

MSc. MARAID SOSA

## INTRODUCCIÓN

*“Los restos microscópicos que cubren nuestra ropa y nuestros cuerpos son testigos mudos, seguros y fieles, de nuestros movimientos y de nuestros encuentros”.*

**Edmond Locard**

El análisis de residuos de disparo ha sido la premisa mundialmente utilizada para la vinculación de un individuo en un hecho punible donde se encuentra involucrada la acción de disparos por armas de fuego, con la finalidad de dotar a los administradores de justicia con una prueba basada en hechos científicos que permitan esclarecer los hechos.

Las técnicas para análisis de residuos de disparo han evolucionado a través de los años, no solo por ser relevadas por la llegada de nueva tecnología, sino por ser reemplazadas en el marco técnico-científico. Cada una de las técnicas implica el manejo de distintos tipos de instrumentación de laboratorio, así como diferentes métodos para la toma de indicios por los peritos de campo.

La Microscopia Electrónica de Barrido es una de las técnicas más versátiles en el estudio y análisis de las características microestructurales de objetos sólidos. A través del Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) se pueden observar y caracterizar superficialmente, materiales de distinta naturaleza tanto orgánicos como inorgánicos, suministrando información morfológica de los mismos.

El principio físico del MEB está basado en la generación de distintos tipos de señales electromagnéticas, generadas al hacer incidir un haz de electrones sobre los indicios y así obtener información de las características superficiales de la



misma. La principal ventaja de esta técnica es la resolución que alcanza con relación a la que se observa en la microscopía óptica. Igualmente, aporta mayor información acerca de la estructura y composición de los indicios en estudio; Otra ventaja es que es una técnica no destructiva, lo cual permite utilizarla en situaciones en la que evidencia debe ser preservada o cuando a la misma no se le puede practicar otro estudio.

La aplicación de la Microscopía Electrónica de Barrido, dentro de las áreas de la Criminalística y de las Ciencias Forenses, ha sido de gran utilidad para el análisis no destructivo o poco invasivo de indicios y microindicios que no pueden ser analizadas por otras técnicas, proporcionando no solo resultados oportunos y expeditos, sino también unificados y auditables.



## OBJETIVOS DEL APRENDIZAJE

### Objetivo General:

Instruir a los Participantes en conocimientos acerca de las incumbencias periciales y solicitudes fiscales que se realizan a través de la técnica de Microscopía Electrónica de Barrido.

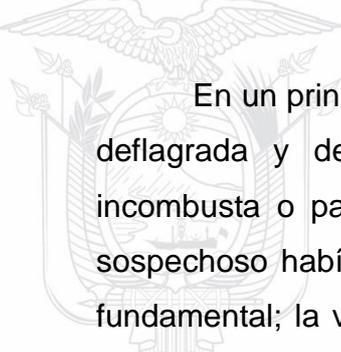
### Objetivos Específicos:

- Indicar al estudiante los conceptos y fundamentos generales relacionados con la Microscopía Electrónica de Barrido.
- Orientar al participante sobre los análisis que se realizan mediante Microscopía Electrónica de Barrido.



- Informar la manera adecuada de realizar las solicitudes fiscales para los análisis mediante Microscopía Electrónica de Barrido
- Instruir al participante sobre la recolección y preservación de microindicios para análisis de residuos de disparo a través de Microscopia Electrónica.
- Cumplir con el ordenamiento legal vigente.

### **EVOLUCIÓN DE LAS TÉCNICAS DE ANÁLISIS PARA DETERMINAR ELEMENTOS DEL PRODUCTO DEL DISPARO DE UN ARMA DE FUEGO**



En un principio, se estudiaban las características organolépticas de la pólvora deflagrada y depositada en las manos (ahumamiento y granos de pólvora incombusta o parcialmente quemada) lo que permitían al perito presumir que el sospechoso había accionado el arma. Por lo tanto, los sentidos jugaban un papel fundamental; la vista, buscando en las manos el ahumamiento (falso tatuaje) y las partículas resultantes de la deflagración (verdadero tatuaje); el olfato, tratando de captar el olor característico de la pólvora deflagrada. Por lo que la observación era el método fundamental. Sin embargo, expertos y juzgadores no se sentían satisfechos con una simple presunción; exigían resultados más serios, más sólidos, más próximos a la realidad.

### **TÉCNICAS COLORIMÉTRICAS PARA DETECTAR NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub>**

Estas pruebas o reacciones no revelan la presencia de pólvora, sino que aplican sobre cualquier sustancia oxidante, a fin de verificar la presencia de nitratos (NO<sub>3</sub>) o de nitritos (NO<sub>2</sub>). Por ello, si se obtienen resultados positivos siempre queda la incertidumbre de si los productos nitrados provienen de la deflagración de la pólvora o de otras sustancias oxidantes, por ejemplo: algunos cosméticos, tierra,

fertilizantes, blanqueadores, orina, detergentes, etc. Lo que puede traer como consecuencia un veredicto erróneo (1).

## PRUEBA DE LA PARAFINA O PARAFINOSCOPIA

El guantelete de parafina es un ensayo para determinar la presencia de los derivados nitrados depositados en la superficie de las manos que se presumía habían operado un arma de fuego, empleando en la superficie interna del guantelete, el reactivo de Guttman. En el caso de existir elementos nitrados, aparecían pequeñas comas de color azul. Lo que se interpretaba como un resultado positivo (1).

Es importante destacar que esta técnica no revela la existencia de pólvora, sino que se emplea sobre cualquier sustancia oxidante, en específico y de acuerdo con los reactivos, a fin de verificar la presencia de nitratos o nitritos, es decir, es inespecífica. El Primer Seminario sobre Aspectos Científicos de Trabajo Policiaco, celebrado en París por la INTERPOL, en 1964, acordó que dicha prueba no debería seguir empleándose por considerarla poco sensible y escasamente específica (1).

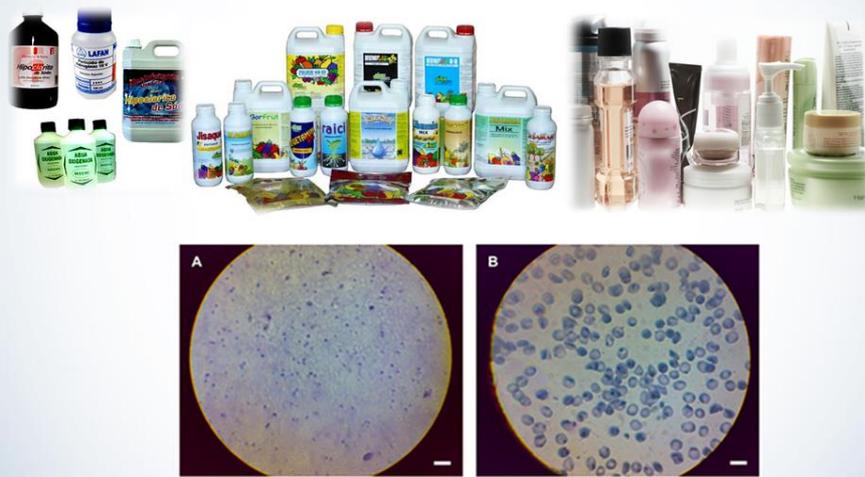


## TÉCNICA DE RODIZONATO DE SODIO

Con esta técnica ya no se buscaban los componentes de la pólvora sino los componentes del iniciador o fulminante. La técnica del rodizonato de sodio es utilizada para revelar plomo y bario en las manos de un individuo, elementos integrantes del fulminante del cartucho. H. C. Harrison y R. Gilroy, en 1959, publicaron en la *Revista Americana de Ciencias Forenses* una técnica para detectar bario y plomo mediante rodizonato de sodio, la detección de antimonio, la realizaban mediante trifenil arsonio. Una de las ventajas de esta prueba consiste en su baja incidencia de “falsas positivas”, señaló Charles R. Midkiff Jr.; sin embargo, uno de sus inconvenientes, apunta Di Maio, consiste en su limitada sensibilidad, además que no diferencia entre la presencia de las aleaciones o las partículas de los elementos por separado, lo cual es fundamental para la caracterización de residuos de disparo.

### FALSOS POSITIVOS.

Agentes que pueden arrojar resultados erróneos en las pruebas colorimétricas





## TÉCNICAS INSTRUMENTALES

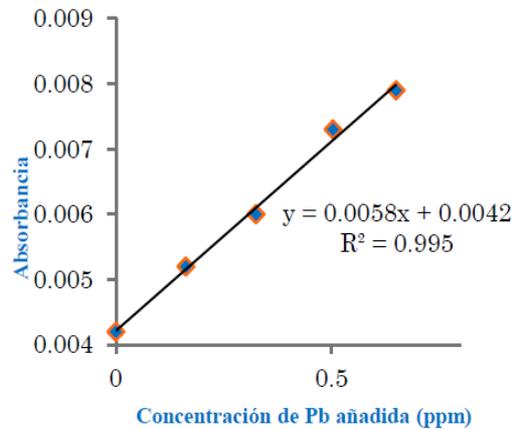
De las técnicas colorimétricas cualitativas, se pasó a la aplicación de técnicas fisicoquímicas (instrumentales), que además de identificar bario, plomo y antimonio precisan sus cantidades, fijando determinados parámetros, pasando de esta manera a la etapa de las precisiones. Entre las más aplicadas se tienen:

### ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA SIN FLAMA

Esta técnica se resalta principalmente, por su muy elevada sensibilidad y especificidad, conforme con ello su baja ocurrencia de “falsos positivos”. La desventaja de que si se aplica algunas horas después de haber disparado el arma de fuego, la incidencia de “falsos negativos” aumentada, llegando ello al máximo después de las ocho horas (2).

El empleo de esta técnica es común en los laboratorios de criminalística de la Unión Americana, por la facilidad de análisis, adecuada sensibilidad y bajo costo.

## CURVA CARACTERÍSTICA OBTENIDA DEL ANÁLISIS



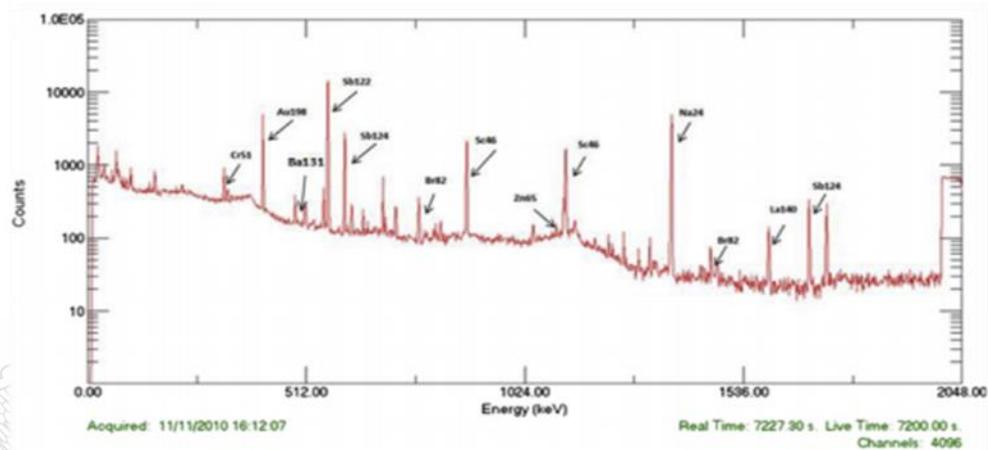
## EQUIPO UTILIZADO PARA EL ANÁLISIS



## ANÁLISIS POR ACTIVACIÓN DE NEUTRONES (NAA)

Esencialmente se caracteriza por su elevada sensibilidad y, consiguientemente, su baja incidencia de “falsos positivos”. No obstante, al igual que las técnicas ya indicadas, tiene el como limitante de que si no se aplica pocas horas después de haberse efectuado el disparo por arma de fuego, la incidencia de “falsos negativos” es muy elevada. Otro inconveniente es que no identifica plomo, solo identifica y cuantifica bario y antimonio (2).

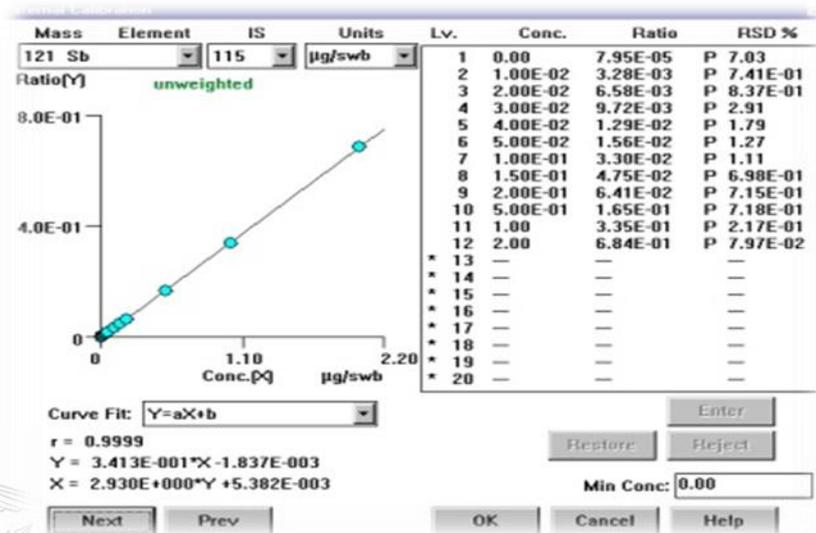
## ESPECTRO CARACTERÍSTICO OBTENIDO POR NAA PARA TRAZAS DE DISPAROS



## PLASMA INDUCTIVAMENTE ACOPLADO A ESPECTROMETRÍA DE MASAS (ICP-MS)

Es una técnica de análisis inorgánico idónea para detectar y cuantificar la mayoría de los elementos de la tabla periódica, entre ellos el plomo, el bario y el antimonio. Es importante enfatizar que sólo para establecer que una persona está involucrada en la acción de un disparo se debe determinar (morfología, tamaño y brillo), así como su composición (estelionato de plomo, nitrato de bario y sulfato de antimonio), dentro de rangos establecidos (1-2).

## RESULTADOS OBTENIDOS DEL ESTUDIO ICP-MS



EQUIPO ICP-MS



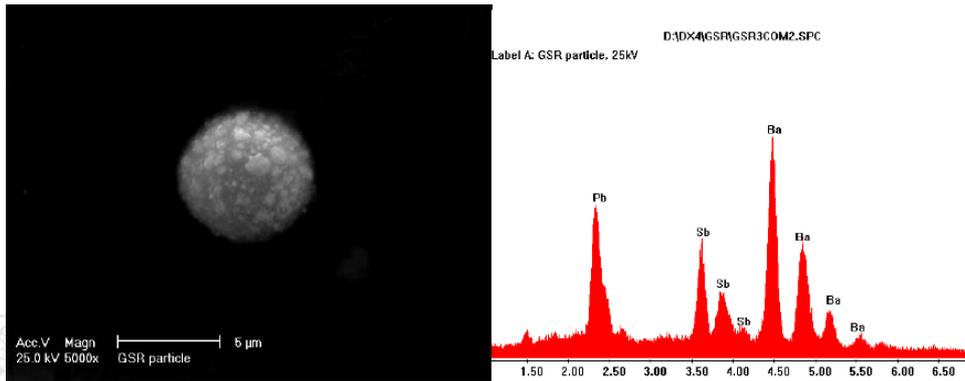
## MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO CON ENERGÍA DISPERSIVA DE RAYOS X (MEB-EDX)

Mediante el microscopio electrónico de barrido, los residuos del disparo son identificados a través de su morfología, tamaño y brillo, así como su composición



química es determinada mediante espectrometría de energía dispersiva de rayos X. Esta técnica requiere de centros especializados y personal calificado, elevando considerablemente su costo.

### Resultados Obtenidos por MEB-EDX



### Equipo MEB-EDX



## TÉCNICAS INSTRUMENTALES VS TÉCNICAS COLORIMÉTRICAS

### TÉCNICAS INSTRUMENTALES

- Muestran señales características para cada elemento (Especificidad)
- Estudio de las cantidades de los elementos presentes.
- Imágenes acompañadas de espectros dando la certeza del estudio (MEB).
- Requieren instrumentos costosos y personal calificado.

### TÉCNICAS COLORIMÉTRICAS

- La colección de muestras puede ser invasiva.
- No son específicas por lo que se aumentan las probabilidades de resultados erróneos.
- Son pruebas cualitativas, no especifican cantidades.
- No requieren equipos instrumentales, pero si reactivos y personal calificado.

## DESARROLLO HISTÓRICO DE LA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

En 1872 Ernest Abbe explicó el por qué un microscopio de luz, aún con la óptica más fina, es incapaz de superar la resolución de  $0.2 \lambda$  (2). Esto se debe a la longitud de onda de la luz ( $\lambda$ ), ya que la resolución se define como  $\lambda / 2 NA$ ; donde NA; es la abertura numérica del lente objetivo. Conforme con ello, sólo se lograría aumentar la resolución si se disminuyera  $\lambda$ .

En 1934 Ernest Ruska, logró este cometido cuando presentó su primer microscopio electrónico, haciendo uso de un haz de electrones en vez de luz y electroimanes como lentes. El camino de Ruska había sido preparado por una serie de inventos y descubrimientos que arbitrariamente pueden ser enumerados desde mediados de 1850: El tubo de Geissler (Geissler 1850), tubo de rayos catódicos (Goldstein 1855), la pantalla fluorescente (Braun 1897) y el efecto concentrante de



los campos magnéticos sobre el haz electrónico (Wiechert, 1899, Gorber 1924). Este último fenómeno fue interpretado por Buch, quien hizo un parangón entre una lente de vidrio y una “lente electromagnética”, lo cual dio base a los experimentos de Ruska en la construcción de un microscopio electrónico (ME) (3,4,5,6).

El primer ME comercial, diseñado por Ruska, fue lanzado al mercado por Siemens en 1939. Ello sirvió de estímulo para que otros países se abocaran a esta línea de trabajo y así comenzaron a aparecer prototipos en los Estados Unidos 199 de América, Inglaterra, Francia, Canadá y Japón (5).

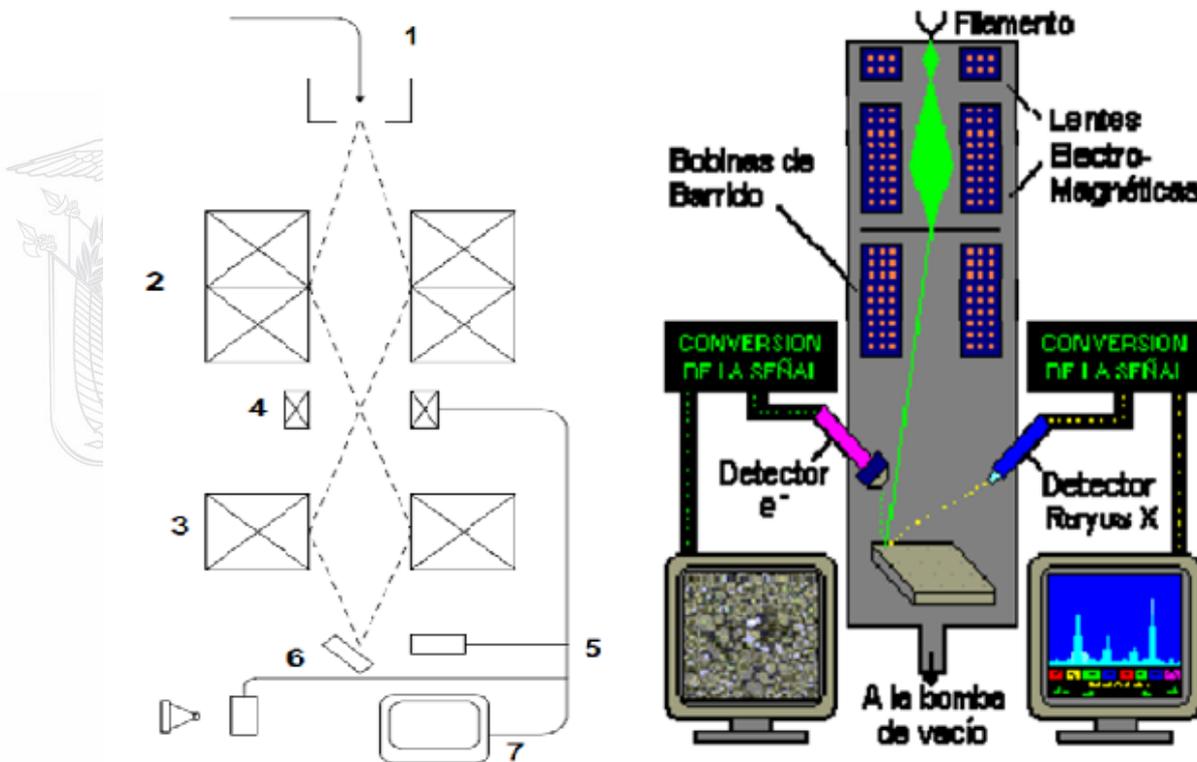
Fundamentalmente existen dos tipos de microscopio electrónico, el de transmisión (MET) y el de barrido (MEB). Con el primero se puede hacer un comparación con un microscopio de luz (ML) y con el segundo con un microscopio estereoscópico o de disección. La razón es que el MET utiliza los electrones transmitidos. La imagen obtenida, al menos por los métodos convencionales es plana. El MEB utiliza los electrones dispersados a partir de la superficie de los indicios, ya sean secundarios o retrodispersos. En este caso, el espécimen puede ser tan voluminoso como un fragmento de tejido, un insecto, etc. y la imagen obtenida es de tipo tridimensional.

## PRINCIPIOS FÍSICOS DE LA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

Mediante un Microscopio Electrónico de Barrido se puede observar la topografía de una muestra utilizando los electrones secundarios producidos por la interacción de un haz de electrones de alta energía con la muestra. Además de la emisión de electrones secundarios, la interacción haz – muestra produce otras señales como: retrodispersión de electrones, producción de rayos X, electrones Auger, cátodo luminiscencia, etc.,. Los microscopios electrónicos recientes combinan una serie de detectores para analizar las distintas señales que se generan.

La formación de imágenes en un Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) se utiliza la señal de electrones secundarios; que son generados por la interacción inelástica del haz primario con la muestra. A continuación, se indica el esquema y una imagen de un Microscopio Electrónico de Barrido (M.E.B.)

## ESTRUCTURA DEL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO



Los elementos que lo conforman son:

1. Cañón de electrones, en este se genera el haz de electrones de alta energía.
2. Lente condensador, ayuda a converger el haz y disminuir su tamaño.



3. Lente Final, converge y disminuye el haz para que éste incida sobre la muestra.
4. Bobinas deflectoras, permiten el barrido del haz sobre la muestra.
5. Detector de electrones secundarios, capta una parte de los electrones secundarios decodificándolos y amplificándolos para formar la imagen en la pantalla o monitor.
6. Muestra, elemento a ser analizado.
7. Pantalla o Monitor, permite la observación la muestra ampliada (8).

## MICROSCOPIA ELECTRÓNICA APLICADA A LA CRIMINALÍSTICA Y LAS CIENCIAS FORENSES.

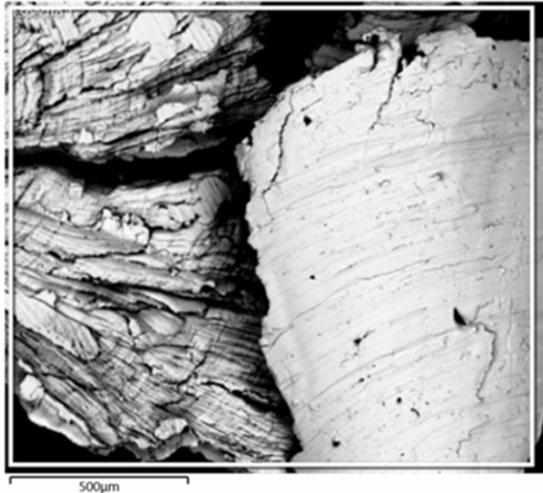
La aplicación de la Microscopia Electrónica de Barrido, dentro de las áreas de la Criminalística y de las Ciencias Forenses, se ha convertido en los últimos años, en una práctica de uso casi rutinario para el análisis de evidencias, proporcionando no solo resultados oportunos y expeditos, sino también unificados y auditables.

### PERITAJES REALIZADOS UTILIZANDO MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

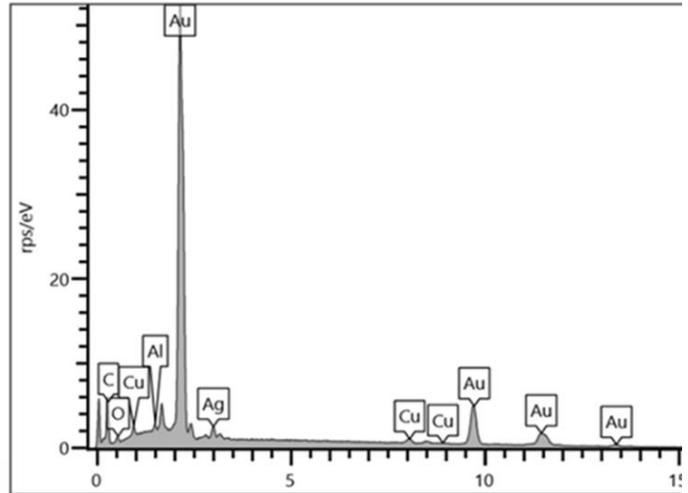
**Análisis Químico Elemental:** se realiza a través de electrones retrodispersados y rayos X característicos, mediante las cuales, puede obtenerse información analítica sobre la composición química de las evidencias, de manera cualitativa y semi-cuantitativa.

### REPORTE DE ANÁLISIS QUÍMICO ELEMENTAL

Micrografía de muestra metálica

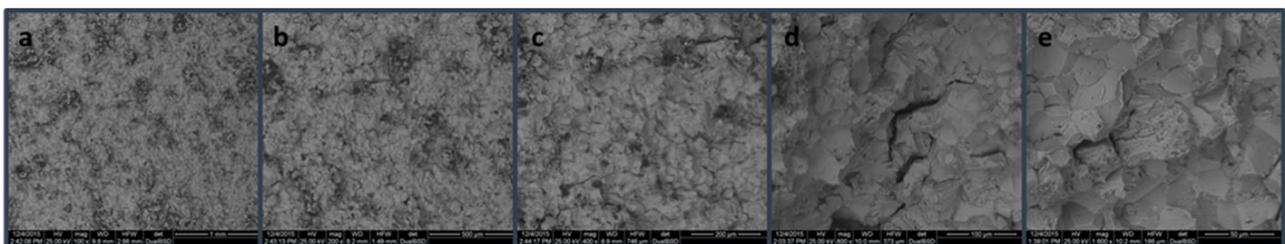


Espectro del análisis químico elemental de la muestra metálica



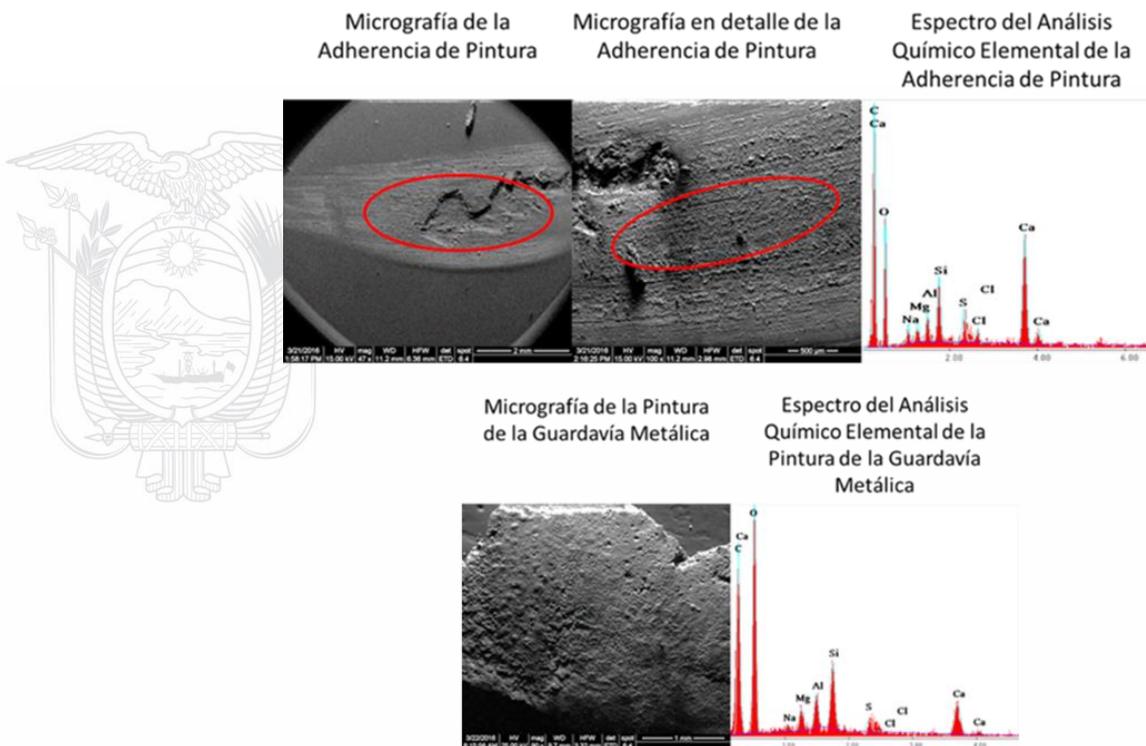
**Análisis Morfológico y Estructural:** Determinar características superficiales, a través del procesamiento de las imágenes obtenidas de los indicios. Este análisis permite observar la topografía de un objeto de estudio, utilizando los electrones secundarios producidos por la interacción de un haz de electrones de alta energía con el objeto de estudio.

### *Análisis de fallas en componentes metálicos*



**Fuente Común de Origen:** Determinar la relación entre un indicio problema y el espécimen de control, mediante el análisis químico y/o el análisis morfológico. Mediante el Análisis Químico Elemental, pueden determinarse similitudes o diferencias en la composición química superficial de los indicios, con la finalidad de

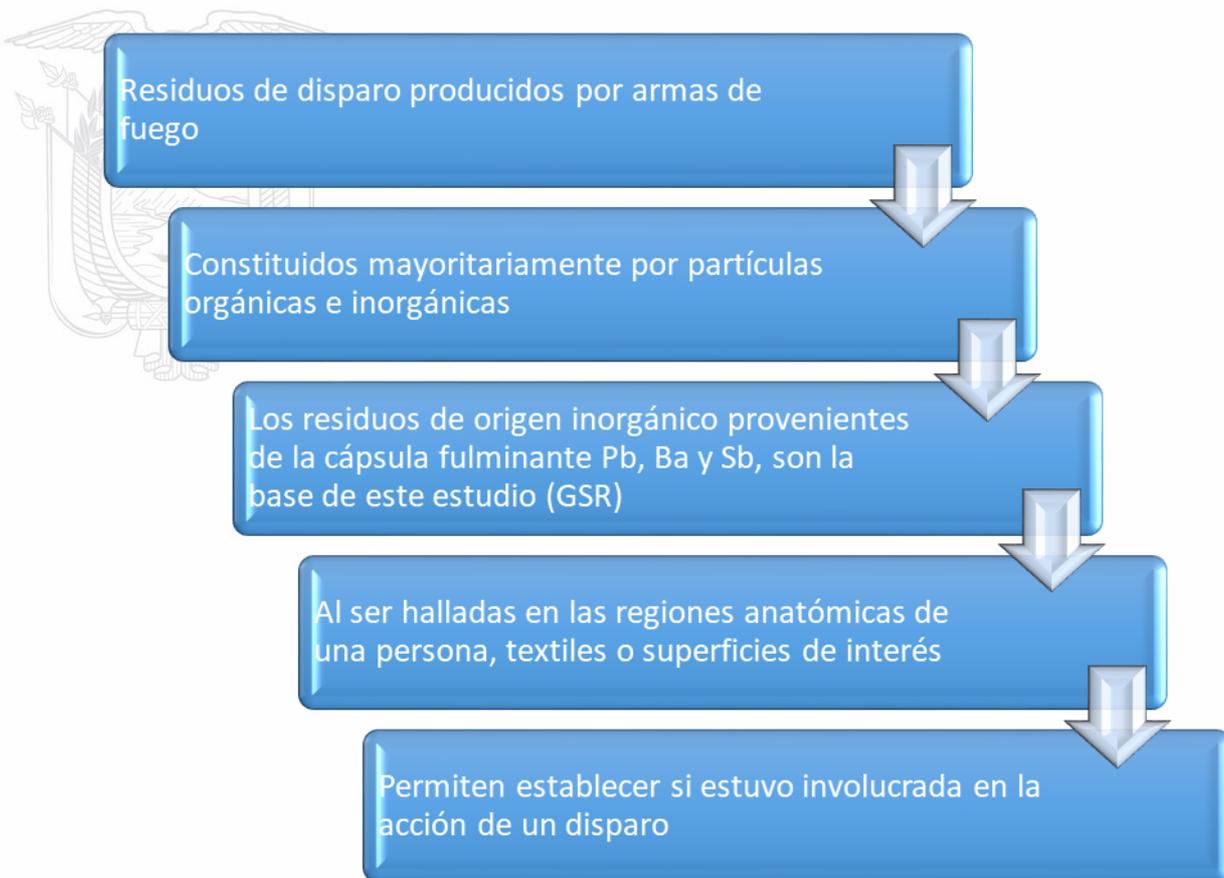
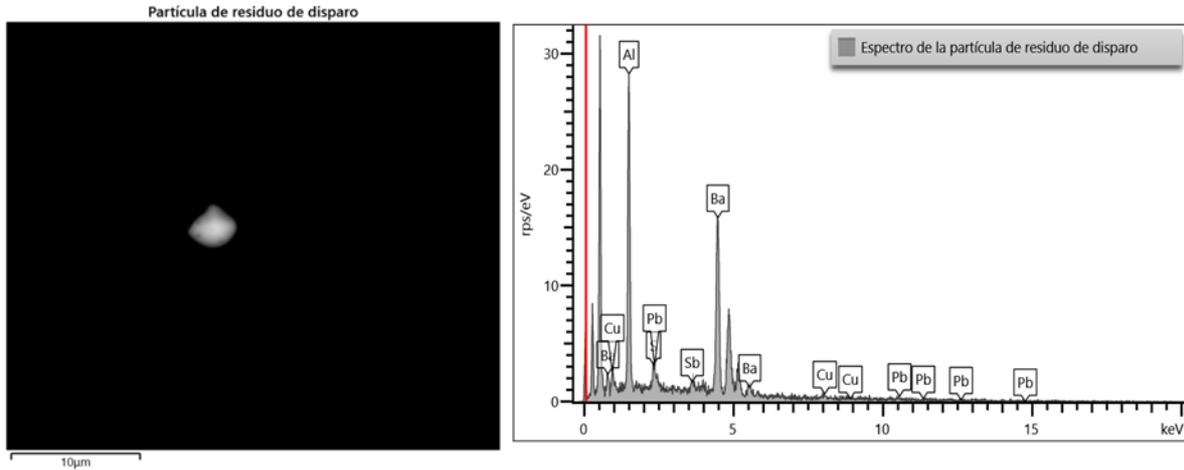
determinar fuente común de origen. Por ejemplo, atendiendo al principio criminalístico de intercambio o transferencia, puede tomarse el caso un vehículo impacta con el guardavía de una carretera o autopista, allí pueden compararse las características químicas de las adherencias del vehículo con las características químicas de la pintura del guardavía objeto de estudio, a los fines de determinar que efectivamente dicho vehículo impactó con el guardavía.



**Análisis de Residuos de Disparo:** Determinar la presencia de partículas constituyentes del fulminante del cartucho para armas de fuego, en regiones anatómicas de individuos o en superficies físicas.



## RESULTADO DE UN ANÁLISIS DE RESIDUOS DE DISPARO POSITIVO





## KIT Y TOMA DE MICRO INDICIOS PARA ANÁLISIS DE RESIDUOS DE DISPARO

**Kit para toma de micro indicios:** La toma de micro indicios para análisis de residuos de disparo por Microscopía Electrónica de Barrido, mediante microsonda de energía dispersiva (M.E.B. / E.D.X.), se realizará con la utilización de un KIT estandarizado a nivel mundial, el cual está conformado por los siguientes elementos, que se encuentran contenidos en dos (02) fundas plásticas con cierre hermético:

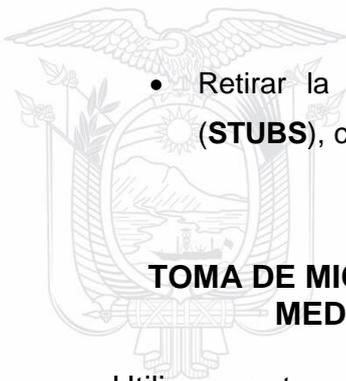




## Procedimiento previo a la toma de micro indicios para análisis de residuos de disparo.

El técnico especialista debe realizar los siguientes pasos:

- Colocarse los guantes desechables de manera que se evite el roce con cualquier tipo de superficie, que pueda provocar u ocasionar su contaminación, para posterior:
- **Verificación:** Proceder a verificar que el **KIT** se encuentre completo, es decir contenga los dos (02) **STUBS** y su respectiva la **FICHA DE RECOPIACIÓN DE DATOS**.
- Retirar la **FICHA DE RECOPIACIÓN DE DATOS**, los dos (02) dispositivos (**STUBS**), con su respectiva funda plástica.



### TOMA DE MICRO INDICIOS PARA ANÁLISIS DE RESIDUOS DE DISPARO MEDIANTE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

-Utilice guantes quirúrgicos antes de comenzar a realizar el procedimiento, a fin de evitar contaminaciones.

-Verificar que el KIT se encuentre completo, es decir contenga los dos (02) Stubs, dos fundas plásticas (02) y la FICHA DE RECOPIACIÓN DE DATOS.

-Retirar la FICHA DE RECOPIACIÓN DE DATOS, los dos (02) dispositivos (Stubs), con su respectiva funda plástica.

-Tomar el primer dispositivo (Stub) sujetarlo por su parte inferior (base plástica) y retirar la cubierta de acrílico protectora transparente (tapa).



-Para el caso de regiones anatómicas, en el caso de condiciones óptimas, el tiempo máximo de colección es hasta 6 horas luego de ocurrido el suceso. No colecte luego de transcurrido este tiempo para evitar falsos negativos.

-Empleando las pinzas adecuadas, separar y desechar la película de plástico protectora de color blanco, gris o transparente (en caso que esta estuviese presente y desecharla), de manera que quede expuesta la lámina adherente de carbono (negro) en la superficie metálica del Stub, evitando dañar o desprender esta última en el procedimiento.

-Seleccionar la región anatómica u otra superficie de interés criminalístico para la recolección. En el caso de regiones anatómicas (Ej. manos) utilice un dispositivo para cada mano (región dorsal).

-Con el soporte metálico colocado en su base realizar una serie de presiones de forma continua sobre la superficie seleccionada, de manera que la película de carbono haga contacto físico y uniforme con la superficie. Realizar las presiones hasta que la película pierda su capacidad adherente, nunca se debe recolectar por arrastre.

-Colocar la cubierta de acrílico (tapa) para proteger la película de carbono en la superficie metálica del Stub.

-Rotular en la etiqueta del Stub especificando la zona en la cual fue recolectado.

-Si se requiere o se considera necesario, tomar muestras en otra área de interés como vehículos, prendas de vestir, o cualquier otra superficie, proceda de igual forma con otro Stub, utilizando un dispositivo para cada área.



-Llene correctamente la FICHA DE RECOPIACIÓN DE DATOS, con la información que se haya obtenido del caso, evitando en la medida de lo posible dejar de plasmar la información solicitada.

-Colocar dentro de la funda plástica grande, la FICHA DE RECOPIACIÓN DE DATOS y la funda plástica pequeña que contiene los dos (02) Stubs, con las muestras recolectadas.

-Emballar y etiquetar la funda plástica grande para su preservación y traslado al Centro de Acopio.

-Elaborar el correspondiente REGISTRO DE CADENA DE CUSTODIA.

### LIMITACIONES DE LA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

- Se requiere de infraestructura y condiciones adecuadas para su instalación.
- Son equipos con un costo muy elevado.
  - Las imágenes son reproducidas en blanco y negro.
  - Trabaja en condiciones de alto vacío.
  - Alguno de estos equipos requiere el consumo de Nitrógeno líquido y/o gaseoso.
  - Requieren de personal calificado para su operación.
  - Algunos de ellos requieren el tratamiento previo de muestras de origen orgánico.
  - Elementos químicos de baja energía, no pueden ser captados.



## CONCLUSIONES

La Microscopía Electrónica, es una herramienta no destructiva de apoyo de gran importancia para el esclarecimiento en cuanto al origen y naturaleza de dichos indicios, así como en situaciones donde no pueden ser examinadas por otra técnica. De esta manera la Microscopia Electrónica, contribuye en garantizar la eficiencia en la administración de justicia, en aras de dar respuesta efectiva de los peritajes realizados.

## BIBLIOGRAFÍA

(1) Rafael Moreno González. (2009). BREVE EXAMEN CRÍTICO DE LAS TÉCNICAS APLICADAS PARA DETERMINAR LA AUTORÍA DE DISPAROS DE ARMAS DE FUEGO. DE LA PRESUNCIÓN A LA CERTEZA. mayo 20, 2009, de Biblioteca Jurídica Virtual del Instituto de Investigaciones Jurídicas de la UNAM Sitio web: <file:///G:/31.pdf>

(2) Abbe, E. (1878). Bericht Uber die wissenschaftlichen apparate auf der Londoner international en Ausstellung in Jahre 1876. Braunschweig: Hoffmann, A.W. (ed.).

(3). Afzelius, B.A. (1981) Half a century of electron microscopy: The early years. Ultrastruct Pathol.; 2:309-311.

(4) Freundlich, M.M. (1963) Origen of the electron microscope. Science; 18:185-188.



(5) Meek, G. A. (1976) The development of the Electron Microscope. En: Practical electron microscopy for biologists 2nd Ed. John Wiley & Sons, London; 43-75.

(6) Ruska, E. (1980) The early development of electron lenses and electron microscopy S. Hinel Verlag Stuttgart; 121-123.

(7) Woolfson, M. M. & Zimon, J. M. (1972) The Scanning electron microscope. Cambridge Monographis on Physics. Cambridge University Press; 1-194.

(8) Urbina C., Rodríguez P., Finol H., Mérida T. & Ogura M. (1997). Microscopio Electrónico de Barrido. En INTRODUCCIÓN A LA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA - GUÍA TEÓRICO-PRÁCTICA-(pp. 18-20). Caracas: UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE BIOLOGÍA CENTRO DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA.

