgánicos presentes en residuos de disparo con una concentración de  $1,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  cada uno de ellos. El análisis en celda presenta señales definidas de cada uno de los analitos, sin embargo, la utilización del método de la gota sobre la superficie del electrodo de carbono permitió una separación mucho mejor entre cada uno de los componentes orgánicos e inorgánicos, y una mejor resolución de las señales de difenilamina (DPA) y nitroglicerina (NG). También se puede notar una diferencia en la intensidad de la corriente de los picos entre ambos métodos aplicados.

Otro de los aspectos clave que se debe notar es la corriente obtenida por ambas metodologías, por el método de la celda se tiene una corriente máxima de  $0,180 \mu\text{A}$ , mientras que la metodología de la gota tiene una corriente máxima de  $12 \mu\text{A}$ , por lo que es una técnica que tiene una mejor resolución de las señales.



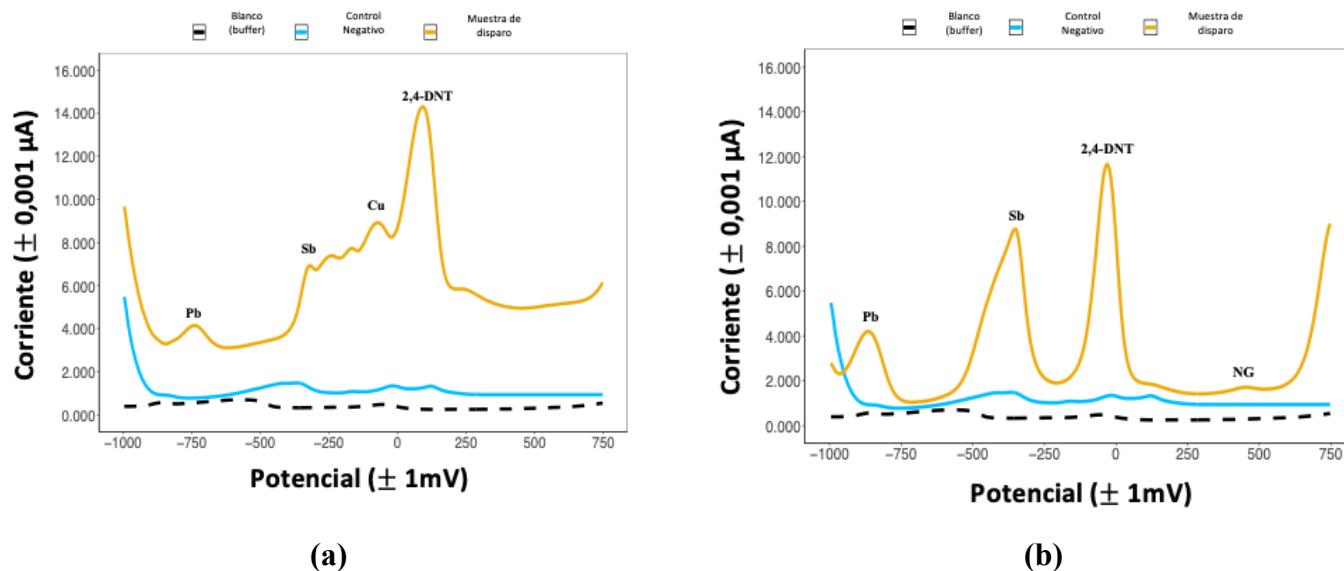
(a)



(b)

**Figura 21.** Comparación de las señales de voltamograma de una mezcla estándar de  $1,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  cada una por las diferentes metodologías **(a)** electrodo de carbón con película delgada de oro con metodología de celda por técnica DPV y **(b)** electrodo de carbón con película delgada de oro con metodología de gota por técnica DPV.

Como un ensayo preliminar para determinar si la aplicación de ambas metodologías en muestras de GSR daba resultados cualitativos semejantes a los obtenidos con disoluciones patrón, se analizaron varias muestras obtenidas de la mano de un tirador. Como se observa en la **Figura 22**, el voltamperograma de la muestra presenta picos menos definidos que la muestra control, que es parecida a las obtenidas con patrones estándar. Se pudieron detectar señales de Pb, Sb, Cu y 2,4 DNT. Cada una de las muestras tenía un control negativo y un blanco, esto para determinar que, tanto las personas que tomaron las muestras como las disoluciones utilizadas durante el análisis no presentaran ninguna interferencia externa. Ambas metodologías proporcionaron la identificación de componentes inorgánicos y componentes orgánicos de las muestras del tirador en niveles superiores a los controles negativos de fondo.



**Figura 22.** Comparación entre el tirador y las muestras de control negativo con el **(a)** método de la celda y **(b)** el método de gota, ambos usando un electrodo serigrafiado de carbón con una película delgada de oro.

Se puede observar que las señales obtenidas en celda son menos definidas, principalmente para Sb y Cu, debido a que la disolución está 100 veces más diluida que en la gota. En el **Anexo 7** y **Anexo 8** se pueden observar que todos los voltamperogramas en la metodología de celda presentan menor resolución que en la metodología de gota.

### 3.6. Estimaciones de calibración y límites de detección para los electrodos de oro

Una vez determinadas las condiciones óptimas para el análisis de los diferentes analitos utilizando los electrodos de carbono y los electrodos con película delgada de oro, se realizó una serie de regresiones lineales mediante el análisis de mínimos cuadrados.

De acuerdo con el **Cuadro XII**, las condiciones óptimas para el análisis por película delgada de oro por medio de la técnica de SWASV son: un potencial de deposición de -1000 mV, un tiempo de deposición de 120 s, con una ventana de

potencial desde -1000 mV a 800 mV, un paso de potencial de 5 mv, modulación de la amplitud de 25 mV, modulación del tiempo de 0,05 s y un tiempo de espera de 0,5 s.

Se empleó la técnica de mínimos cuadrados para determinar la pendiente de cada una de las metodologías empleadas en este trabajo, además de los coeficientes de correlación, los cuales demostraron la linealidad de cada una de las curvas de calibración aplicadas en el análisis, y que se confirmaron con la evaluación de los residuales. De acuerdo con los resultados en el **Cuadro XIV**, se demuestra que la sensibilidad analítica aumenta cuando se usa la metodología de la gota en comparación con la metodología de la celda, a pesar de que esta última se encuentra 100 veces más diluida.

Al comparar los resultados del **Cuadro XIV**, se pueden observar pendientes más pronunciadas, lo que sugiere una mayor sensibilidad hacia la detección de los diferentes analitos estudiados. En la metodología de la celda se puede observar una mejor correlación lineal en ciertos analitos que los obtenidos por la metodología de la gota, como es el caso del 2,4-DNT, DPA y Sb; sin embargo, al aplicar la metodología de la gota se da un aumento de aproximadamente un 100 % en la detección en todos analitos, lo que sugiere que al tener un menor volumen en la gota, la distancia promedio que recorre el analito a la superficie de la película delgada de oro es menor por lo que reduce su tiempo de migración y mejora la detección del mismo, en comparación con la dilución de los analitos en la metodología de la celda. Además, se observa mayores pendientes en todas las curvas de calibración comparadas con las de la celda.

**Cuadro XIV.** Comparación entre curvas de calibración para las metodologías utilizadas para identificar GSR con electrodos de carbón serigrafiados y modificados con una película delgada de oro.

Analito	Electrodo de carbón vítreo con película delgada de oro (celda)			Electrodo de carbón vítreo con película delgada de oro (gota)		
	Pendiente / $\times 10^{-7}$ (L·A·ng <sup>-1</sup> )	Intercepto / $\times 10^{-7}$	R <sup>2</sup>	Pendiente / $\times 10^{-7}$ (L·A·ng <sup>-1</sup> )	Intercepto / $\times 10^{-7}$	R <sup>2</sup>
<b>Pb</b>	1,37 ± 0,01	0,061 ± 0,001	0,998	43 ± 4	5 ± 2	0,999
<b>Sb</b>	5,80 ± 0,08	-0,058 ± 0,003	0,995	22 ± 4	-2,6 ± 0,6	0,993
<b>2,4-DNT</b>	0,45 ± 0,01	0,029 ± 0,001	0,999	58,2 ± 0,9	-3,9 ± 0,4	0,996
<b>DPA</b>	0,49 ± 0,01	0,032 ± 0,001	0,999	80,7 ± 0,7	-0,3 ± 0,4	0,993
<b>NG</b>	14,2 ± 0,1	0,71 ± 0,03	0,998	25,7 ± 0,4	56 ± 4	0,999

Cuando se utilizó la metodología de la gota con el electrodo de carbón y la película delgada de oro, el cobre en concentraciones trazas se ve como un pequeño pico alrededor de 0,0 mV, como se muestra en la **Figura 21.a** y **Figura 21.b**. Sin embargo, esta señal está muy cerca de la señal del 2,4-DNT y al elevar su concentración a más de 450  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  podría comprometer la resolución de ambos analitos.

Uno de los analitos que se quería estudiar en este análisis era la etil centralita (EC); la cual de acuerdo con Morelato et al., 2012; M. y Zhao et al., 2008, tiene un uso restringido a municiones y por lo tanto, su detección en una investigación forense proporciona pruebas sólidas de una asociación con un arma de fuego; pero su señal asociada se ve alrededor de 1000 mV. Dado que la ventana de potencial de los SPCE con películas delgadas de oro solo alcanza un máximo de alrededor de 750 mV, la señal de etil centralita no se logra obtener con este tipo de electrodos modificados. De acuerdo con esto, para su determinación se recomienda el empleo de otro tipo de electrodo que cubra esa ventana de potencial y emplear algún otro tipo de metodología, por lo tanto, se descartó su análisis ya que en este trabajo



se quería obtener el máximo de señales de interés con un mismo electrodo y una misma metodología.

### **3.7. Precisión de las metodologías electroanalíticas con película delgada de oro**

De acuerdo a B. Magnusson & U. Örnemark, 2014, la precisión se va a definir como la medidas de la proximidad de la concordancia entre los resultados de medición independientes entre si, los cuales se obtienen bajo ciertas condiciones específicas. La precisión va a depender de la concentración del analito.

A nivel de validación de metodologías, para determinar la precisión de las técnicas se utiliza la repetibilidad, la cual es un tipo de precisión que se espera que represente la variación más pequeña entre los resultados obtenidos por mediciones independientes. Esta variación de los datos se debe determinar bajo ciertas condiciones específicas, como son: mismo material de referencia, misma metodología, mismo analista, mismo laboratorio y el mismo equipo en un período de tiempo muy corto.

Por otro lado, otro de los parámetros que se utilizan para la determinación de la precisión es la reproducibilidad, la cual va a determinar el grado de precisión, al cambiar ciertas condiciones especiales como es el equipo, el analista o hasta el material de referencia utilizado, pero muchas veces la determinación de este parámetro se puede complicar, por lo que una de las medidas mas empleadas recientemente es la “repetibilidad intermedia”, la cual implica que se van a cambiar ciertas condiciones pero siempre lo hará el mismo analista y en períodos de tiempo más largo e inclusive se podría determinar en otro laboratorio y con otro equipo; con esto, la variabilidad de los datos es mayor y se puede obtener un patrón más determinante con la precisión de los datos, de acuerdo con B. Magnusson & U. Örnemark, 2014.

Para el estudio de la repetibilidad y la repetibilidad intermedia se utilizaron ocho curvas de calibración independientes y se calcularon los coeficientes de variación de las respectivas pendientes con las dos metodologías empleadas: celda y gota (**Cuadro XV**).

**Cuadro XV.** Resultados de la precisión en términos de repetibilidad y repetibilidad intermedia para la metodología de película delgada de oro. Para n=8

Analito	Electrodo serigrafiado de carbón con película delgada de oro (en celda)		Electrodo serigrafiado de carbón con película delgada de oro (con gota)	
	Repetibilidad / % RSD	Repetibilidad Intermedia / % RSD	Repetibilidad / % RSD	Repetibilidad Intermedia / % RSD
<b>Pb</b>	0,7	0,7	0,6	0,5
<b>Sb</b>	0,4	0,4	1,0	2,1
<b>2,4-DNT</b>	0,5	1,3	1,6	1,3
<b>DPA</b>	2,0	1,7	0,7	1,0
<b>NG</b>	0,5	1,0	1,8	1,8

Como se puede observar, se obtuvo una excelente repetibilidad y precisión intermedia con los valores calculados de % RSD, los cuales en todos los casos son inferiores al 2,1 %, al utilizar cualquiera de las metodologías de la película delgada de oro. Estos datos sugirieron una fuerte correlación entre las curvas de calibración medidas en períodos cortos de tiempo al determinar la repetibilidad, pero también demuestran su aplicabilidad en periodos de tiempo más largos.

**Cuadro XVI.** Determinación de significancia estadística por medio de prueba  $t$  para la comparación de las pendientes de las curvas de calibración para las metodologías empleadas a un nivel de significancia de 0,05 para  $n=8$ .

Analito	Electrodo serigrafiado de carbón con película delgada de oro (en celda)		Electrodo serigrafiado de carbón con película delgada de oro (con gota)		$t_{\text{estadístico}}$	$t_{\text{calculado}}$
	Pendiente Promedio / $\times 10^{-7}$ ( $L \cdot A \cdot ng^{-1}$ )	Desviación estándar/ $\times 10^{-7}$ ( $L \cdot A \cdot ng^{-1}$ )	Pendiente Promedio/ $\times 10^{-7}$ ( $L \cdot A \cdot ng^{-1}$ )	Desviación estándar/ $\times 10^{-7}$ ( $L \cdot A \cdot ng^{-1}$ )		
Pb	1,37	0,01	43	4	2,36	32,05
Sb	5,80	0,08	22	4		15,05
2.4-DNT	0,45	0,01	58,2	0,9		176,33
NG	14,2	0,1	25,7	0,7		167,28
DPA	0,49	0,01	80,7	0,4		312,01

De acuerdo con los resultados obtenidos en el **Cuadro XV**, se puede observar que los valores de las desviaciones estándar al ser tan pequeños, aseguran que, en la validación de la metodología, la técnica empleada es precisa y además repetible. En este punto cabe destacar que la repetibilidad intermedia de la técnica puede verse afectada por errores sistemáticos con respecto al tipo de metodología y electrodos empleados, así como interferencias presentes en el análisis.

Es importante mencionar la diferencia significativa que pueda existir entre la pendientes de las curvas de calibración de ambas metodologías, por lo que al aplicar la prueba estadística  $t$  utilizando el promedio de las pendientes de cada uno de los analitos estudiados, de acuerdo con Miller & Miller, 2010., en todos los casos la  $t$  calculada es mayor que la  $t$  crítica, lo que indica que hay diferencia significativa entre ambas metodologías, tomando como hipótesis nula del análisis que no existe diferencia significativa, es decir, que la  $t$  calculada es menor que la  $t$  crítica. En el **Cuadro XVI** se puede concluir que, para todos los analitos estudiados, por medio del cálculo del estadístico  $t$ , se acepta la hipótesis alternativa, es decir, que sí existe diferencia significativa entre las metodologías empleadas. La metodología de la celda presenta una variación menor en cuanto a equipos utilizados y electrodos

empleados en todas las determinaciones electroanalíticas, ya que siempre se realizó por medio de adiciones estándar continuas a un volumen determinado de la disolución amortiguadora; por otro lado, para la metodología de la gota, se debe tener en cuenta la cantidad de analito que se está agregando, además que se debe colocar siempre en un lugar en específico y repetible.

### **3.8. Validación cualitativa del rendimiento del método para la detección de residuos de disparo utilizando muestras de GSR**

Uno de los puntos más importantes en la validación de este tipo de metodologías, es la aplicación con muestras de residuos de disparo (GSR) tomados en las manos de las personas que disparan armas de fuego y comparar con aquellas muestras de personas que no tienen contacto con un arma de fuego en periodos cortos de tiempo.

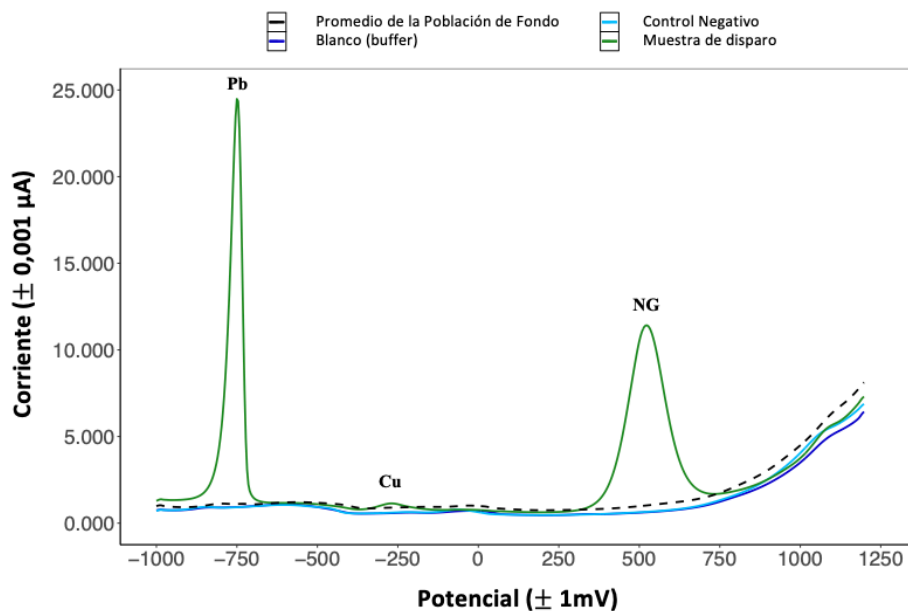
La técnica de recolección de las muestras utiliza un talón de aluminio con dos capas de adhesivo de carbono (Ted Pella, Inc, Redding, CA). La recolección de muestras se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Trejos et al., 2018. Las muestras se recolectaron de la palma derecha, el dorso derecho, la palma izquierda y el dorso izquierdo de las manos de diferentes tiradores, cada cinco disparos sin lavarse las manos. Para prevenir cualquier pérdida de analitos las muestras se almacenaron a 4 °C antes del análisis.

Para el primer lote de muestras se realizó un análisis con 20 muestras tomadas en las manos de una persona que disparó un arma Springfield XD9 descrita en el **Cuadro XIII**. Para este primer análisis se compararon las dos metodologías electroanalíticas con película delgada de oro, celda y gota, en cuanto a la sensibilidad y selectividad que tendrían las técnicas al emplearse en muestras de GSR.

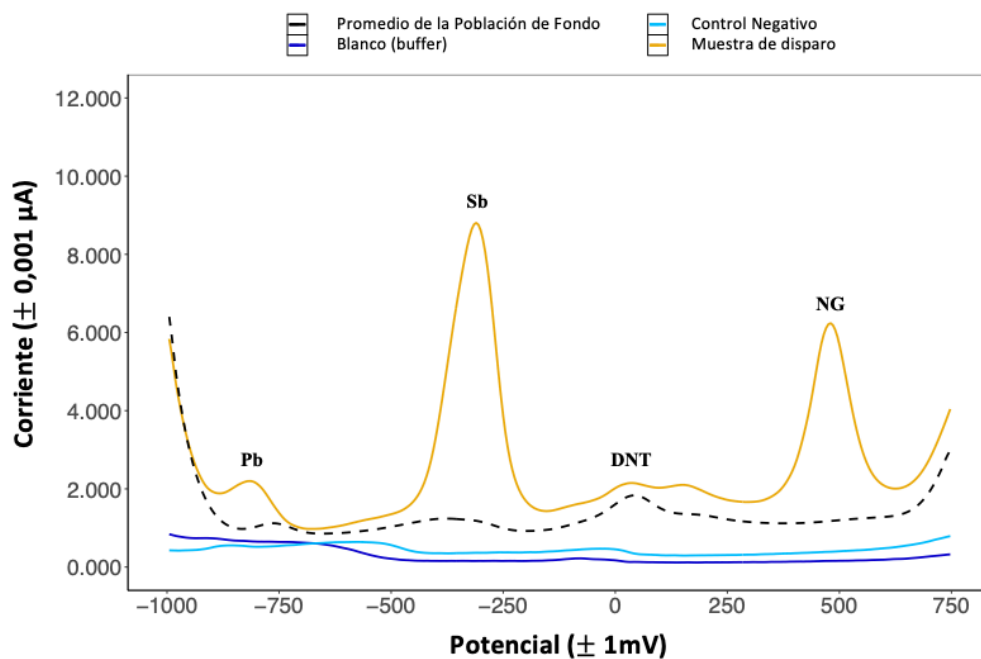
Esta primera comprobación de la metodología se llevó a cabo para identificar la técnica más idónea para el análisis de este tipo de muestras. En la **Figura 22** se observa un ejemplo de las respuestas, del análisis de muestras de GSR recolectadas de la piel de tiradores y no tiradores, para ambos métodos de película de oro, para la muestra de la mano del tirador, un control negativo y la disolución amortiguadora como blanco. Ambos métodos proporcionaron la identificación cualitativa de residuos de disparo tanto inorgánicos como orgánicos de las muestras de tiradores a niveles por encima de los controles negativos. No obstante, una limitación práctica de la metodología empleada, es la dilución de la muestra, que es aproximadamente 100 veces. Por lo tanto, la pérdida de información de la muestra es difícil de superar, especialmente para muestras de baja concentración inicial. A pesar de este inconveniente, el método de celda obtuvo resultados de LOD y LOQ más bajos junto con rangos lineales más amplios. Sin embargo, el método de la gota ofreció valores LOD considerablemente menores que la concentración analítica de la muestra, por lo que puede ser aplicable a la detección de GSR, así como una excelente resolución. Por estas razones, además de no diluir la muestra, se seleccionó el método de gota como el mejor enfoque para medir muestras auténticas de GSR.

Debido a todo lo anterior, se decidió hacer un nuevo análisis con 75 muestras tomadas de la misma manera explicada anteriormente, pero esta vez con dos tipos de armas distintas, comparar los resultados obtenidos por cada una de las armas estudiadas, las cuales se describen en el **Cuadro XIII**.

Para este análisis en particular, se realizó una comparación de metodologías, tanto el electrodo de carbón desnudo, sin ninguna modificación aparente en su superficie, con la metodología del electrodo de carbón modificado con una película delgada de oro, de acuerdo con la metodología de Trejos et al., 2018, En la **Figura 23**, se presentan dos voltamperogramas típicos del análisis de los residuos de disparos recolectados.



(a)

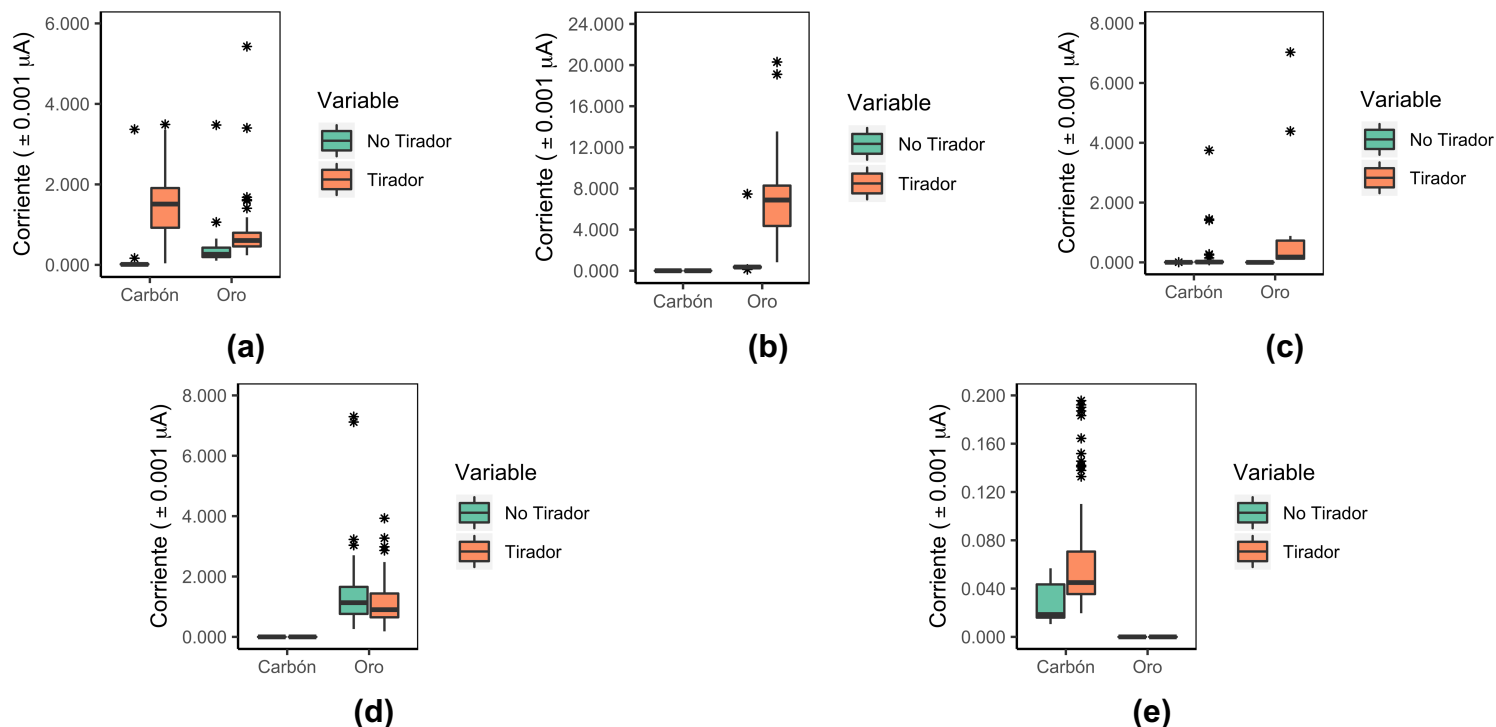


(b)

**Figura 23.** Voltamperogramas del análisis poblacional, blanco (disolución amortiguadora de acetato 0,1 M pH 4,5), control negativo del análisis y el Taurus 357 Magnum modelo 608 con munición federal American Eagle cargada por el fabricante 38 Muestra especial FMJ de 130 granos en **(a)** SWASV con SPCE desnudo y **(b)** DPV con SPCE modificado con película fina de oro por el método de la gota

Ambos voltamperogramas detallaron una variedad de información analítica importante; el primer tipo corresponde al análisis de muestras del análisis poblacional, estas muestras se recolectaron al azar de una población de individuos en las cercanías de la Universidad de West Virginia en Morgantown, WV. Estas muestras de antecedentes se obtuvieron de las manos de personas que informaron no haber manipulado o disparado un arma de fuego en las últimas 24 horas. También se recogió un blanco de disolución amortiguadora de acetato de sodio 0,1 M, pH 4,5 simultáneamente durante esta actividad y corresponde a la medición del medio de análisis y en tercer lugar está el control negativo del análisis que corresponde a un control de prueba de toma de muestras de residuos de disparo no utilizado. Esta prueba asegura que no haya interferencia de los componentes de este instrumento o contaminación en el centro de recolección de la muestra.

Los resultados se analizaron mediante diagramas de caja, o también llamados boxplot, de acuerdo con Kampstra, 2008; Marmolejo-Ramos & Siva Tian, 2010. Estas representaciones funcionan para visualizar mejor los resultados, en este caso en particular de cada analito objetivo para muestras de tiradores y no tiradores. La **Figura 24** presenta los resultados del método SWASV con electrodo de carbón desnudo, así como el método DPV con película delgada de oro. Al analizar los resultados utilizando la técnica SWASV, se observó una gran diferencia entre las muestras de tiradores y no tiradores. Esto es beneficioso cuando se identifican muestras de GSR positivas, ya que existe una buena separación entre las señales presentes para los diferentes tipos de muestras. Al evaluar la técnica DPV, se puede observar que existe la misma diferencia entre los tiradores y los no tiradores; sin embargo, se nota una sensibilidad mejorada para varios marcadores de residuos de disparo.



**Figura 24.** Diagrama de caja de la relación tirador / no tirador obtenida por análisis electroquímico en 75 muestras. La línea central de cada cuadro es la mediana, los bordes del cuadro son los percentiles 25 y 75, y los bigotes se extienden hasta los puntos de datos máximo y mínimo que no se consideran valores atípicos. SPCE por técnica SWV y SPCE con película fina de oro por técnica DPV **(a)** Pb, **(b)** Sb, **(c)** NG, **(d)** 2,4-DNT **(e)** Cu

Otro aspecto importante a observar en la **Figura 24** son los valores atípicos o también llamados outliers, los cuales de acuerdo con Sim et al., 2005, representa un valor u observación grande o pequeña con respecto al promedio de las mismas, lo cual puede dar como resultado un efecto desproporcionado con respecto a los resultados estadísticos y finalmente conducir a falsas interpretaciones de los resultados. En el caso particular de los residuos de disparo, los valores atípicos pueden estar presentes en estas muestras debido a la variabilidad que existe como resultado de la posición del arma y la aleatoriedad con la que se dispersa la pólvora. Sin embargo, es importante tener en cuenta que la mayoría de los valores atípicos están presentes en las muestras de tiradores por encima del valor máximo del diagrama de caja y, como tales, todavía se considerarían una identificación "positiva" de GSR. En lugar de valores atípicos problemáticos, estos valores atípicos



demuestran grandes cantidades de analito en las manos del tirador y permiten la visualización de la gran diferencia entre las muestras de tirador y no tirador.

### **3.8.1. Parámetros cualitativos para la Validación del rendimiento del método para la detección de residuos de disparo utilizando muestras auténticas de disparos**

Para el análisis cualitativo de las muestras estudiadas y de acuerdo con el análisis realizado en E30 Committee, 2017, p. 30 y Trejos et al., 2018, el criterio utilizado para este análisis comparativo se basó en la presencia de al menos dos señales GSR características, ya sean de naturaleza orgánica o inorgánica, sin embargo se otorga una mayor confianza en los resultados para un mayor número de analitos y detección dual de marcadores orgánicos e inorgánicos. Los resultados obtenidos se dividen en dos grupos, tirador y no tirador, de manera que se pueden obtener cuatro posibles respuestas: verdadero positivo, verdadero negativo, falso positivo y falso negativo.

Las muestras verdaderas positivas (TP) resultan cuando una muestra del tirador presenta señales correspondientes a los marcadores de residuos de disparo. Las muestras falsas negativas (FN) se obtienen cuando una muestra clasificada como tirador no tiene señales GSR. Las muestras verdaderas negativas (TN) son muestras de no tiradores clasificados correctamente por la ausencia de señales de residuos de disparo. Por último, las muestras de falsos positivos (FP) son aquellas muestras de no tiradores que tienen señales GSR características, de acuerdo con lo presentado por Trejos et al., 2018.

Al evaluar los resultados de estas muestras, se analizaron las siguientes tasas de desempeño:

- A. **Sensibilidad:** capacidad de la metodología analítica para mostrar resultados precisos debido a la presencia de señales características con residuos de disparo, es decir, verdadero positivo.

- B. **Falso negativo:** la medida de identificar erróneamente una muestra que se conoce como positiva (es decir, tirador) pero debido a la ausencia de señales características de residuos de disparo se clasifica como no tirador.
- C. **Especificidad:** la medida de categorizar positivamente aquellas muestras que se consideran negativas y no se observan signos característicos de residuos de disparo.
- D. **Falso positivo:** la medida de identificar erróneamente una muestra que se conoce como negativa (es decir, no tirador) se clasifica como positiva (es decir, tirador) debido a la presencia de señales características de residuos de disparo.

El **Cuadro XVII** muestra las tasas de desempeño de dos métodos comparados. Al evaluar los resultados de las muestras recolectadas de los tiradores, el mayor nivel de rendimiento del electrodo de película delgada de oro en comparación con el electrodo de carbón desnudo se notó fácilmente. Sin embargo, al evaluar los resultados de los no tiradores, el electrodo desnudo tuvo un mejor desempeño ya que, como se ha evaluado previamente, la metodología del oro tuvo una mayor sensibilidad, lo que condujo a algunos falsos positivos. Por lo tanto, el método con película fina de oro puede ser más capaz de detectar compuestos presentes de forma natural en concentraciones bajas.

Finalmente, el índice de Youden, de acuerdo con Fluss et al., 2005, Ruopp et al., 2008 y Youden, 1950, indica la confiabilidad de la prueba con respecto a un resultado dicotómico, es decir, en este caso en particular, este parámetro indica si la metodología utilizada asegura un resultado correcto al asignar si una muestra es positiva o no para residuos de disparo. Estas tasas de rendimiento demuestran que ambos sensores electroquímicos son viables para la detección y el análisis de pruebas de residuos de disparo.

**Cuadro XVII.** Medidas de confiabilidad del análisis cualitativo de GSR con electrodos serigrafiados de carbón con diferentes metodologías

Medida de confiabilidad	Expresión	Muestras totales	Electrodo serigrafiado de carbón con película delgada de oro		Electrodo serigrafiado de carbón desnudo (sin modificación)	
			Total	%	Total	%
<b>Sensibilidad</b>	$\frac{100(TP)}{TP + FN}$	75	39	52	58	77
<b>Tasa de falsos negativos</b>	$\frac{100(FN)}{TP + FN}$		36	48	17	23
<b>Especificidad</b>	$\frac{100(TN)}{TN + FP}$	50	50	100	50	100
<b>Tasa de falsos positivos</b>	$\frac{100(FP)}{TN + FP}$		0	0	0	0
<b>Precisión</b>	$\frac{100(TP + TN)}{TP + TN + FP + FN}$		71		86	
<b>Índice de Youden</b>	100(sensibilidad + especificidad – 1)		52		77	

Para evaluar si la capacidad general de detectar marcadores de residuos de disparo tanto inorgánicos como orgánicos, aumentó cuando se combinaron los datos de los electrodos de película delgada de oro y de carbono desnudo, se define un resultado positivo para residuos de disparo cuando había al menos dos marcadores de residuos de disparo inorgánicos y al menos un marcador de residuos de disparo orgánico, en la misma muestra detectado por cualquiera de los dos análisis.

Se consideró que los resultados falsos positivos eran cualquier combinación de marcadores orgánicos e inorgánicos mediante ambos enfoques de electrodos. La naturaleza complementaria de la película delgada de oro y carbono desnudo se observa a través del rendimiento superior cuando los datos de ambos métodos se combinan como se muestra en el **Cuadro XVIII**, donde la precisión mejoró de 86 % (desnudo) y 90 % (oro) a 94 % (combinado). Los datos combinados de ambos análisis permitieron evaluar un panel más grande de marcadores de residuos de disparo, lo que brinda más oportunidades de detectar residuos de disparo tanto inorgánicos como orgánicos, ya que diferentes marcadores respondieron mejor a

cada método. Esto también representa un apoyo experimental para la confianza mejorada de la presencia de residuos de disparo en muestras auténticas, cuando se evalúan juntos este tipo de residuos.

**Cuadro XVIII.** Medidas de confiabilidad del análisis cualitativo de residuos de disparo para la combinación del análisis en electrodo desnudo de carbón y electrodo con película delgada oro

Medida de confiabilidad	Expresión	Muestras totales	2 o más marcadores		2 IGSR + 1 OGSR	
			Total	%	Total	%
<b>Sensibilidad</b>	$\frac{100(TP)}{TP + FN}$	75	75	100	47	63
<b>Tasa de falsos negativos</b>	$\frac{100(FN)}{TP + FN}$		0	0	28	37
<b>Especificidad</b>	$\frac{100(TN)}{TN + FP}$	50	47	94	50	100
<b>Tasa de falsos positivos</b>	$\frac{100(FP)}{TN + FP}$		3	6	0	0
<b>Precisión</b>	$\frac{100(TP + TN)}{TP + TN + FP + FN}$		98		78	
<b>Índice de Youden</b>	$100(\text{sensibilidad} + \text{especificidad} - 1)$		94		63	

### 3.9. Errores e interferencias en la validación del rendimiento del método para la detección de residuos de disparo

#### 3.9.1. Presencia de cobre

Uno de los analitos más comunes que se pueden encontrar en los residuos de disparo es el cobre, ya que muchos de los materiales empleados para los recubrimientos de las balas son de este material o de ciertas aleaciones especiales. De acuerdo con Mohd Hashim et al., 2016, la concentración de cobre en residuos de disparo se puede encontrar entre  $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .

Otro de los puntos importantes es la presencia de cobre en el agua de consumo humano. En nuestro país de acuerdo con el “Índice de Riesgo de la Calidad del Agua para Consumo Humano en Costa Rica (IRCACH)” del Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados, Mora-Alvarado et al., 2018, Costa Rica presenta límites admisibles de concentración de cobre menores a  $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y los estudios han revelado que los índices de este analito es no detectable, por lo que siempre se encuentra en concentraciones menores al mínimo permitido. Por otro lado, el estado de West Virginia en Estados Unidos es una de las regiones de explotación minera de carbón de ese país y como se presenta en Law et al., 2017, la concentración de cobre en el agua de consumo humano puede superar  $1,3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y a pesar de esta concentración de cobre, Hendryx et al., 2012, mencionan que son violaciones que llevan mucho tiempo tratándose, pero no se ha logrado ninguna solución.

Además de acuerdo a los límites determinados para las metodologías electroanalíticas estudiadas, presentados en el **Anexo 2**, el cobre puede ser una interferencia importante en este tipo de análisis, ya que hay que considerar los residuos que se pueden encontrar en la fabricación de las balas y que se pueden extraer a la hora de la toma de la muestra, así como también aquellos que se hayan en los reactivos y preparación de disoluciones.

Debido a esta situación, se decidió estudiar específicamente este analito y su efecto en las muestras, tanto para su detección por técnicas electroanalíticas, como también el efecto negativo que podría tener con otro tipo de señales. Como se observa en la **Figura 25**, durante los meses de octubre y noviembre de 2020 se

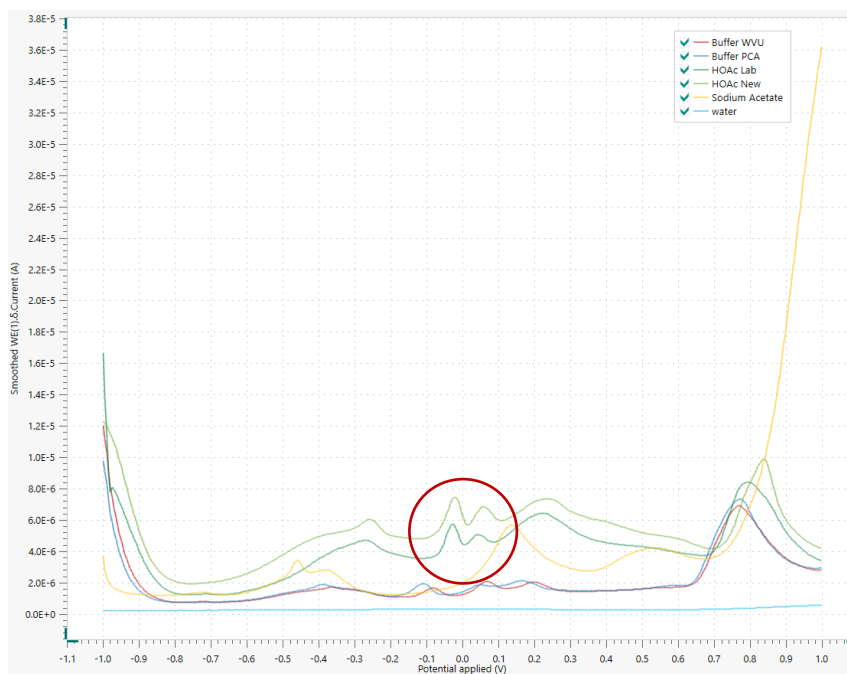
presentó un aumento en la señal alrededor de 0,0 V, al realizar el análisis en la disolución amortiguadora, como parte de los controles de calidad en el uso de los electrodos serigrafados, además esta señal coincide e interfiere con la señal de 2,4-DNT, uno de los analitos importantes en el estudio y la detección de residuos de disparo.



**Figura 25.** Voltamperometría diferencial de pulso (DPV) para la disolución amortiguadora de acetato de sodio.  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 4,5, con la metodología de gota sobre el electrodo de carbón serigrafado [ $0,13 \text{ cm}^2$ ] con película delgada de oro

Para determinar la caracterización de esta señal, se realizaron ciertos análisis particulares como son:

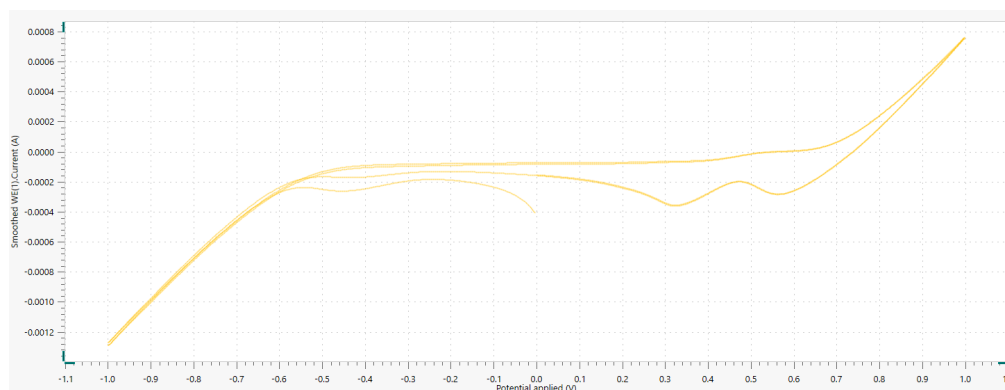
- Agua desionizada empleada en los análisis
- Reactivos (acetato de sodio y ácido acético)
- Disolución amortiguadora de acetato de sodio



**Figura 26.** Comparación entre las diferentes pruebas en el método de gota utilizando electrodo serigrafiado con película delgada de oro

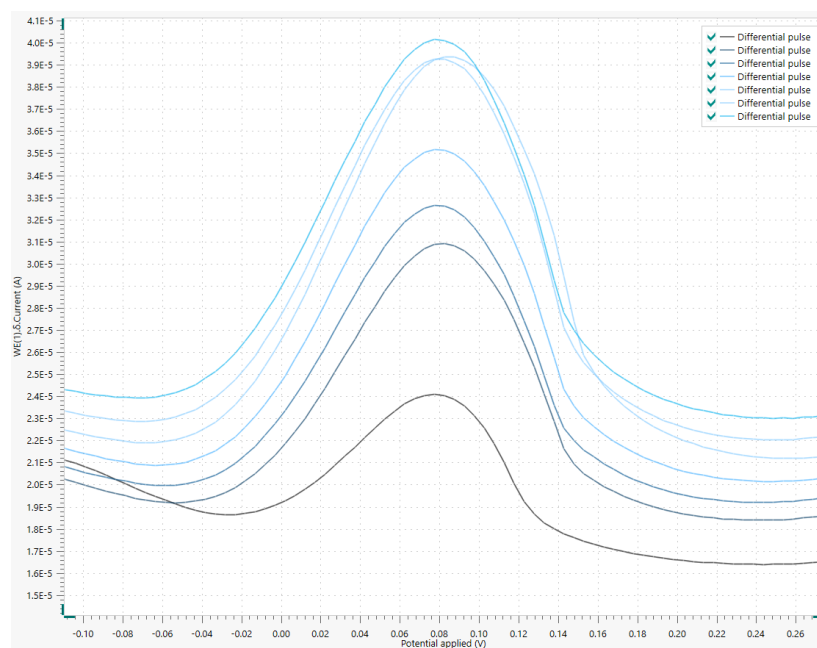
En la **Figura 26** se muestra un resumen de todas las señales obtenidas por las pruebas realizadas y las señales interferentes están presentes en todas ellas, por lo que se empieza a observar que es una interferencia presente en ese momento del análisis y no es algo propio de las muestras ni de las metodologías empleadas.

Una de las propuestas al respecto fue la aparición de estas señales por el oro utilizado para hacer la película delgada o complejos formados con la disolución amortiguadora de acetato de sodio, por lo que se utilizaron técnicas de caracterización como la voltamperometría cíclica (CV) para determinar cada una de las reducciones y procesos de oxidación presentes en la solución. La voltamperometría cíclica (CV) de la solución de oro se muestra en la **Figura 27**, se puede ver que solo muestra dos señales de oxidación en alrededor de 0,32 V y 0,55 V, que son señales características del oro. No es posible observar ninguna señal alrededor de 0,0 V y 0,8 V de un contaminante de la película delgada o alguna reacción secundaria que se dé entre la disolución amortiguadora y la película de oro.

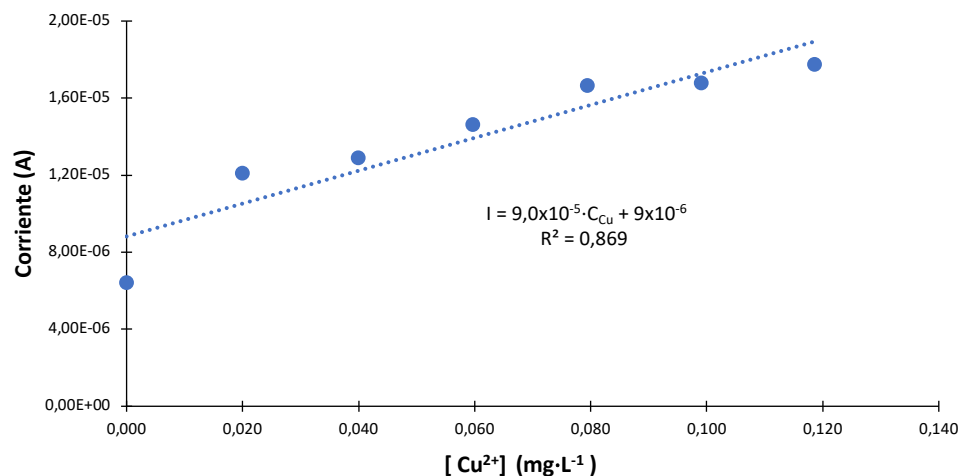


**Figura 27.** Voltamperograma cíclico de una solución de oro utilizando un electrodo serigrafiado con una fina película de oro.

Se preparó una disolución patrón de cobre de  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y se realizaron diferentes adiciones estándar. Como se puede ver en la **Figura 28**, la señal alrededor de  $0,0 \text{ V}$  aumenta a medida que la concentración aumenta y se amplía, lo cual sugiere que esta señal representa la presencia de cobre en las disoluciones empleadas, además de que es complicado de eliminar por completo, otro de los cuidados que se debe tener es que a altas concentraciones de cobre se pueden perder algunos analitos en estudio, como es el caso del 2,4-DNT.

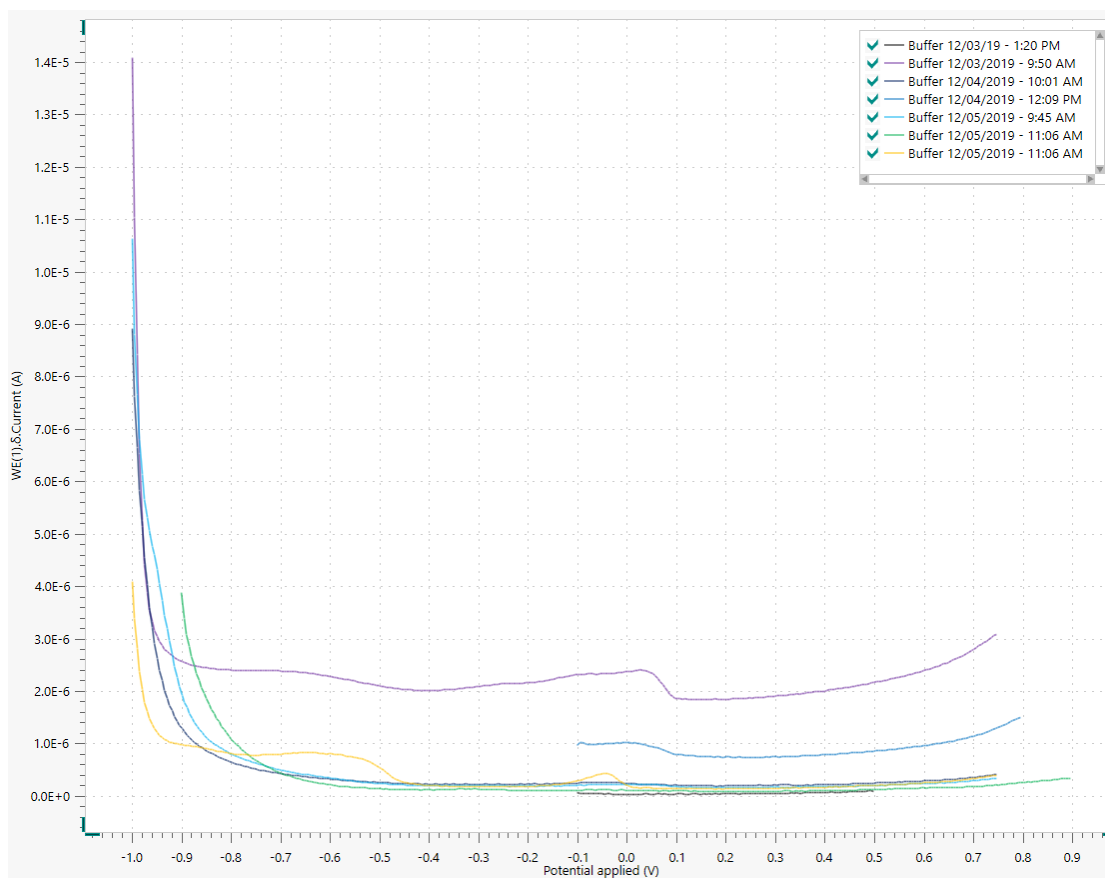






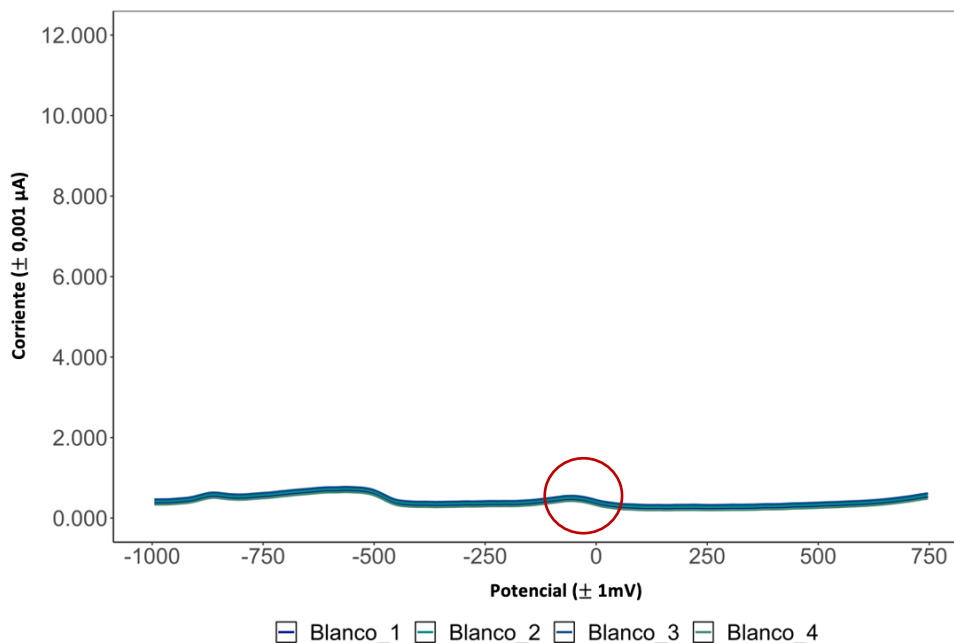
**Figura 28.** Voltamperometría diferencial de pulso (DPV) y curva de pseudocalibración para análisis de cobre, con la metodología de una gota sobre un electrodo serigrafiado de carbón con película delgada de oro [0,13 cm<sup>2</sup>] en disolución amortiguadora de acetato de sodio, 0,1 mol·L<sup>-1</sup>, pH 4,5.

De acuerdo con Perevezentseva & Gorchakov, 2014, J. Wang et al., 1996 y Yañez et al., 2012, al aumentar un poco el tiempo de deposición en las mediciones, se logra la oxidación completa y la eliminación de este tipo de interferencias, como se observa en la **Figura 29**, ya que aparece la señal alrededor de 0,0 V, pero con una corriente muy pequeña que no interfiere en el análisis, ni la aparición de las señales de otros analitos.



**Figura 29.** Voltamperometría diferencial de pulso (DPV) disoluciones amortiguadoras de acetato de sodio,  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 4,5, con la metodología de una gota en un electrodo serigrafiado de carbón con una película delgada de oro  $[0,13 \text{ cm}^2]$

A raíz de esto, se repitió el análisis en el Centro de Electroquímica y Energía Química de la Universidad de Costa Rica, CELEQ y los resultados del análisis de la disolución amortiguadora de acetato de sodio,  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 4,5 se muestran en la **Figura 30**.



**Figura 30.** Voltamperometría diferencial de pulso (DPV) disoluciones amortiguadoras de acetato de sodio,  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 4,5, con la metodología de una gota en un electrodo serigrafiado de carbón vítreo con una película delgada de oro [ $0,13 \text{ cm}^2$ ] tomados en el mes de abril, 2021.

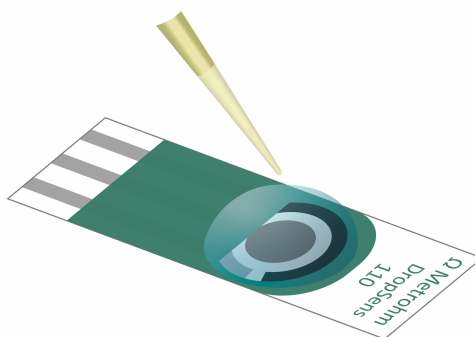
### 3.9.2. Recomendaciones para la colocación de la gota sobre el electrodo

En la metodología empleada en este estudio, uno de los aspectos importantes es la búsqueda de dispositivos que sean portátiles, ya que se busca analizar las muestras *in situ* para evitar la pérdida de información por efectos de volatilización de la muestra, lo que podría pasar con los residuos de disparo de origen orgánico, que presentan una alta volatilidad, pues la pérdida de información es un aspecto que se debe considerar.

El electrodo serigrafiado de carbón es uno de los más utilizados en el campo de los análisis electroanalíticos, debido a sus propiedades que son resistentes a altas temperaturas, dureza, baja resistencia eléctrica y baja densidad, pero una desventaja que es bien conocida es la interferencia que puede presentar el oxígeno en las muestras, por medio de reacción de reducción de oxígeno o de evolución de

este. Por otro lado, la corrosión en diferentes medios (alcalinos, neutros y ácidos) se pueden deber a la formación de grupos funcionales de oxígeno en la superficie del electrodo, además el carbón en medios ácidos se degrada formando óxidos superficiales mediante un proceso que es catalizado por ácido, que conduce a la apertura del anillo en la estructura gráfica y por lo tanto a la oxidación en la masa, de acuerdo con el estudio de Yi et al., 2017,

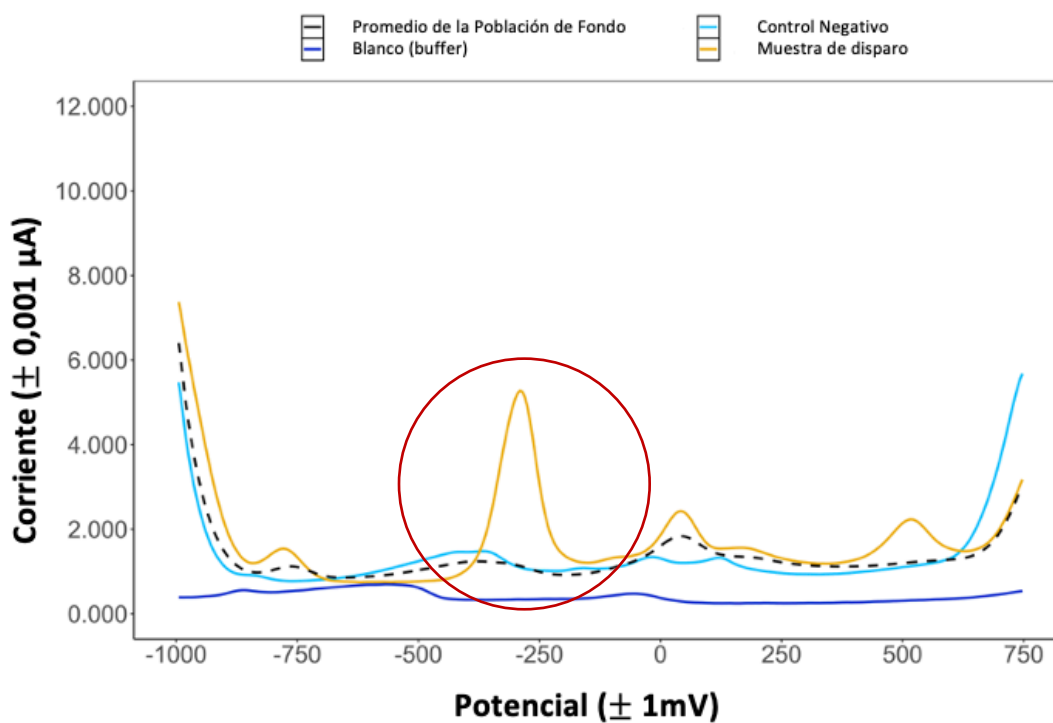
De acuerdo con las metodologías de gota que se presentan en este trabajo, tanto con el electrodo desnudo como con el electrodo modificado con una película delgada de oro, se debe colocar una alícuota de 50  $\mu\text{L}$  en la superficie del electrodo, de manera que cubra toda la sección del electrodo de trabajo, pseudo electrodo de referencia de Ag/AgCl y el contraelectrodo, como se observa en la **Figura 31**. Cabe destacar que, para evitar esta interferencia por la formación de óxidos en la superficie del electrodo, la gota se debe colocar una única vez y expandirla con cuidado para evitar que se dañe esta superficie y se generen resultados erróneos.



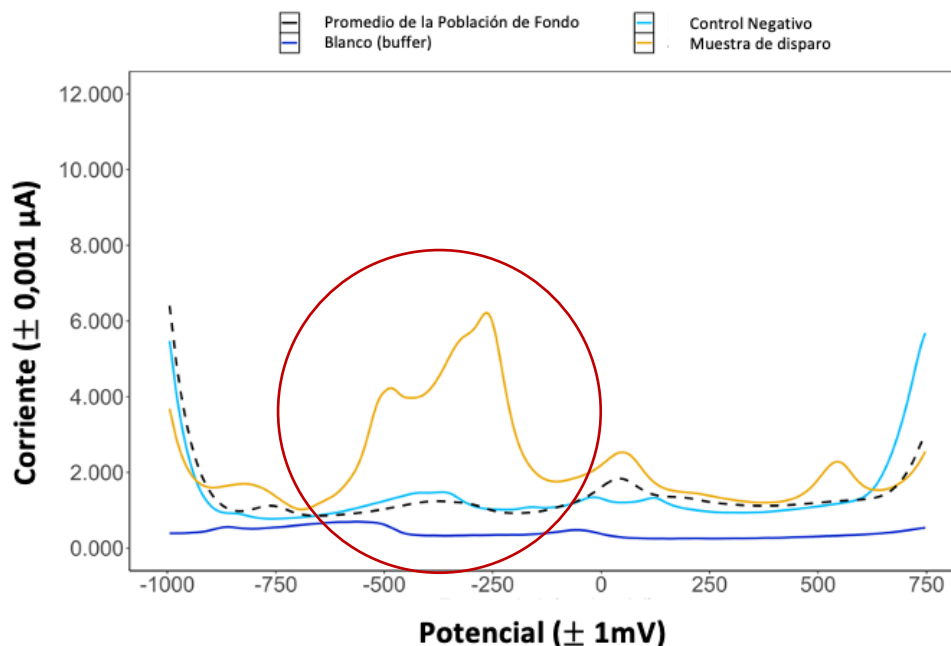
**Figura 31.** Diagrama de la colocación de la gota de 50  $\mu\text{L}$  sobre el electrodo serigrafiado de carbono vítreo desnudo o modificado con película de oro.  
Elaboración propia

Como se observa en la **Figura 32** se tienen dos señales de dos muestras que fueron medidas por la misma metodología y las mismas condiciones descritas en el **Cuadro XII**, utilizando un electrodo serigrafiado de carbono modificado con una película delgada de oro, pero aplicando la alícuota varias veces, lo cual agrega oxígeno a la superficie del electrodo y de acá la modificación de la señal observada.

En la **Figura 32**, la señal que se observa corresponde al antimonio, uno de los residuos de disparo inorgánico estudiado, el cual presenta una alta sensibilidad con este tipo de metodología; como se observa en el pico bien definido de la **Figura 32.a**, sin embargo, al emplear mal la técnica de la gota, la señal sufre un ensanchamiento que afecta su debida determinación. La formación de óxidos en la superficie del electrodo hace que la señal de este analito incremente e inclusive se divida, de acuerdo con Qu et al., 2004, como se observa en la **Figura 32.b**.



(a)



(b)

**Figura 32.** Voltamperogramas del análisis poblacional, blanco (disolución amortiguadora de acetato 0,1 M pH 4,5), control negativo del análisis y el Taurus 357 Magnum modelo 608 con munición federal American Eagle cargada por el fabricante 38 Muestra especial FMJ de 130 granos al agregar (a) una alícuota de 50  $\mu\text{L}$  sin adición de oxígeno (b) una alícuota de 50  $\mu\text{L}$  con varias adiciones de oxígeno

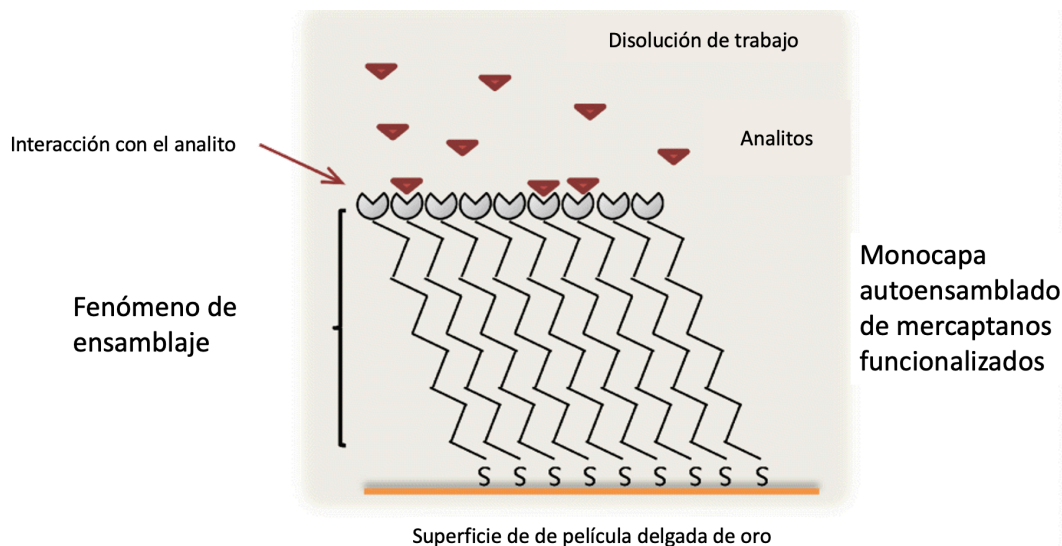
Como lo muestra Qu et al., 2004 y Yi et al., 2017, para impedir la oxidación de la superficie, no se debe agregar oxígeno por medio de alícuotas simultáneas al medio de reacción, solo una alícuota de disolución o muestra que se deba medir en la superficie del electrodo, para que no se forme este tipo de óxidos que pueden afectar cada una de las señales presentes en el análisis de residuos de disparo.

### 3.10. Análisis preliminar de mercaptanos

Con el fin de aumentar la sensibilidad y la selectividad de los electrodos serigrafiados de carbón, y mejorar los niveles de detección de los analitos a nivel de trazas y ultratrazas, se probaron diferentes mercaptanos que se enlazaron a la película de oro.

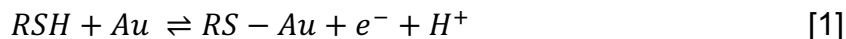
La modificación de electrodos serigrafiados les proporciona a las técnicas electroanalíticas una gran versatilidad, y por esta razón surgen los electrodos químicamente modificados (CMES). De acuerdo con Joseph Wang, 2000 y Kochana et al., 2019, estos electrodos se basan en un enfoque moderno de modificación, en donde la colocación del reactivo se hace directamente en la superficie de electrodo para trasladar las propiedades de ese reactivo a la superficie modificada. Entre las formas que pueden beneficiar estas aplicaciones analíticas se encuentran: la aceleración de las reacciones de transferencia de electrones, la acumulación preferencial o la permeación selectiva de la membrana, los cuales pueden impartir mayor selectividad, sensibilidad o inclusive estabilidad en los dispositivos electroquímicos.

Una de las técnicas más empleadas con los CMES, de acuerdo con Kochana et al., 2019, Silva et al., 2010 y Xue et al., 2014, son las monocapas adsorbidas espontáneamente de n-alcanotioles en las superficies de oro, que se basan en la fuerte interacción entre el oro y el azufre, las cuales son particularmente adecuadas para controlar y manipular la reactividad entre los analitos estudiados y la señal electroanalítica que se puede obtener **Figura 33**.



**Figura 33.** Esquema de electrodo recubierto con una película delgada de oro en contacto con una disolución de electrolitos de estudio. Imagen tomada, modificada y traducida de Kochana et al., 2019

De acuerdo con Joseph Wang, 2000, este tipo de monocapas se forman comúnmente sumergiendo el electrodo de oro durante un tiempo determinado en disoluciones etanólicas que contienen concentraciones milimolares del mercaptanos en estudio.



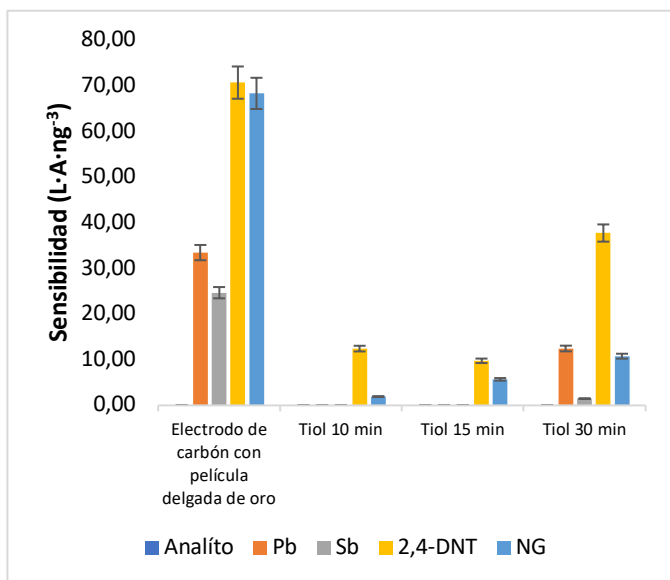
Las fuerzas de Van der Waals entre los grupos metileno van a orientar la monocapa que se va a formar sobre el electrodo de oro, de acuerdo con la **ecuación [1]**; este proceso de autoensamblaje da como resultados monocapas bien organizadas y estables, pero este empaquetamiento y orden se va a ver influenciado por factores como la longitud de la cadena, la naturaleza del grupo final, la naturaleza del disolvente, el tiempo de inmersión y la morfología del sustrato.



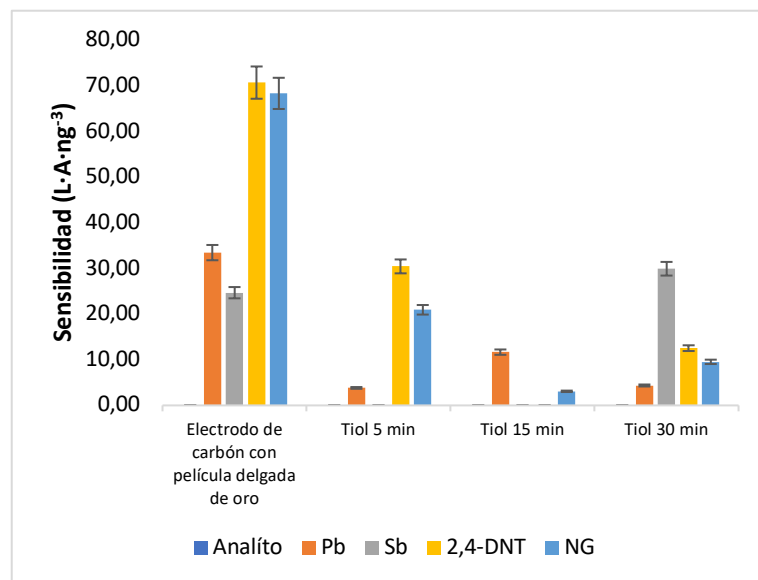
A raíz de esto se determinó la sensibilidad de cada uno de los electrodos de serigrafados de carbón con películas delgadas de oro que se modificaron con mercaptanos, tanto de cadena lineal como son: butanotiol, hexanotiol, octanotiol, así como ramificados y con diferentes grupos funcionales como son: 2-mercaptoetanol y ácido 3-mercaptopropiónico.

Este análisis se desarrolló específicamente con la metodología de la celda, donde el analito se colocaba en 10,0 mL de disolución amortiguadora de acetato  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  cuyo pH es de 4,5. De acuerdo con la **Figura 34**, la sensibilidad en todos los casos siempre fue menor que con el electrodo con película delgada de oro sin la adición de algún mercaptano, más bien ocurre el efecto contrario, ya que conforme aumenta la longitud de la cadena, el analito se aleja cada vez más de la superficie del electrodo, por lo que su detección es más pobre.

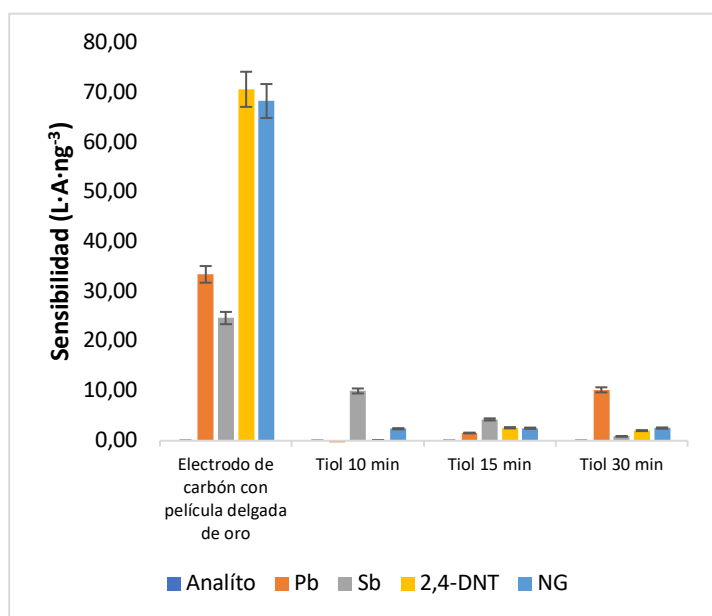
Otro de los aspectos importantes que se notan en la **Figura 34** es que en la mayoría de los casos, solo con la excepción de 2-mercaptoetanol, el tiempo óptimo para poder analizar todos los analitos presentes es 30 segundos; se notó que a mayor tiempo la película se satura, por lo que no hay interacción alguna entre el electrodo y el analito, y a menor tiempo de contacto existen pérdidas de analitos, además no se presentan los resultados del 1-Octanotiol, esto debido a que nunca se obtuvo medición de ninguno de los analitos en ninguno de los tiempos sugeridos, esto se puede deber a la longitud de la cadena de este compuesto, lo cual aumenta la pérdida de interacción entre el electrodo y el analito.



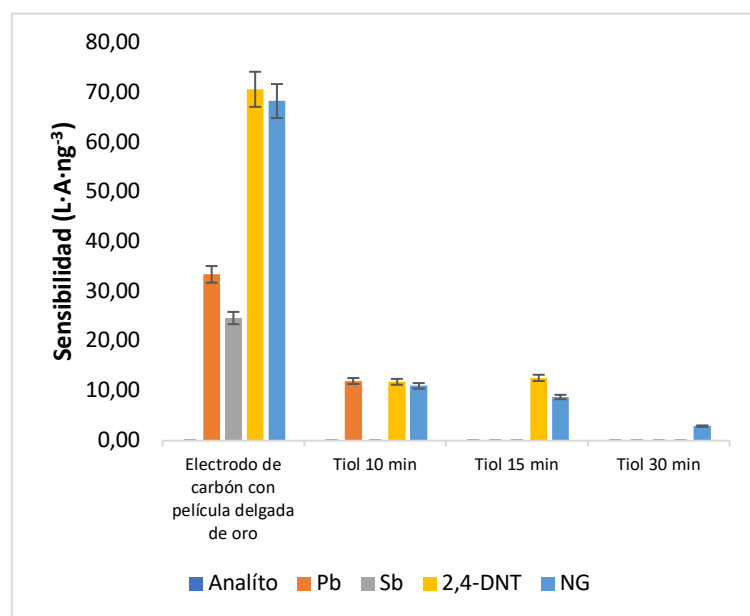
(a)



(b)



(c)



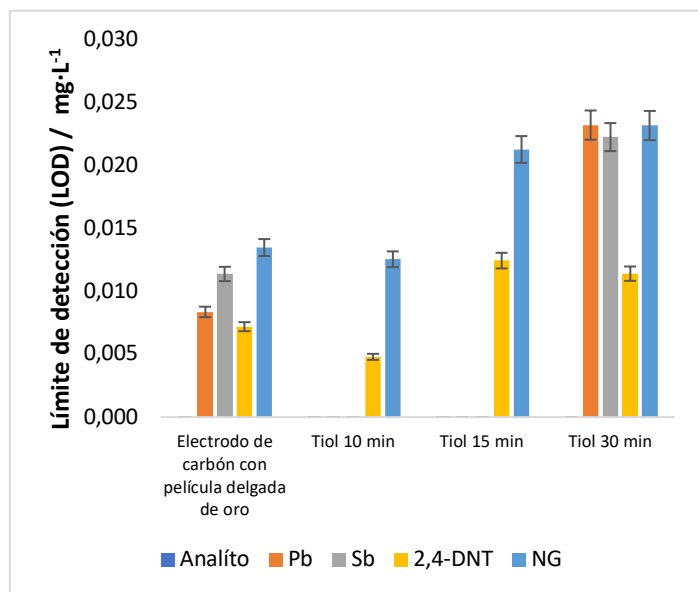
(d)

**Figura 34.** Análisis de la sensibilidad de los electrodos serigrafados de carbón modificados con película delgada de oro en contacto con diferentes mercaptanos: **(a)** Butanotiol, **(b)** Hexanotiol, **(c)** Ácido 3-mercaptopropiónico y **(d)** 2-Mercaptoetanol

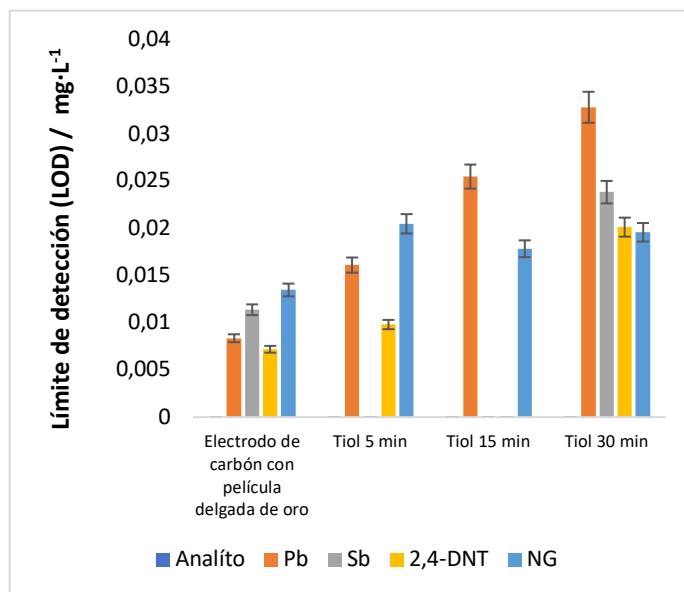
De acuerdo con Joseph Wang, 2000 y Kochana et al., 2019, al agregar un componente extra a las películas delgadas de oro se van a obtener estructuras cada vez más desordenadas con menor densidad de empaquetamiento y cobertura, al disminuir la longitud de la cadena ( $n < 10$ ). Estos y otros trastornos y defectos estructurales conducen a un rendimiento degradado. De acuerdo con los resultados, al agregar este componente extra a la capa de interacción entre el analito y el electrodo se pierde sensibilidad en el medio.

Finalmente, al observar los límites de detección (LOD) obtenidos para este estudio de mercaptanos, **Figura 35**, se puede observar que, al aumentar los límites de detección, no se pueden detectar niveles traza o ultratrazas en las muestras, por lo que empeora la capacidad de análisis. Todos los mercaptanos presentan límites muy por encima del electrodo serigrafiado de carbón con la película delgada de oro sin interacción con mercaptanos, por lo que se tiene otro indicio de que esta separación entre el electrodo y el analito afecta este análisis, pero el problema radica en que no es el caso para todos los analitos estudiados, ya que en algunos casos no se obtuvo señal alguna.

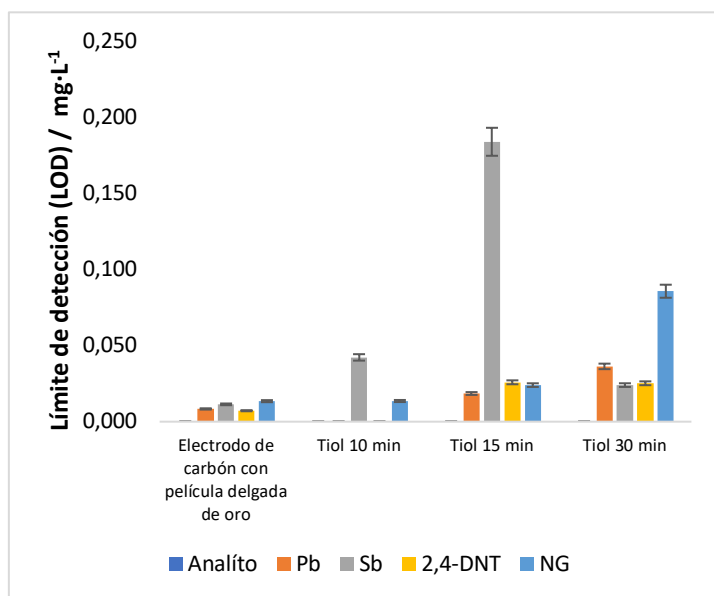
Para concluir este estudio es necesario realizar réplicas de cada uno de los casos e incluir otros mercaptanos para tener diferentes distribuciones y grupos funcionales que respalden la hipótesis de que al agregar una separación entre el electrodo y el analito más bien disminuye la sensibilidad del análisis con los analitos de interés.



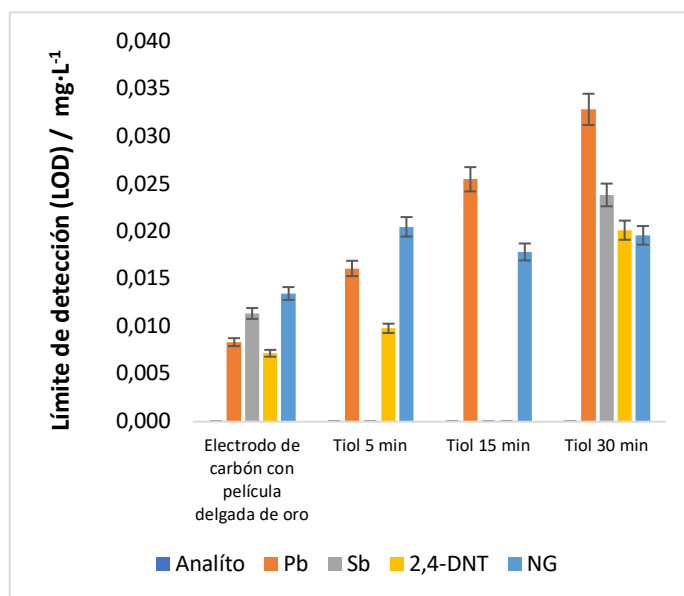
(a)



(b)



(c)



(d)

**Figura 35.** Análisis del límite de detección (LOD) de los electrodos serigrafados de carbón modificados con película delgada de oro y contacto con diferentes mercaptanos: **(a)** Butanotiol, **(b)** Hexanotiol, **(c)** Ácido 3-mercaptopropiónico y **(d)** 2-Mercaptoetanol

# Capítulo 4.

## Conclusiones y Recomendaciones

---

### 1. Conclusiones

Las técnicas electroquímicas brindan una solución viable a la detección de residuos de disparo, al lograr la detección dual, tanto de residuos inorgánicos IGSR como residuos orgánicos GSR, de estos compuestos con una metodología rápida y portátil que permite la evaluación e interpretación de la evidencia.

El uso de los electrodos de carbono sólidos y serigrafiados sin ninguna modificación se pueden utilizar para detectar algunos de los analitos de interés de esta investigación, sin embargo, los electrodos serigrafiados modificados con una película delgada de bismuto mostraron una mejoría en cuanto a los límites de detección y cuantificación para los analitos que se estudiaron en este trabajo.

El uso de la película de bismuto requiere condiciones muy específicas para la medición, como lo es una atmósfera de nitrógeno para evitar la oxidación temprana del recubrimiento, además no demostró ser viable para el análisis de todos los residuos orgánicos e inorgánicos principales que se encuentran en las muestras de GSR tomadas en las manos de las personas, por lo que la pérdida de la información es inminente.

Los electrodos que mostraron mejores resultados para todos los analitos que se estudiaron fueron los electrodos serigrafiados de carbón modificados con película delgada de oro, utilizando la voltamperometría de pulso diferencial, y algunas de las ventajas que brindan son las siguientes:

- a. El electrodo serigrafiado de carbón con una película delgada de oro tiene una mayor resolución que el electrodo desnudo. Esto tiene la ventaja de que es menos probable que el análisis con la película fina de oro se vea influido por interferencias. Sin embargo, se recomienda hacer un estudio de interferencias con otros metales que puedan dar falsos positivos.
- b. Las determinaciones con electrodos recubiertos tienen menores límites de detección y cuantificación que su contraparte sin modificación. Esto permite medir analitos a niveles de trazas y ultratrazas, concentraciones esperadas en el análisis de residuos de disparo.
- c. Las metodologías que utilizan película delgada de oro tienen un aumento de sensibilidad en comparación con el método de electrodo desnudo, lo que significa que, con esta modificación, es posible distinguir entre concentraciones distintas a niveles traza y ultratrazas de los residuos inorgánicos y orgánicos.
- d. El método de película delgada de oro por celda mostró límites de detección menores que el método de gota. Sin embargo, el método de la celda tiene la desventaja de diluir en gran medida la muestra, lo que no es práctico cuando se manipulan muestras de trabajos de casos, ya que la preservación de la muestra es fundamental.
- e. La técnica de barrido rápido permitió la detección de componentes orgánicos que de otro modo se pueden perder debido a su volatilidad cuando no se analizan con prontitud.
- f. Se puede realizar una combinación de técnicas para mejorar la detección de ciertos analitos e inclusive ampliar la cantidad de analitos detectados, como es el caso del análisis de residuos de disparo con

electrodo desnudo de carbón y modificado con película delgada de oro, ambos empleando la metodología de la gota.

Las técnicas de barrido como la voltamperometría de pulso diferencial empleada en esta investigación, muestran la gran ventaja de tener un análisis dual, tanto cualitativo, como es el caso de este trabajo por medio de la designación de señales y de cuantificación por curvas de calibración. Si se identifican al menos dos señales cualesquiera (IGSR y OGSR) que superan el LOD de la metodología, como criterio para designar una muestra como GSR, existe una buena relación entre los índices estadísticos de calidad; proporcionando una alta fiabilidad en los resultados del método.

Existen señales interferentes, como la del cobre, que no pueden eliminarse por completo del análisis, pero deben tenerse en cuenta a la hora de asignar las señales. Las señales que presenta la película de oro formada sobre la superficie de carbón, dos señales de oxidación características de los procesos de oro puro, por lo que no se demostró una posible formación de complejos de oro a un pH de 4,5. Por otro lado, también se observan señales con corrientes muy débiles en los voltamperogramas de las muestras; sin embargo, presentan corrientes comparables al ruido de fondo, por lo que no son asignadas como señales por la designación automatizada. Además, estas señales se pueden distinguir visualmente, pero no se tienen en cuenta en el análisis.

Se aplicaron dos técnicas de análisis como son el uso de una celda y el uso de la gota para el análisis cualitativo y cuantitativo, con límites de detección y cuantificación menores para la primera técnica, sin embargo, el uso de la gota permite el análisis simultáneo de Pb, Sb, 2,4 DNT, NG y DPA con señales más definidas y sin necesidad de diluir la muestra como es el caso de la celda.

Las metodologías desarrolladas demostraron ser aplicables para la detección cualitativa de residuos orgánicos e inorgánicos de disparo, y la aplicación de las técnicas de evaluación

De acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo, la técnica de electrodo de carbón con película delgada de oro con la metodología de celda tiene un rango de trabajo de  $0,200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  -  $0,350 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  en el caso de plomo;  $0,250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  -  $0,375 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  para antimonio;  $0,050 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  -  $0,120 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  para 2,4-dinitrotolueno;  $0,030 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  -  $0,150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  para nitroglicerina y  $0,050 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  -  $0,400 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  para difenilamina, en todos los casos se observa un comportamiento lineal con coeficientes de correlación ( $R^2$ ) promedio de 0,995.

La técnica de electrodo de carbón con película delgada de oro con la metodología de gota tiene un rango de trabajo de  $0,100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  -  $1,000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  para todos los analitos estudiados con un comportamiento lineal con coeficientes de correlación ( $R^2$ ) promedio de 0,995. Lo anterior demuestra que metodología de gota presenta mayores ámbitos de trabajo que la metodología de celda.

Se analizaron muestras recolectadas directamente de las manos de personas que dispararon armas de fuego, bajo controles para evitar contaminaciones provenientes de otras fuentes. Las muestras obtenidas son de índole heterogénea y variable, debido a esto, a pesar de que la técnica presentada en este trabajo cumple con parámetros para aplicar un análisis cuantitativo, con las muestras obtenidas se imposibilita la aplicación de la misma, por lo que se puede concluir que los electrodos serigrafados de carbón recubiertos con películas delgadas de oro se pueden aplicar al campo de los residuos de disparo, más no se puede concluir de momento la concentración obtenida por cada una de las muestras.



La repetibilidad reportada para la técnica de electrodo de carbón con película delgada de oro con la metodología de celda para plomo, antimonio, 2,4-dinitrotolueno, nitroglicerina y difenilamina son 0,7 %, 0,4 %, 0,5 %, 0,5 % y 2,0 % respectivamente, mientras que la repetibilidad intermedia sería de 0,7 %, 0,4 %, 1,3 %, 1,0 % y 1,7 % respectivamente, ambos reportados como % RSD.

Para la técnica de electrodo de carbón con película delgada de oro con la metodología de gota para plomo, antimonio, 2,4-dinitrotolueno, nitroglicerina y difenilamina son 0,6 %, 1,0 %, 1,6 %, 1,8 % y 1,7 % respectivamente, mientras que la repetibilidad intermedia sería de 0,5 %, 2,1 %, 1,3 %, 1,8 % y 1,0 % respectivamente, ambos reportados como % RSD.

Estos resultados sugieren que, para el Sb, 2,4-DNT y NG la metodología de celda presenta resultados ligeramente mejores que la metodología de gota, mientras que para el plomo y la DPA los resultados son equivalentes para ambas metodologías.

Finalmente, las sensibilidades obtenidas en este trabajo fueron de  $1,37 \text{ L}\cdot\text{A}\cdot\text{ng}^{-1}$  para plomo,  $5,80 \text{ L}\cdot\text{A}\cdot\text{ng}^{-1}$  para antimonio,  $0,45 \text{ L}\cdot\text{A}\cdot\text{ng}^{-1}$  para 2,4-DNT,  $14,22 \text{ L}\cdot\text{A}\cdot\text{ng}^{-1}$  para nitroglicerina y  $0,49 \text{ L}\cdot\text{A}\cdot\text{ng}^{-1}$  para DPA para la técnica de electrodo de carbón con película delgada de oro con la metodología de celda, mientras que para la técnica de electrodo de carbón con película delgada de oro con la metodología de gota se obtuvieron sensibilidades de  $43,2 \text{ L}\cdot\text{A}\cdot\text{ng}^{-1}$  para plomo,  $22,6 \text{ L}\cdot\text{A}\cdot\text{ng}^{-1}$  para antimonio,  $58,2 \text{ L}\cdot\text{A}\cdot\text{ng}^{-1}$  para 2,4-DNT,  $25,7 \text{ L}\cdot\text{A}\cdot\text{ng}^{-1}$  para nitroglicerina y  $80,7 \text{ L}\cdot\text{A}\cdot\text{ng}^{-1}$  para DPA, todos los valores reportados como las pendientes de la curva de calibración ( $n=5$ ). Esto demuestra que la metodología de gota es más sensible a los cambios de concentración de los analitos estudiados en este trabajo.

A pesar de que la metodología de celda presenta resultados más prometedores en cuanto a sensibilidad, LOD y LOQ que la metodología de gota, no obstante, una limitación práctica de la metodología de la celda es la dilución de la muestra, la cual es aproximadamente 100 veces menor al comparar con la metodología de la gota. Por lo tanto, la pérdida de información de la muestra es difícil de superar, especialmente para muestras de baja concentración inicial. Sin embargo, el método de gota ofreció LOD y LOQ suficientemente bajos para la cuantificación de GSR en muestras tomadas en las manos de tiradores. Esto es demostrado por su alto índice de precisión cualitativo.

Además, se realizó el estudio preliminar de la modificación del electrodo serigrafiado de oro con diferentes mercaptanos, del cual solo se puede mencionar que existe una fuerza electrostática entre la película de oro y el mercaptano correspondiente, lo que permite el autoensamblado en monocapas reportado previamente en la literatura, aunque falta evidencia experimental de que este patrón de ensamblado sea el observado en la modificación. Además, se observó que conforme aumenta el largo de la cadena alifática del mercaptano, la señal va a disminuir su intensidad, ya que el analito se está alejando del área de trabajo del electrodo, pero cabe destacar que se necesitan más estudios en esta área.

Se realizó una validación cualitativa del desempeño de las técnicas desarrolladas, aplicando el diagrama de cajas, con muestras de GSR para determinar la relación tirador no tirador, una evaluación de la capacidad general de detectar marcadores de residuos de disparo tanto inorgánicos como orgánicos, para los electrodos solos y combinando los datos de los electrodos de película delgada de oro y de carbono desnudo, y el cálculo índice de Youden, Estas tasas de rendimiento demuestran que ambos sensores electroquímicos son viables para la detección y el análisis de pruebas de residuos de disparo.

Los métodos propuestos en este trabajo tienen la capacidad de mejorar la eficiencia de la detección de IGSR y OGSR en laboratorios e *in situ*. Como método de detección, la electroquímica puede ayudar en la clasificación de casos, reducir los costos operativos y proporcionar una mejor toma de decisiones en la escena del crimen.

## 2. Recomendaciones

Para poder aplicar estas técnicas en la cuantificación de residuos de disparo, se debe hacer un estudio de validación tanto en el proceso de muestreo, como de la recuperación analítica, ya sea con el análisis de materiales de referencia certificados, participación en una ronda de intercomparación, o la aplicación de otras técnicas por ejemplo, SEM-EDX (técnica referente para análisis de residuos de disparo), ICP-MS (para el caso de IGSR) y/o HPLC-MS (para el caso de OGSR), pues la cantidad de muestra que se recoge de los individuos que disparan es muy limitada y heterogénea, lo cual no se pudo realizar en esta etapa.

Además de esto se deben estudiar y validar parámetros importantes en la toma y el tratamiento de la muestra ya que, de acuerdo a lo realizado, no se tienen estudios correspondientes a las pérdidas de analito, por lo que no se puede asegurar el análisis cuantitativo de las muestras en este trabajo.

Se recomienda el estudio de otro tipo de electrodos, como por ejemplo electrodos de carbón modificados con otro tipo de películas delgadas que no se vean afectadas a potenciales altamente negativos, alrededor de  $-2,0\text{ V}$ , además el uso de electrodos sólidos como el electrodo de diamante dopado con boro, los cuales podrían mejorar e inclusive detectar la señal de este elemento, que está presente en los residuos de disparo. Lo mismo que la posibilidad de medir la etil centralita y la metil centralita, considerados actualmente como marcadores importantes en la detección de residuos de disparo.

# Bibliografía

---

1. Abrego, Z., Grijalba, N., Unceta, N., Maguregui, M., Sanchez, A., Fernández-Isla, A., Goicolea, M. A., & Barrio, R. J. (2014). A novel method for the identification of inorganic and organic gunshot residue particles of lead-free ammunitions from the hands of shooters using scanning laser ablation-ICPMS and Raman micro-spectroscopy. *The Analyst*, 139(23), 6232–6241. <https://doi.org/10.1039/C4AN01051E>
2. Aden, G., Monte C. Nichols, Dale R. Boehme, Richard W. Ryon, David Wherry, & Brian Cross. (2019). Parameters Affecting X-Ray Microfluorescence (XRMF) Analysis. *Cambridge University Press*, 7. <https://doi.org/10.1154/S0376030800021133>
3. Aksoya, C., Akmana, Y., Erguna, Z. O., Uzeke, U., & Aydin, F. (2013). *Determination of Antimony in Gunshot Residues Using GFAAS and SEM/EDX*. [https://www.researchgate.net/profile/Cagdas\\_Aksoy/publication/279675954\\_Determination\\_of\\_antimony\\_in\\_gunshot\\_residues\\_using\\_GFAAS\\_and\\_SEM\\_EDX/links/559cd4d908aee2c16df18fdb/Determination-of-antimony-in-gunshot-residues-using-GFAAS-and-SEM-EDX.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Cagdas_Aksoy/publication/279675954_Determination_of_antimony_in_gunshot_residues_using_GFAAS_and_SEM_EDX/links/559cd4d908aee2c16df18fdb/Determination-of-antimony-in-gunshot-residues-using-GFAAS-and-SEM-EDX.pdf)
4. Aliste, M., & Chávez, L. G. (2016). Analysis of gunshot residues as trace in nasal mucus by GFAAS. *Forensic Science International*, 261, 14–18. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.01.034>
5. Amadasi, A., Borgonovo, S., Brandone, A., Di Giancamillo, M., & Cattaneo, C. (2014). A Comparison Between Digital Radiography, Computed Tomography, and Magnetic Resonance in the Detection of Gunshot Residues in Burnt Tissues and Bone. *Journal of Forensic Sciences*, 59(3), 712–717. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.12304>

6. B. Magnusson & U. Örnemark. (2014a). *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics* (2nd ed.).
7. B. Magnusson & U. Örnemark. (2014b). *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics* (2nd ed.).
8. B. Magnusson & U. Örnemark. (2014c). *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics* (2nd ed.).
9. Bagotskii, V. S. (2006). *Fundamentals of electrochemistry* (2nd ed). Wiley-Interscience.
10. Baia, M., Astilean, S., & Iliescu, T. (2008). *Raman and SERS Investigations of Pharmaceuticals*. Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-78283-4>
11. Banks, C. E., Kruusma, J., Hyde, M. E., Salimi, A., & Compton, R. G. (2004). Sonoelectroanalysis: Investigation of bismuth-film-modified glassy carbon electrodes. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 379(2), 277–282. <https://doi.org/10.1007/s00216-004-2553-x>
12. Bard, A. J., & Faulkner, L. R. (2001a). *Electrochemical methods: Fundamentals and applications* (2nd ed). Wiley.
13. Bard, A. J., & Faulkner, L. R. (2001b). *Electrochemical methods: Fundamentals and applications* (2nd ed). Wiley.
14. Bernal Morales, E., & Revilla Vázquez, A. L. (2004). Simultaneous determination of inorganic and organic gunshot residues by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 1061(2), 225–233. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.10.083>
15. Bernalte, E., Sánchez, C. M., & Gil, E. P. (2011). Determination of mercury in ambient water samples by anodic stripping voltammetry on screen-printed gold electrodes. *Analytica Chimica Acta*, 689(1), 60–64. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.01.042>

16. Berryman, H. E., Kutyla, A. K., & Russell Davis, J. (2010). Detection of Gunshot Primer Residue on Bone in an Experimental Setting-An Unexpected Finding. *Journal of Forensic Sciences*, 55(2), 488–491. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2009.01264.x>
17. Bioanalytical Systems, Inc. (2001). *A-1302 Electrode Polishing and Care*. Bioanalytical Systems, Inc. [www.bioanalytical.com](http://www.bioanalytical.com)
18. Børvik, T., Dey, S., & Olovsson, L. (2015). Penetration of granular materials by small-arms bullets. *International Journal of Impact Engineering*, 75, 123–139. <https://doi.org/10.1016/j.ijimpeng.2014.07.016>
19. Brazeau, J., & Wong, R. K. (1997). Analysis of gunshot residues on human tissues and clothing by X-ray microfluorescence. *Journal of Forensic Science*, 42(3), 424–428.
20. Briner, R. C., Chouchoiy, S., Webster, R. W., & Popham, R. E. (1985). Anodic stripping voltammetric determination of antimony in gunshot residue. *Analytica Chimica Acta*, 172, 31–37.
21. Brozek-Mucha, Z. (2009). Distribution and properties of gunshot residue originating from a Luger 9mm ammunition in the vicinity of the shooting gun. *Forensic Science International*, 183(1–3), 33–44. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2008.10.010>
22. Brozek-Mucha, Z., & Jankowicz, A. (2001). Evaluation of the possibility of differentiation between various types of ammunition by means of GSR examination with SEM–EDX method. *Forensic Science International*, 123(1), 39–47. [https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(01\)00518-7](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(01)00518-7)
23. Brunetti B, D. E. (2015). About Estimating the Limit of Detection by the Signal to Noise Approach. *Pharmaceutica Analytica Acta*, 06(04). <https://doi.org/10.4172/2153-2435.1000355>
24. Carpenter, D. A. (1989). Improved laboratory X-ray source for microfluorescence analysis. *X-Ray Spectrometry*, 18(6), 253–257. <https://doi.org/10.1002/xrs.1300180603>
25. Castellanos, A., Bell, S., & Fernandez-Lima, F. (2016). Characterization of firearm discharge residues recovered from skin swabs using sub-micrometric

- mass spectrometry imaging. *Analytical Methods*, 8(21), 4300–4305. <https://doi.org/10.1039/C6AY00096G>
26. Charpentier, B., & Desrochers, C. (2000). Analysis of primer residue from lead free ammunition by X-ray microfluorescence. *Journal of Forensic Science*, 45(2), 447–452.
27. Chen, X. W., & Chen, G. (2012). Experimental research on the penetration of tungsten-fiber/metallic-glass matrix composite material bullet into steel target. *EPJ Web of Conferences*, 26, 01049. <https://doi.org/10.1051/epjconf/20122601049>
28. Cid, F., Kochifas, P., Mansilla, H. D., Santander, P., Yáñez, J., & Amarasiriwardena, D. (2016). New subcritical fluid nebulizer (ScFN) for improving the determination of inorganic tin in gunshot residues by flame furnace-atomic absorption spectrometry. *Microchemical Journal*, 125, 29–33. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2015.11.002>
29. Costa, R. A., Motta, L. C., Destefani, C. A., Rodrigues, R. R. T., do Espírito Santo, K. S., Aquije, G. M. F. V., Boldrini, R., Athayde, G. P. B., Carneiro, M. T. W. D., & Romão, W. (2016a). Gunshot residues (GSR) analysis of clean range ammunition using SEM/EDX, colorimetric test and ICP-MS: A comparative approach between the analytical techniques. *Microchemical Journal*, 129, 339–347. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2016.07.017>
30. Costa, R. A., Motta, L. C., Destefani, C. A., Rodrigues, R. R. T., do Espírito Santo, K. S., Aquije, G. M. F. V., Boldrini, R., Athayde, G. P. B., Carneiro, M. T. W. D., & Romão, W. (2016b). Gunshot residues (GSR) analysis of clean range ammunition using SEM/EDX, colorimetric test and ICP-MS: A comparative approach between the analytical techniques. *Microchemical Journal*, 129, 339–347. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2016.07.017>
31. Cruces-Blanco, C., Gámiz-Gracia, L., & García-Campaña, A. M. (2007). Applications of capillary electrophoresis in forensic analytical chemistry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 26(3), 215–226. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2006.12.007>



32. Dai, X., Nekrassova, O., Hyde, M. E., & Compton, R. G. (2004). Anodic Stripping Voltammetry of Arsenic(III) Using Gold Nanoparticle-Modified Electrodes. *Analytical Chemistry*, 76(19), 5924–5929. <https://doi.org/10.1021/ac049232x>
33. Dalby, O., Butler, D., & Birkett, J. W. (2010). Analysis of Gunshot Residue and Associated Materials-A Review: ANALYSIS OF GUNSHOT RESIDUE AND ASSOCIATED MATERIALS. *Journal of Forensic Sciences*, 55(4), 924–943. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2010.01370.x>
34. De Donato, A., & Gutz, I. G. R. (2005). Fast Mapping of Gunshot Residues by Batch Injection Analysis with Anodic Stripping Voltammetry of Lead at the Hanging Mercury Drop Electrode. *Electroanalysis*, 17(2), 105–112. <https://doi.org/10.1002/elan.200303048>
35. de Oliveira, M. F., Saczk, A. A., Okumura, L. L., Fernandes, A. P., de Moraes, M., & Stradiotto, N. R. (2004). Simultaneous determination of zinc, copper, lead, and cadmium in fuel ethanol by anodic stripping voltammetry using a glassy carbon–mercury-film electrode. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 380(1), 135–140. <https://doi.org/10.1007/s00216-004-2733-8>
36. Di Maio & Vincent J. M. (2016). *Gunshot Wounds. Practical Aspects of Firearms, Ballistics, and Forensic Techniques* (Third edition). CRC Press.
37. Domínguez Renedo, O., & Arcos Martínez, M. J. (2007a). Anodic stripping voltammetry of antimony using gold nanoparticle-modified carbon screen-printed electrodes. *Analytica Chimica Acta*, 589(2), 255–260. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.02.069>
38. Domínguez Renedo, O., & Arcos Martínez, M. J. (2007b). Anodic stripping voltammetry of antimony using gold nanoparticle-modified carbon screen-printed electrodes. *Analytica Chimica Acta*, 589(2), 255–260. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.02.069>
39. Dujay, R. C. (2003). Characterization of Pyrotechnic Reaction Residue Particles by SEM/EDS. *Encyclopedic Dictionary of Pyrotechnics:(And Related Subjects)-B&W*, 11, 27.

40. E30 Committee. (2017). *Practice for Gunshot Residue Analysis by Scanning Electron Microscopy/Energy Dispersive X-Ray Spectrometry*. ASTM International. <https://doi.org/10.1520/E1588-17>
41. Economou, A. (2005a). Bismuth-film electrodes: Recent developments and potentialities for electroanalysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 24(4), 334–340. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2004.11.006>
42. Economou, A. (2005b). Bismuth-film electrodes: Recent developments and potentialities for electroanalysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 24(4), 334–340. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2004.11.006>
43. Ensafi, A. A., Nazari, Z., & Fritsch, I. (2010). Highly Sensitive Differential Pulse Voltammetric Determination of Cd, Zn and Pb Ions in Water Samples Using Stable Carbon-Based Mercury Thin-Film Electrode. *Electroanalysis*, 22(21), 2551–2557. <https://doi.org/10.1002/elan.201000246>
44. Erden, S., Durmus, Z., & Kılıç, E. (2011). Simultaneous Determination of Antimony and Lead in Gunshot Residue by Cathodic Adsorptive Stripping Voltammetric Methods. *Electroanalysis*, 23(8), 1967–1974. <https://doi.org/10.1002/elan.201000612>
45. Evans-Nguyen, K. M., Gerling, J., Brown, H., Miranda, M., Windom, A., & Speer, J. (2016). Towards universal ambient ionization: Direct elemental analysis of solid substrates using microwave plasma ionization. *The Analyst*, 141(12), 3811–3820. <https://doi.org/10.1039/C6AN00176A>
46. Fambro, L. A., Vandenbos, D. D., Rosenberg, M. B., & Dockery, C. R. (2017). Laser-Induced Breakdown Spectroscopy for the Rapid Characterization of Lead-Free Gunshot Residues. *Applied Spectroscopy*, 71(4), 699–708. <https://doi.org/10.1177/0003702816689099>
47. Fluss, R., Faraggi, D., & Reiser, B. (2005). Estimation of the Youden Index and its Associated Cutoff Point. *Biometrical Journal*, 47(4), 458–472. <https://doi.org/10.1002/bimj.200410135>
48. Freitas, J. C. D., Sarkis, J. E. S., Neto, O. N., & Viebig, S. B. (2012). Identification of Gunshot Residues in Fabric Targets Using Sector Field Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry Technique and Ternary

- Graphs\*: IDENTIFICATION OF GUNSHOT RESIDUES IN FABRIC TARGETS. *Journal of Forensic Sciences*, 57(2), 503–508. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2011.01956.x>
49. Frena, M., Campestrini, I., de Braga, O. C., & Spinelli, A. (2011). In situ bismuth-film electrode for square-wave anodic stripping voltammetric determination of tin in biodiesel. *Electrochimica Acta*, 56(12), 4678–4684. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2011.02.111>
50. Frenzel, W. (1993). Mercury films on a glassy carbon support: Attributes and problems. *Analytica Chimica Acta*, 273(1–2), 123–137. [https://doi.org/10.1016/0003-2670\(93\)80151-A](https://doi.org/10.1016/0003-2670(93)80151-A)
51. Gagliano-Candela, R., Colucci, A. P., & Napoli, S. (2008). Determination of Firing Distance. Lead Analysis on the Target by Atomic Absorption Spectroscopy (AAS). *Journal of Forensic Sciences*, 53(2), 321–324. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2008.00668.x>
52. Galik, M., O'Mahony, A. M., & Wang, J. (2011). Cyclic and Square-Wave Voltammetric Signatures of Nitro-Containing Explosives. *Electroanalysis*, 23(5), 1193–1204. <https://doi.org/10.1002/elan.201000754>
53. Goldstein, J. I., Newbury, D. E., Michael, J. R., Ritchie, N. W. M., Scott, J. H. J., & Joy, D. C. (2018). *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*. Springer New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6676-9>
54. Goudsmits, E., Blakey, L. S., Chana, K., Sharples, G. P., & Birkett, J. W. (2019). The analysis of organic and inorganic gunshot residue from a single sample. *Forensic Science International*, 299, 168–173. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2019.03.049>
55. Granot, E., Patolsky, F., & Willner, I. (2004). Electrochemical Assembly of a CdS Semiconductor Nanoparticle Monolayer on Surfaces: Structural Properties and Photoelectrochemical Applications. *The Journal of Physical Chemistry B*, 108(19), 5875–5881. <https://doi.org/10.1021/jp038004o>
56. Grincienė, G., Selskienė, A., Verbickas, R., Norkus, E., & Pauliukaite, R. (2009). Peculiarities of Electrochemical Bismuth Film Formation in the

- Presence of Bromide and Heavy Metal Ions. *Electroanalysis*, 21(15), 1743–1749. <https://doi.org/10.1002/elan.200904659>
57. Große Perdekamp, M., Arnold, M., Merkel, J., Mierdel, K., Braunwarth, R., Kneubuehl, B. P., Pollak, S., & Thierauf, A. (2011). GSR deposition along the bullet path in contact shots to composite models. *International Journal of Legal Medicine*, 125(1), 67–73. <https://doi.org/10.1007/s00414-010-0529-2>
58. Große Perdekamp, M., Nadjem, H., Merkel, J., Braunwarth, R., Pollak, S., & Thierauf, A. (2011). Two-gun suicide by simultaneous shots to the head: Interdisciplinary reconstruction on the basis of scene investigation, autopsy findings, GSR analysis and examination of firearms, bullets and cartridge cases. *International Journal of Legal Medicine*, 125(4), 479–485. <https://doi.org/10.1007/s00414-010-0517-6>
59. Grzelczak, M., Pérez-Juste, J., Mulvaney, P., & Liz-Marzán, L. M. (2008). Shape control in gold nanoparticle synthesis. *Chemical Society Reviews*, 37(9), 1783. <https://doi.org/10.1039/b711490g>
60. Guy, R. D., & Pate, B. D. (1973). Studies of the trace element content of bullet lead and jacket material. *Journal of Radioanalytical Chemistry*, 15, 135–142.
61. Halim, M. I. A., Safian, M. F., Elias, E., & Shazali, S. S. (2013). Identification of Gunshot Residue from Trace Element by Using ICP/OES. *IEEE Symposium on Computers and Informatics, ISCI 2013*, 231–235.
62. Hallett, J., Stolk, M., Cook, M., & Kirkbride, K. P. (2020). Examination of gunshot residue arising from shotgun cartridges containing steel, bismuth or tungsten pellets. *Forensic Science International*, 306, 110096. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2019.110096>
63. Harris, A. (1995). Analysis of primer residue from CCI Blazer® lead free ammunition by scanning electron microscopy/energy dispersive X-ray. *Journal of Forensic Science*, 40(1), 27–30.
64. Heard, B. J. (2008). *Handbook of Firearms and Ballistics*. John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780470694589>
65. Hendryx, M., Fulk, F., & McGinley, A. (2012). Public Drinking Water Violations in Mountaintop Coal Mining Areas of West Virginia, USA. *Water Quality*,

- Exposure and Health*, 4(3), 169–175. <https://doi.org/10.1007/s12403-012-0075-x>
66. Herrera Castillo, D. (2011). *Estudio de los niveles mínimos de plomo, bario y antimonio en las manos de personas que disparan armas de fuego, en función del tipo de arma de fuego, mediante determinación por ICP-OES*. Universidad de Costa Rica.
67. Hočevár, S. B., Ogorevc, B., Wang, J., & Pihlar, B. (2002). A Study on Operational Parameters for Advanced Use of Bismuth Film Electrode in Anodic Stripping Voltammetry. *Electroanalysis*, 14(24), 1707–1712. <https://doi.org/10.1002/elan.200290014>
68. Huang, W. E., Li, M., Jarvis, R. M., Goodacre, R., & Banwart, S. A. (2010). Shining Light on the Microbial World. In *Advances in Applied Microbiology* (Vol. 70, pp. 153–186). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(10\)70005-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(10)70005-8)
69. Joseph Wang. (2000a). *Analytical Electrochemistry* (2nd ed.). Wiley-VCH.
70. Joseph Wang. (2000b). *Analytical Electrochemistry* (2nd ed.). Wiley-VCH.
71. Kampstra, P. (2008). Beanplot: A Boxplot Alternative for Visual Comparison of Distributions. *Journal of Statistical Software*, 28(Code Snippet 1). <https://doi.org/10.18637/jss.v028.c01>
72. Kanngießner, B., Malzer, W., & Reiche, I. (2003). A new 3D micro X-ray fluorescence analysis set-up – First archaeometric applications. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 211(2), 259–264. [https://doi.org/10.1016/S0168-583X\(03\)01321-1](https://doi.org/10.1016/S0168-583X(03)01321-1)
73. Kara, İlker, Sarıkavak, Y., Lisesivdin, S. B., & Kasap, M. (2016). Evaluation of morphological and chemical differences of gunshot residues in different ammunitions using SEM/EDS technique. *Environmental Forensics*, 17(1), 68–79. <https://doi.org/10.1080/15275922.2015.1133729>
74. Kefala, G. (2003). A study of bismuth-film electrodes for the detection of trace metals by anodic stripping voltammetry and their application to the

- determination of Pb and Zn in tapwater and human hair. *Talanta*, 61(5), 603–610. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(03\)00350-3](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(03)00350-3)
75. Kochana, J., Starzec, K., Wieczorek, M., Knihnicki, P., Góra, M., Rokicińska, A., Kościelniak, P., & Kuśtrowski, P. (2019). Study on self-assembled monolayer of functionalized thiol on gold electrode forming capacitive sensor for chromium(VI) determination. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 23(5), 1463–1472. <https://doi.org/10.1007/s10008-019-04236-2>
76. Kovaleva, S. V., Gladyshev, V. P., & Chikineva, N. V. (2001). Determination of barium by stripping voltammetry. *Journal of Analytical Chemistry*, 56(5), 449–452.
77. Królicka, A., & Bobrowski, A. (2004). Bismuth film electrode for adsorptive stripping voltammetry – electrochemical and microscopic study. *Electrochemistry Communications*, 6(2), 99–104. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2003.10.025>
78. Lavagnini, I., Antiochia, R., & Magno, F. (2007). A Calibration-Base Method for the Evaluation of the Detection Limit of an Electrochemical Biosensor. *Electroanalysis*, 19(11), 1227–1230. <https://doi.org/10.1002/elan.200703847>
79. Law, R. K., Murphy, M. W., & Choudhary, E. (2017). Private well groundwater quality in West Virginia, USA–2010. *Science of The Total Environment*, 586, 559–565. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.018>
80. Laza, D., Nys, B., Kinder, J. D., Kirsch-De Mesmaeker, A., & Moucheron, C. (2007). Development of a Quantitative LC-MS/MS Method for the Analysis of Common Propellant Powder Stabilizers in Gunshot Residue. *Journal of Forensic Sciences*, 52(4), 842–850. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2007.00490.x>
81. Lee, H.-C. (2018). Review of inductively coupled plasmas: Nano-applications and bistable hysteresis physics. *Applied Physics Reviews*, 5(1), 011108. <https://doi.org/10.1063/1.5012001>
82. Libansky, M., Zima, J., Barek, J., Reznickova, A., Svorcik, V., & Dejmekova, H. (2017). Basic electrochemical properties of sputtered gold film electrodes.

- Electrochimica Acta*, 251, 452–460.  
<https://doi.org/10.1016/j.electacta.2017.08.048>
83. Lin, J., Liu, Y., Yang, Y., & Hu, Z. (2016). Calibration and correction of LA-ICP-MS and LA-MC-ICP-MS analyses for element contents and isotopic ratios. *Solid Earth Sciences*, 1(1), 5–27. <https://doi.org/10.1016/j.sesci.2016.04.002>
84. Lombardi, J. R., & Birke, R. L. (2008). A Unified Approach to Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry C*, 112(14), 5605–5617. <https://doi.org/10.1021/jp800167v>
85. López-López, M., Delgado, J. J., & García-Ruiz, C. (2012). Ammunition Identification by Means of the Organic Analysis of Gunshot Residues Using Raman Spectroscopy. *Analytical Chemistry*, 84(8), 3581–3585. <https://doi.org/10.1021/ac203237w>
86. López-López, M., Merk, V., García-Ruiz, C., & Kneipp, J. (2016). Surface-enhanced Raman spectroscopy for the analysis of smokeless gunpowders and macroscopic gunshot residues. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408(18), 4965–4973. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9591-z>
87. Mandil, A., & Amine, A. (2009). Screen-Printed Electrodes Modified by Bismuth Film for the Determination of Released Lead in Moroccan Ceramics. *Analytical Letters*, 42(9), 1245–1257. <https://doi.org/10.1080/00032710902901772>
88. Marmolejo-Ramos, F., & Siva Tian, T. (2010). The shifting boxplot. A boxplot based on essential summary statistics around the mean. *International Journal of Psychological Research*, 3(1), 37–45. <https://doi.org/10.21500/20112084.823>
89. Martiny, A., Campos, A. P. C., Sader, M. S., & Pinto, M. A. L. (2008). SEM/EDS analysis and characterization of gunshot residues from Brazilian lead-free ammunition. *Forensic Science International*, 177(1), e9–e17. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2007.07.005>
90. Martín-Yerga, D., González-García, M. B., & Costa-García, A. (2013). Electrochemical determination of mercury: A review. *Talanta*, 116, 1091–1104. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.07.056>

91. McClenathan, D. M., Wetzel, W. C., Lorge, S. E., & Hieftje, G. M. (2006). Effect of the plasma operating frequency on the figures of merit of an inductively coupled plasma time-of-flight mass spectrometer. *J. Anal. At. Spectrom.*, *21*(2), 160–167. <https://doi.org/10.1039/B515719F>
92. McIntire, K. M., & Dewald, H. D. (2001). Stripping potentiometry of barium ion in mixed aqueous tetraethylammonium bromide/ethanol solutions. *Microchemical Journal*, *69*(1), 21–26.
93. Melo, L. G. A., Martiny, A., & Pinto, A. L. (2014). Nano characterization of gunshot residues from Brazilian ammunition. *Forensic Science International*, *240*, 69–79. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2014.04.010>
94. Menking-Hoggatt, K., Arroyo, L., Curran, J., & Trejos, T. (2019). Novel LIBS method for micro-spatial chemical analysis of inorganic gunshot residues. *Journal of Chemometrics*. <https://doi.org/10.1002/cem.3208>
95. Merli, D., Brandone, A., Amadasi, A., Cattaneo, C., & Profumo, A. (2016). The detection of gunshot residues in the nasal mucus of suspected shooters. *International Journal of Legal Medicine*, *130*(4), 1045–1052. <https://doi.org/10.1007/s00414-016-1375-7>
96. Miller, J. N., & Miller, J. C. (2010a). *Statistics and chemometrics for analytical chemistry* (6. ed). Prentice Hall.
97. Miller, J. N., & Miller, J. C. (2010b). *Statistics and chemometrics for analytical chemistry* (6. ed). Prentice Hall.
98. Mohanty, U. S. (2011). Electrodeposition: A versatile and inexpensive tool for the synthesis of nanoparticles, nanorods, nanowires, and nanoclusters of metals. *Journal of Applied Electrochemistry*, *41*(3), 257–270. <https://doi.org/10.1007/s10800-010-0234-3>
99. Mohd Hashim, N. H., Mohd Zain, Z., & Jaafar, M. Z. (2016). Copper Determination in Gunshot Residue by Cyclic Voltammetric and Inductive Coupled Plasma-Optical Emission Spectroscopy. *MATEC Web of Conferences*, *59*, 04005. <https://doi.org/10.1051/mateconf/20165904005>
100. Monterroso, S. C. C., Carapuça, H. M., Simão, J. E. J., & Duarte, A. C. (2004). Optimisation of mercury film deposition on glassy carbon electrodes:



- Evaluation of the combined effects of pH, thiocyanate ion and deposition potential. *Analytica Chimica Acta*, 503(2), 203–212. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2003.10.034>
101. Mora-Alvarado, D., Orozco-Gutiérrez, J., Solís-Castro, Y., Rivera-Navarro, P. C., Cambronero-Bolaños, D., Zúñiga-Zúñiga, L. A., & García-Aguilar, J. (2018). Índice de Riesgo de la Calidad del Agua para Consumo Humano en Costa Rica (IRCACH). *Revista Tecnología en Marcha*, 31(3). <https://doi.org/10.18845/tm.v31i3.3897>
102. Moran, J. W., & Bell, S. (2014). Skin Permeation of Organic Gunshot Residue: Implications for Sampling and Analysis. *Analytical Chemistry*, 86(12), 6071–6079. <https://doi.org/10.1021/ac501227e>
103. Morelato, M., Beavis, A., Ogle, A., Doble, P., Kirkbride, P., & Roux, C. (2012). Screening of gunshot residues using desorption electrospray ionisation–mass spectrometry (DESI–MS). *Forensic Science International*, 217(1–3), 101–106. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2011.10.030>
104. Motta, L. C., Vanini, G., Chamoun, C. A., Costa, R. A., Vaz, B. G., Costa, H. B., Bassane, J. F. P., Carneiro, M. T. W. D., & Romão, W. (2015). Detection of Pb, Ba, and Sb in Blowfly Larvae of Porcine Tissue Contaminated with Gunshot Residue by ICP OES. *Journal of Chemistry*, 2015, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2015/737913>
105. O'Mahony, A. M., Samek, I. A., Sattayasamitsathit, S., & Wang, J. (2014). Orthogonal Identification of Gunshot Residue with Complementary Detection Principles of Voltammetry, Scanning Electron Microscopy, and Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy: Sample, Screen, and Confirm. *Analytical Chemistry*, 86(16), 8031–8036. <https://doi.org/10.1021/ac5016112>
106. O'Mahony, A. M., & Wang, J. (2013). Electrochemical Detection of Gunshot Residue for Forensic Analysis: A Review. *Electroanalysis*, 25(6), 1341–1358. <https://doi.org/10.1002/elan.201300054>
107. O'Mahony, A. M., Windmiller, J. R., Samek, I. A., Bandodkar, A. J., & Wang, J. (2012). “Swipe and Scan”: Integration of sampling and analysis of

- gunshot metal residues at screen-printed electrodes. *Electrochemistry Communications*, 23, 52–55. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2012.07.004>
108. Ozbek, N., & Ozcan, M. (2016). Simultaneous determination of Co, Al and Fe by HR CS-GFAAS. *Talanta*, 148, 17–21. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.10.041>
109. Panarin, A. Yu., Khodasevich, I. A., Gladkova, O. L., & Terekhov, S. N. (2014). Determination of Antimony by Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *Applied Spectroscopy*, 68(3), 297–306. <https://doi.org/10.1366/13-07034>
110. Pauliukaitė, R., & Brett, C. M. A. (2005). Characterization and Application of Bismuth-Film Modified Carbon Film Electrodes. *Electroanalysis*, 17(15–16), 1354–1359. <https://doi.org/10.1002/elan.200403282>
111. Pawlyta, M., Rouzaud, J.-N., & Duber, S. (2015). Raman microspectroscopy characterization of carbon blacks: Spectral analysis and structural information. *Carbon*, 84, 479–490. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2014.12.030>
112. Perevezentseva, D. O., & Gorchakov, E. V. (2014). Electrochemical Response of Gold Nanoparticles at a Graphite Electrode. *Advanced Materials Research*, 1040, 297–302. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.1040.297>
113. Pinchin, M. J., & Newham, J. (1977). The determination of lead, copper and cadmium by anodic stripping voltammetry at a mercury thin-film electrode. *Analytica Chimica Acta*, 90, 91–102. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)82297-2](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)82297-2)
114. Prior, C., & Walker, G. S. (2006). The Use of the Bismuth Film Electrode for the Anodic Stripping Voltammetric Determination of Tin. *Electroanalysis*, 18(8), 823–829. <https://doi.org/10.1002/elan.200503467>
115. Qu, J., Shen, Y., Qu, X., & Dong, S. (2004). Preparation of hybrid thin film modified carbon nanotubes on glassy carbon electrode and its electrocatalysis for oxygen reduction. *Chem. Commun.*, 1, 34–35. <https://doi.org/10.1039/B311038A>

116. RENAR: Registro Nacional de Armas. (2001). *Manual de Identificación y Rastreo de Armas de Fuego MIRAF* (3rd ed.).
117. Rentsch, S., Siegenthaler, H., & Papastavrou, G. (2007). Diffuse Layer Properties of Thiol-Modified Gold Electrodes Probed by Direct Force Measurements. *Langmuir*, 23(17), 9083–9091. <https://doi.org/10.1021/la700987u>
118. Rijnders, M. R., Stamouli, A., & Bolck, A. (2010). Comparison of GSR Composition Occurring at Different Locations Around the Firing Position. *Journal of Forensic Sciences*, 55(3), 616–623. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2009.01292.x>
119. Roeterdink, E. M., Dadour, I. R., & Watling, R. J. (2004). Extraction of gunshot residues from the larvae of the forensically important blowfly *Calliphora dubia* (Macquart) (Diptera: Calliphoridae). *International Journal of Legal Medicine*, 118(2), 63–70. <https://doi.org/10.1007/s00414-003-0408-1>
120. Romolo, F. S., Stamouli, A., Romeo, M., Cook, M., Orsenigo, S., & Donghi, M. (2017). An experimental study about the presence of selenium in inorganic gunshot residues (GSR). *Forensic Chemistry*, 4, 51–60. <https://doi.org/10.1016/j.forc.2017.02.005>
121. Ruopp, M. D., Perkins, N. J., Whitcomb, B. W., & Schisterman, E. F. (2008). Youden Index and Optimal Cut-Point Estimated from Observations Affected by a Lower Limit of Detection. *Biometrical Journal*, 50(3), 419–430. <https://doi.org/10.1002/bimj.200710415>
122. Salles, M. O., Naozuka, J., & Bertotti, M. (2012). A forensic study: Lead determination in gunshot residues. *Microchemical Journal*, 101, 49–53. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2011.10.004>
123. Sarkis, J. E. S., Neto, O. N., Viebig, S., & Durrant, S. F. (2007). Measurements of gunshot residues by sector field inductively coupled plasma mass spectrometry—Further studies with pistols. *Forensic Science International*, 172(1), 63–66. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.12.007>
124. Sarraguça, J. M. G., Lima, C., Machado, F., Lopes, J. A., Almeida, A., Fernandes, L., Magalhães, T., & Santos, A. (2016). A FT-NIR spectroscopy

- methodology to estimate firing distance based on the direct analysis of the bullet impact surface. *The Analyst*, 141(14), 4410–4416. <https://doi.org/10.1039/C6AN00247A>
125. Saturno, J., Valera, D., Carrero, H., & Fernández, L. (2011). Electroanalytical detection of Pb, Cd and traces of Cr at micro/nano-structured bismuth film electrodes. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 159(1), 92–96. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2011.06.055>
126. Silva, M. M. S., Cavalcanti, I. T., Barroso, M. F., Sales, M. G. F., & Dutra, R. F. (2010). Gold electrode modified by self-assembled monolayers of thiols to determine DNA sequences hybridization. *Journal of Chemical Sciences*, 122(6), 911–917. <https://doi.org/10.1007/s12039-010-0079-7>
127. Sim, C. H., Gan, F. F., & Chang, T. C. (2005). Outlier Labeling With Boxplot Procedures. *Journal of the American Statistical Association*, 100(470), 642–652. <https://doi.org/10.1198/016214504000001466>
128. Simões, A. Z., Riccardi, C. S., Dos Santos, M. L., Garcia, F. G., Longo, E., & Varela, J. A. (2009). Effect of annealing atmosphere on phase formation and electrical characteristics of bismuth ferrite thin films. *Materials Research Bulletin*, 44(8), 1747–1752. <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2009.03.011>
129. Smyth Wallace, J. (2008a). *Chemical Analysis of Firearms, Ammunition, and Gunshot Residue* (0 ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420069716>
130. Smyth Wallace, J. (2008b). *Chemical Analysis of Firearms, Ammunition, and Gunshot Residue* (0 ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420069716>
131. Stein, K. M., Bahner, M. L., Merkel, J., Ain, S., & Mattern, R. (2000). Detection of gunshot residues in routine CTs. *International Journal of Legal Medicine*, 114(1–2), 15–18.
132. Stokes, D. J. (2008). *Principles and Practice of Variable Pressure/Environmental Scanning Electron Microscopy (VP-ESEM): Stokes/Principles and Practice of Variable Pressure/Environmental Scanning*

*Electron Microscopy (VP-ESEM)*. John Wiley & Sons, Ltd.  
<https://doi.org/10.1002/9780470758731>

133. Taudte, R. V., Roux, C., Bishop, D., Blanes, L., Doble, P., & Beavis, A. (2015). Development of a UHPLC method for the detection of organic gunshot residues using artificial neural networks. *Anal. Methods*, 7(18), 7447–7454. <https://doi.org/10.1039/C5AY00306G>
134. Thali, M. J., Yen, K., Vock, P., Ozdoba, C., Kneubuehl, B. P., Sonnenschein, M., & Dirnhofer, R. (2003). Image-guided virtual autopsy findings of gunshot victims performed with multi-slice computed tomography (MSCT) and magnetic resonance imaging (MRI) and subsequent correlation between radiology and autopsy findings. *Forensic Science International*, 138(1–3), 8–16. [https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(03\)00225-1](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(03)00225-1)
135. Trejos, T., Vander Pyl, C., Menking-Hoggatt, K., Alvarado, A. L., & Arroyo, L. E. (2018a). Fast identification of inorganic and organic gunshot residues by LIBS and electrochemical methods. *Forensic Chemistry*, 8, 146–156. <https://doi.org/10.1016/j.forc.2018.02.006>
136. Trejos, T., Vander Pyl, C., Menking-Hoggatt, K., Alvarado, A. L., & Arroyo, L. E. (2018b). Fast identification of inorganic and organic gunshot residues by LIBS and electrochemical methods. *Forensic Chemistry*, 8, 146–156. <https://doi.org/10.1016/j.forc.2018.02.006>
137. Vanini, G., Souza, M. O., Carneiro, M. T. W. D., Filgueiras, P. R., Bruns, R. E., & Romão, W. (2015). Multivariate optimisation of ICP OES instrumental parameters for Pb/Ba/Sb measurement in gunshot residues. *Microchemical Journal*, 120, 58–63. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2015.01.003>
138. Vanini, G., Souza, R. M., Destefani, C. A., Merlo, B. B., Piorotti, T. M., de Castro, E. V. R., Carneiro, M. T. W. D., & Romão, W. (2014). Analysis of gunshot residues produced by .38 caliber handguns using inductively coupled plasma-optical emission spectroscopy (ICP OES). *Microchemical Journal*, 115, 106–112. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2014.03.003>
139. Vollset, M., Iszatt, N., Enger, Ø., Gjengedal, E. L. F., & Eggesbø, M. (2019). Concentration of mercury, cadmium, and lead in breast milk from

- Norwegian mothers: Association with dietary habits, amalgam and other factors. *Science of The Total Environment*, 677, 466–473. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.252>
140. Vuki, M., Shiu, K.-K., Galik, M., O'Mahony, A. M., & Wang, J. (2012). Simultaneous electrochemical measurement of metal and organic propellant constituents of gunshot residues. *The Analyst*, 137(14), 3265. <https://doi.org/10.1039/c2an35379b>
141. Wang, J., Pedrero, M., Sakslund, H., Hammerich, O., & Pingarron, J. (1996a). Electrochemical activation of screen-printed carbon strips. *The Analyst*, 121(3), 345. <https://doi.org/10.1039/an9962100345>
142. Wang, J., Pedrero, M., Sakslund, H., Hammerich, O., & Pingarron, J. (1996b). Electrochemical activation of screen-printed carbon strips. *The Analyst*, 121(3), 345. <https://doi.org/10.1039/an9962100345>
143. Wang, Z., & Ma, L. (2009). Gold nanoparticle probes. *Coordination Chemistry Reviews*, 253(11–12), 1607–1618. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2009.01.005>
144. Weyermann, C., Belaud, V., Riva, F., & Romolo, F. S. (2009). Analysis of organic volatile residues in 9mm spent cartridges. *Forensic Science International*, 186(1–3), 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2009.01.005>
145. Woolever, C. A., & Dewald, H. D. (2001). Stripping Voltammetry of Barium Ion in the Presence of Lead. *Electroanalysis*, 13(4), 309–312.
146. Xue, Y., Li, X., Li, H., & Zhang, W. (2014). Quantifying thiol–gold interactions towards the efficient strength control. *Nature Communications*, 5(1), 4348. <https://doi.org/10.1038/ncomms5348>
147. Yañez, J., Paz Farías, M., Zúñiga, V., Soto, C., Contreras, D., Pereira, E., Mansilla, H. D., Saavedra, R., Castillo, R., & Sáez, P. (2012). Differentiation of two main ammunition brands in Chile by Regularized Discriminant Analysis (RDA) of metals in gunshot residues. *Microchemical Journal*, 101, 43–48. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2011.10.003>

148. Yang, L. (2009). Accurate and precise determination of isotopic ratios by MC-ICP-MS: A review. *Mass Spectrometry Reviews*, 28(6), 990–1011. <https://doi.org/10.1002/mas.20251>
149. Yi, Y., Weinberg, G., Prenzel, M., Greiner, M., Heumann, S., Becker, S., & Schlögl, R. (2017). Electrochemical corrosion of a glassy carbon electrode. *Catalysis Today*, 295, 32–40. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2017.07.013>
150. Yılmaz, D., Turşucu, A., Uzunoğlu, Z., & Korucu, D. (2014). Measurement of effective atomic number of gunshot residues using scattering of gamma rays. *Radiation Physics and Chemistry*, 102, 68–71. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2014.04.012>
151. Youden, W. J. (1950). Index for rating diagnostic tests. *Cancer*, 3, 32–35.
152. Zeichner, A. (2012). Firearm Discharge Residue: Analysis of. *Wiley Encyclopedia of Forensic Science*.
153. Zeichner, A., Ehrlich, S., Shoshani, E., & Halicz, L. (2006). Application of lead isotope analysis in shooting incident investigations. *Forensic Science International*, 158(1), 52–64. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2005.01.020>
154. Zhao, M., Zhang, S., Yang, C., Xu, Y., Wen, Y., Sun, L., & Zhang, X. (2008). Desorption Electrospray Tandem MS (DESI-MSMS) Analysis of Methyl Centralite and Ethyl Centralite as Gunshot Residues on Skin and Other Surfaces. *Journal of Forensic Sciences*, 53(4), 807–811. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2008.00752.x>
155. Zhao, Q.-L., Zhang, Z.-L., Bao, L., & Pang, D.-W. (2008). Surface structure-related electrochemical behaviors of glassy carbon electrodes. *Electrochemistry Communications*, 10(2), 181–185. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2007.11.017>

# Anexos

---

## 1. Cuadros de resultados de sensibilidad y límites de detección y cuantificación de las diferentes metodologías con electrodo serigrafiado de carbón desnudo y con películas delgadas de bismuto y oro por la técnica de voltamperometría de pulso diferencial (DPA)

**Anexo 1.** Comparación del parámetro sensibilidad en el análisis de Pb, Sb, 2,4-DNT, NG y DPA mediante la técnica de voltamperometría de pulso diferencial, con electrodo serigrafiado de carbón [0,01 cm<sup>2</sup>] desnudo y con película delgada de bismuto y oro en disolución amortiguadora de acetato de sodio 0,1 mol·L<sup>-1</sup>, pH 4,5

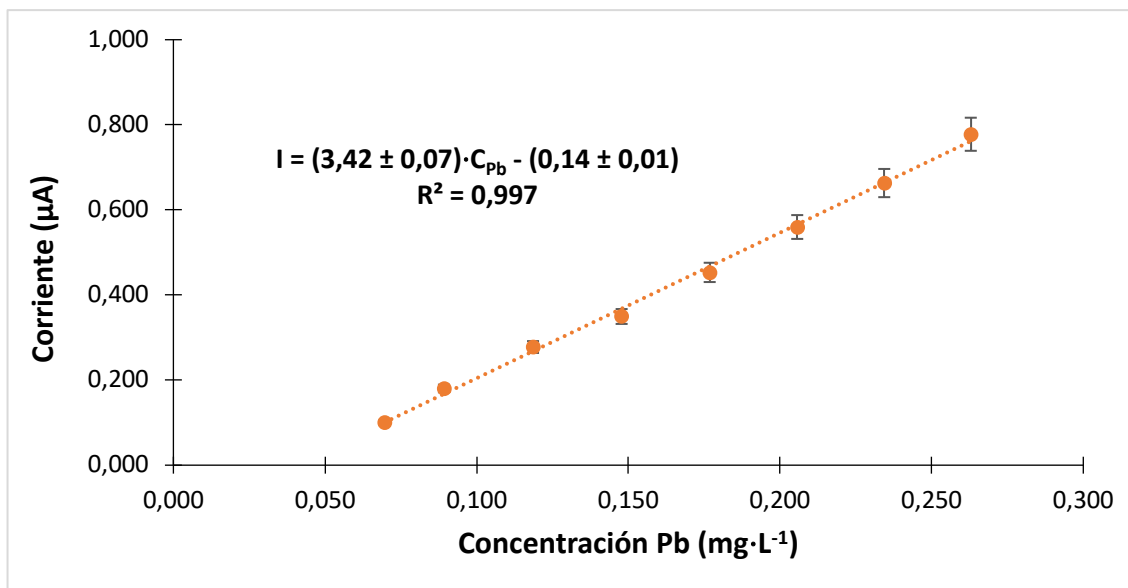
Analito	Sensibilidad con electrodo desnudo de carbón / L·A·ng <sup>-1</sup>	Sensibilidad con electrodo de carbón vítreo con película delgada de bismuto / L·A·ng <sup>-1</sup>	Sensibilidad con electrodo de carbón vítreo con película delgada de oro / L·A·ng <sup>-1</sup> (celda)	Sensibilidad con electrodo de carbón vítreo con película delgada de oro / L·A·ng <sup>-1</sup> (gota)
Pb	3,42	3,97	1,37	43,2
Sb	0,16	2,79	5,80	22,6
2,4-DNT	0,31	0,34	0,45	58,2
NG	0,23	N.D	14,22	25,7
DPA	N.D	N.D	0,49	80,7



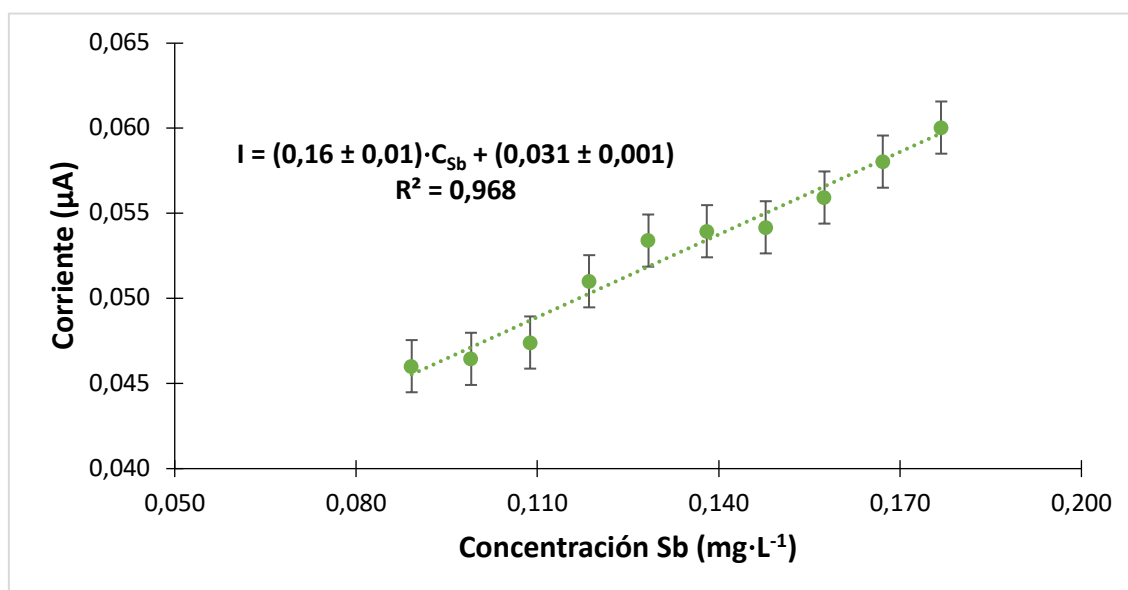
**Anexo 2.** Comparación entre los límites de detección y cuantificación de las diferentes metodologías utilizadas para el análisis de GSR para n=8

<b>Límite de detección (LOD) / <math>\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}</math></b>				
<b>Analíto</b>	<b>Electrodo serigrafiado desnudo de carbón</b>	<b>Electrodo serigrafiado de carbón con película delgada de bismuto</b>	<b>Electrodo serigrafiado de carbón con película delgada de oro (celda)</b>	<b>Electrodo serigrafiado de carbón con película delgada de oro (gota)</b>
<b>Pb</b>	11,8	17,9	14,1	31,5
<b>Sb</b>	17,0	5,6	18,1	10,5
<b>2,4-DNT</b>	40,2	28,4	22,8	29,1
<b>NG</b>	80,3	N.D	16,2	30,8
<b>DPA</b>	N.D	N.D	13,1	29,7
<b>Límite de cuantificación (LOQ) / <math>\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}</math></b>				
<b>Analíto</b>	<b>Electrodo serigrafiado desnudo de carbón</b>	<b>Electrodo serigrafiado de carbón con película delgada de bismuto</b>	<b>Electrodo serigrafiado de carbón con película delgada de oro (celda)</b>	<b>Electrodo serigrafiado de carbón con película delgada de oro (gota)</b>
<b>Pb</b>	39,5	59,2	47,1	105,1
<b>Sb</b>	56,7	18,5	60,4	34,9
<b>2,4-DNT</b>	134,1	94,6	75,9	97,0
<b>NG</b>	267,6	N.D	54,1	102,5
<b>DPA</b>	N.D	N.D	43,6	99,0

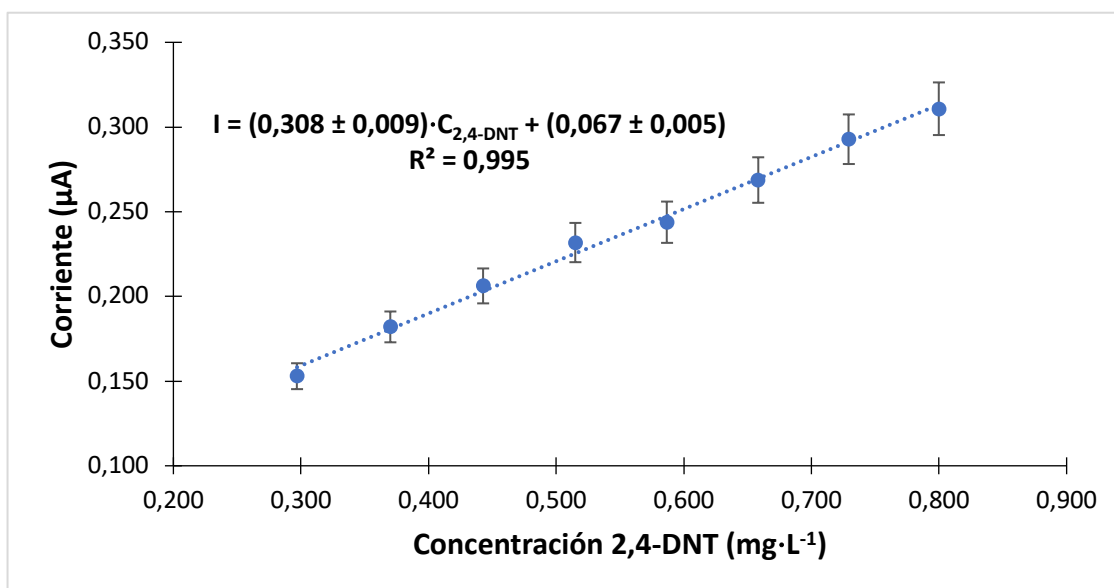
## 2. Curvas de calibración por el método de la celda con electrodo desnudo de carbón empleando metodología de celda



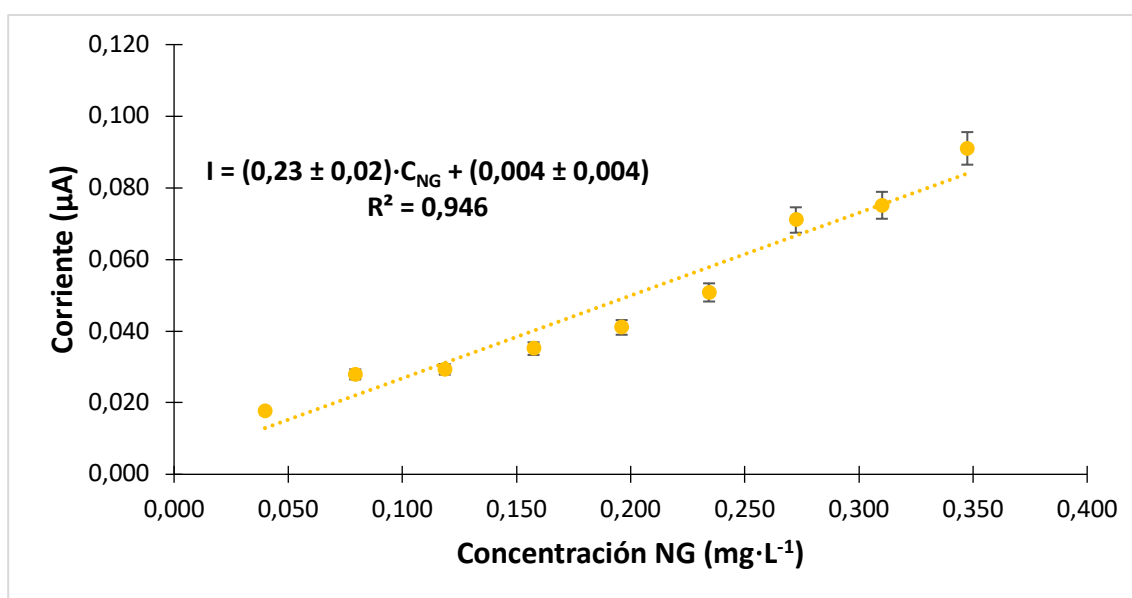
(a)



(b)



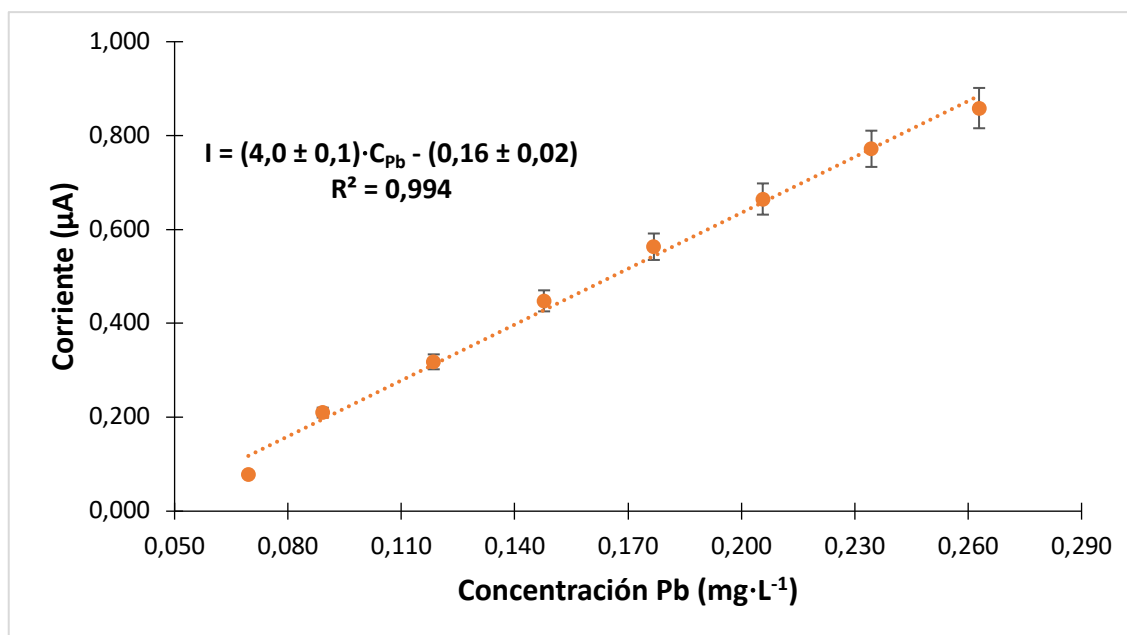
(c)



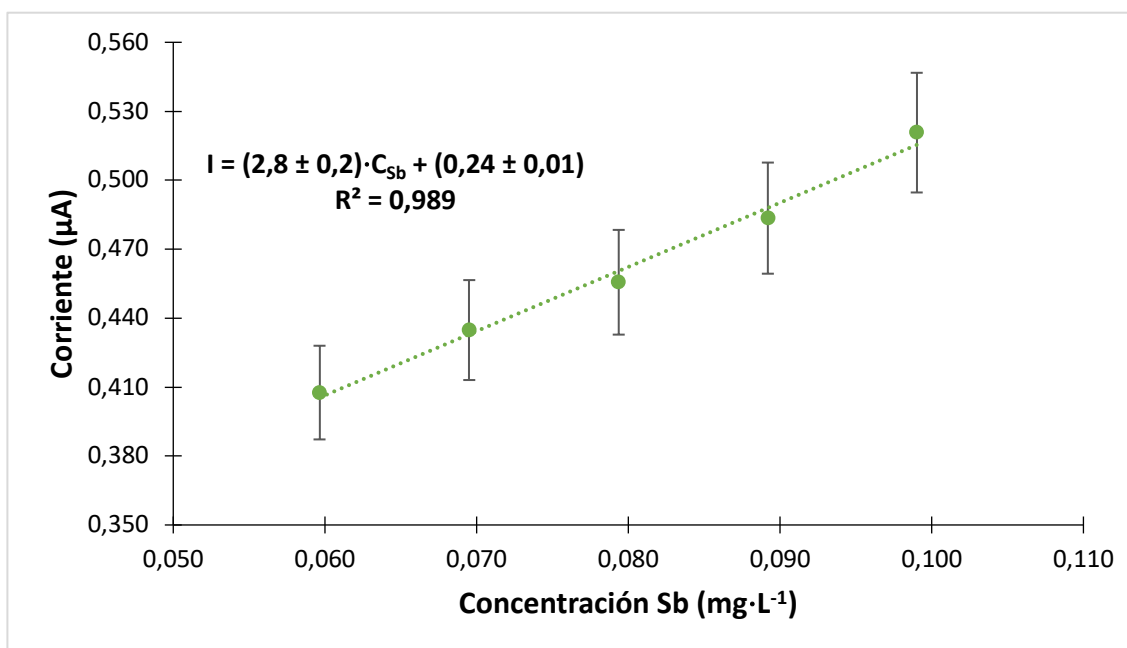
(d)

**Anexo 3.** Curvas de calibración para el análisis de: (a) Pb, (b) Sb, (c) 2,4-DNT y (d) NG por voltamperometría diferencial de pulsos (DPV) con un electrodo serigrafiado de carbón [ $0,13 \text{ cm}^2$ ] en disolución amortiguadora de acetato de sodio  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 4,5

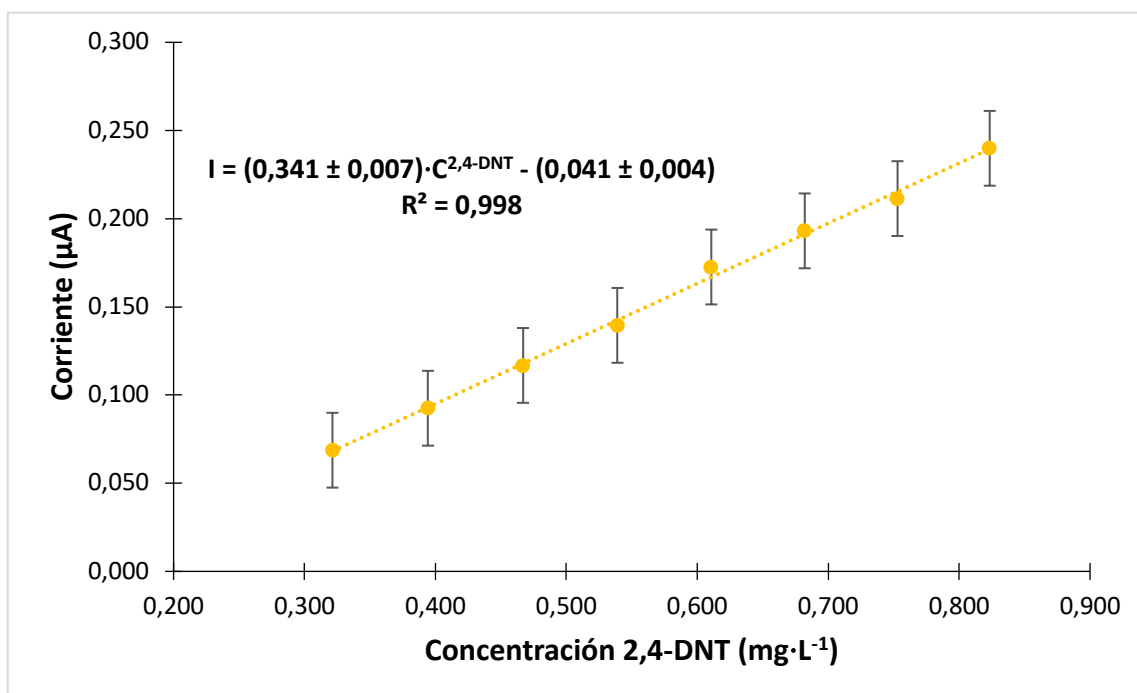
### 3. Curvas de calibración por el método de la celda con electrodo de carbón con película delgada de bismuto empleando metodología de celda



(a)



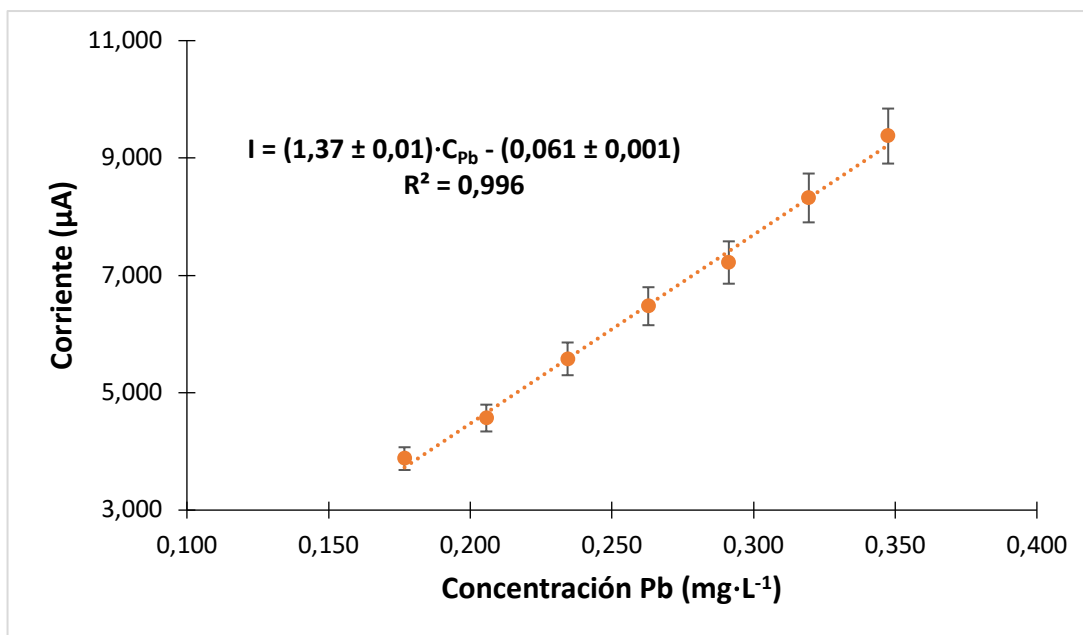
(b)



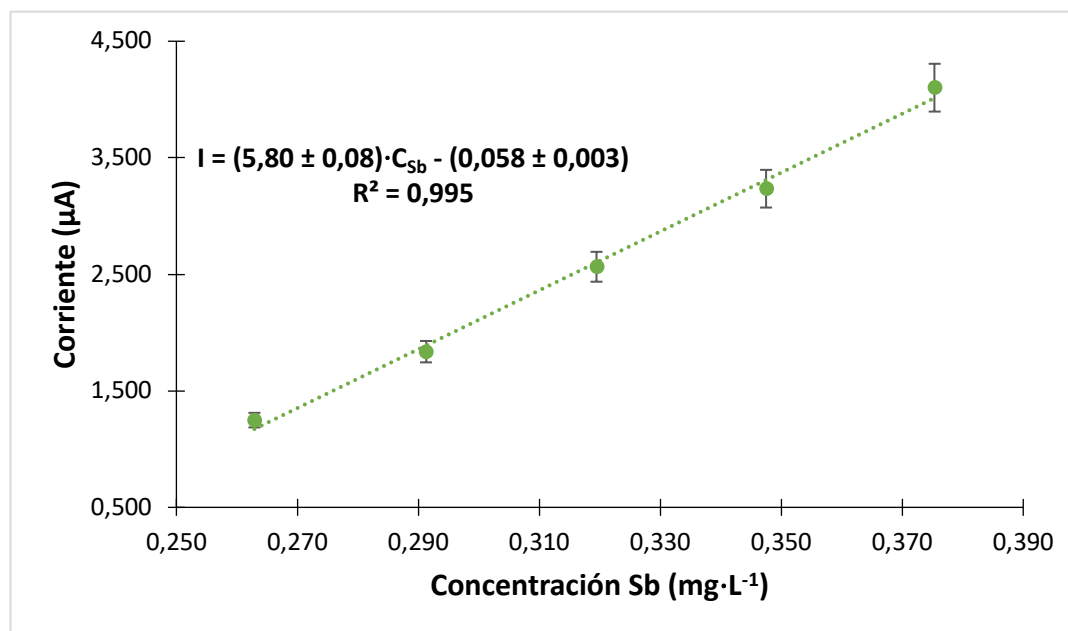
(c)

**Anexo 4.** Curvas de calibración para el análisis de: (a) Pb, (b) Sb y (c) 2,4-DNT por voltamperometría diferencial de pulsos (DPV) con un electrodo serigrafiado de carbono [0,13 cm<sup>2</sup>] modificado con película delgada de bismuto en disolución amortiguadora de acetato de sodio 0,1 mol·L<sup>-1</sup>, pH 4,5

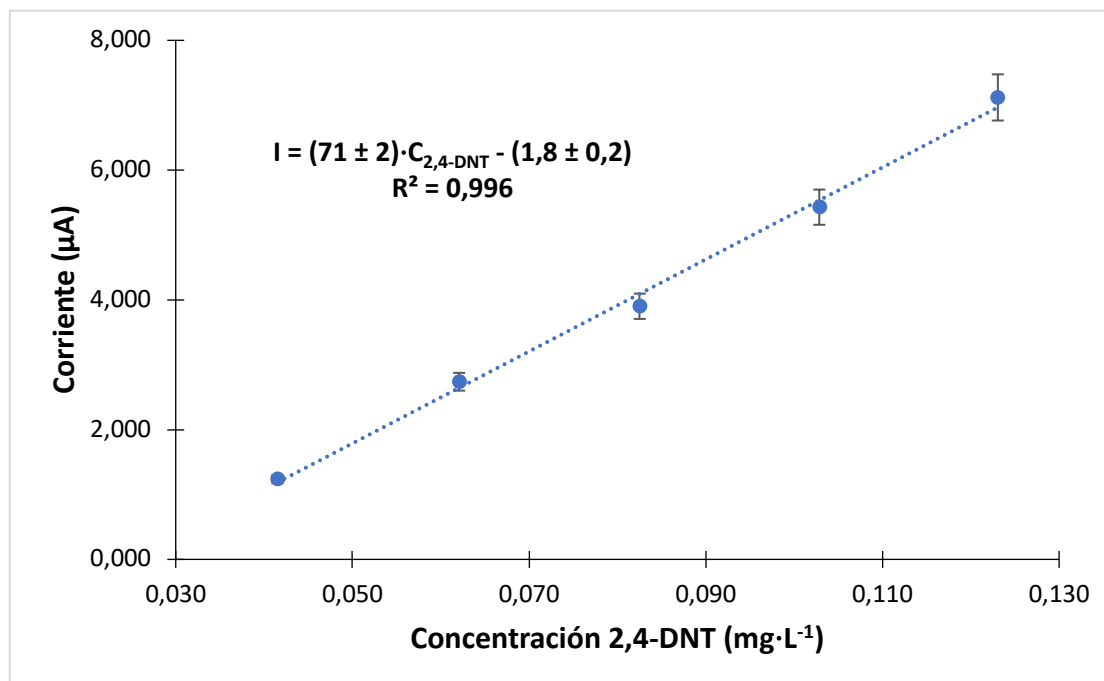
#### 4. Curvas de calibración por el método de la celda con electrodo de carbón con película delgada de oro empleando metodología de celda



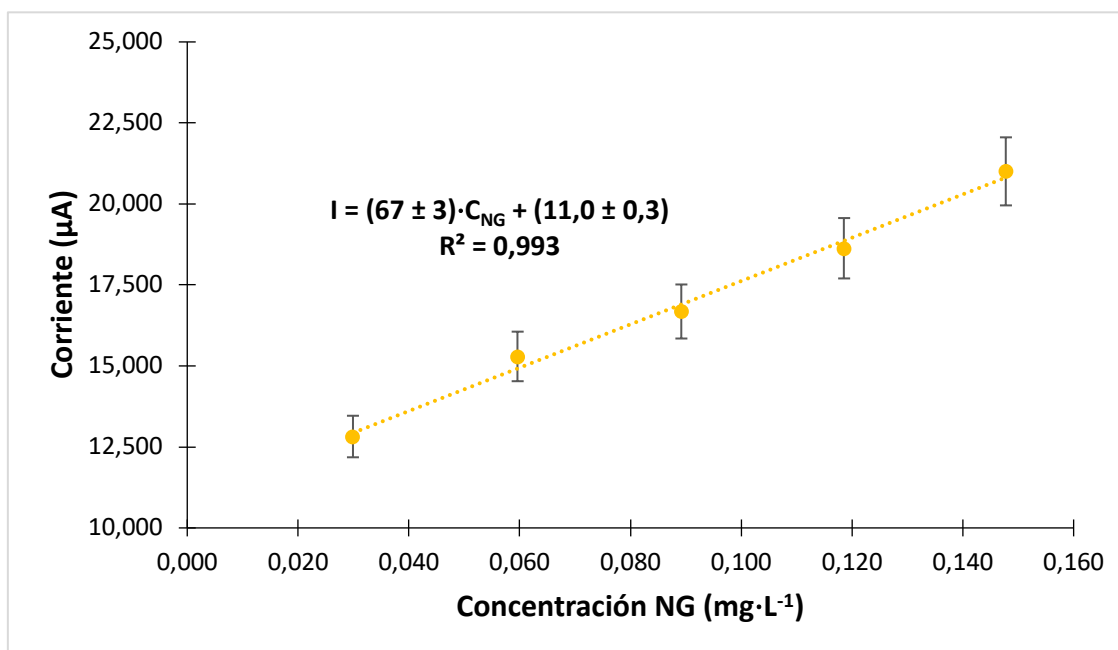
(a)



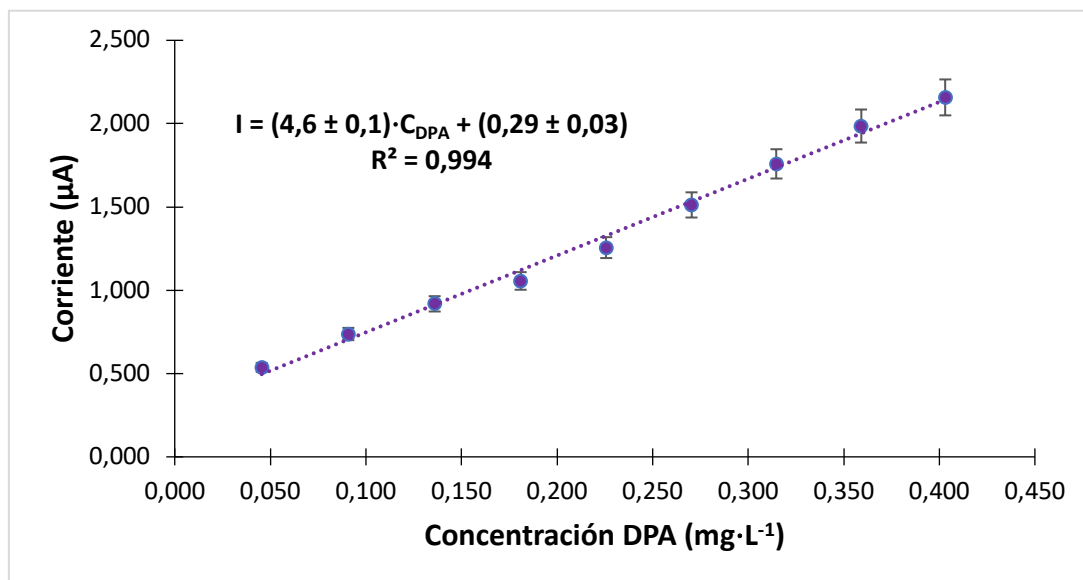
(b)



(c)



(d)

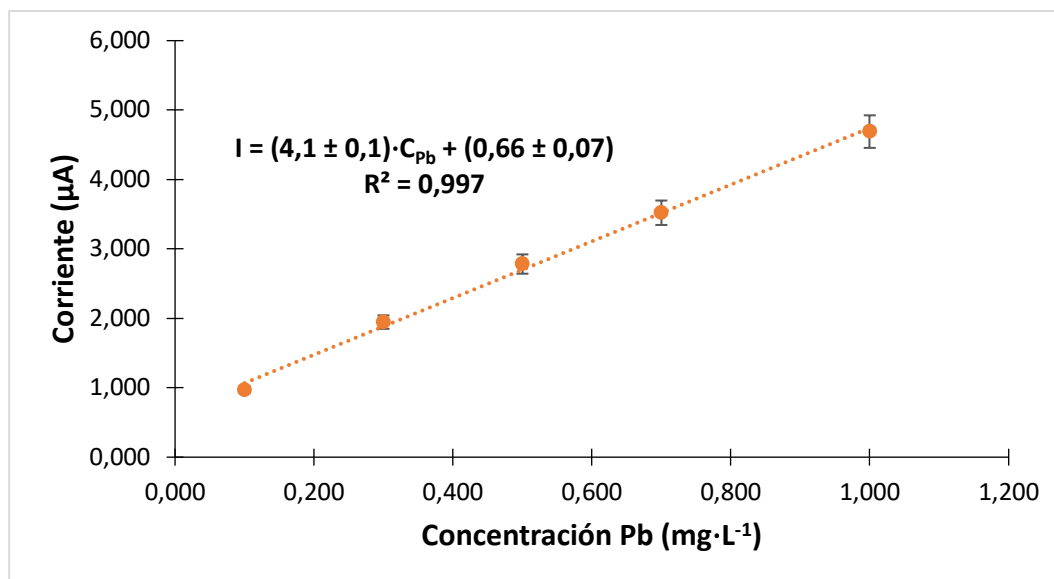


(e)

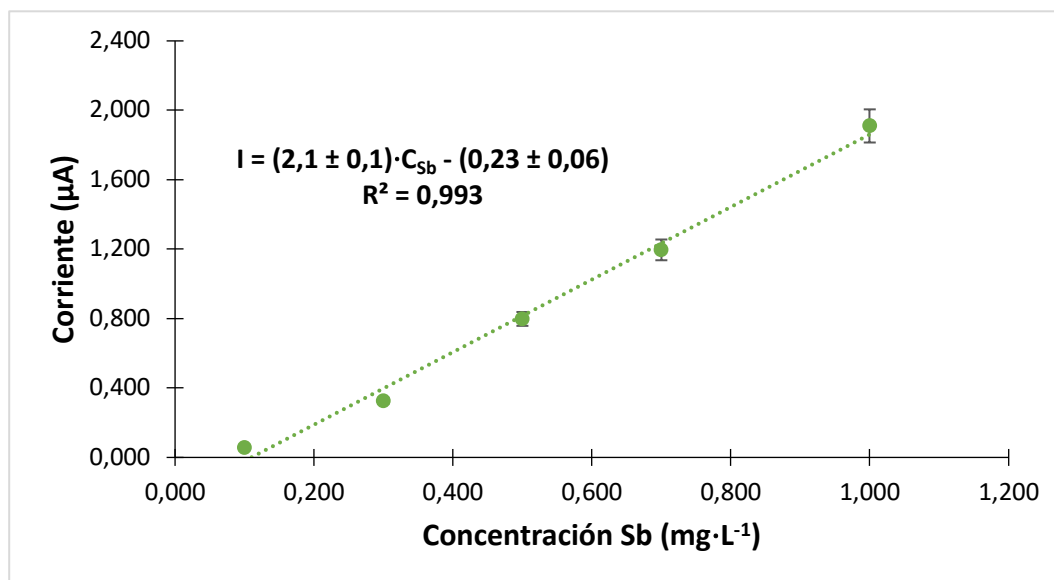
**Anexo 5.** Curvas de calibración para el análisis de: (a) Pb, (b) Sb, (c) 2,4-DNT, (d) NG y (e) DPA por voltamperometría diferencial de pulsos (DPV) con un electrodo serigrafiado de carbón [0,13 cm<sup>2</sup>] modificado con película delgada de oro con metodología de celda en disolución amortiguadora de acetato de sodio 0,1 mol·L<sup>-1</sup>, pH 4,5



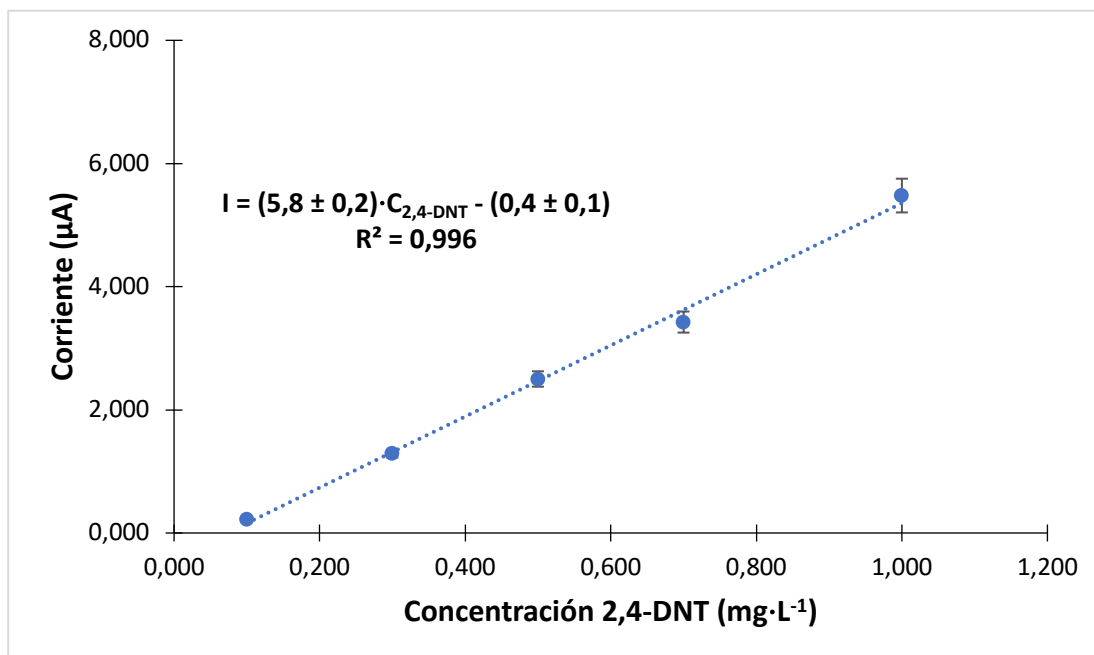
## 5. Curvas de calibración por el método de la celda con electrodo de carbón con película delgada de oro empleando metodología de gota



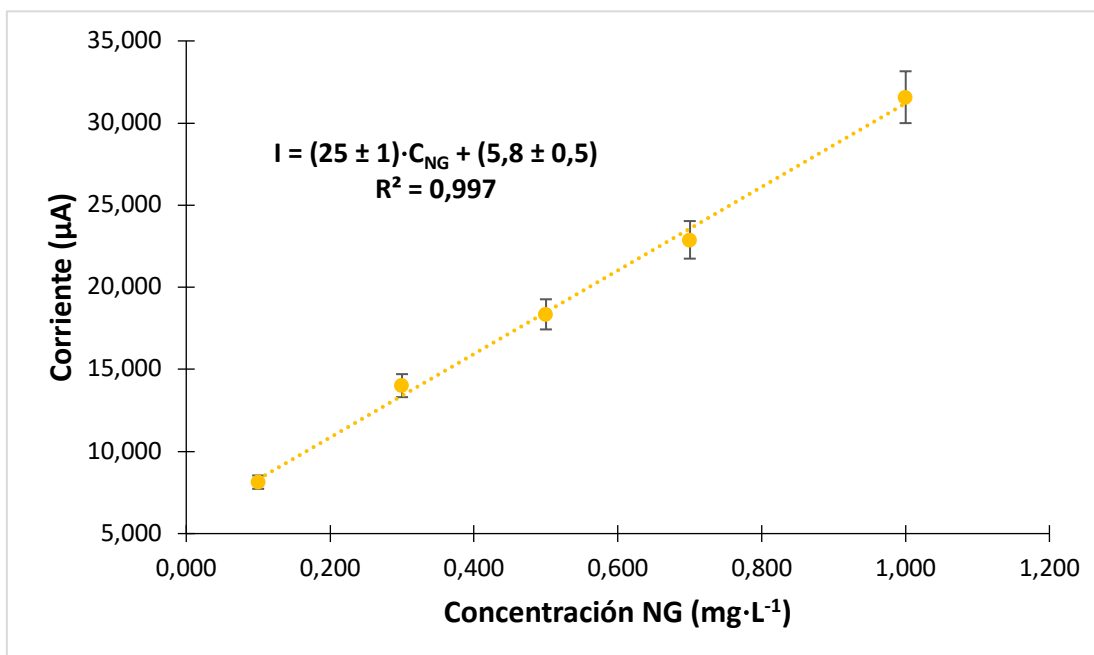
(a)



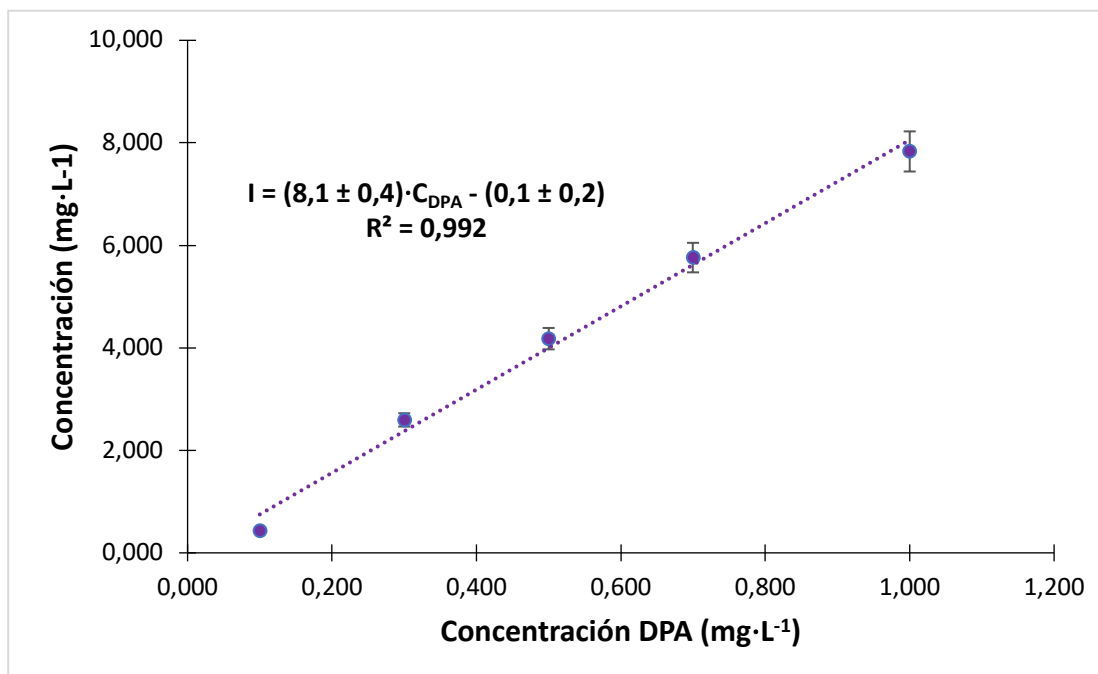
(b)



(c)



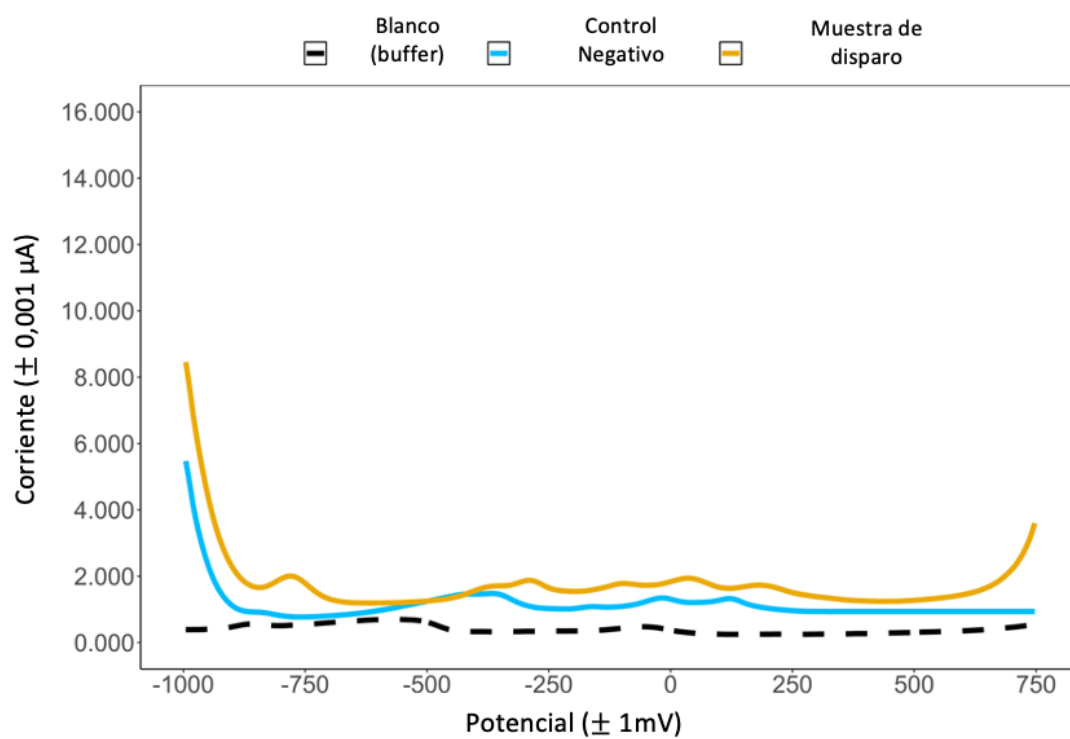
(d)



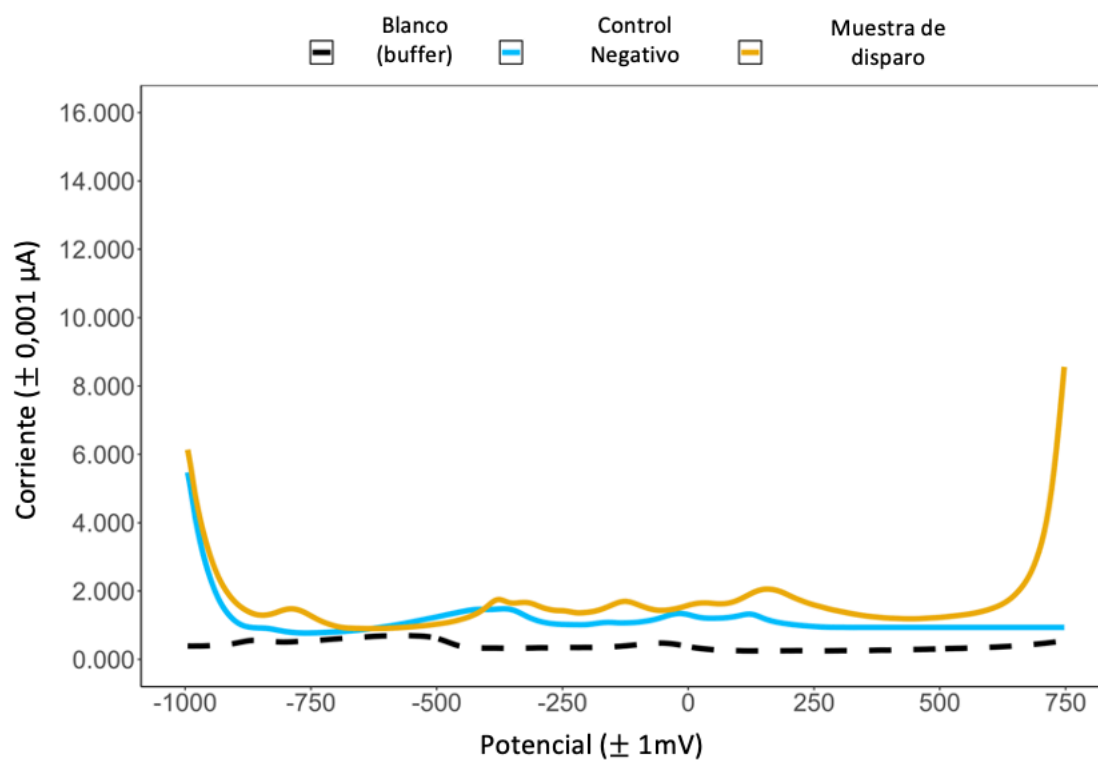
(e)

**Anexo 6.** Curvas de calibración para el análisis de: (a) Pb, (b) Sb, (c) 2,4-DNT, (d) NG y (e) DPA por voltamperometría diferencial de pulsos (DPV) con un electrodo serigrafiado de carbón [0,13 cm<sup>2</sup>] modificado con película delgada de oro con metodología de gota en disolución amortiguadora de acetato de sodio 0,1 mol·L<sup>-1</sup>, pH 4,5

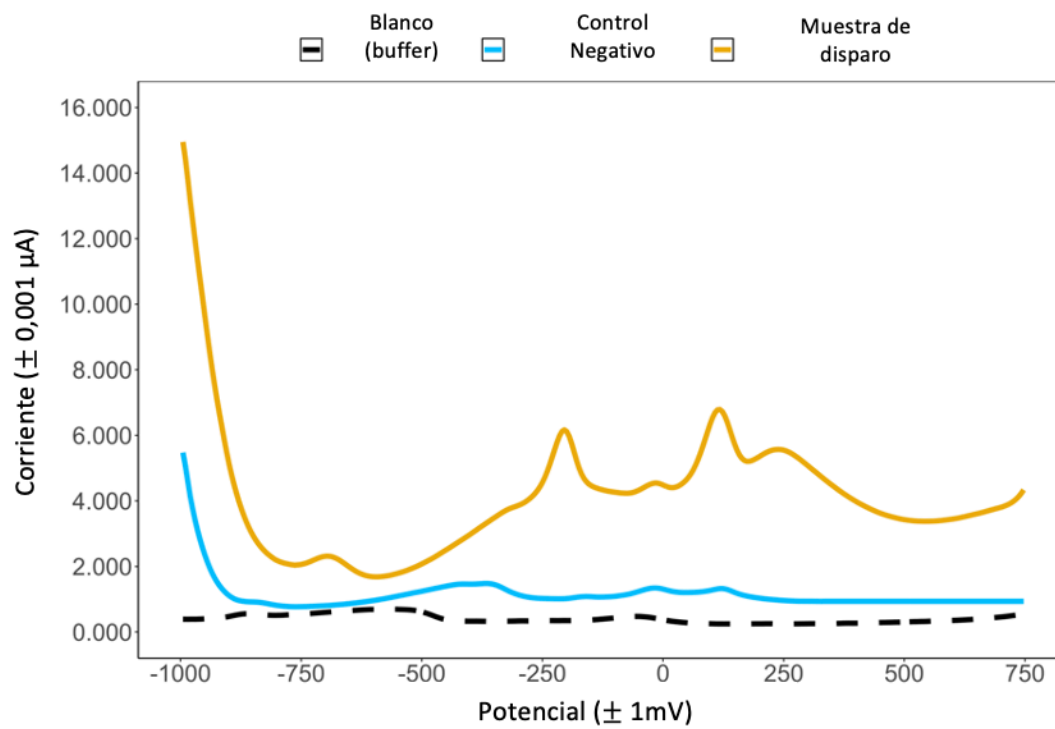
**6. Voltamperogramas de muestras de pistola Springfield XD9, cartucho Winchester 200 rondas 9 mm empleando metodología de la celda con electrodo de carbón modificado con película delgada de oro**



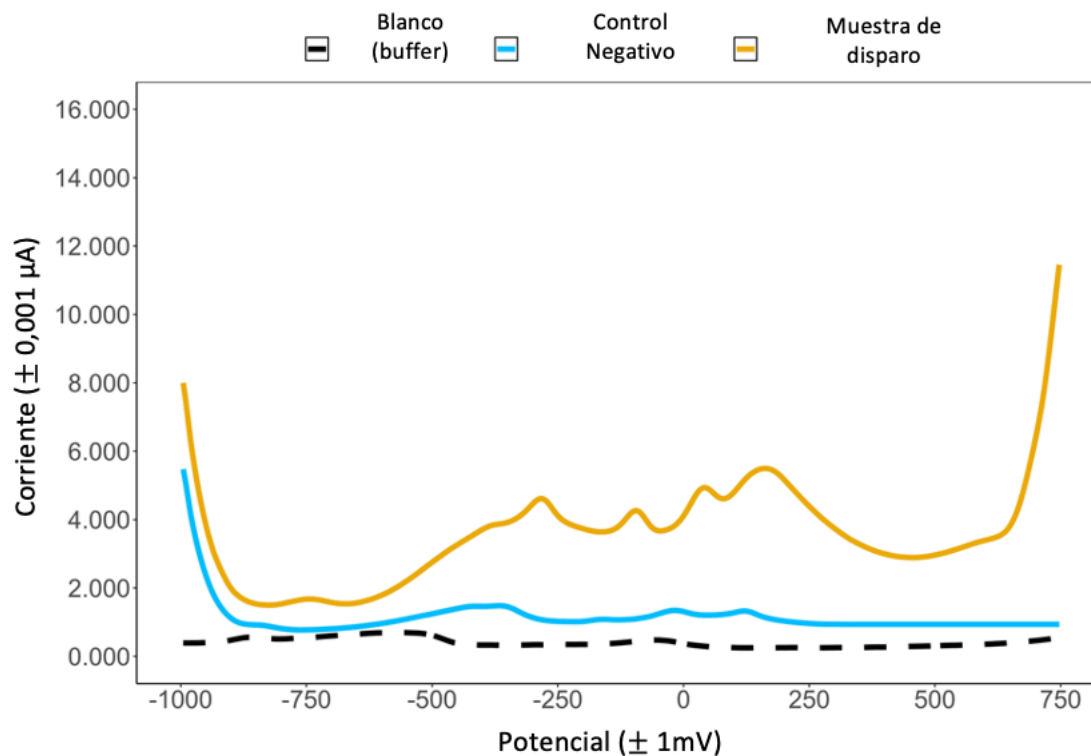
(a)



(b)



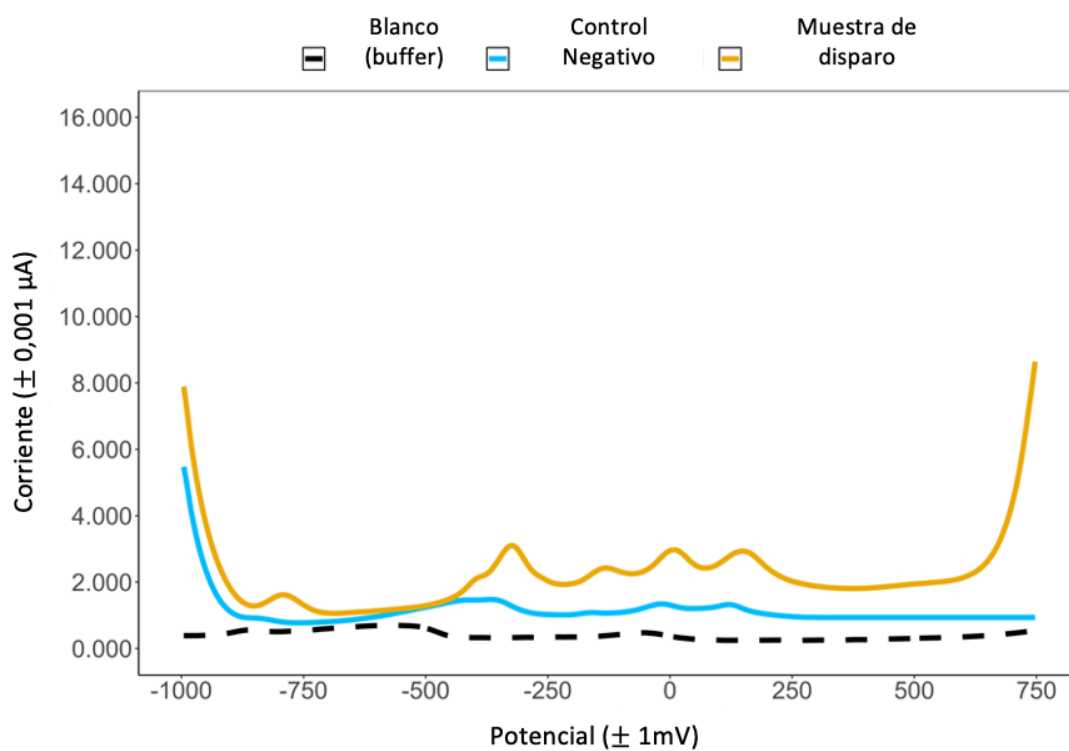
(c)



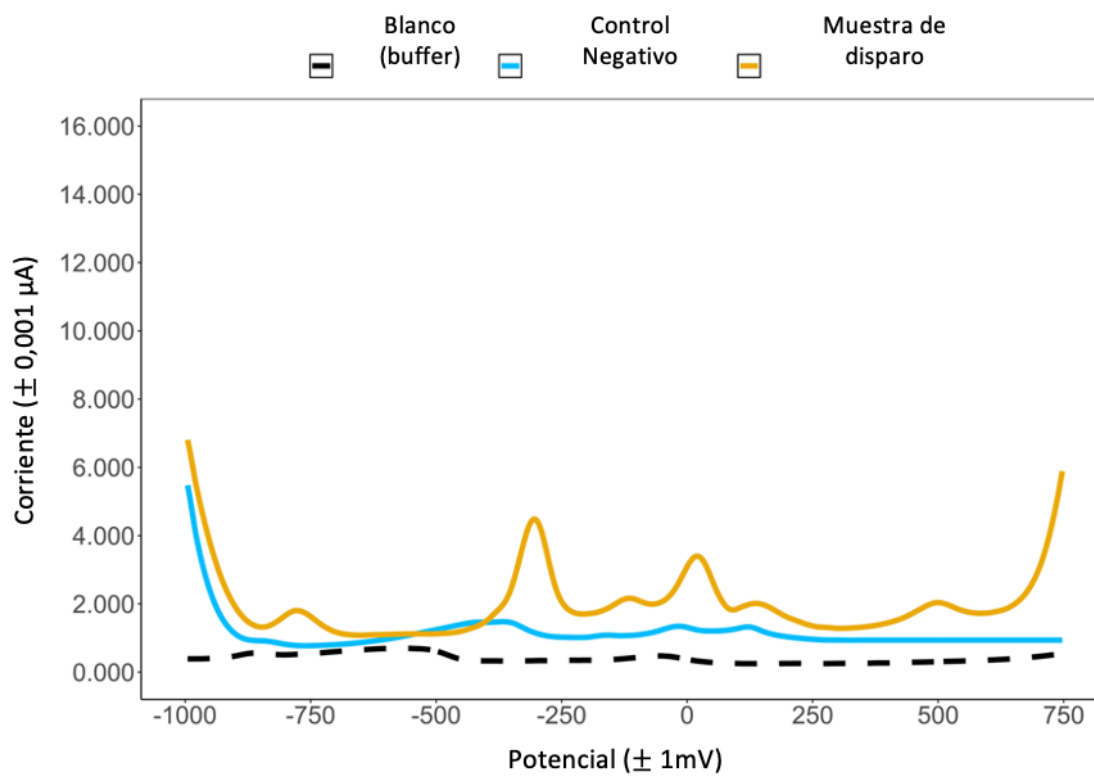
(d)

**Anexo 7.** Voltamperogramas de las muestras de pistola Springfield XD9, cartucho Winchester 200 rondas 9 mm empleando metodología de la celda con electrodo de carbón modificado con película delgada de oro siendo falsos negativos: **(a)** OPT\_110619\_1\_PLH\_WIN\_EC\_cell\_LP; **(b)** OPT\_110619\_2\_PLH\_WIN\_EC\_cell\_LP y verdaderos positivos **(c)** OPT\_110619\_15\_PLH\_WIN\_EC\_cell\_LP; **(d)** OPT\_110619\_19\_PLH\_WIN\_EC\_cell\_LP

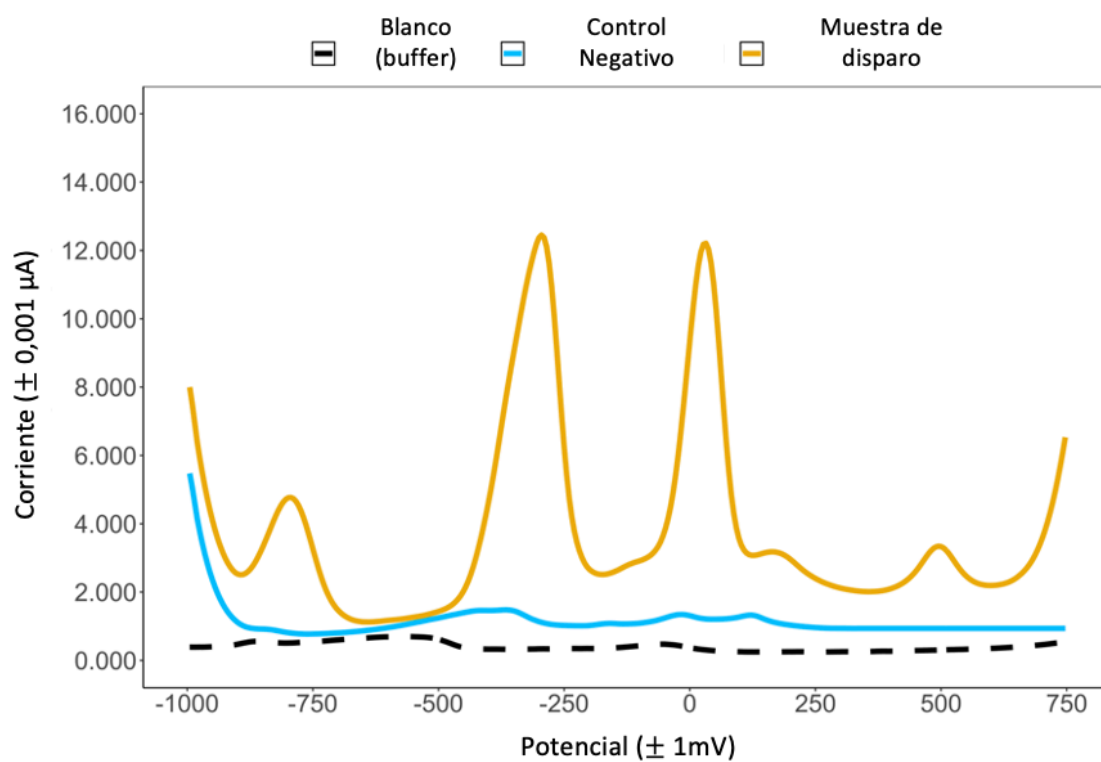
**7. Voltamperogramas de muestras de pistola Springfield XD9, cartucho Winchester 200 rondas 9 mm empleando metodología de la gota con electrodo de carbón modificado con película delgada de oro**



(a)

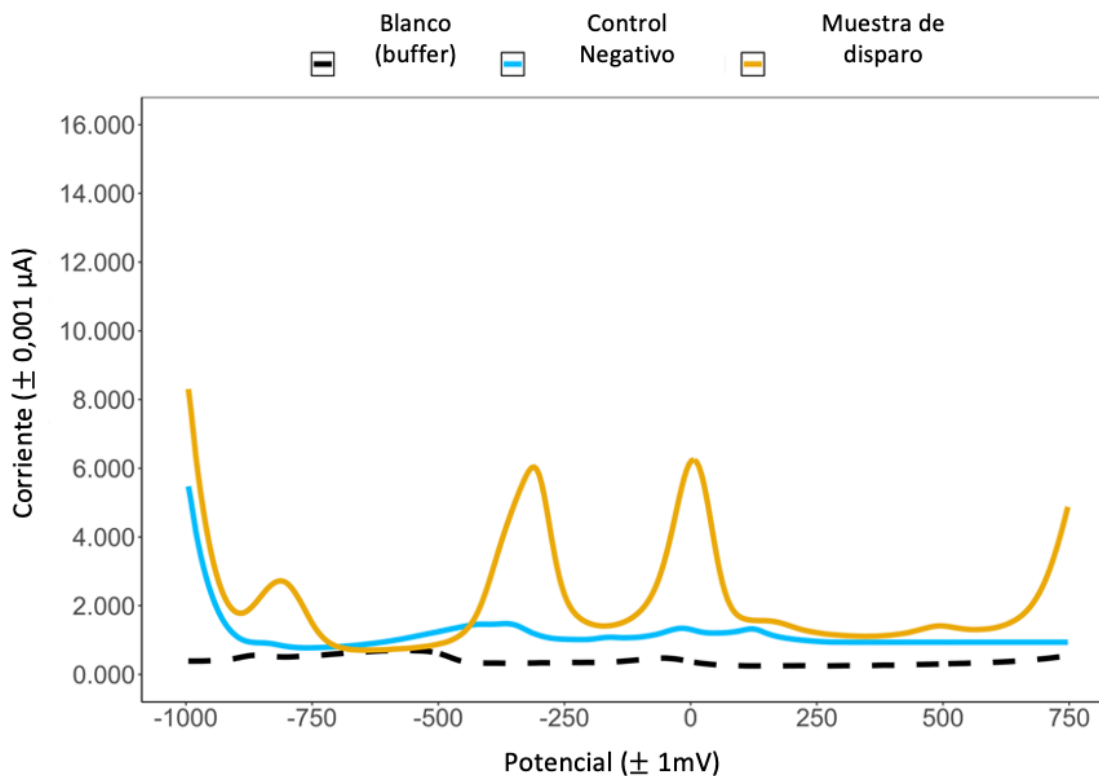


(b)



(c)

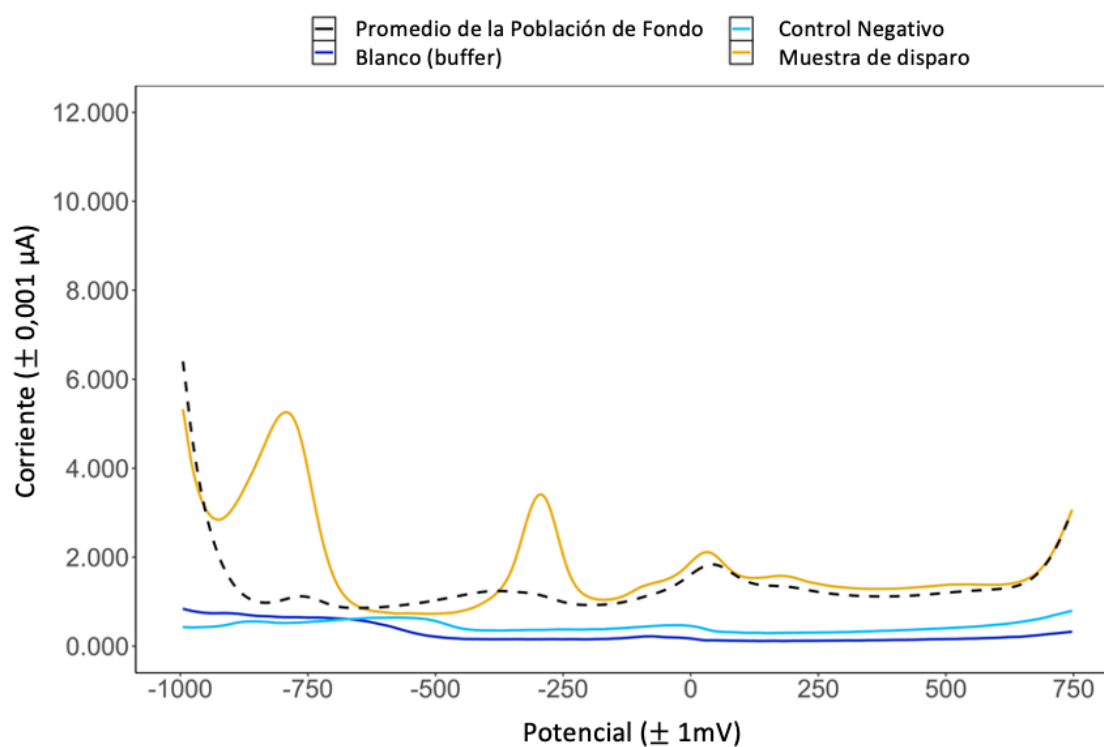




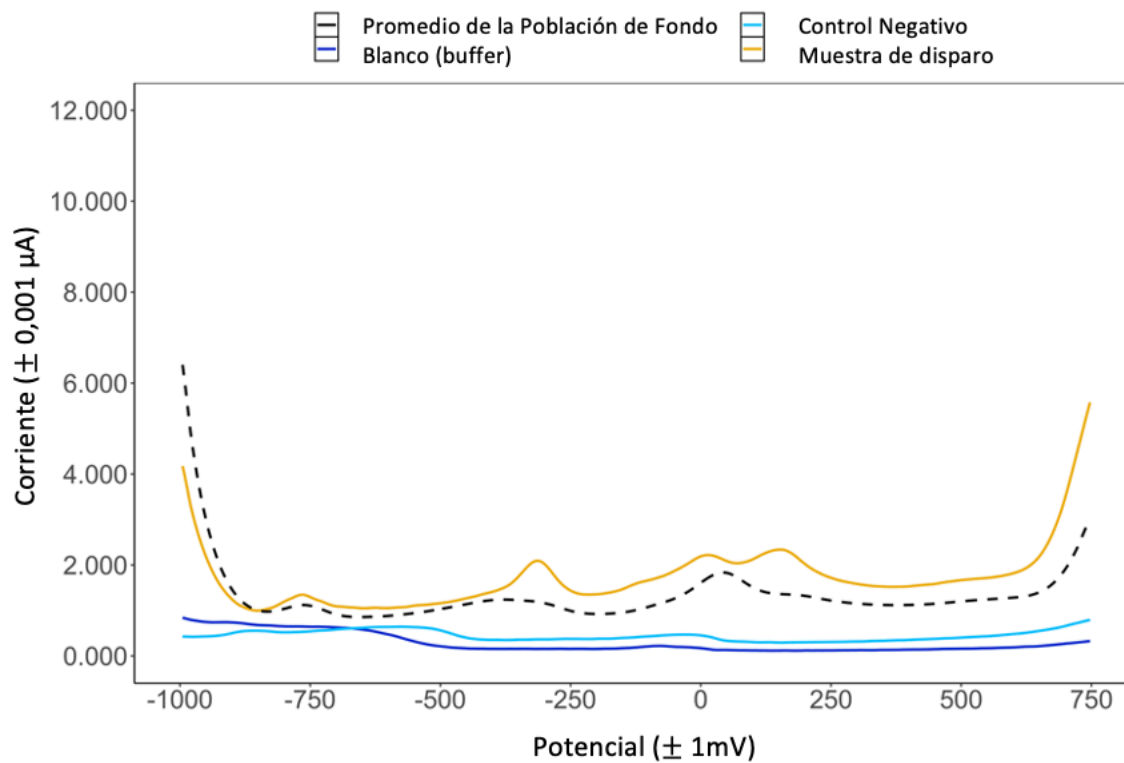
(d)

**Anexo 8.** Voltamperogramas de las muestras de pistola Springfield XD9, cartucho Winchester 200 rondas 9 mm empleando metodología de la gota con electrodo de carbón modificado con película delgada de oro siendo falsos negativos: **(a)** OPT\_110619\_1\_PLH\_WIN\_EC\_drop\_LP; **(b)** OPT\_110619\_13\_PLH\_WIN\_EC\_drop\_LP y verdaderos positivos **(c)** OPT\_110619\_5\_PLH\_WIN\_EC\_drop\_LP; **(d)** OPT\_110619\_10\_PLH\_WIN\_EC\_drop\_LP

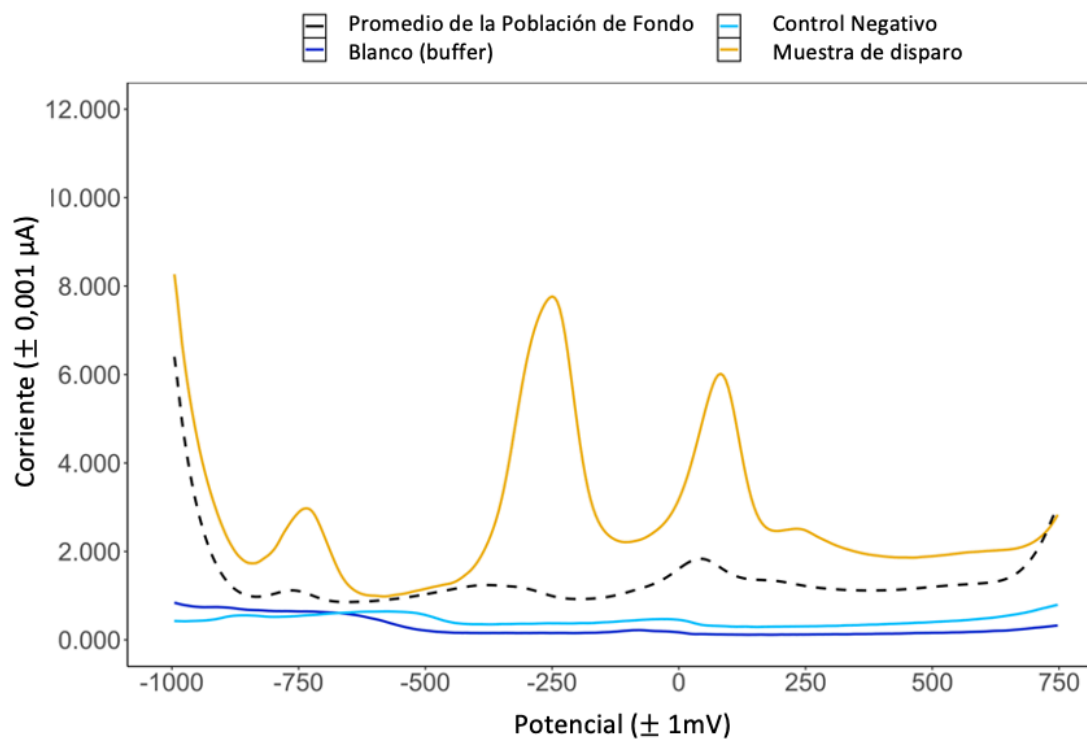
**8. Voltamperogramas de muestras de revolver Taurus Modelo 608, cartucho Cargado por el fabricante American Eagle Federal .38 special empleando metodología de la gota con electrodo de carbón modificado con película delgada de oro**



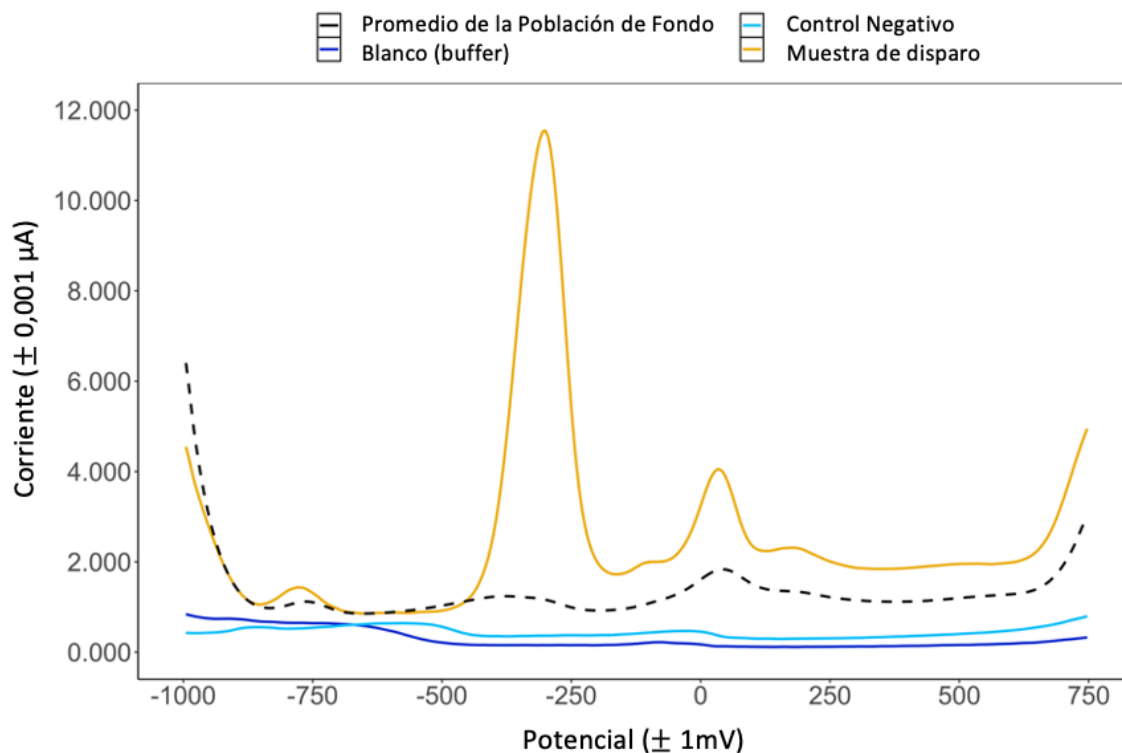
**(a)**



(b)



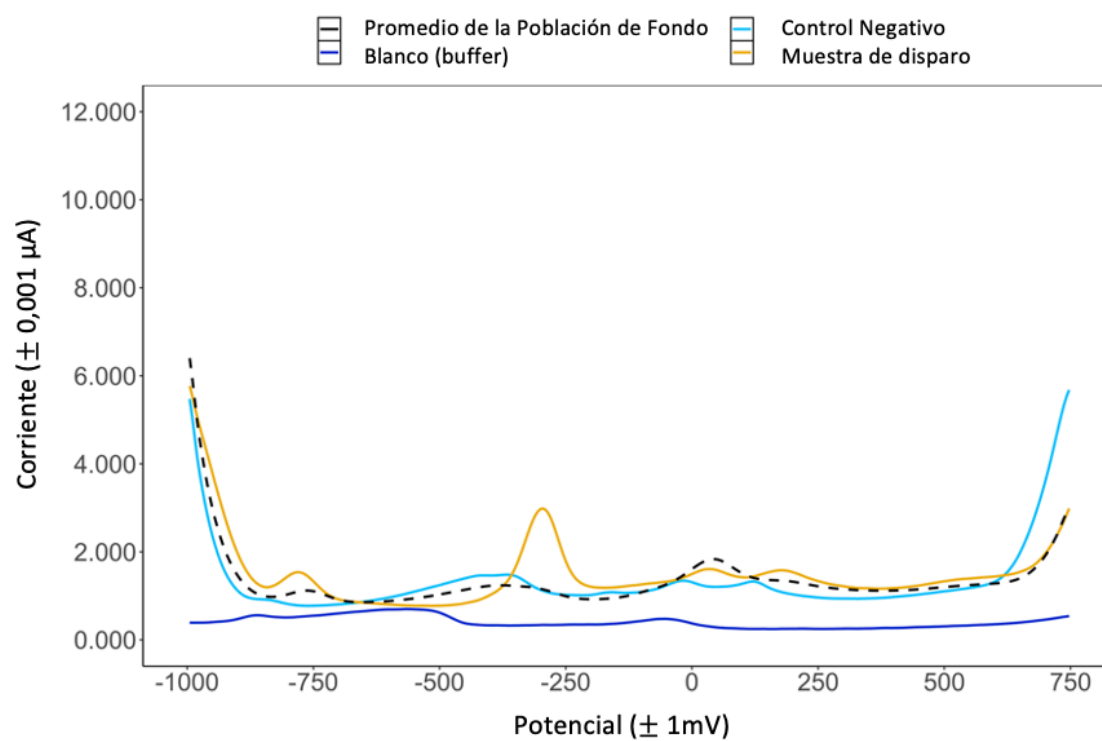
(c)



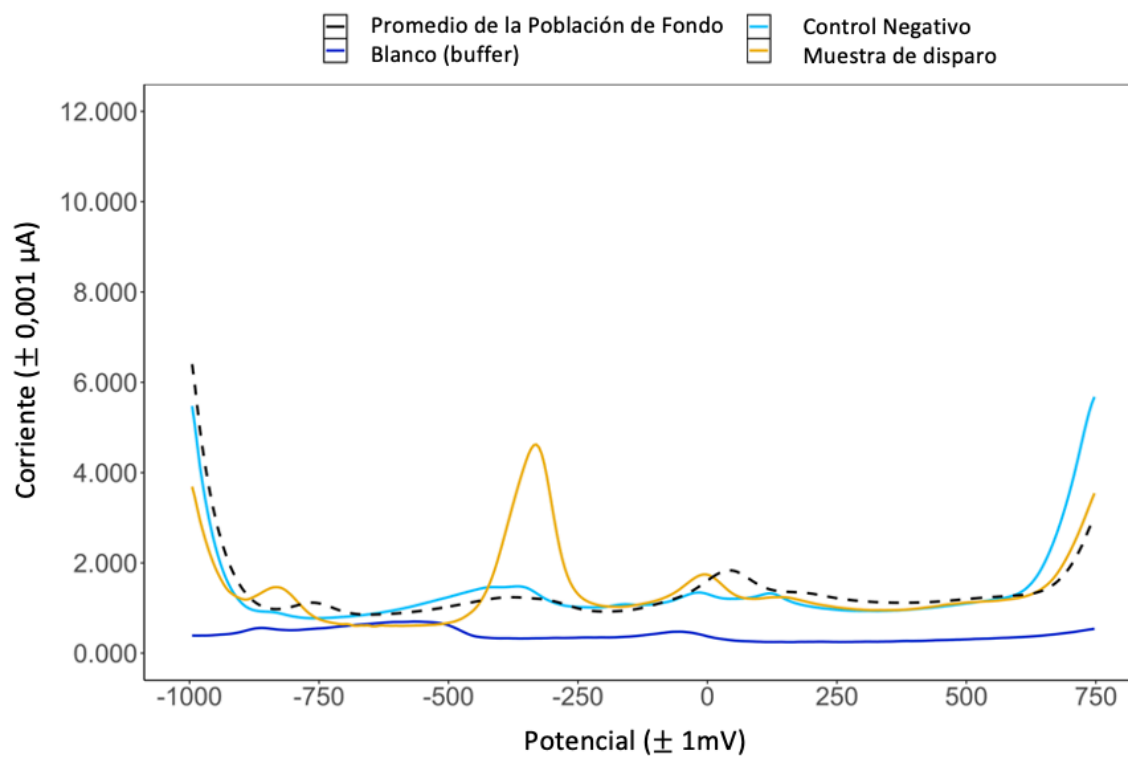
(d)

**Anexo 9.** Voltamperogramas de las de muestras de revolver Taurus Modelo 608, cartucho Cargado por el fabricante American Eagle Federal .38 special empleando metodología de la gota con electrodo de carbón modificado con película delgada de oro siendo falsos negativos: **(a)** 121019\_400\_RRH\_NAC\_SU\_LP\_EC\_drop; **(b)** 121019\_433\_RRH\_NAC\_SU\_LP\_EC\_drop y verdaderos positivos **(c)** 121019\_410\_RRH\_NAC\_SU\_LP\_EC\_drop; **(d)** 121019\_435\_RRH\_NAC\_SU\_LP\_EC\_drop

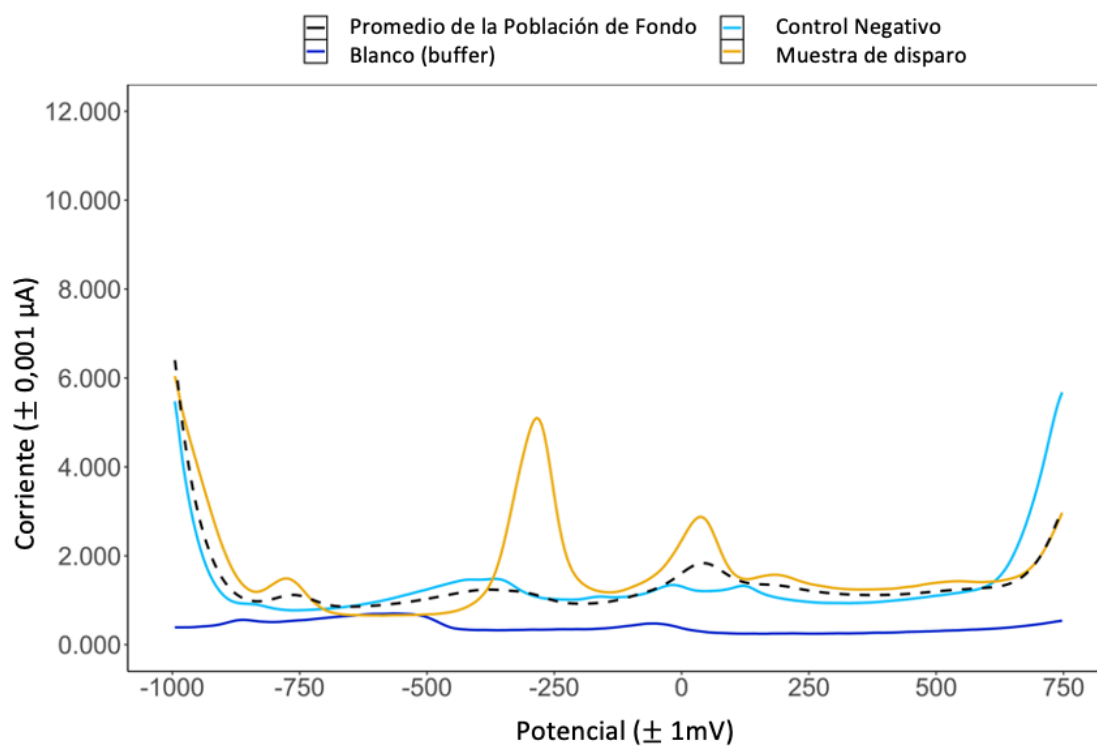
**9. Voltamperogramas de muestras de pistola Springfield XD9, cartucho Cargado por el fabricante Remington 9 mm empleando metodología de la gota con electrodo de carbón modificado con película delgada de oro**



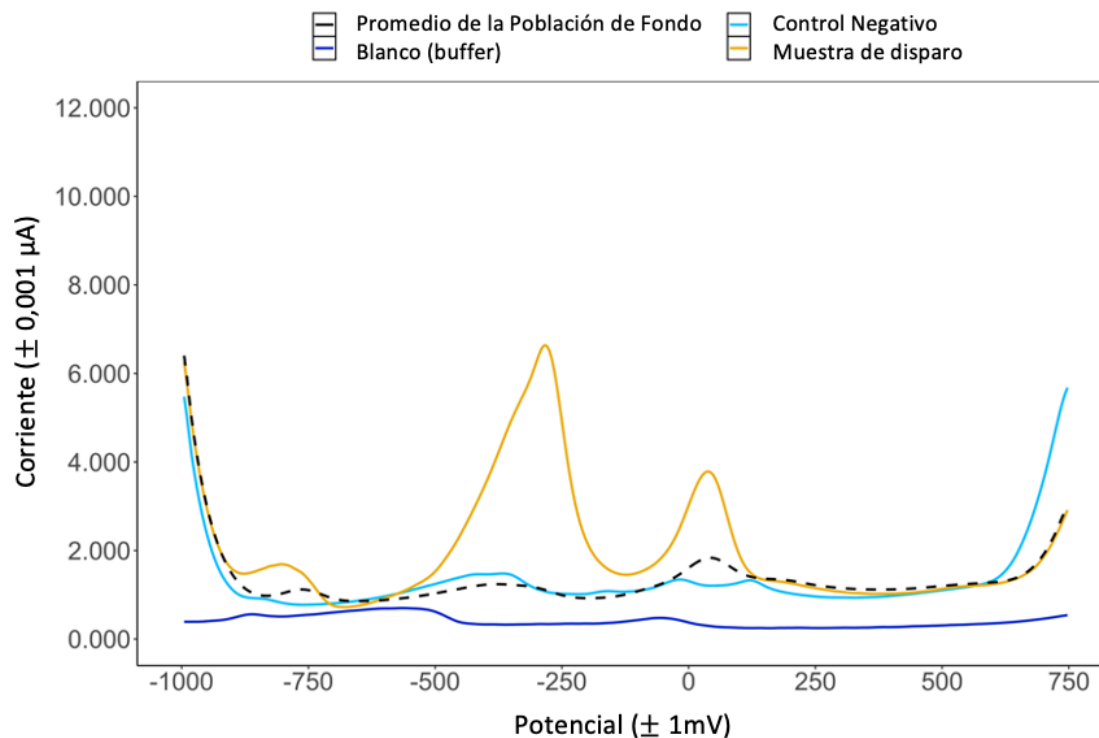
(a)



(b)



(c)



(d)

**Anexo 10.** Voltamperogramas de las de muestras de pistola Springfield XD9, cartucho Cargado por el fabricante Remington 9 mm empleando metodología de la gota con electrodo de carbón modificado con película delgada de oro siendo falsos negativos: **(a)** 121019\_453\_PLH\_NAC\_SU\_LP\_EC\_drop; **(b)** 121019\_469\_PLH\_NAC\_SU\_LP\_EC\_drop y verdaderos positivos **(c)** 121019\_465\_PLH\_NAC\_SU\_LP\_EC\_drop; **(d)** 121019\_470\_PLH\_NAC\_SU\_LP\_EC\_drop

## 10. Artículos publicados

**Anexo 11.** Artículo publicado en la revista “Journal of Forensic Sciences” en colaboración con el Laboratorio de Análisis Forenses de la Universidad de West Virginia, WV, Estados Unidos



Paper |  Full Access

### Evaluation of the Simultaneous Analysis of Organic and Inorganic Gunshot Residues Within a Large Population Data Set Using Electrochemical Sensors<sup>\*,†</sup>

Colby E. Ott M.S., Kourtney A. Dalzell B.S., Pedro José Calderón-Arce M.S., Ana Lorena Alvarado-Gómez Ph.D., Tatiana Trejos Ph.D., Luis E. Arroyo Ph.D. 

First published: 25 August 2020 | <https://doi.org/10.1111/1556-4029.14548> | Citations: 2

\* Presented in part at the 72nd Annual Scientific Meeting of the American Academy of Forensic Sciencesin, February 17-22, 2020, in Anaheim, CA.

† This project is sponsored by Award No. 2018-DU-BX-0186 from the National Institute of Justice to West Virginia University. The opinions, findings, and conclusions are those of the authors and do not necessarily reflect those of the Department of Justice.

### Abstract

The increasing demand for rapid methods to identify both inorganic and organic gunshot residues (IGSR and OGSR) makes electrochemical methods, an attractive screening tool to modernize current practice. Our research group has previously demonstrated that electrochemical screening of GSR samples delivers a simple, inexpensive, and sensitive analytical solution that is capable of detecting IGSR and OGSR in less than 10 min per sample. In this study, we expand our previous work by increasing the number of GSR markers and applying machine learning classifiers to the interpretation of a larger population data set. Utilizing bare screen-printed carbon electrodes, the detection and resolution of seven markers



(IGSR; lead, antimony, and copper, and OGSR; nitroglycerin, 2,4-dinitrotoluene, diphenylamine, and ethyl centralite) was achieved with limits of detection (LODs) below 1 µg/mL. A large population data set was obtained from 395 authentic shooter samples and 350 background samples. Various statistical methods and machine learning algorithms, including critical thresholds (CT), naïve Bayes (NB), logistic regression (LR), and neural networks (NN), were utilized to calculate the performance and error rates. Neural networks proved to be the best predictor when assessing the dichotomous question of detection of GSR on the hands of shooter versus nonshooter groups. Accuracies for the studied population were 81.8 % (CT), 88.1% (NB), 94.7% (LR), and 95.4% (NN), respectively. The ability to detect both IGSR and OGSR simultaneously provides a selective testing platform for gunshot residues that can provide a powerful field-testing technique and assist with decisions in case management.

#### **Referencia:**

Ott, C. E., Dalzell, K. A., Calderón-Arce, P. J., Alvarado-Gómez, A. L., Trejos, T., & Arroyo, L. E. (2020). Evaluation of the Simultaneous Analysis of Organic and Inorganic Gunshot Residues Within a Large Population Data Set Using Electrochemical Sensors\* · †. *Journal of Forensic Sciences*, 1556-4029.14548. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.14548>

El artículo se encuentra en la siguiente página web:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1556-4029.14548>