



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**INSTITUTO DE BIOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NANOCIÊNCIA E**  
**NANOBIOTECNOLOGIA**

**Formulações Lipídicas Nanoestruturadas Contendo Rodamina 6G e**  
**Curcumina: Desenvolvimento e Aplicação na Revelação**  
**de Impressões Digitais Latentes**

**MIDWAR NAZARIO RODRÍGUEZ PURGUAYA**

**BRASÍLIA-DF**

**2025**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NANOCIÊNCIA E  
NANOBIOTECNOLOGIA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Formulações Lipídicas Nanoestruturadas Contendo Rodamina 6G e  
Curcumina: Desenvolvimento e Aplicação na Revelação  
de Impressões Digitais Latentes**

**MIDWAR NAZARIO RODRÍGUEZ PURGUAYA**

**Orientador: Prof. Dr. Sebastião William da Silva**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nanociência e Nanobiotecnologia da Universidade de Brasília, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Nanociência e Nanobiotecnologia.

**BRASÍLIA-DF**

**2025**

*Dedico esta dissertação à minha esposa Sayda, aos meus pais Midhuar e Giovanna, aos meus irmãos Toño, Badi e Kalet, e à minha filha Danna, que são o suporte do meu coração e de toda a minha vida, a motivação que me inspira a seguir em frente. Amo vocês com todo o meu coração.*

## AGRADECIMENTOS

Antes de tudo, quero agradecer a Deus Todo-Poderoso por me dar a oportunidade de realizar um dos meus sonhos mais desejados, por me acompanhar nos momentos de solidão e tristeza durante as noites de estudo, por me dar a força que me faz levantar a cabeça e seguir em frente, por me dar esperança quando pensei que tudo estava perdido, pois o que é impossível para o homem é possível para Deus.

Agradeço à minha esposa **Sayda**, a mulher da minha vida, que sempre me motivou a seguir em frente e nunca desistir. A única mulher, depois da minha mãe, que esteve ao meu lado nos momentos mais caóticos da minha vida. A mulher que Deus colocou no meu caminho e com quem quero envelhecer, pois se ela está ao meu lado nos meus fracassos, quero que esteja sempre ao meu lado nos meus sucessos.

Agradeço à minha mãe, **Giovanna Puruhuaya**, por me ensinar a ser perseverante, a nunca desistir, a não perder a fé em Deus nos bons e maus momentos, ensinando-me o valor e o significado da palavra família, por ser minha primeira professora, por dedicar toda a sua juventude a mim e aos meus irmãos, e por fazer de nós os homens que somos hoje.

Agradeço ao meu pai, o **Suboficial Superior da Polícia Nacional do Perú, Midhuar Oscar Rodriguez Martell**. Sinto-me muito orgulhoso de ser filho de um suboficial da Polícia Nacional do Perú e neto de um **Sargento Segundo (r) da Benemérita Ex-Guarda Civil do Perú, Nazario Alipio Rodríguez Barahona**.

Agradeço aos meus irmãos **Toño, Badi e Kalet**, que são uma grande parte do meu coração, lembrando os momentos mais felizes que passamos juntos. Apesar de agora sermos adultos, nunca deixamos de nos ver como as crianças que fomos um dia. Sempre estamos dispostos a estender a mão um ao outro nos momentos difíceis, sempre unidos.

Ao meu orientador, **Prof. Sebastião William Da Silva**, por me dar a oportunidade de ser seu aluno, por confiar em mim e compartilhar seu conhecimento, ajudando-me a me tornar um profissional melhor e abrindo portas para melhores oportunidades na minha carreira.

Ao **Prof. Fermín Herrera Aragón**, porque, mesmo sem me conhecer bem, nunca esquecerei o dia em que me deu a confiança e a oportunidade de estudar nesta prestigiada **Universidade de Brasília**.

À **UnB**, pela oportunidade de ser aluno **PPGNANO**.

À Polícia Nacional do Perú, por este período de missão de estudos. **Deus, Pátria, Lei**.

*“Por isso não tema, pois estou com você; não tenha medo, pois sou o seu Deus. Eu o fortalecerei e o ajudarei; eu o segurarei com a minha mão direita vitoriosa” **Isaías 41:10***

## RESUMO

O estudo teve como objetivo desenvolver, caracterizar e avaliar a eficácia de diferentes formulações reveladoras de impressões digitais latentes, comparando formulações recém-preparadas e envelhecidas. As formulações foram baseadas em nanopartículas (NPs) lipídicas luminescentes contendo fluoróforos orgânicos (rodamina 6G e curcumina), produzidas por nanoemulsificação lipídica sólida. As formulações foram caracterizadas por espectroscopia de absorção UV-Visível, Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), espectroscopia Raman, microscopia eletrônica de transmissão (MET) e espalhamento de luz dinâmico (DLS). As impressões digitais foram depositadas sobre substratos de vidro e papel plastificado colorido e reveladas com as formulações NLC/Curc e NLC/Rh6G, além de soluções tradicionais como AB40/EtOH e Rh6G/OS-M/EtOH. Foram avaliados a qualidade das imagens e a durabilidade das impressões digitais reveladas ao longo do tempo. Os resultados demonstraram que as NPs lipídicas luminescentes foram preparadas com sucesso, apresentando tamanho nanométrico e morfologia aproximadamente esférica, conforme indicado pelas análises de MET e DLS. As análises espectroscópicas mostraram que, ao contrário da curcumina, as moléculas de rodamina 6G não interagem com as moléculas formadoras da matriz lipídica. A interação da curcumina ocorre preferencialmente por meio da sua estrutura diferuloil conjugada na forma enol, em detrimento da forma  $\beta$ -diceto. Em relação a eficácia das formulações na revelação das impressões digitais latentes, observou-se que a NLC/Rh6G obteve 100% de sucesso em todo período estudado, enquanto a NLC/Curc apresentou durabilidade limitada, com as impressões desaparecendo após 120 minutos em vidro e 60 minutos em papel plastificado. Adicionalmente, foi realizada uma análise morfológica detalhada das impressões digitais, identificando características essenciais para sua classificação e identificação. Esses resultados sugerem que as NPs lipídicas luminescentes podem ser uma ferramenta promissora para aprimorar os métodos forenses de revelação de impressões digitais, oferecendo maior sensibilidade, especificidade e tempo de visualização. Além disso, o uso de NPs lipídicas luminescentes pode contribuir para reduzir a toxicidade e o impacto ambiental associados aos métodos convencionais de revelação de impressões digitais.

Palavras-chave: Ciência forense, Impressões digitais papilares, nanopartículas lipídicas, Curcumina, Rodamina 6G.

## Abstract

The study aimed to develop, characterize, and evaluate the effectiveness of different latent fingerprint revealing formulations, comparing freshly prepared and aged formulations. The formulations were based on luminescent lipid nanoparticles (NPs) containing organic fluorophores (rhodamine 6G and curcumin), produced by solid lipid nanoemulsification. The formulations were characterized using UV-Visible absorption spectroscopy, Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy, Raman spectroscopy, transmission electron microscopy (TEM), and dynamic light scattering (DLS). The fingerprints were deposited on glass and colored plastic substrates and revealed using the NLC/Curc and NLC/Rh6G formulations, in addition to traditional solutions like AB40/EtOH and Rh6G/OS-M/EtOH. The quality of the images and the durability of the revealed fingerprints over time were assessed. The results demonstrated that the luminescent lipid NPs were successfully prepared, presenting a nanometric size and approximately spherical morphology, as indicated by TEM and DLS analyses. Spectroscopic analyses showed that, unlike curcumin, rhodamine 6G molecules do not interact with the lipid matrix-forming molecules. Curcumin interacts preferentially through its conjugated diferuloyl structure in the enol form, rather than the  $\beta$ -diketone form. Regarding the effectiveness of the formulations in revealing latent fingerprints, it was observed that NLC/Rh6G achieved 100% success throughout the studied period, while NLC/Curc showed limited durability, with fingerprints disappearing after 120 minutes on glass and 60 minutes on plastic. Additionally, a detailed morphological analysis of the fingerprints was performed, identifying essential characteristics for their classification and identification. These results suggest that luminescent lipid NPs could be a promising tool to enhance forensic fingerprint revealing methods, offering greater sensitivity, specificity, and visualization time. Furthermore, the use of luminescent lipid NPs may contribute to reducing the toxicity and environmental impact associated with conventional fingerprint revelation methods.

Keywords: Forensic science, Papillary digital impressions, lipid nanoparticles, Curcumin, Rhodamine 6G.

## SUMÁRIO

CAPÍTULO 1.....	1
1. INTRODUÇÃO.....	1
CAPITULO 2.....	5
2. OBJETIVOS.....	5
CAPÍTULO 3.....	6
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	6
3.1. Dactiloscopia.....	8
3.1.1. <i>Impressões Latentes e Níveis de Características Dermopapilares</i> .....	9
3.1.2. <i>Composição química em impressões digitais latentes</i> .....	11
3.2. Técnica de Vapor de Cianocrilato para detecção de impressões digitais.....	12
3.3. Portadores Lipídicos Nanoestruturados (NLC).....	15
3.3.1. <i>Óleo de Palmiste</i> .....	15
3.3.2. <i>Manteiga de Murumuru</i> .....	18
3.3.3. <i>Surfactante Kolliphor® HS 15</i> .....	21
3.3.4. <i>Rodamina 6G</i> .....	22
3.3.5. <i>Curcumina</i> .....	23
CAPÍTULO 4.....	25
4. Metodologia.....	25
4.1. Materiais e Métodos.....	25
4.2. Formulação lipídicas nanoestruturados (NLC).....	25
4.3. Formulações de NLC/Rh6G e NLC/Curc.....	26
4.4. Caracterizações por Espectroscopia Óptica.....	28
4.4.1. <i>Espectroscopia Ultravioleta-Visível (UV-Vis)</i> .....	28
4.4.2. <i>Espectroscopia Infravermelha por Transformada de Fourier (FTIR)</i> .....	29
4.4.3. <i>Espectroscopia Raman, Fotoluminescência e Espectroscopia Raman de Superfície Melhorada (SERS)</i> .....	30
4.4.4. <i>Microscopia Electrónica de Transmissão (MET)</i> .....	32

4.4.5. <i>Dispersión Dinámica de luz (DLS)</i> .....	33
4.5. Desenvolvimento de impressões digitais latentes.....	34
4.5.1. <i>Preparação da superfície para deposição das impressões digitais</i> .....	34
4.5.2. <i>Polimerización das impressões digitais com vapor de Cianocrilato de Etila (ECA)</i> .....	35
4.5.3. <i>Coloração das impressões digitais polimerizadas</i> .....	37
4.5.4. <i>Visualização de impressões digitais latentes</i> .....	39
CAPÍTULO 5.....	40
5. Resultados e Discussões.....	40
5.1. Caracterização Morfológica das formulações de NLC/Curc e NLC/Rh6G.....	40
5.2. Caracterização óptica das formulações NLC/Curc e NLC/Rh6G.....	43
5.2.1. <i>Absorção UV-Vis e Fluorescência</i> .....	43
5.2.2. <i>Espectroscopia FTIR e Raman das formulações NLC/Cur e NLC/Rh6G</i> .....	45
5.3. Análises de impressões digitais latentes.....	51
5.4. Análise Morfológica dos Níveis de Características.....	55
CAPÍTULO 6.....	58
6. Conclusões.....	58
Perspectivas Futuras.....	59
REFERENCIAS.....	60

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: a) Cristas e vales em uma impressão digital. b) Esquema de uma seção transversal da pele na ponta do dedo.....8
- Figura 2: a) Imagem que mostra os três tipos de minúcias básicas de impressões digitais: bifurcação, terminação de crista e ponto. b) Combinações de bifurcações e terminações de cristas. Da esquerda para a direita, observa-se o que é chamado de: lago, gancho, bifurcação dupla, uma ponte e bifurcações opostas.....10
- Figura 3: Classificação das impressões digitais segundo Juan Vucetich: a) arco, b) alça interna, c) alça externa e d) verticilo; e) exemplos de minúcias encontradas em uma impressão digital; e f) o suor excretado pelos poros sudoríparos localizados nas cristas de fricção da pele .....10
- Figura 4: a) Estrutura química do ECA, b) Estrutura química do ECA polimerizada.....12
- Figura 5: a) Início e primeira propagação da polimerização do ECA, b) Deslocalização da carga negativa, estabilizando o intermediário de reação, c) Etapa de propagação no processo de polimerização, d) Terminação da reação de polimerização.....14
- Figura 6: Micrografia eletrônica dos depósitos fibrosos formados pelo vapor de CA.....14
- Figura 7: Estrutura do triglicerídeo (TG), onde sn-1, sn-2 e sn-3 são as posições estereoquímicas dos radicais de ácidos graxos ligados ao glicerol.....16
- Figura 8: Ácidos graxos que compõem a estrutura de esterificação com o glicerol para a formação de triglicerídeos na estrutura química do óleo de palmiste: a) ácido caprótico, b) ácido caprílico, c) ácido cáprico, d) ácido láurico, e) ácido mirístico,

f) ácido palmítico, g) ácido esteárico, h) ácido oleico, i) ácido aracídico, j) ácido linoleico.....18

Figura 9: Ácidos graxos que compõem a estrutura de esterificação com o glicerol para a formação de triglicerídeos na estrutura química do óleo de palmiste: a) ácido caprílico, b) ácido cáprico, c) ácido láurico, d) ácido mirístico, e) ácido palmítico, f) ácido esteárico, g) ácido oleico, h) ácido aracídico, i) ácido linoleico.....20

Figura 10: Estrutura Molecular do surfactante Kolliphor ® HS 15, descrevendo os principais grupos funcionais de sua estrutura.....21

Figura 11: Estrutura Molecular da Rodamina 6G, descrevendo os principais grupos funcionais de sua estrutura.....23

Figura 12: Estrutura Molecular da Curcumina, descrevendo os principais grupos funcionais de sua estrutura.....24

Figura 13: Diagrama da formulação NLC/Drug obtido a partir da inversão de fase por variação de temperatura.....26

Figura 14. Esquema de síntese da formulação de NLC/Rh6G.....27

Figura 15: Espectrofotômetro UV-Vis Shimadzu UV-2600 do laboratório de Espectroscopia Óptica do Instituto de Física da UnB.....28

Figura 16: Espectrofotômetro FTIR Vertex 70 do laboratório de Espectroscopia Óptica do Instituto de Física da UnB.....30

Figura 17: Espectrômetro Raman Horiba modelo LabRAM HR Evolution do laboratório de Espectroscopia Óptica do Instituto de Física da UnB.....30

Figura 18: (a) sistema de eletrodeposição por corrente contínua para deposição iônica de  $Ag^+$  em substratos de prata; em (b) é exibida a célula eletrolítica cátodo-ânodo; em (c) é mostrado duas placas com estrias verticais, com aproximadamente 25% de sua área recobertas com NPs de Ag.....32

Figura 19: Microscópio Eletrônico de Transmissão JEOL JEM 1011 do Laboratório de Microscopia e Microanálise do Instituto de Biologia da UnB.....33

Figura 20: Equipamento Zetasizer Nano Series (*Malvern Instruments, Malvern, Inglaterra*) do laboratório da Faculdade de Ciências da Saúde da UnB.....34

Figura 21: A Figura ilustra o equipamento utilizado no processo de vaporização de cianoacrilato (ECA). As imagens (a) e (b) apresentam a câmara de vaporização SafeFume 360, empregada no Laboratório Forense da Polícia Federal de Brasília. A imagem (c) exibe o painel de controle, no qual são configurados os parâmetros de funcionamento do equipamento. Por fim, a imagem (d) demonstra as impressões digitais latentes polimerizadas pelo processo de vaporização de ECA, evidenciando a eficácia do método na revelação de vestígios papilares.....36

Figura 22: Arranjo experimental para a avaliação de soluções fluorescentes (Rodamina 6G, Amarelo Básico e Curcumina) aplicadas em superfícies polimerizadas com ECA.....38

Figura 23: Arranjo experimental óptico para a visualização de impressões digitais....39

Figura 24. As imagens de TEM (esquerda) mostram nanopartículas de curcumina distribuídas em matrizes lipídicas. À direita, observa-se um histograma da distribuição de tamanhos das NLC/Curc, com imagens de TEM analisadas no software ImageJ .....42

Figura 25. As imagens de TEM (esquerda) mostram nanopartículas de rodamina 6G distribuídas em matrizes lipídicas. À direita, observa-se um histograma da distribuição de tamanhos das NLC/Rh6G, com imagens de TEM analisadas no software ImageJ.....42

Figura 26. Espectros de absorção (linhas azuis) e fluorescência (linhas vermelhas) da solução Curc/EtOH (linhas pontilhadas) e formulação NLC/Curc (linhas contínuas).....44

Figura 27. Espectros de absorção (linhas azuis) e fluorescência (linhas vermelhas) da solução Rh6G/EtOH (linhas pontilhadas) e da formulação NLC/Rh6G (linhas contínuas) .....45

Figura 28. Espectros FTIR das formulações NLC/Cur (i), NLC/Rh6G (ii), das soluções Curcumina (vi) e Rodamina 6G (vii), solubilizadas em etanol e os espectros do óleo Palmiste (v), da manteiga de Murumuru (iv) e do surfactante kolliphor® (iii).....46

Figura 29. Espectros Raman das formulações NLC/Cur (i) e NLC/Rh6G (ii), das soluções Curcumina (vi) e Rodamina 6G (vii), solubilizadas em etanol e os espectros do óleo Palmiste (v), da manteiga de Murumuru (iv) e do surfactante kolliphor® (iii).....48

Figura 30. Imagens de impressões digitais depositadas sobre substrato de vidro e plástico colorido reveladas com solução de AB40/EtOH e formulação NLC/Cur. Em (a) e (b) as impressões digitais foram reveladas com as formulações frescas e envelhecidas, respectivamente. ....52

Figura 31. Imagens de impressões digitais depositadas sobre substrato de vidro e plástico colorido reveladas com solução de Rh6G/OS-M/EtOH e formulação NLC/Rh6G. Em (a) e (b) as impressões digitais foram reveladas com as formulações frescas e envelhecidas, respectivamente.....53

Figura 32. Imagens de impressões digitais depositadas sobre substrato de vidro e plástico colorido, divididos em duas partes. Os fragmentos das impressões depositadas do lado esquerdo de cada substrato foram revelados com as formulações NLC/Curc (a) e NLC/Rh6G (b), enquanto no lado direito foram utilizadas as soluções AB40/EtOH (a) e Rh6G/OS-M/EtOH (b).....54

Figura 33. Ampliações da impressão digital depositadas sobre plástico colorido (a) e lâmina de vidro (b), reveladas com a formulação NLC/Curc.....56

Figura 34. Ampliações da impressão digital depositadas sobre plástico colorido (a) e lâmina de vidro (b), reveladas com a formulação NLC/R6hG.....57

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Distribuição percentual da quantidade de ácidos graxos no óleo de palmiste.....	17
Tabela 2: Distribuição percentual da quantidade de ácidos graxos na manteiga de Murumuru.....	19
Tabela 3: Triglicerídeos mais comuns que compõem a estrutura molecular da manteiga de murumuru.....	19
Tabela 4: Análise de Dispersão Dinâmica da Luz (DLS) da formulação NLC/Rh6G.....	41
Tabela 5: Análise de Dispersão Dinâmica da Luz (DLS) da formulação NLC/Curc.....	41

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

NLC- Portadores Lipídicos Nanoestruturados.

Rh6G- Rodamina 6G.

Curc- Curcumina.

KHS-15- Kolliphor® HS-15.

ECA- Cianocrilato de Etila.

FTIR- Infravermelho por Transformada de Fourier.

MET- Microscopia Eletrônica de Transmissão.

DLS- Espalhamento de Luz Dinâmico.

EtOH- Etanol.

Rh6G/OS-M- Rodamina 6G misturada com soluções orgânicas.

AB40- Amarelo Básico 40.

IFRG- International Fingerprint Research Group

# CAPÍTULO 1

## 1. Introdução

As impressões digitais papilares são padrões únicos formados pelas cristas e sulcos presentes na pele das pontas dos dedos. Formam desenhos complexos e intrincados que são exclusivos de cada indivíduo. Esses padrões são formados ainda no útero e permanecem inalterados ao longo de toda vida do indivíduo [1].

A singularidade das impressões digitais as torna uma ferramenta indispensável na investigação criminal, como resultado, ela vem sendo usada na investigação de crimes há mais de 100 anos [2]. Em resumo, impressões digitais latentes podem ser usadas para conectar a evidência física associada ao crime ao criminoso.

Devido à sua exclusividade e persistência, elas são amplamente utilizadas para associar indivíduos a cenas de crime, objetos ou documentos. A papiloscopia, ciência que estuda as impressões digitais, permite identificar indivíduos através da comparação entre as impressões latentes (aquelas deixadas em superfícies por contato) encontradas em cenas de crime e as impressões digitais de indivíduos suspeitos. A análise de impressões digitais, também chamada de dactiloscopia, baseia-se na comparação de características únicas, como bifurcações, terminais de linhas e ilhas, conhecidas como pontos de minúcias.

A importância das impressões digitais na área forense reside no fato de que elas fornecem uma ferramenta confiável para identificação. Diferente de outras formas de reconhecimento biométrico, como DNA ou reconhecimento facial, as impressões digitais podem ser coletadas rapidamente e comparadas com bancos de dados existentes, como o Automated Fingerprint Identification System (AFIS), que permite associar suspeitos a registros criminais anteriores. Além de sua aplicação em investigações criminais, as impressões digitais também têm valor em contextos como a identificação de vítimas de desastres e a autenticação de indivíduos em sistemas de segurança. Em suma, as impressões digitais são uma das ferramentas mais valiosas da ciência forense, combinando precisão, eficiência e acessibilidade para ajudar a resolver crimes e trazer justiça.

A utilização de impressões digitais em investigações forenses pode ocorrer de duas formas principais: Impressões visíveis, aquelas deixadas em superfícies quando o dedo entra em contato com substâncias como tinta, sangue ou poeira e Impressões latentes, que são marcas invisíveis a olho nu, formadas pelo suor e óleos naturais da pele.

Por serem invisíveis a olho nu as impressões requerem tratamento para se tornarem visíveis, chamado de “revelação da impressão digital latente”. O princípio-chave da detecção de marcas de dedos é simples: gerar o maior contraste óptico possível entre as cristas que constituem o padrão da impressão digital e o substrato subjacente sem perturbar o padrão formado pelo traço. Isso é necessário para garantir a visualização eficiente das marcas de dedos latentes, suas cristas e suas características para que possam ser usadas para identificação. Para isso é exigindo o uso de alguns processos químicos ou físicos que, ao interagir com as secreções da pele, fazem com que a impressão digital latente mostre contraste [3]. Geralmente, as impressões digitais latentes podem ser reveladas utilizando técnicas específicas, como pós reveladores, vaporização de cianoacrilato (CA) ou fluorescência com luz ultravioleta[4].

Os métodos químicos usados para revelar impressões latentes podem ser divididos em técnicas que envolvem reações químicas e aquelas que são baseadas em forças intermoleculares para criar adesão [5]. Uma boa técnica criará um contraste entre o resíduo da impressão digital e a superfície na qual o resíduo foi depositado. Um método ideal deve ser simples de executar, barato, sensível e confiável. É melhor se ele puder ser durável também, embora impressões reveladas possam ser facilmente preservadas com fotografia [6]. Alguns métodos não são destrutivos para as impressões, de modo que métodos diferentes podem ser usados sequencialmente para analisar uma impressão.

As dificuldades surgem da variedade de superfícies nas quais a impressão pode ser depositada, bem como das condições às quais ela pode ser submetida. Além disso, a quantidade de resíduo de impressão digital que a impressão digital contém pode variar amplamente. Nesse sentido, ao longo dos anos, muitos novos reveladores foram desenvolvidos, de modo que, a escolha do revelador, fica a critério do

especialista, que geralmente considera as características da superfície a ser examinada. Impressões digitais latentes depositados em superfícies porosas, como papel ou papelão, podem ser reveladas com a reação química de ninidrina, diazofluoreno ou indanediona-zinco em um ou mais componentes alvos presentes nos resíduos de impressão digital [7]. Por outro lado, impressões digitais latentes recentemente depositadas em superfícies polidas como vidro ou plástico, podem ser revelados com diferentes tipos de pós, cujas partículas tendem a aderir preferencialmente nas regiões correspondentes às cristas, onde se localizam os resíduos de impressão [8]. Adicionalmente, substratos brancos ou transparentes (por exemplo, papel e plásticos), um bom contraste pode ser obtido pela coloração do resíduo usando corantes de cor escura. Ao lidar com substratos coloridos, padronizados ou complexos, por exemplo, revistas, embalagens comerciais e notas, no entanto, os corantes não são apropriados, e o uso de uma coloração luminescente é necessário para evitar confusão devido ao padrão de fundo. O uso de luminescência para detectar marcas de dedos também é geralmente preferido por razões de sensibilidade. As marcas de dedos reais às vezes são compostas de quantidades extremamente pequenas de secreções devido à falta de secreção depositada ou a alterações adicionais causadas pelo tempo e condições ambientais. Isso as torna difíceis de serem detectadas quando coradas com cromóforos clássicos. Os revelados a base de fluoróforos, no entanto, aumenta a sensibilidade da detecção para que marcas de dedos tênues possam ser registradas e processadas para identificação [9]. Rodamina 6G, Amarelo Básico e 1,8-diazafluoren-9-ona (DFO) são os fluoróforos mais populares para revelação de impressões latentes.

Embora, muitos desses fluoróforos sejam reveladores comumente usados, essas pequenas moléculas orgânicas têm limitações, como menor afinidade com resíduos das impressões digitais, são caros ou/e tóxicos para humanos ou/e não amigáveis ao meio ambiente. Além do mais, muitos desses fluoróforos geralmente enfrentam o desafio de serem extintos em altas concentrações ou em estado agregado. Isso leva ao fenômeno de extinção de concentração ou extinção causada por agregação [10]. Devido a essas limitações novas abordagens devem ser exploradas. A literatura tem demonstrado que sistemas nanoparticulados podem ser utilizados para contornar

essas limitações [5]. Contudo, a maioria desses sistemas emprega um alto nível de solventes orgânicos e não são facilmente escalonados. É justamente nesse contexto que esse trabalho se desenvolve.

O objetivo desse trabalho é desenvolver e caracterizar nanopartículas luminescentes contendo fluoróforos orgânicos (rodamina 6G e curcumina) produzidas por meio de método de nanoemulsificação lipídica sólida, bem como avaliar seu potencial como reveladores de impressões digitais latentes.

Neste trabalho, será apresentada uma solução versátil, propondo mitigar a toxicidade da Rodamina 6G, através da formulação de portadores lipídicos nanoestruturados (NLC), onde a Rodamina 6G será encapsulada em lipídios naturais, óleo de palmiste e gordura de murumuru, melhorando sua composição lipídica. estabilidade de encapsulamento com um surfactante não iônico, kolliphor® HS-15. O que nos levou a escolher esta combinação de um lipídio sólido com um lipídio líquido é o rearranjo das cadeias acil dos triglicérides, melhorando a sinergia da formulação, com novas características físicas e químicas que contribuirão para o encapsulamento lipídico da Rodamina 6G e da Curcumina [11], preservando suas propriedades fotoluminescentes. O processo de tingimento de superfícies de cianoacrilato polimerizadas a vapor com Rodamina 6G (Rh6G) ou Amarelo Básico 40 (AB40) pode ser considerado um risco à saúde humana se não houver equipamentos de segurança adequados disponíveis, tanto durante o processo de preparação da solução de ambos os corantes quanto durante o processo de seu uso. Por isso propomos uma solução através da substituição de soluções tóxicas tradicionais por outras mais seguras, evitando o uso de solventes orgânicos tóxicos com lipídios naturais que encapsulam a substância ativa da Rh6G para uma liberação controlada da mesma, formulando NLC/Rh6G [12], da mesma forma neste trabalho o AB-40 é substituído por uma substância bioativa com a mesma faixa espectral de excitação e emissão, formulando a NLC/Curc [13].

## CAPÍTULO 2

### 2. Objetivos

O presente trabalho tem como objetivo principal desenvolver, caracterizar e avaliar a eficácia de formulações baseadas em nanopartículas lipídicas luminescentes para a revelação de impressões digitais latentes. Para atingir esse objetivo geral, foram estabelecidos os seguintes objetivos específicos:

- a. **Síntese e desenvolvimento das formulações:** Produzir nanopartículas lipídicas luminescentes contendo fluoróforos orgânicos (rodamina 6G e curcumina) por meio da técnica de nanoemulsificação lipídica sólida.
- b. **Caracterização físico-química das formulações:** Avaliar as propriedades das nanopartículas sintetizadas por meio de espectroscopia de absorção UV-Visível, espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), espectroscopia Raman, microscopia eletrônica de transmissão (MET) e espalhamento de luz dinâmico (DLS), determinando aspectos como tamanho, morfologia e interações moleculares dos fluoróforos com a matriz lipídica.
- c. **Aplicação das formulações na revelação de impressões digitais latentes:** Testar a eficácia das formulações NLC/Curc e NLC/Rh6G na revelação de impressões digitais depositadas em diferentes substratos (vidro e papel plastificado colorido) e compará-las com soluções tradicionais (AB40/EtOH e Rh6G/OS-M/EtOH).
- d. **Avaliação da qualidade e durabilidade das impressões reveladas:** Analisar a qualidade das imagens obtidas, identificando características morfológicas essenciais para a classificação e identificação das impressões digitais, além de avaliar a estabilidade temporal das impressões reveladas com cada formulação.
- e. **Impacto forense e ambiental:** Discutir a viabilidade do uso de nanopartículas lipídicas luminescentes como alternativa aos métodos convencionais, destacando os potenciais benefícios para a toxicidade reduzida e a menor agressividade ambiental na revelação de impressões digitais.

## CAPÍTULO 3

### 3. Revisão Bibliográfica

Nas ciências forenses, as técnicas biométricas são utilizadas para identificar suspeitos em uma cena de crime, analisando suas características morfológicas dermopapilares chamadas impressões latentes. Essas impressões podem ser encontradas em superfícies de natureza: porosa, não porosa e semiporosa. Por serem incolores, as impressões latentes não são visíveis à luz comum, o que torna necessário o uso de técnicas específicas para sua revelação. Um procedimento comum envolve a pulverização ou dispersão de pós reveladores de impressões sobre a superfície investigada, utilizando um pincel de cerdas finas ou aplicadores magnéticos, dependendo da natureza da superfície [12]. No entanto, essa técnica apresenta desvantagem: como o tempo, os resíduos orgânicos das impressões digitais se degradam, tornando essa técnica obsoleta e gerando o risco de perder evidências valiosas que poderiam esclarecer um crime.

Para a revelação e análise de impressões latentes degradadas em superfícies não porosas, duas técnicas se destacam por apresentarem mínimo contato com os constituintes superficiais dos resíduos orgânicos. A primeira é a deposição de metal a vácuo, que consiste em colocar a evidência digital aderida ao substrato não poroso, em uma câmara de vácuo. Por meio de um vaporizador de metais, partículas de metais como o ouro [13] aderem às cristas papilares. Essas pequenas partículas servem como núcleo para a deposição de um segundo metal, como o zinco, que se fixa nos vales localizados entre as cristas papilares cobertas por ouro [14]. O resultado é uma imagem negativa da impressão digital, na qual a morfologia dermopapilar das cristas se torna visível. No entanto, a complexidade e o custo dessa técnica limitam seu uso a poucos laboratórios forenses. A segunda técnica, mais acessível para revelar impressões latentes em substratos não porosos sem afetar os resíduos orgânicos, é uso da técnica de vapor de cianoacrilato. Nesse processo, o vapor de cianoacrilato de etila sofre polimerização aniônica por substituição nucleofílica nos resíduos orgânicos da impressão latente, formando um polímero esbranquiçado que

reproduz a morfologia das cristas e vales da marca digital. Após essa etapa, a impressão é submetida a coloração com corantes fluorescentes, como a Rodamina 6G [15], ou Amarelo Básico 40 [16], dissolvidos em solventes orgânicos para melhorar a eficácia do processo [12]. A imagem clara da impressão é obtida com a incidência de luz verde de excitação (532 nm), utilizando um filtro de luz laranja (580 nm) para melhorar a qualidade visual [15].

O *International Fingerprint Research Group* (IFRG) é uma comunidade mundial de pesquisa de marcas digitais que fornece parâmetros para avaliar novos métodos ou melhorar os já existentes na detecção de impressões latentes. Essa avaliação rigorosa é dividida em quatro fases, sendo o primeiro passo um estudo piloto, cujo domínio da pesquisa está sob responsabilidade de universidades e centros governamentais dedicados à investigação [17], seguindo essa fase primária, a pesquisa foi realizada no Laboratório de Espectroscopia Óptica do Instituto de Física da Universidade de Brasília, enquanto o centro governamental conduziu os experimentos no laboratório forense da Polícia Federal em Brasília.

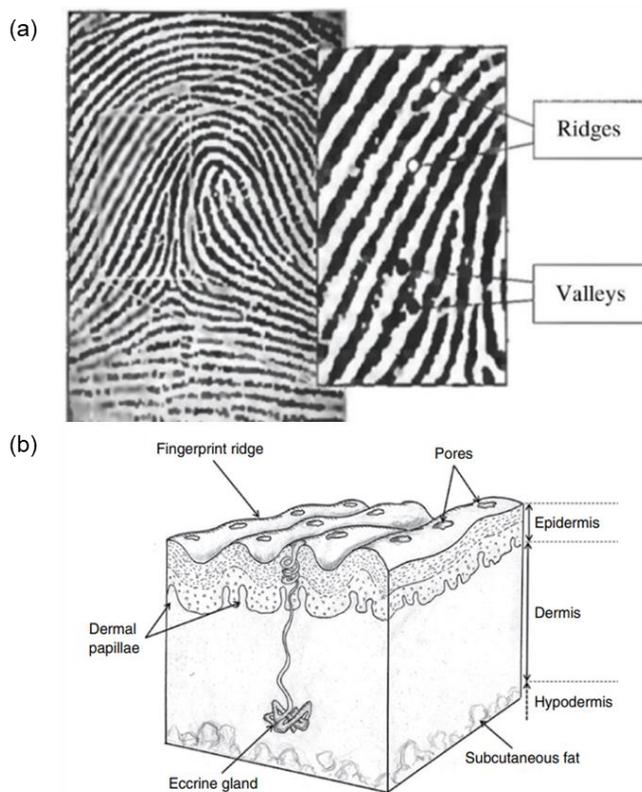
A Rodamina 6G (Rh6G) é uma substância ativa altamente tóxica para quem aingere, podendo causar reações alérgicas na pele e danos oculares graves. Recomenda-se evitar sua liberação no meio ambiente e utilizar equipamentos de proteção individual ao manuseá-la [18]. Amarelo Básico 40 também apresenta riscos: pode causar irritação e inflamação na pele em contato prolongado e irritação nas vias respiratórias se inalado [19].

Para o processo de coloração com solução de Rh6G das impressões digitais polimerizadas com cianoacrilato. A literatura indica que, para a preparação da solução convencional da Rh6G, deve-se inicialmente combiná-la com metanol, obtendo-se uma solução-mãe. Em seguida, essa solução deve ser misturada com acetona, acetonitrila, metanol, isopropanol e éter de petróleo. A solução de trabalho tem um prazo de validade de cerca de seis meses e deve ser armazenada num frasco de vidro até estar pronta para ser utilizada [20]. Durante a preparação, é essencial utilizar equipamentos de proteção adequados, garantindo a segurança do manuseio. Além disso, a solução final pode ser armazenada por até seis meses.

Para a preparação do Amarelo Básico 40, o procedimento inicial consiste em combina-lo com etanol, formando uma solução-mãe. Posteriormente, essa solução dever ser misturada com água e *photo-flo*, sendo este último solvente utilizado para reduzir a tensão superficial da água e garantir uma mistura homogênea [12].

### 3.1. Dactiloscopia

A dactiloscopia é o estudo da morfologia das impressões digitais, que consistem em um conjunto de elevações da derme, denominadas cristas papilares, e os sulcos ou vales (Figura 1.a), que são as depressões localizadas entre as cristas de fricção (Fig.1.b). O objetivo é identificar o indivíduo, uma vez que as impressões digitais são únicas para cada pessoa e imutáveis [21], desde a fase embrionária [22] até o falecimento. Essas impressões digitais são analisadas e comparadas com padrões existentes em bases de dados de diversos sistemas biométricos [23], sendo o uso restrito a pessoal especializado em laboratórios forenses para a plena identificação de indivíduos envolvidos em uma cena de crime.



**Figura 1:** a) Cristas e vales em uma impressão digital [24]. b) Esquema de uma seção transversal da pele na ponta do dedo [25].

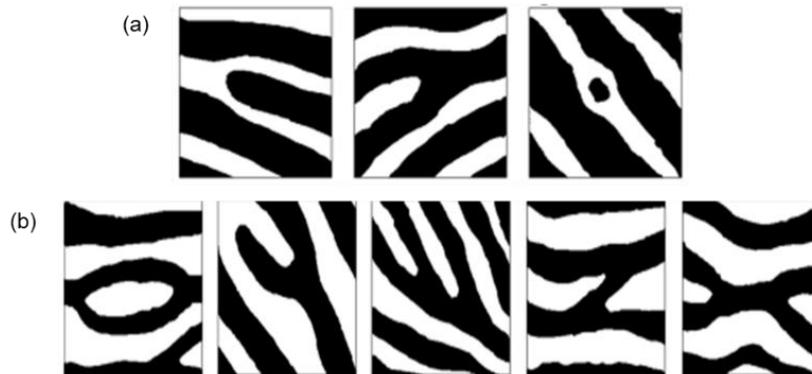
### **3.1.1. Impressões Latentes e Níveis de Características Dermopapilares**

Nas ciências forenses, a impressão digital não perceptível à visão humana sob luz natural, persistente em superfícies de natureza porosa e não porosa, é demarcada por resíduos orgânicos e inorgânicos aderidos às cristas de fricção. Essa impressão, chamada de impressão latente, revela sua característica morfológica ao reagir fisicoquímica ou intermolecularmente com os ácidos graxos dos resíduos sebáceos e as proteínas dos resíduos écrinos, formando ligações de hidrogênio ou interações por forças de Van der Waals [17],[18], utilizando reveladores convencionais e métodos e técnicas forenses policiais.

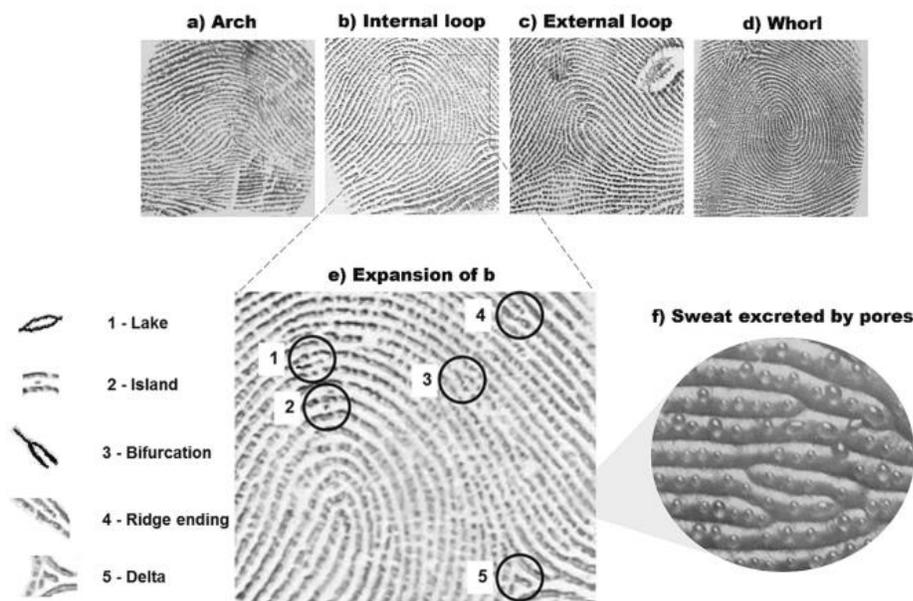
A análise das impressões latentes baseia-se principalmente nas características dermatoglíficas das cristas papilares, por meio de um método holístico regido por três níveis de detalhe. De acordo com a classificação de Juan Vucetich [27], para analisar uma impressão digital, devem ser identificados quatro tipos principais de formações de nível 1: arco, presilha interna, presilha externa e verticilo. O nível 2 é caracterizado por três tipos principais de minúcias: bifurcações, terminação de cristas e pontos, como ilustrado na Figura 2. Isso permitirá a análise de pontos característicos como lago, ilha, terminação de crista, delta e bifurcação, como ilustrado na Figura 3. Por fim, o terceiro nível de detalhes se baseia na forma estrutural de uma linha, que engloba a morfologia da crista (inclui as bordas das linhas, as texturas, a posição dos poros, entre outras características).

Desta forma, o método de identificação vai além do simples número de 12 minúcias de nível 2, de modo que essas minúcias proporcionam um valor significativo para a fase de comparação em bancos de dados biométricos, acrescentando uma análise qualitativa das cristas dermopapilares [28], [29]. Além do mais, para a detecção de impressões digitais, é necessário conhecer a natureza da superfície

(porosa, semiporosa e não porosa), pois cada tipo de superfície exige uma técnica específica de detecção.



**Figura 2:** a) Imagem que mostra os três tipos de minúcias básicas de impressões digitais: bifurcação, terminação de crista e ponto. b) Combinações de bifurcações e terminações de cristas. Da esquerda para a direita, observa-se o que é chamado de: lago, gancho, bifurcação dupla, uma ponte e bifurcações opostas [30].



**Figura 3:** Classificação das impressões digitais segundo Juan Vucetich: a) arco, b) alça interna, c) alça externa e d) verticilo; e) exemplos de minúcias encontradas em

uma impressão digital; e f) o suor excretado pelos poros sudoríparos localizados nas cristas de fricção da pele [27].

### **3.1.2. Composição química em impressões digitais latentes**

A composição química, de origem orgânica e inorgânica, de uma impressão digital pode ser complexa devido à diversidade de condições existentes para cada indivíduo, como sexo (homens e mulheres), idade, tipo de alimentação, presença de doenças e uso de medicamentos, o que representa um fator endógeno. Além disso, deve-se considerar os componentes de origem exógena, provenientes da manipulação ou do contato com diferentes superfícies ou objetos, que fornecem informações relevantes para a identificação de um indivíduo, existindo uma relativa similaridade de lipídios e proteínas para análise de interação físico-química com materiais nanoestruturados.

Por outro lado, os tipos de resíduos incluem: resíduos écrinos, originados nas glândulas sudoríparas conectadas aos poros ao longo das cristas dermopapilares; resíduos sebáceos, originados nas glândulas sebáceas localizadas em diferentes partes do corpo, principalmente no rosto e no couro cabeludo, que entram em contato frequente com as almofadas volares e as cristas papilares, onde se encontram diferentes classes de lipídios e aminoácidos distribuídos ao longo das cristas de fricção; resíduos naturais, derivados de componentes contaminantes exógenos resultantes da manipulação de diferentes objetos [31].

Os aminoácidos mais abundantes nos resíduos écrinos (suor) em uma impressão digital latente são: alanina, ácido glutâmico e glicina. No entanto, existem outros aminoácidos em pequenas quantidades, como: prolina, que pode aumentar devido ao consumo de álcool; tirosina, associada ao consumo de MDMA (3,4-metilenodioximetanfetamina); asparagina, relacionada ao consumo de bebidas açucaradas [32].

No total, há aproximadamente 20 aminoácidos presentes nos resíduos écrinos, além de outros compostos orgânicos como ureia, ácidos lácticos, açúcares, creatinina, colina e ácido úrico. Compostos inorgânicos também estão presentes, como cloretos, íons metálicos (cálcio, ferro, potássio e sódio), amônia, sulfato e fosfato [21], [27], [33].

Quanto aos aminoácidos, l-fenilalanina e l-(iso)-leucina estão presentes de forma significativa em homens e mulheres [34].

A composição química dos resíduos sebáceos inclui ácidos graxos, glicerídeos, ésteres, esqualeno, hidrocarbonetos e álcoois. Foi constatado que a fração insaturada diminui devido à degradação e oxidação desses componentes ao longo do tempo, formando produtos menores, como ácidos graxos de cadeia curta. Isso reduz a quantidade de ácidos graxos insaturados e aumenta os saturados devido ao processo de hidrogenação em condições anaeróbicas. Já a degradação aeróbica produz compostos oxidados como peróxidos, aldeídos e cetonas [21].

A detecção de impressões digitais latentes, sob diferentes condições ambientais e de tempo, resulta na degradação de lipídios em ácidos graxos livres e proteínas em aminoácidos menores, o que exige técnicas forenses mais sensíveis. É importante considerar que os resíduos em uma impressão digital latente não se distribuem de forma homogênea nas superfícies. Durante o envelhecimento das impressões, a análise da composição química é essencial para determinar a técnica forense mais adequada para revelá-las [35].

### **3.2. Técnica de Vapor de Cianocrilato para detecção de impressões digitais**

É um método químico, não destrutivo, consiste na polimerização dos resíduos orgânicos das impressões digitais pelo vapor de ésteres de cianoacrilato, como o cianoacrilato de etila (ECA) (Figura 4.a), resultando em uma impressão digital polimerizada (Figura 4.b). Essa impressão pode revelar características dermopapilares que, posteriormente, são submetidas a um processo de coloração com líquidos ou pós fluorescentes [12], permitindo sua visualização monocromática por meio de filtros dispersores de luz.

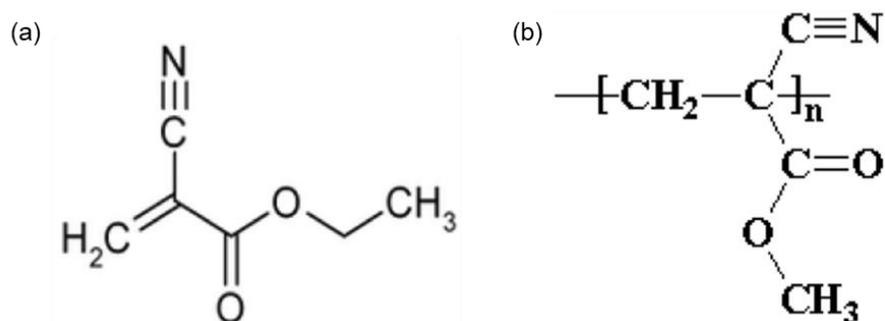


Figura 4: a) Estrutura química do ECA, b) Estrutura química do ECA polimerizada [36].

Este processo é realizado colocando as superfícies não porosas a serem tratadas dentro de uma estrutura fechada semelhante a um tanque, gabinete ou recipiente equipado com um sistema de ventilação, aquecimento e controle de umidade. É necessário evitar o superaquecimento acima de 220°C, pois isso pode gerar gás cianeto de hidrogênio, que é tóxico. Além disso, um sistema de escape de fumaça é utilizado para evitar irritação nas áreas úmidas da pele, nos olhos ou inalação do produto, que pode comprometer o sistema respiratório [37].

A reação química do processo de polimerização ocorre em três etapas: iniciação, propagação e terminação. A primeira etapa, iniciação, começa com a transferência de elétrons de uma molécula para outra. Nesse processo, o vapor de CA age como um eletrófilo, aceitando elétrons de uma região da impressão digital (nucleófilo) que possui elétrons livres. Na Figura 5.a, pode-se observar um nucleófilo  $\text{Nu}^-$  que doa elétrons para um centro eletrófilo. O duplo enlace carbono-carbono é rompido e se liga ao nucleófilo, formando uma ligação covalente carbono-carbono. Os elétrons liberados são deslocados para o duplo enlace do grupo cetona, que se rompe para formar uma nova ligação oxigênio-hidrogênio ( $-\text{OH}$ ), gerando um grupo hidroxila que atua como base, interagindo com o intermediário cetil. Este processo resulta em um intermediário estável, onde a carga negativa está localizada no carbono terciário, estabilizada pelos grupos ciano e éster, como mostrado na Figura 5.b [35]

Após a reação de iniciação, a reação de propagação continua, como mostrado na Fig. 6.c. Nesse processo, o grupo  $-\text{OH}$ , que atua como uma base, desencadeia o mesmo mecanismo que o nucleófilo  $\text{Nu}^-$  realizou sobre outro monômero de CA, até que a reação atinja a etapa de terminação.

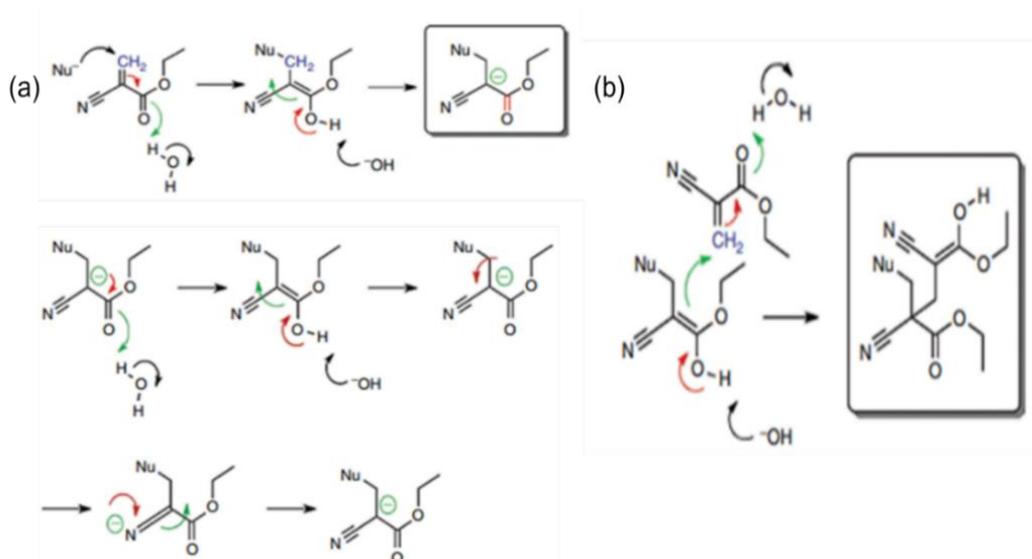


Figura 5: a) Início e primeira propagação da polimerização do ECA, b) Deslocalização da carga negativa, estabilizando o intermediário de reação, c) Etapa de propagação no processo de polimerização, d) Terminação da reação de polimerização [35].

A literatura menciona que um dos constituintes que dá início à polimerização do CA é o cloreto de sódio presente nos resíduos écrinos das impressões digitais. Por isso, ao realizar o procedimento de polimerização na câmara de vapor de CA, o processo é conduzido em um ambiente úmido, de forma que a impressão digital absorva água e facilite o processo químico. Esse procedimento forma uma estrutura de fios entrelaçados esbranquiçados (Figura 6), com espaços entre eles, que são perfeitos para reter os corantes fluorescentes.

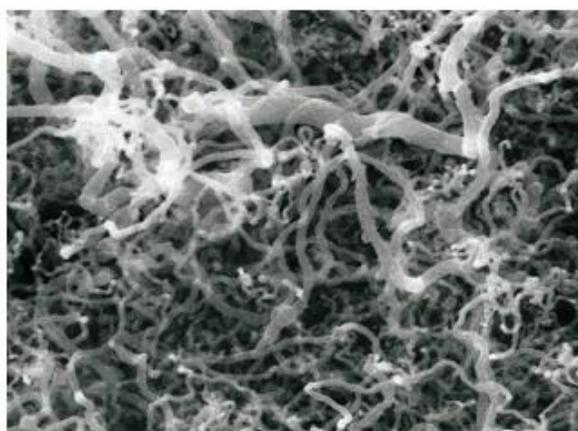


Figura 6: Micrografia eletrônica dos depósitos fibrosos formados pelo vapor de CA [35]

### **3.3. Portadores Lipídicos Nanoestruturados (NLC)**

Os NLCs são uma combinação de um lipídio líquido e um lipídio sólido, com uma distribuição menos organizada de fármacos, apresentando maior capacidade de encapsulamento e liberação controlada da substância ativa. Os lipídios líquidos são uma mistura de triglicerídeos com ramificações de ácidos graxos saturados, como ácido caprílico, cáprico, caproico, láurico, mirístico e o ácido oleico, que possui uma cadeia lipídica insaturada. Esses lipídios líquidos geralmente têm origem natural devido às suas propriedades antioxidantes. Os lipídios sólidos contêm maior quantidade de cadeias lipídicas saturadas, o que confere melhores propriedades antioxidantes em comparação com os lipídios líquidos, que possuem maior quantidade de cadeias lipídicas insaturadas. As imperfeições na rede cristalina dos lipídios sólidos permitem maior eficiência de encapsulamento de substâncias ativas. Os NLCs geralmente são estabilizados com emulsificantes de natureza anfifílica, lipofílica e hidrofílica [38].

O objetivo da combinação de um lipídio líquido e um lipídio sólido é formar uma estrutura polimorfa com defeitos para aumentar a capacidade de carga, onde o lipídio líquido evita a cristalização da mistura, prevenindo a liberação rápida da substância ativa.

Para a formulação dos NLCs neste estudo, escolhemos como lipídio líquido o óleo de palmiste, como lipídio sólido a manteiga de murumuru, como tensoativo anfifílico o Kolliphor® HS-15, e como substâncias ativas a Rodamina 6G e a Curcumina. A seguir, descrevemos seu comportamento físico, químico e estrutura molecular.

#### **3.3.1. Óleo de Palmiste**

Os óleos vegetais são o produto de uma reação de esterificação entre três ácidos graxos e um glicerol (Figura 7), onde os grupos carboxilas dos ácidos graxos perdem um grupo hidroxila, unindo-se ao glicerol e formando triglicerídeos. Esses triglicerídeos apresentam distribuições não aleatórias dos grupos acila nas posições sn-1, sn-2 e sn-3, que definem suas propriedades físicas e químicas [39].

O óleo de palmiste é extraído das sementes da palmeira de óleo (*Elaeis guineensis*), originária da Amazônia brasileira. Possui textura física semissólida. Um estudo sobre a distribuição dos ácidos graxos na reação de esterificação com glicerol revelou os seguintes percentuais: 87,7% de cadeias de carbono acila saturadas e 12,3% de cadeias de acila insaturadas nas posições sn-1,3; 71,9% de cadeias de carbono acila saturadas e 28,1% de cadeias de carbono acila insaturadas na posição sn-2 [40]. Portanto, as cadeias de acila insaturadas geralmente se localizam na posição sn-2 do glicerol.

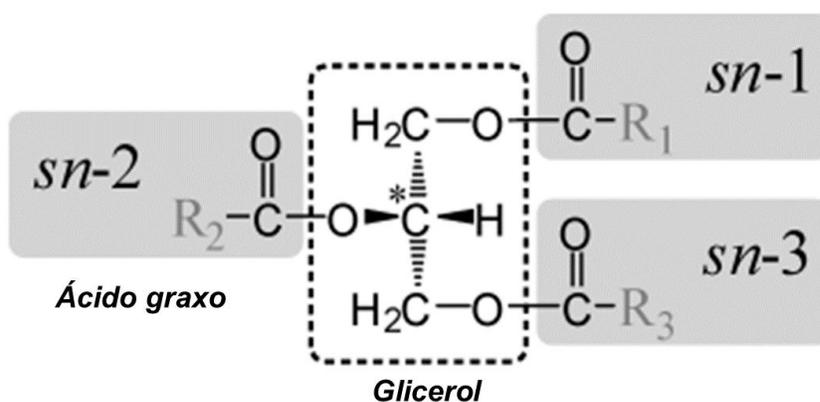


Figura 7: Estrutura do triglicerídeo (TG), onde sn-1, sn-2 e sn-3 são as posições estereoquímicas dos radicais de ácidos graxos ligados ao glicerol [41].

Para analisar a distribuição dos ácidos graxos nos triglicerídeos de óleos vegetais, como o óleo de palmiste, foi necessário submetê-los a um processo de interesterificação com hidrólise enzimática utilizando lipase para análise por cromatografia gasosa. Esse processo enzimático não altera a estrutura molecular dos óleos naturais, apenas reorganiza a distribuição dos ácidos graxos nas posições sn-1,3 e sn-2. O objetivo é fornecer um percentual referencial de cada ácido graxo que compõe a estrutura dos triglicerídeos presentes nos óleos naturais. Um estudo concluiu que há predominância de ácidos graxos de cadeia média nas posições sn-1,3 e ácidos graxos de cadeia longa na posição sn-2 [39].

Uma análise por cromatografia gasosa em alta temperatura e cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa determinou que o óleo de palmiste possui uma estrutura de triglicerídeos com predominância de cadeias médias de ácidos graxos saturados, tais como: C-La-La (glicerilo 1-caprilato 2,3-laurato); La-La-La (glicerilo 1,2,3-laurato); La-La-M (glicerilo 1,2-laurato 3-miristato); La-La-P (glicerilo 1,2-laurato 3-palmitato); La-P-P (glicerilo 1-laurato 2,3-palmitato). Foi identificado um grau de saturação de 83,52% tri-saturado, 9,59% di-saturado, 6,14% mono-saturado e 0,71% insaturado [40]. A composição de triglicerídeos com ácidos graxos de cadeias lipídicas longas (Figura 8) é responsável pela aparência semissólida do óleo à temperatura ambiente.

Tabela 1

*Distribuição percentual da quantidade de ácidos graxos no óleo de palmiste:*

<b>Ácidos Graxos (AG)</b>		<b>Percentual de ácidos graxos</b>
C6:0	Ácido caproico	2,4%
C8:0	Ácido caprílico (Cp)	2,7%
C10:0	Ácido cáprico (C)	3,0%
<b>C12:0</b>	<b>Ácido láurico (L)</b>	<b>40,5%</b>
<b>C14:0</b>	<b>Ácido mirístico (M)</b>	<b>13,4%</b>
C16:0	Ácido palmítico (P)	9,4%
C18:0	Ácido esteárico (S)	3,6%
C20:0	Ácido aracídico (A)	0,2%
<b>C18:1 <i>n</i>-9</b>	<b>Ácido oleico (O)</b>	<b>21,2%</b>
<b>C18:2 <i>n</i>-6</b>	<b>Ácido linoleico (Li)</b>	<b>3,5%</b>

Nota. Fonte : [42] [43]e [44]

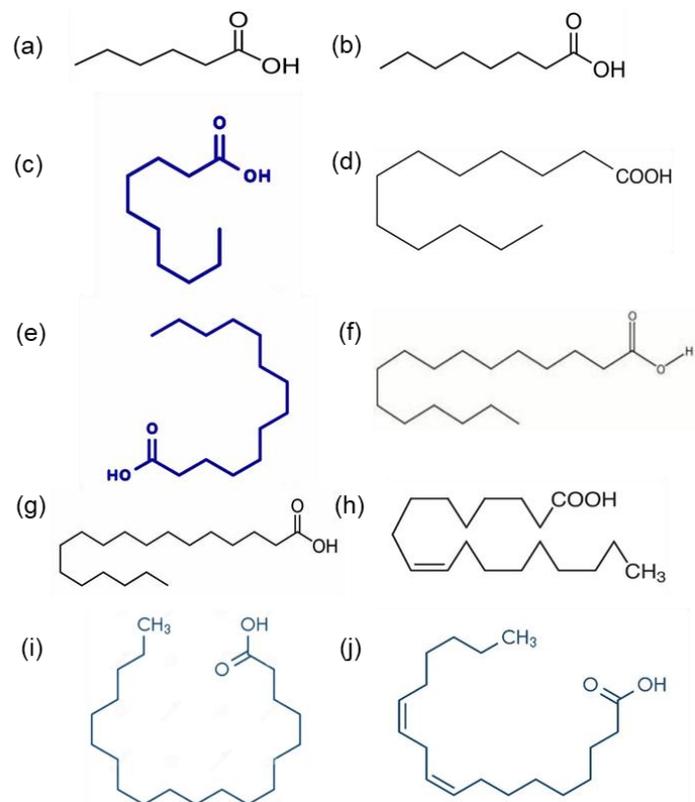


Figura 8: Ácidos graxos que compõem a estrutura de esterificação com o glicerol para a formação de triglicerídeos na estrutura química do óleo de palmiste: a) ácido capróico, b) ácido caprílico, c) ácido cáprico, d) ácido láurico, e) ácido mirístico, f) ácido palmítico, g) ácido esteárico, h) ácido oleico, i) ácido aracídico, j) ácido linoleico.

### 3.3.2. Manteiga de Murumuru

A manteiga de murumuru é uma gordura natural extraída da semente da *Astrocaryum Murumuru*, originária da Amazônia brasileira, também conhecida como manteiga de murumuru. Possui uma aparência física sólida e alta estabilidade oxidativa, devido ao seu baixo teor de ácidos carboxílicos voláteis. É predominante em ácidos graxos saturados de cadeia média (Figura 9), como o ácido láurico e o ácido mirístico, representando 79,19%, e contém 6,89% de ácido graxo insaturado, como o ácido oleico. A manteiga de murumuru apresenta uma elevada quantidade de ácidos graxos saturados (aproximadamente 92,65%), conforme mostrado na Tabela 2. A maior presença de ácidos de cadeia média sugere um ordenamento cristalino polimórfico do tipo  $\beta'$  [45][11]. Na Tabela 3, podem ser observados alguns dos triglicerídeos que compõem a manteiga de murumuru.

Tabela 2

*Distribuição percentual da quantidade de ácidos graxos na manteiga de Murumuru*

Ácidos Graxos (AG)		Percentual de ácidos graxos
C8:0	Ácido caprílico (Cp)	1,62%
C10:0	Ácido cáprico (C)	1,75%
C12:0	Ácido láurico (L)	52,83%
C14:0	Ácido mirístico (M)	26,36%
C16:0	Ácido palmítico (P)	5,91%
C18:0	Ácido esteárico (S)	1,82%
C20:0	Ácido Aracídico (A)	2,37%
C18:1 <i>n</i> -9	Ácido oleico (O)	6,89%
C18:2 <i>n</i> -6	Ácido linoleico (Li)	0,46%

*Nota. Fonte : [46], [47], [45] e [48]*

Tabela 3

*Triglicerídeos mais comuns que compõem a estrutura molecular da manteiga de murumuru*

Triglicerídeos (TAG)	Percentual de Ácidos Graxos (AG)
LLC	4,5%
LLL	22,7%
LLM	27,1%
MML	17,0%
LOL	5,8%
MMM	7,9%
LLA	4,5%

*Nota. Fonte : [48]*

A quantidade de TAG que predomina na estrutura molecular da manteiga de murumuru inclui: L-L-M (glicerol 1,2-laurato 3-miristato), L-L-L (glicerol 1,2,3-laurato), M-M-L (glicerol 1,2-miristato 3-laurato) e M-M-M (glicerol 1,2,3-miristato). Estudos recentes do ano de 2024 [49], comprovaram que as propriedades físico-químicas da manteiga de murumuru melhoram ao combiná-la com um lipídio insaturado, como o óleo de palmiste. Essa combinação, na formulação de portadores lipídicos nanoestruturados (NLC), permite que as substâncias ativas se alojem na matriz lipídica entre as imperfeições das cadeias de ácidos graxos que as estruturam [50]. Isso contrasta com os nanoportadores lipídicos sólidos, que, devido à sua estrutura organizada na combinação de dois lipídios sólidos, apresentam poucos espaços disponíveis para acomodar as substâncias ativas.

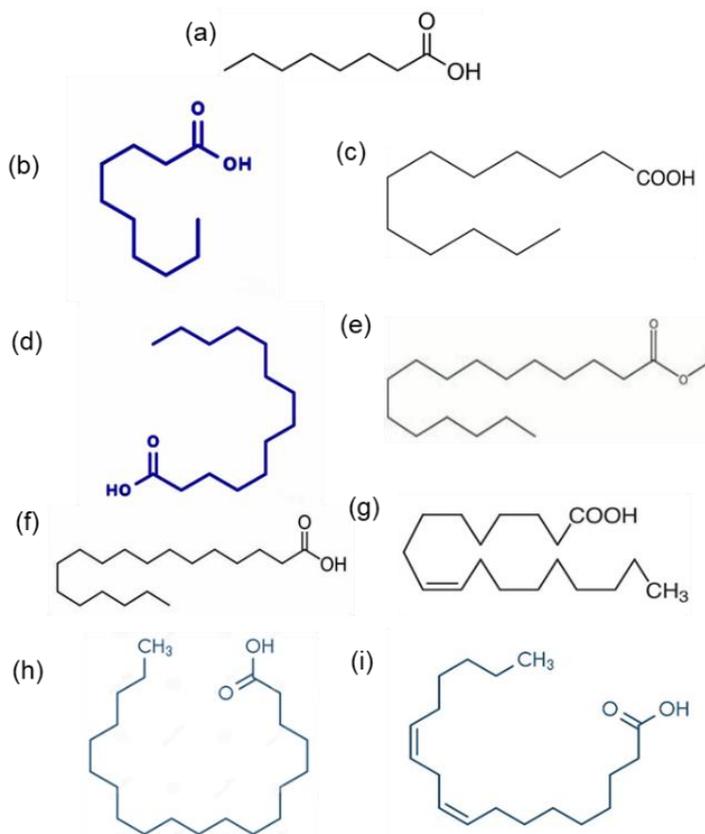


Figura 9: Ácidos graxos que compõem a estrutura de esterificação com o glicerol para a formação de triglicerídeos na estrutura química do óleo de palmiste: a) ácido caprílico, b) ácido cáprico, c) ácido láurico, d) ácido mirístico, e) ácido palmítico, f) ácido esteárico, g) ácido oleico, h) ácido aracídico, i) ácido linoleico.

### 3.3.3. Surfactante Kolliphor® HS 15

Também conhecido como 15-hidroxiestearato de macrogol ou hidroestearato de polioxila 15, é um tensoativo não iônico polietoxilado, de baixa toxicidade, termoestável, com coloração branco-amarelada à temperatura ambiente. Possui características anfipáticas, baixo peso molecular e uma composição estrutural que inclui mono e diésteres de poliglicol de ácido 12-hidroxiestárico na parte lipofílica, além de 30% de polietilenoglicol livre na parte hidrofílica, como mostrado na Fig. 10. Sua solubilidade varia de acordo com a temperatura. É amplamente utilizado para a encapsulação de compostos lipofílicos pelo método de temperatura de inversão de fase, sendo essencial na formulação de portadores lipídicos nanoestruturados (NLC) [50][51][52][53][54].

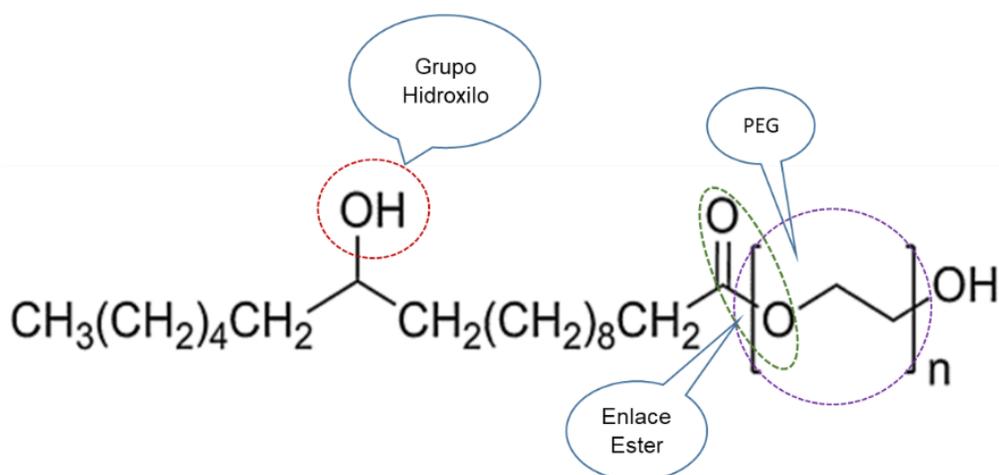


Figura 10: Estrutura Molecular do surfactante Kolliphor® HS 15 [53], descrevendo os principais grupos funcionais de sua estrutura.

Na formulação de NLCs de fármacos, recomenda-se homogeneizar o surfactante com a substância ativa a uma temperatura entre 50-65°C, com o objetivo de melhorar a biodisponibilidade do produto [55][56].

### 3.3.4. Rodamina 6G

A Rodamina 6G é um corante orgânico fluorescente pertencente à classe de corantes xantênicos, com um intervalo de comprimento de onda visível entre 500 e 700 nm, caracterizado por uma banda de luminiscência em torno de 560 nm. O grupo fenila substitui R no anel principal do xanteno (Figura 11). Apresenta uma banda de absorção na região visível devido ao momento de transição localizado paralelamente ao eixo longo da molécula, onde ocorre uma transição  $\pi$ - $\pi^*$  responsável pela absorção da luz e emissão de fluorescência [57][58].

É conhecida por sua alta fluorescência e estabilidade química, além de seu elevado coeficiente de absorção molar, boa fotoestabilidade e insensibilidade ao pH [54]. Quando isolada, não emite fluorescência, mas, ao ser submetida a um processo de hidrólise e interagir com uma substância específica, seu anel espiral se abre, emitindo fluorescência. Os dímeros Rh6G tipo H estão associados a um deslocamento para a região azul da banda de absorção óptica, enquanto os dímeros Rh6G tipo J apresentam um deslocamento para a região vermelha [58][59].

As soluções à base de Rodamina 6G possuem propriedades de fluorocromismo, uma vez que têm a capacidade de alterar sua emissão fluorescente dependendo da polaridade do solvente utilizado [60]. De acordo com a literatura, a associação do tipo H é observada em soluções aquosas, enquanto a disposição do tipo J predomina em soluções com etanol. A fluorescência da Rodamina 6G é influenciada por fatores como: interações com o solvente ou outros compostos presentes, temperatura, pH, concentração, esses fatores afetam os espectros de absorção e emissão, bem como os rendimentos quânticos das moléculas fluorescentes [59].

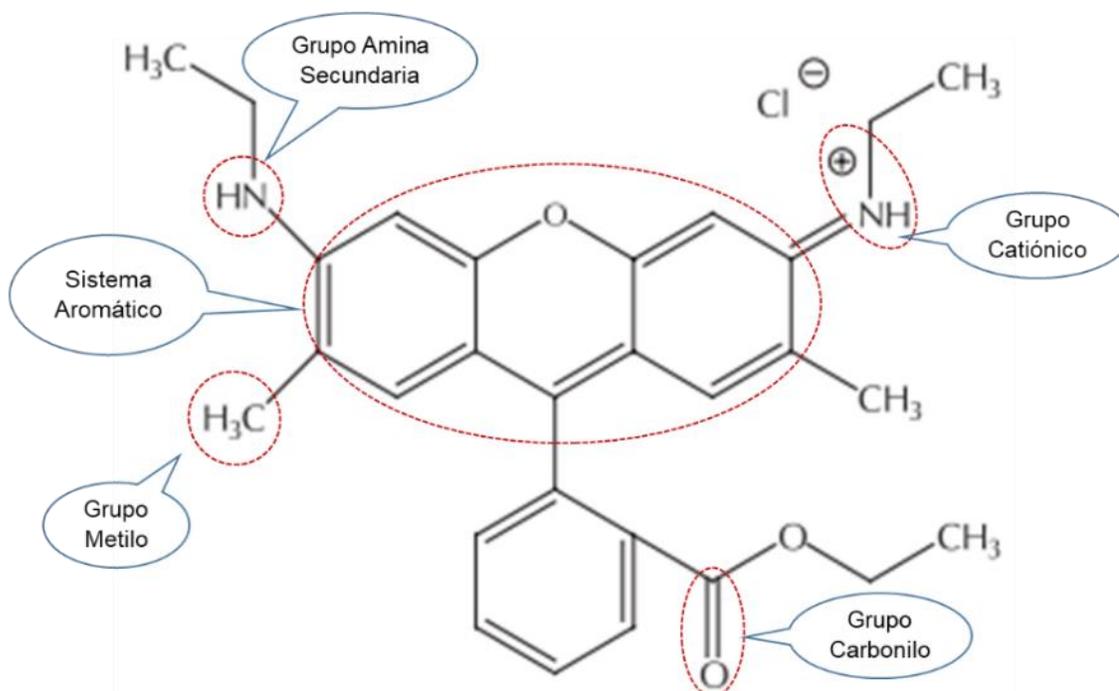


Figura 11: Estrutura Molecular da Rodamina 6G [61], descrevendo os principais grupos funcionais de sua estrutura.

### 3.3.5. Curcumina

A curcumina é um corante natural de tonalidade amarelo-alaranjada encontrado nos rizomas da planta *Curcuma longa* [62]. Quimicamente conhecida como 1,7-bis (4-hidroxi-3-metoxifenil) -1,6-heptadieno-3,5-diona, a curcumina desempenha diferentes funções, como corante, suplemento dietético, reagente químico analítico e um elemento promissor no campo médico. Além disso, derivados de curcumina têm sido explorados como materiais inovadores no setor de optoeletrônica.

O interesse atual nas propriedades da curcumina está, em grande parte, ligado aos seus usos médicos e à sua relação com a fotoquímica. A curcumina (CurH<sub>3</sub>) pode existir em duas formas tautoméricas: dicetona e ceto-enol, conferindo-lhe três prótons ácidos — dois fenólicos e um enólico (Figura 12).

A curcumina é praticamente insolúvel em água, razão pela qual a maioria das pesquisas sobre suas propriedades espectrais, luminescentes e fotoquímicas foi conduzida em misturas de solventes orgânicos e água. É suscetível à auto-oxidação rápida em soluções aquosas alcalinas, sendo considerada um potente antioxidante. À

medida que aumenta a concentração de base, sua cor muda do amarelo para o verde, e posteriormente para o azul, com o azul mudando para laranja [63].

Em soluções de etanol, a curcumina apresenta coloração amarela, com um máximo de absorção no espectro UV-Vis em 420 nm e fluorescência em tom amarelo-esverdeado sob luz ultravioleta. Suas emissões apresentam um comportamento constante e independente do comprimento de onda de excitação, com um máximo de fluorescência centrado em 525 nm.

No entanto, a diminuição da fluorescência em uma solução de curcumina pode ser atribuída ao resfriamento do processo dinâmico durante a absorção constante, o que reduz sua estabilidade temporal [64].

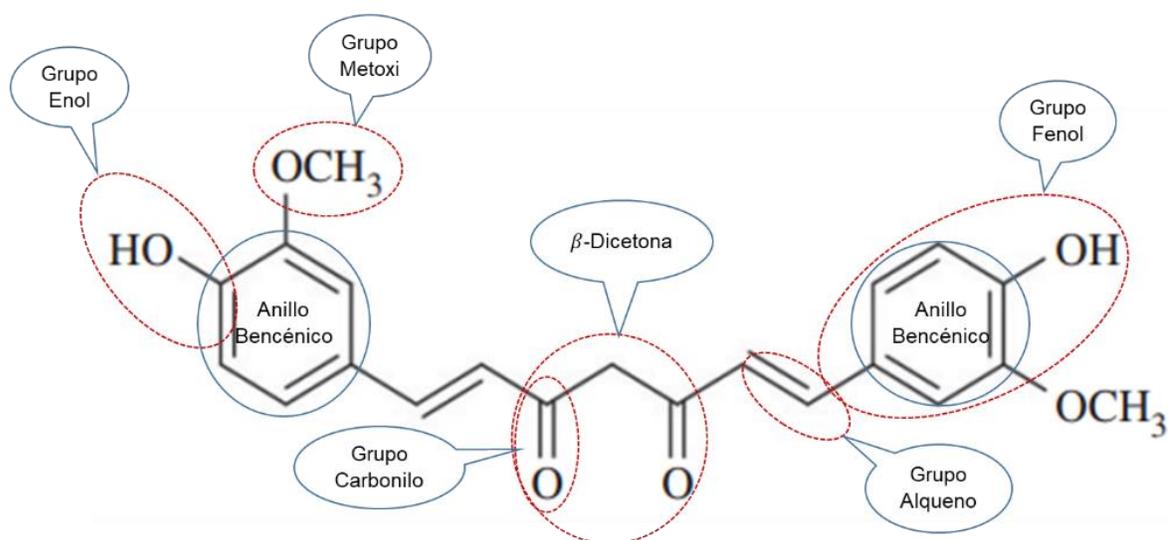


Figura 12: Estrutura Molecular da Curcumina [65], descrevendo os principais grupos funcionais de sua estrutura.

## **CAPÍTULO 4**

### **4. Metodologia**

#### **4.1. Materiais e Métodos**

Esta pesquisa contou com a colaboração do Departamento de Genética e Morfologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília (UnB), sob a supervisão da Profa. Sônia N. Bão e com a colaboração do Prof. Victor C. Mello.

Os seguintes materiais foram cedidos por esse laboratório: um lipídio sólido (LP), manteiga de murumuru da marca Verde para Sempre; um lipídio líquido (LL), óleo de palmiste da marca Verde para Sempre; um tensoativo, Kolliphor® HS-15 (KHS-15) da marca Sigma-Aldrich; e curcumina (Curc) da marca Neon. Além disso, a Rodamina 6G (Rh6G) da marca Sigma-Aldrich, foi obtida do estoque de reagentes químicos do Laboratório de Espectroscopia Óptica do Instituto de Física da UnB.

Adicionalmente, a pesquisa contou com o apoio do Laboratório Forense da Polícia Federal de Brasília, que disponibilizou sua câmara de fumigação automática para a deposição do cianocrilato de Etila (ECA), modelo “Air Science- Safefume 360 Automatic Cyanoacrylate Fuming Chamber ARV-33T”, para a realização dos experimentos.

#### **4.2. Formulação lipídicas nanoestruturados (NLC)**

Para as formulações NLC/Rh6G e NLC/Curc, utilizou-se o método de emulsão de baixa energia com inversão de fase por variação de temperatura (ver Fig.13) [66]. Esse método envolve a combinação de dois lipídios (sólido-líquido), estruturados por triglicerídeos de cadeia média, com um surfactante não iônico e uma substância ativa hidrofóbica. O processo ocorre em um sistema de homogeneização por fusão a quente, no qual a substância lipofílica é incorporada às imperfeições da matriz lipídica, permitindo uma liberação controlada da substância ativa [67], [68].

É importante destacar que, após a fusão dos lipídios, da substância ativa e do surfactante não iônico em fase aquosa, ocorre um aumento da lipofilia do surfactante

polioxiethylado devido à interação de seus grupos etoxi com a fase aquosa. Esse fenômeno resulta na formação de uma camada protetora na matriz lipídica [38], [69], [70].

A afinidade do surfactante induz uma transição de fase água/óleo (A/O), observada acima da temperatura de enturbição, para uma fase óleo/água (O/A) quando a temperatura diminui. Após o resfriamento da solução, forma-se uma estrutura de nanomicelas estáveis, cuja estabilização é fornecida pelo aumento do movimento browniano, resultando em uma solução com baixa polidispersidade [71], [72].

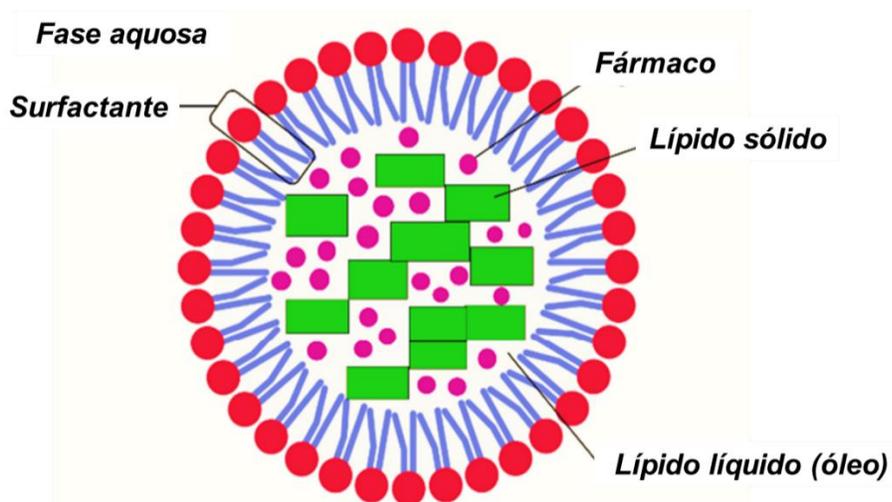


Figura 13: Diagrama da formulação NLC/Drug obtido a partir da inversão de fase por variação de temperatura [73].

#### 4.3. Formulações de NLC/Rh6G e NLC/Curc

As formulações NLC/Rh6G e NLC/Curc foram desenvolvidas com os seguintes objetivos: reduzir a toxicidade por meio do uso de tensoativo não iônico e obter nanomicelas de menor tamanho para aplicação no processo de coloração de impressões digitais polimerizadas com ECA. Isso visa gerar imagens de fundo que minimizem o efeito sinal-ruído na emissão de luz na faixa UV-visível da Rh6G e da Curcumina.

As formulações NLC/Rh6G e NLC/Curc, obtidas por transição de fase de água/óleo para óleo/água, consiste na mistura do tensoativo, dos lipídios e da substância ativa em alta temperatura até alcançar a homogeneização completa. Em seguida, a mistura é combinada com 40 ml de água Milli-Q a 70°C, sob agitação magnética, até atingir 75°C e o ponto de turbidez [74]. Após esse estágio, a solução é imediatamente resfriada para reduzir a inversão de fase para óleo/água (Fig. 14).

Foram testadas três formulações contendo  $6,78 \times 10^{-4}$  M de Rh6G e  $8,82 \times 10^{-4}$  M de Curc, com diferentes proporções de KHS-15/LL/LS de: 2,0:1,0:1,0, 2,0:1,5:0,5 e 2,0:0,5:1,5, em 40 mL de água Milli-Q para cada formulação.

O diâmetro hidrodinâmico (DH) e o índice de polidispersão (PDI) foram avaliados para cada uma das formulações. As duas primeiras apresentaram DH > 200 nm e PDI > 0,5, enquanto a terceira apresentou DH < 150 nm e PDI < 0,5. Diante desses resultados, optou-se pela última formulação, pois apresentou menor DH e baixa polidispersidade.

Testes preliminares foram realizados para avaliar o processo de coloração de impressões digitais latentes polimerizadas com vapor de CA. Os resultados foram promissores para os NLC/Curc; entretanto, os NLC/Rh6G exibiram uma alta relação sinal-ruído, ofuscando o fundo da superfície polimerizada e dificultando a visualização das características morfológicas das cristas dermopapilares. Esse efeito foi atribuído à elevada emissão de fotoluminescência da Rh6G. Para mitigar esse problema, a concentração de Rh6G foi reduzida em 75%, resultando em uma melhoria significativa na visualização das características dermopapilares.

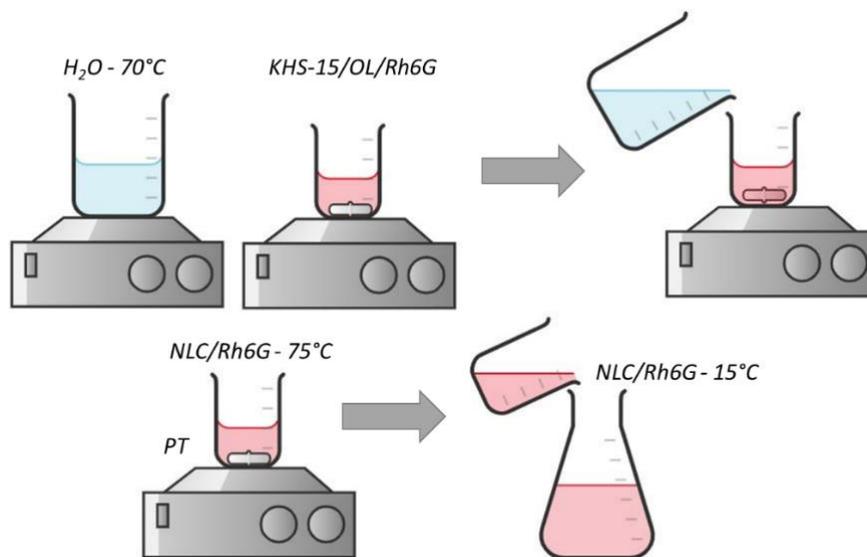


Figura 14. Esquema de síntese da formulação de NLC/Rh6G.

## 4.4. Caracterizações por Espectroscopia Óptica

### 4.4.1. Espectroscopia Ultravioleta-Visível (UV-Vis)

Os espectros de absorção de luz UV-Vis-NIR das formulações lipídicas NLC/Rh6G e NLC/Curc foram medidos no intervalo de 185-900 nm, com largura de banda de 2,0 nm, utilizando o espectrofotômetro SHIMADZU UV-Vis 2600 (Fig. 15). Para comparação, também foram obtidos espectros de absorção das soluções de curcúmina e rodamina 6G solubilizados em etanol.

Para a análise, foram utilizadas duas cubetas de quartzo: uma para referência e outra para a amostra, seguindo um protocolo de espectroscopia UV-Vis para amostras líquidas. O equipamento foi calibrado para um intervalo de comprimento de onda de 900-185 nm, com uma resolução de 0,5 nm, no modo de medida de absorbância. A fonte de luz foi configurada para mudança de comprimento de onda a 323 nm.

Inicialmente, as duas cubetas de quartzo foram preenchidas com água ultrapura para a calibração BASELINE e AUTO-ZERO. Em seguida, a água ultrapura da cubeta porta-amostras foi substituída pela formulação lipídica, iniciando-se a aquisição dos espectros no software LabSolutions.

Os dados foram armazenados no formato .txt para posterior análise espectral no software Origin ® 2018 Graphing & Analysis.



Figura 15: Espectrofotômetro UV-Vis Shimadzu UV-2600 do laboratório de Espectroscopia Óptica do Instituto de Física da UnB.

#### **4.4.2. Espectroscopia Infravermelha por Transformada de Fourier (FTIR)**

A análise por espectroscopia infravermelha com transformada de Fourier (FTIR) foi realizada utilizando o espectrofotômetro FTIR Vertex 70 (Fig. 16) para examinar os componentes lipídicos, as substâncias ativas Rodamina 6G e Curcumina, bem como as formulações finais de NLC. As amostras foram aplicadas diretamente sobre o cristal ATR (Reflexão Total Atenuada), sem necessidade de preparo prévio, o que gerou espectros de absorção característicos. A calibração na região do infravermelho médio ( $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ ) permitiu analisar as ligações químicas e os grupos funcionais dos compostos lipídicos, com o objetivo de compreender o encapsulamento das substâncias ativas na matriz lipídica.

A configuração da medição foi realizada utilizando o software OPUS, abrangendo um intervalo espectral de  $4000\text{ a }400\text{ cm}^{-1}$  para todas as amostras. Foram realizadas 31 varreduras (scans) para as formulações, a fim de melhorar a relação sinal-ruído, especialmente considerando a quantidade de água presente nos NLCs. A

resolução espectral adotada foi de aproximadamente  $2\text{ cm}^{-1}$ , e o modo de medição utilizado foi o ATR. Antes de cada análise, uma medição sem amostra foi realizada para correção do espectro de fundo. Os dados obtidos foram exportados no formato dpt.

Os dados das medições foram importados para o software LabSpec, onde as intensidades principais dos espectros foram normalizadas em uma única linha de base. Em seguida, os espectros normalizados foram exportados e processados no software PeakFit, onde foi aplicado um procedimento de resíduos para suavizar a curva espectral. Por fim, os espectros dos componentes lipídicos e das substâncias ativas foram analisados e comparados com os espectros das formulações finais, possibilitando a compreensão do processo de encapsulamento da Rodamina 6G e da Curcumina na matriz lipídica.



Figura 16: Espectrofotômetro FTIR Vertex 70 do laboratório de Espectroscopia Óptica do Instituto de Física da UnB.

#### **4.4.3. Espectroscopia Raman, Fotoluminescência e Espectroscopia Raman de Superfície Melhorada (SERS)**

Os espectros Raman e de fotoluminescência foram obtidos em um espectrômetro Raman Horiba, modelo LabRam HR (Fig. 17). Por apresentar forte fluorescência não foi possível obter espectros Raman normal. Diante disso foi utilizado a Espectroscopia Raman Intensificada por Superfície (SERS). Os espectros

SERS foram obtidos utilizando um diodo laser sintonizado na linha 532 nm. Os espectros de fotoluminescência foram obtidos utilizando um diodo laser sintonizado na linha 405 nm.

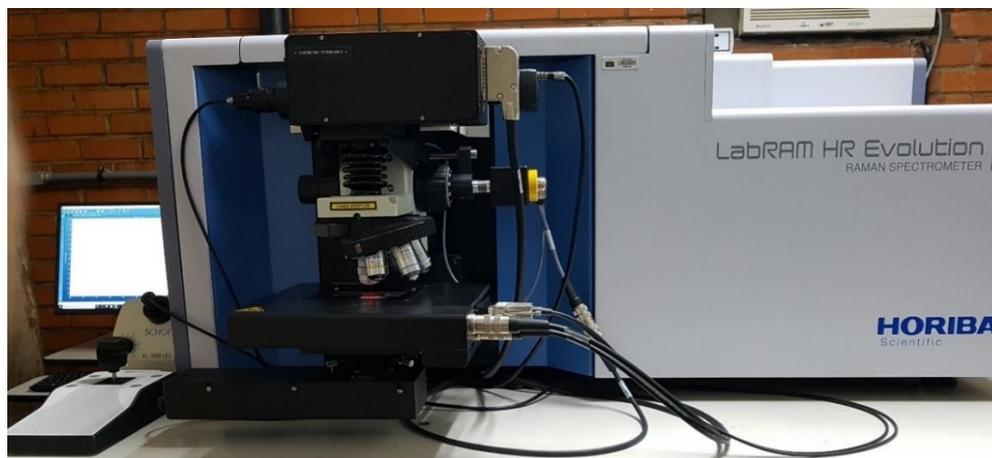


Figura 17: Espectrômetro Raman Horiba modelo LabRAM HR Evolution do laboratório de Espectroscopia Óptica do Instituto de Física da UnB.

Uma das técnicas para a fabricação de substratos SERS é o método de eletrodeposição metálica de nanopartículas de Ag em lâminas de Ag. O primeiro passo desse processo consiste na preparação de uma superfície anisotrópica com nanoestrias verticais, formando áreas de pontos quentes ("hot spots") localizados na superfície entre nanoestruturas plasmônicas adjacentes. Essas regiões são projetadas para a adsorção heterogênea das moléculas do analito na superfície [75].

Para a fabricação dos substratos SERS ativos, foi preparada uma solução de 677  $\mu\text{M}$  de  $\text{AgNO}_3$  em 200 mL de água Milli-Q, mantida sob agitação magnética à temperatura ambiente por 10 minutos. Em seguida, foi montado um sistema de configuração paralela (cátodo-ânodo) para a síntese eletroquímica das nanopartículas de Ag, conforme ilustrado na Fig. 18.a. A célula de eletrodeposição foi composta por uma placa metálica de Ag (ânodo) com dimensões de 14 x 1,6 cm e onze placas de Ag (cátodo) com dimensões de 0,9 x 1,7 cm, dispostas simetricamente e separadas entre si (Fig. 18.b). O sistema foi conectado a uma fonte de corrente e tensão, calibrada para fornecer 1,30 mA por um período de uma hora, resultando na deposição de NPs de Ag sobre as placas metálicas de Ag, cobrindo aproximadamente 25% da

superfície de cada placa (Fig. 18.c). As amostras foram deixadas para secagem à temperatura ambiente.

Esse procedimento foi repetido cinco vezes, incluindo, como parte do processo, a limpeza ultrassônica das placas de Ag em solução de acetona a 40°C por 30 minutos antes da etapa de eletrodeposição iônica das NPs de Ag.

Nos substratos SERS foram depositados os analitos Rh6G/EtOH, NLC/Rh6G e NLC/Curc. Após a secagem das amostras, os analitos se posicionaram nos pontos quentes formados pelas NPs de Ag nas estrias do substrato, intensificando o sinal Raman por interação eletromagnética com laser de 532 nm, em um intervalo de frequência de 100-1800  $\text{cm}^{-1}$ .

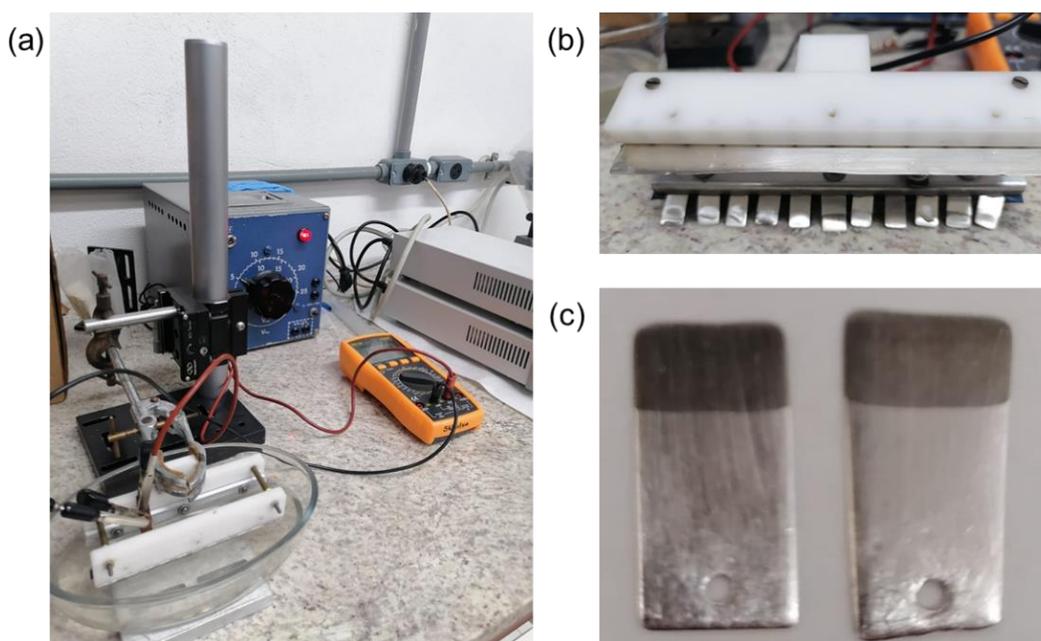


Figura 18: (a) sistema de eletrodeposição por corrente contínua para deposição iônica de  $\text{Ag}^+$  em substratos de prata; em (b) é exibida a célula eletrolítica cátodo-ânodo; em (c) é mostrado duas placas com estrias verticais, com aproximadamente 25% de sua área recobertas com NPs de Ag.

#### 4.4.4. Microscopia Electrónica de Transmisión (MET)

As imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) foram obtidas utilizando um microscópio eletrônico JEOL 1011 (Fig. 19), operando a 100 kV. Após diluição em água destilada (1:100 c/c) para a formulação NLC/Rh6G e (5:100 v/v) para

a formulação NLC/Curc (5:100 v/v), 5  $\mu$ L de cada solução foram depositadas em grades de cobre com malha 400 e deixados para secagem à temperatura ambiente por 24 horas. Após a secagem, as amostras foram expostas ao vapor de tetróxido de ósmio por cinco minutos.

As imagens MET foram analisadas para determinar a frequência de distribuição de tamanhos, por meio de medição manual no software ImageJ [76].

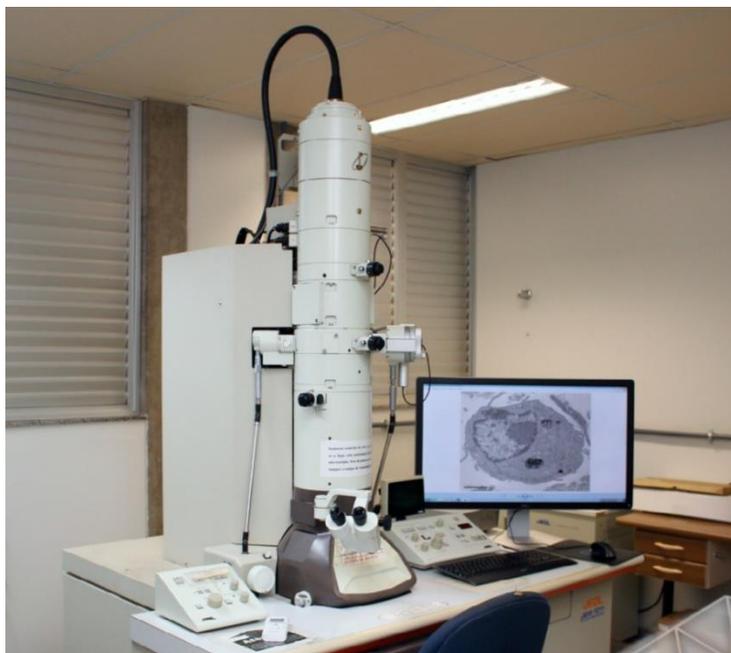


Figura 19: Microscópio Eletrônico de Transmissão JEOL JEM 1011 do Laboratório de Microscopia e Microanálise do Instituto de Biologia da UnB.

#### 4.4.5. Dispersão Dinâmica de luz (DLS)

As medidas de DLS e Potencial Zeta foram realizadas no Faculdade de Ciências da Saúde da UnB. Os diâmetros hidrodinâmicos e os potenciais Zeta foram obtidos utilizando-se do equipamento *Malvern* modelo *Zetasizer nanoseries Nano Z590* (Fig. 20). Para as medições, as amostras foram diluídas em água destilada na proporção 1:100 v/v. A fim de acompanhar a estabilidade coloidal das formulações, as medidas de DLS foram realizadas nos dias 1, 18, 161 e 197. Durante esse período as formulações foram armazenadas a 4°C, em um ambiente protegido da luz, para evitar sua rápida fotodegradação.



Figura 20: Equipamento Zetasizer Nano Series (*Malvern Instruments, Malvern, Inglaterra*) do laboratório da Faculdade de Ciências da Saúde da UnB.

## **4.5. Desenvolvimento de impressões digitais latentes**

### **4.5.1. Preparação da superfície para deposição das impressões digitais**

As impressões digitais, pertencente ao mesmo doador e ao dedo polegar da mão direita, foram depositadas sobre lâminas de vidro e papel plastificado colorido. Para isso, o doador foi instruído a não utilizar cosméticos no dia da doação. Além disso, ele lavou as mãos com detergente neutro por um minuto, enxaguou bem com água e as secou ao ar, sem utilizar toalhas ou papel absorvente, para evitar uma possível contaminação. Após a secagem das mãos, o doador foi orientado a continuar com suas atividades habituais, sem comer ou esfregar deliberadamente as mãos em regiões do corpo com excesso de gordura ou resíduos epidérmicos. Depois de 30 minutos, o doador posicionou o polegar direito, exercendo sempre a mesma pressão sobre as superfícies previamente indicadas [77].

Para a preparação das marcas divididas, foram utilizadas lâminas de vidro e papel plastificado colorido. Duas superfícies de cada material foram unidas pelas

bordas, de modo que, ao depositar sua impressão digital, o doador gerasse uma impressão latente dividida em duas metades. Esse procedimento permitiu a análise comparativa entre as nanoformulações e os reveladores convencionais.

As marcas digitais foram envelhecidas por um período de 24 horas antes da deposição de cianocrilato de Etila (ECA), sendo classificadas como impressões recentes, conforme a literatura [77].

#### **4.5.2. Polimerización das impressões digitais com vapor de Cianoacrilato de Etila (ECA)**

A deposição do ECA foi realizada em uma câmara SafeFume 360, seguindo o procedimento descrito em [78]: impressões digitais latentes foram depositadas sobre 60 lâminas de vidro e 60 pedaços de papel plastificado colorido, posicionados na base interna da câmara de vapor de ECA (Fig. 21.b).

O ECA foi então colocado na placa de aquecimento da câmara SafeFume 360, iniciando um ciclo de ativação. Esse ciclo aciona um sistema automatizado, responsável pelo controle da placa de aquecimento, da umidade do gabinete, da trava da porta, do ventilador de circulação interna e do ciclo de purga [79].

Na tela sensível ao toque do sistema de controle com tecnologia LCD Air Science Printbuster Pro, os parâmetros de operação foram ajustados da seguinte forma: temperatura constante de 22°C, umidade relativa de 60% e ciclo de 12 minutos para as lâminas de vidro; e temperatura de 22°C, umidade relativa de 80,8% e ciclo de 15 minutos para o papel plastificado colorido (Fig. 21.c).

Após o ciclo de polimerização das superfícies, o tempo do ciclo de purga foi programado para eliminar os vapores de ECA por meio do filtro de carvão ativado da câmara, resultando nas impressões digitais polimerizadas (Fig. 21.d).

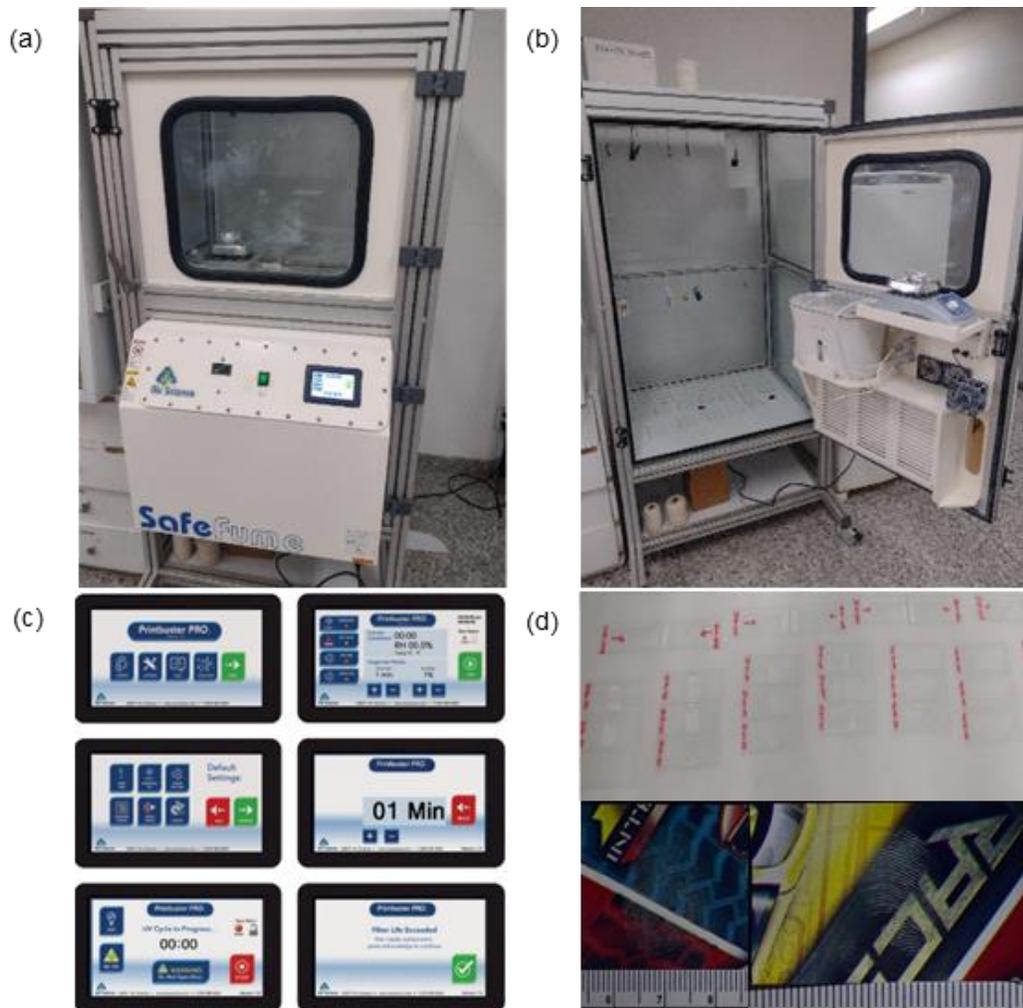


Figura 21: A Figura ilustra o equipamento utilizado no processo de vaporização de cianoacrilato (ECA). As imagens (a) e (b) apresentam a câmara de vaporização SafeFume 360, empregada no Laboratório Forense da Polícia Federal de Brasília. A imagem (c) exibe o painel de controle, no qual são configurados os parâmetros de funcionamento do equipamento. Por fim, a imagem (d) demonstra as impressões digitais latentes polimerizadas pelo processo de vaporização de ECA, evidenciando a eficácia do método na revelação de vestígios papilares.

### **4.5.3. Coloração das impressões digitais polimerizadas**

A fim de avaliar a eficácia da formulação NLC/Rh6G na revelação de impressões digitais latentes, as amostras reveladas com a formulação NLC/Rh6G foram comparadas com amostras de impressões digitais reveladas pelo método convencional utilizado pelos laboratórios forense. Para isso, uma solução de rodamina 6G é solubilizada em diferentes solventes, conforme o procedimento descrito abaixo [12][15].

Sob agitação magnética à temperatura ambiente, 1 g de rodamina 6G foi misturado com 1000 ml de metanol. Dessa solução mãe, foram retirados 3 ml para serem misturados com os seguintes solventes orgânicos:

- 15 ml de acetona.
- 10 ml de acetonitrila.
- 15 ml de metanol.
- 32 ml de isopropanol.
- 925 ml de éter de petróleo.

Para a obtenção da solução de controle de Rodamina 6G, os solventes orgânicos descritos acima (Rh6G/OS-M) devem ser misturados na ordem especificada. Além do mais, a adição do éter de petróleo deve ser realizada lentamente. Tanto a solução Rh6G/OS-M quanto o produto final Rh6G/OS-M/EtOH devem ser armazenados em frascos de vidro devidamente identificados com a data de preparação, com uma vida útil aproximada de 6 meses, conforme o protocolo de descarte de material tóxico estabelecido pelas leis ambientais federais.

A fim de avaliar a eficácia da formulação NLC/Curc na revelação de impressões digitais latentes, as amostras reveladas com a formulação NLC/Curc foram comparadas com amostras de impressões digitais reveladas pelo método convencional utilizado pelos laboratórios forense. Nesse caso foi utilizado uma solução de amarelo básico Basic Yellow 40 (AB40/EtOH) da marca Trittech Forensics. (Fig. 22).



Figura 22: Arranjo experimental para a avaliação de soluções fluorescentes (Rodamina 6G, Amarelo Básico e Curcumina) aplicadas em superfícies polimerizadas com ECA.

A avaliação das impressões digitais foi realizada com formulações frescas e envelhecidas por três meses, sob condições ambientais controladas. Durante esse período as formulações foram mantidas no escuro e na temperatura 4°C.

Para a análise das impressões digitais divididas, foi adotado um procedimento que permitiu o processamento de cada marca digital com tratamentos distintos em superfícies de lâminas de vidro e papel plastificado. Para cada impressão digital dividida, a metade do lado direito da impressão digitais polimerizada foi tratada com as formulações NLC/Rh6G e NLC/Curc, enquanto a metade do lado esquerdo foi tratada com as soluções de Rh6G/OS-M/EtOH e AB40/EtOH, respectivamente. Esse método possibilitou a avaliação comparativa da eficácia das diferentes formulações na revelação das impressões digitais [80].

#### 4.5.4. Visualização de impressões digitais latentes

Neste processo, as impressões digitais foram visualizadas sob condições de luz controlada em uma sala escura para evitar interferência da luz natural, respeitando-se os comprimentos de onda de emissão e absorção de luz das formulações NLC/Rh6G e NLC/Curc.

As impressões digitais depositadas sobre lâminas de vidro e papel plastificado coloridos foram posicionadas em uma superfície escura sob luz nos comprimentos de onda de 440, 460, 490 e 550 nm, utilizando filtros amarelo, laranja e vermelho, de acordo com o relatado nas referências [57], [58]. As melhores visualizações foram obtidas nos comprimentos de onda de excitação de 460 nm para a formulação NLC/Curc e de 490 nm para a formulação NLC/Rh6G.

As imagens de fluorescência das impressões digitais foram capturadas com uma câmera fotográfica profissional de alta resolução Nikon D5600 (Figura 23(a)) equipada com um filtro de barreira curvo laranja de 62 mm (Figura 23(b)). As imagens foram capturadas nos mesmos intervalos de tempo (10 min, 25 min, 60 min, 120 min, 1 dia e 1 semana).

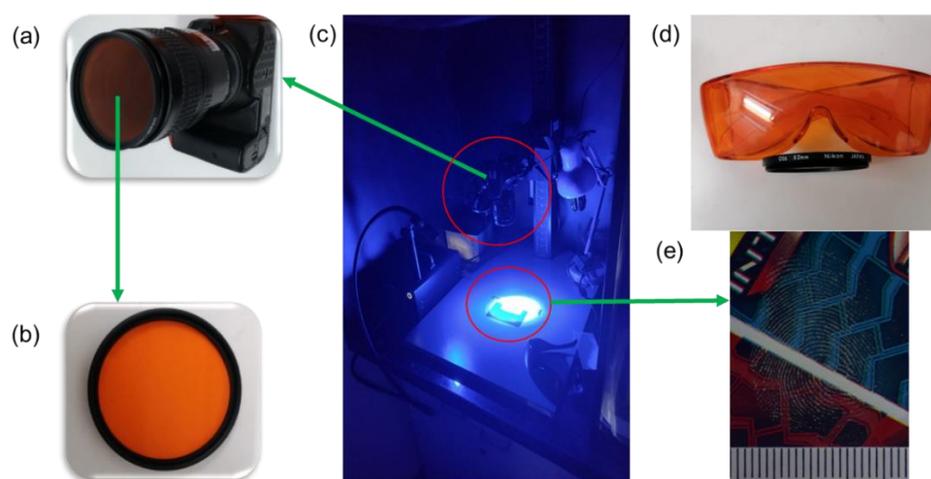


Figura 23: Arranjo experimental desenvolvido para a obtenção de imagens de impressões digitais reveladas (c), composto por: (a) Câmera fotográfica profissional Nikon D5600, (b) filtro laranja de 62 mm, (d) óculos de proteção UV, e (e) impressão digital polimerizada com ECA.

## CAPÍTULO 5

### 5. Resultados e Discussões

#### 5.1. Caracterização Morfológica das formulações de NLC/Curc e NLC/Rh6G

Neste estudo, a análise das formulações de NLC/Curc e NLC/Rh6G foi realizada por Espalhamento de Luz Dinâmica (DLS), Potencial Zeta e Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET). Com o objetivo de avaliar a estabilidade das nanoformulações ao longo do tempo, as análises de DLS foram conduzidas ao longo de aproximadamente 200 dias. Durante esse período, as formulações foram mantidas no escuro e sob refrigeração, a temperatura de 4°C. As medições de DLS permitiram determinar tanto o diâmetro hidrodinâmico ( $\langle D_{DLS} \rangle$ ) quanto o Potencial Zeta das NPs, bem como a evolução desses parâmetros ao longo de 200 dias. Os resultados indicaram que ambas as formulações apresentam uma boa estabilidade coloidal, com diâmetros médios mantendo-se contantes em torno de 130 nm durante todo período estudado. O índice de polidispersão (PDI), que fornece informações sobre a homogeneidade da distribuição de partículas em suspensão, foi considerado moderado (0,20–0,30), que pode indicar a formação de pequenos aglomerados relacionados a modificações nas superfícies das nanoestruturas [81].

Uma estabilidade semelhante também foi observada para os valores de Potenciais Zeta, que permaneceram em torno de – 14 mV para as formulações NLC/Curc e – 20 mV para as formulações NLC/Rh6G. Esses resultados são mostrados na Tabela 4 para as formulações NLC/Curc e Tabela 5 para as formulações NLC/Rh6G.

Tabela 4. *Análise de Dispersão Dinâmica da Luz (DLS) da formulação NLC/Rh6G*

Día	$\langle D_{DLS} \rangle$ (nm)	PDI	Potencial Zeta (mV) $\pm$ DP
1	119.1 $\pm$ 0.8	0.22 $\pm$ 0.01	-15.1 $\pm$ 0.4
18	131.2 $\pm$ 2.0	0.31 $\pm$ 0.01	-18.8 $\pm$ 0.4
161	126.4 $\pm$ 0.8	0.35 $\pm$ 0.01	-7.9 $\pm$ 0.4
197	133.3 $\pm$ 3.6	0.32 $\pm$ 0.03	-13.1 $\pm$ 0.6

**Tabela 5.** *Análise de Dispersão Dinâmica da Luz (DLS) da formulação NLC/Curc*

Día	$\langle D_{DLS} \rangle$ (nm)	PDI	Potencial Zeta (mV) $\pm$ DP
1	124.8 $\pm$ 0.5	0.22 $\pm$ 0.03	-22.7 $\pm$ 0.6
18	131.4 $\pm$ 0.6	0.30 $\pm$ 0.04	-21.3 $\pm$ 0.3
161	132.5 $\pm$ 1.3	0.31 $\pm$ 0.02	-17.3 $\pm$ 0.6
197	132.8 $\pm$ 0.4	0.28 $\pm$ 0.04	-19.6 $\pm$ 0.4

As características morfológicas das NPs NLC/Curc e NLC/Rh6G também foram examinadas por MET. As Figs. 24 e 25 mostram micrografias típicas das amostras NLC/Curc e NLC/Rh6G, respectivamente. A partir das micrografias, verifica-se que as NPs NLC/Curc são levemente ovaladas, com bordas bem definidas, sugerindo uma distribuição uniforme das moléculas de curcumina. Por outro lado, as NPs NLC/Rh6G são mais esféricas e apresentam bordas com sombreamento irregulares ao redor de um núcleo mais escuro, o que pode estar relacionado a aglomeração das moléculas de rodamina 6G rodeado de um revestimento lipídico.

Os histogramas dos diâmetros médios das NPs NLC/Curc e NLC/Rh6G, apresentados nas Figs. 24 (b) e 25 (b), revelam que os diâmetros médios ( $\langle D_{TEM} \rangle$ ) e os índices de polidispersão ( $\sigma_{TEM}$ ) são de 80,1 nm e 0,23 para as NPs de NLC/Curc e 65,7 nm e 0,27 para as NPs de NLC/Rh6G. A diferença entre os valores obtidos por

MET e DLS pode ser atribuída à camada de solvatação aquosa que recobre a superfície NPs, influenciando as medidas de diâmetros por DLS.

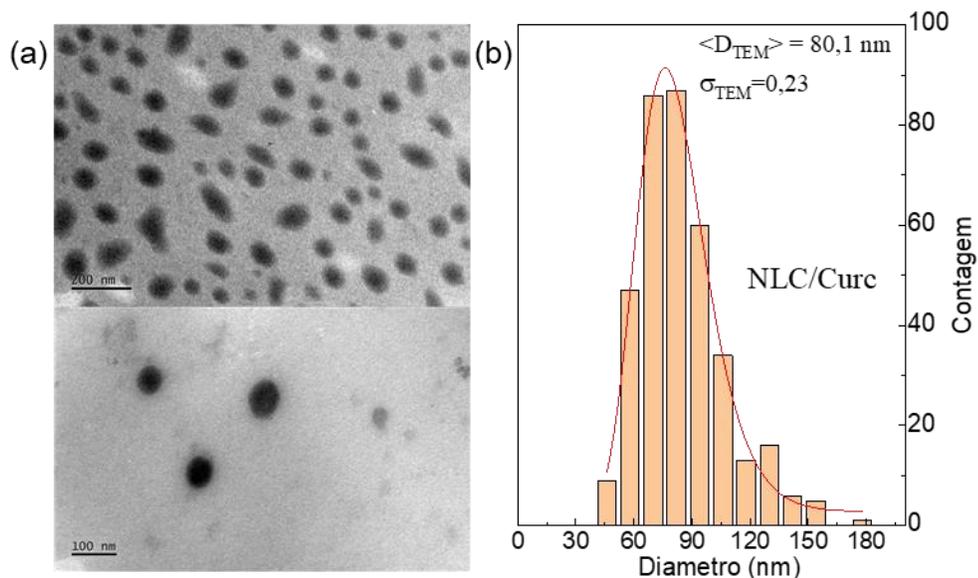


Figura 24. As imagens de TEM (esquerda) mostram nanopartículas de curcumina distribuídas em matrizes lipídicas. À direita, observa-se um histograma da distribuição de tamanhos das NLC/Curc, com imagens de TEM analisadas no software ImageJ.

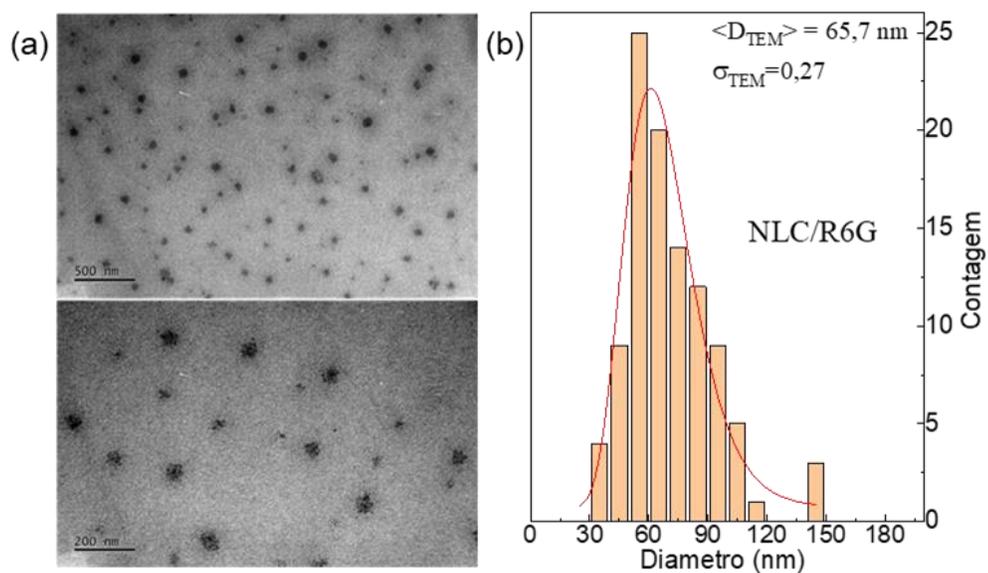


Figura 25. As imagens de TEM (esquerda) mostram nanopartículas de rodamina 6G distribuídas em matrizes lipídicas. À direita, observa-se um histograma da distribuição de tamanhos das NLC/Rh6G, com imagens de TEM analisadas no software ImageJ.

## 5.2. Caracterização óptica das formulações NLC/Curc e NLC/Rh6G

### 5.2.1. Absorção UV-Vis e Fluorescência

A curcumina é insolúvel em água, mas apresenta solubilidade variada em diferentes solventes orgânicos. Sua solubilidade é muito alta em solventes orgânicos polares, assim como em benzeno, mas é apenas moderadamente solúvel em solventes orgânicos alifáticos ou alicíclicos, como hexano e ciclo-hexano [82].

Os espectros de absorção da curcumina em diferentes solventes apresentam bandas intensas na região de 300–500 nm. Os máximos de absorção sofrem um deslocamento para o vermelho em solventes mais polares. Por exemplo, os máximos estão em 408 nm e 430 nm em ciclo-hexano e N, N,-dimetilformamida (DMF), respectivamente [82]. Quando solubilizado em etanol, o espectro de absorção da curcumina exibe uma intensa em ~ 428 nm e uma ombro mais fraco em ~ 355 nm. A banda em ~ 428 nm é atribuída à forma enol (devido à estrutura diferuloil conjugada), enquanto a banda em ~ 355 nm corresponde à forma  $\beta$ -dicetona (devido à ausência de conjugação entre duas unidades feruloil na forma  $\beta$ -diceto) [83][84].

Os espectros de fluorescência da curcumina também apresentam mudanças significativas dependentes do solvente. Os máximos das bandas de fluorescência deslocam-se para o vermelho em solventes mais polares. O pico de fluorescência varia de 446 nm em ciclo-hexano para 549 nm em dimetilsulfóxido (DMSO). Em metanol e etanol, sob pH neutro, o máximo da fluorescência ocorre em torno de 540 nm [83], deslocando-se para o azul (~492 nm) na presença de surfactantes glicolipídios [84].

Os espectros de absorção (linhas azuis) e fluorescência (linhas vermelhas) das NPs Curc/EtOH (linhas pontilhadas) e NLC/Curc (linhas contínuas) são apresentadas na Fig 26 No presente estudo, a solução de curcumina em etanol exibe uma banda de absorção larga centrada em 426 nm e um ombro mais fraco em 375 nm. Após o carregamento na matriz lipídica, a banda principal sofre um leve deslocamento para o vermelho (428 nm), apresentando um pequeno ombro em ~442 nm, enquanto a banda associada à unidade feruloil na forma  $\beta$ -diceto desaparece. Esse comportamento

sugere que as moléculas de curcumina interagem com a matriz lipídica por meio da unidade feruloil.

Ao analisar a fluorescência da Curc/EtOH e da formulação NLC/Curc (linhas em vermelho), observa-se que o máximo do pico de fluorescência da curcumina solubilizada em etanol (Curc/EtOH), centrado em ~ 551 nm, desloca-se para ~ 520 nm após o carregamento (NLC/Curc). Esse deslocamento pode ser atribuído à interação hidrofóbica da curcumina com as moléculas lipídicas que formam as NPs [85].

A rodamina 6G apresenta uma banda de absorção  $S_1-S_0$ , na região de 480 – 550 nm, com máximo em 530 nm. Já a fluorescência ocorre na faixa de 550–590 nm, com máximo em 565 nm, conforme mostrado na Fig.27. O carregamento da rodamina 6G na matriz lipídica não alterou a forma de seu espectro de absorção, descartando a possibilidade de formação de um complexo no estado fundamental entre a matriz lipídica e a rodamina 6G. Esse fato é reforçado pelos espectros de fluorescência da rodamina livre e carregada (Fig. 27).

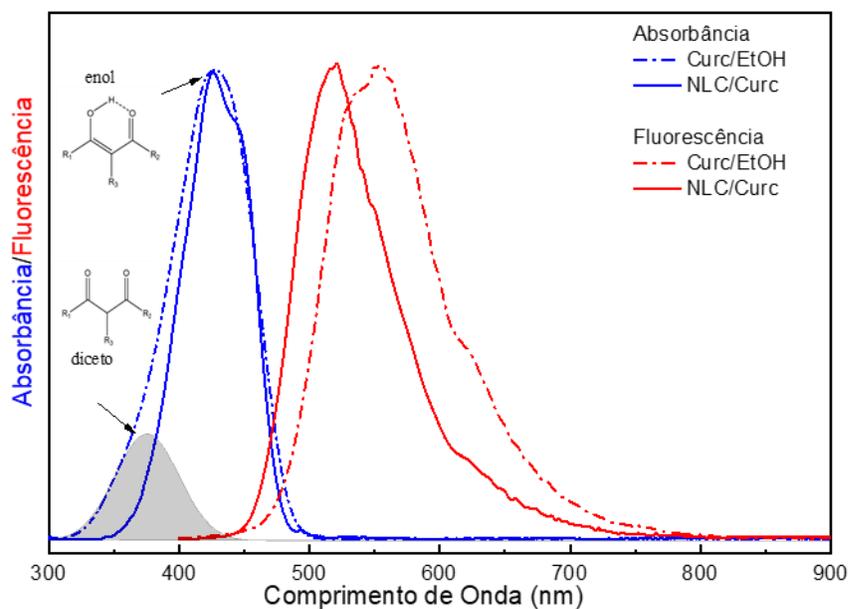


Fig. 26. Espectros de absorção (linhas azuis) e fluorescência (linhas vermelhas) da solução Curc/EtOH (linhas pontilhadas) e formulação NLC/Curc (linhas contínuas).

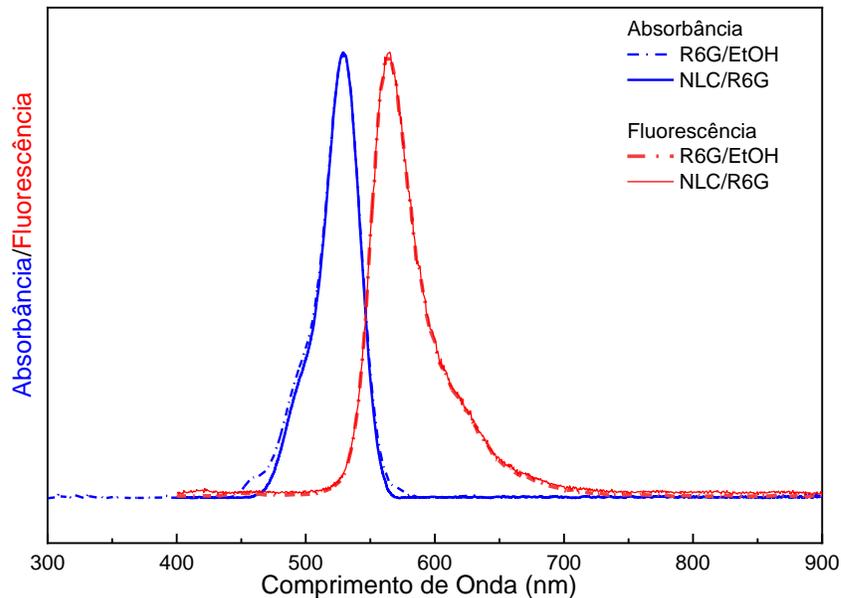


Fig. 27. Espectros de absorção (linhas azuis) e fluorescência (linhas vermelhas) da solução Rh6G/EtOH (linhas pontilhadas) e da formulação NLC/Rh6G (linhas contínuas).

### 5.2.2. Espectroscopia FTIR e Raman das formulações NLC/Cur e NLC/Rh6G

A Fig. 28 apresenta os espectros de FTIR das formulações NLC/Cur (i), NLC/Rh6G (ii), bem como das soluções de curcumina (vi) e rodamina 6G (vii) em etanol. Também são exibidos os espectros do óleo de palmiste (v), da manteiga de murumuru (iv) e do surfactante Kolliphor® (iii). O espectro FTIR da rodamina 6G não é menos complexo que o da curcumina. Como mostrado na Fig. 28 (vii), ele apresenta bandas características em 1313, 1534, 1610, 1647, 1717, 2979 e 3170  $\text{cm}^{-1}$ . As bandas observadas em 1313 e 1610  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídas ao modo  $\nu(C - C)$  do anel, enquanto a banda 2979  $\text{cm}^{-1}$  corresponde ao modo  $\nu(C - H)$ . O pico em 1647  $\text{cm}^{-1}$  corresponde às vibrações de estiramento do grupo carbonila ( $-COOH$  ou  $-CONH$ ) e vibrações de estiramento N-H de grupos amina. Além disso, os picos em 1534 e 1717  $\text{cm}^{-1}$  foram atribuídos, respectivamente, à vibração de flexão no plano C-N e vibração de estiramento  $C = O$  dos grupos éster. A banda em aproximadamente 3170  $\text{cm}^{-1}$  foi associada à vibrações de estiramento do grupo amina secundária N - H [86].

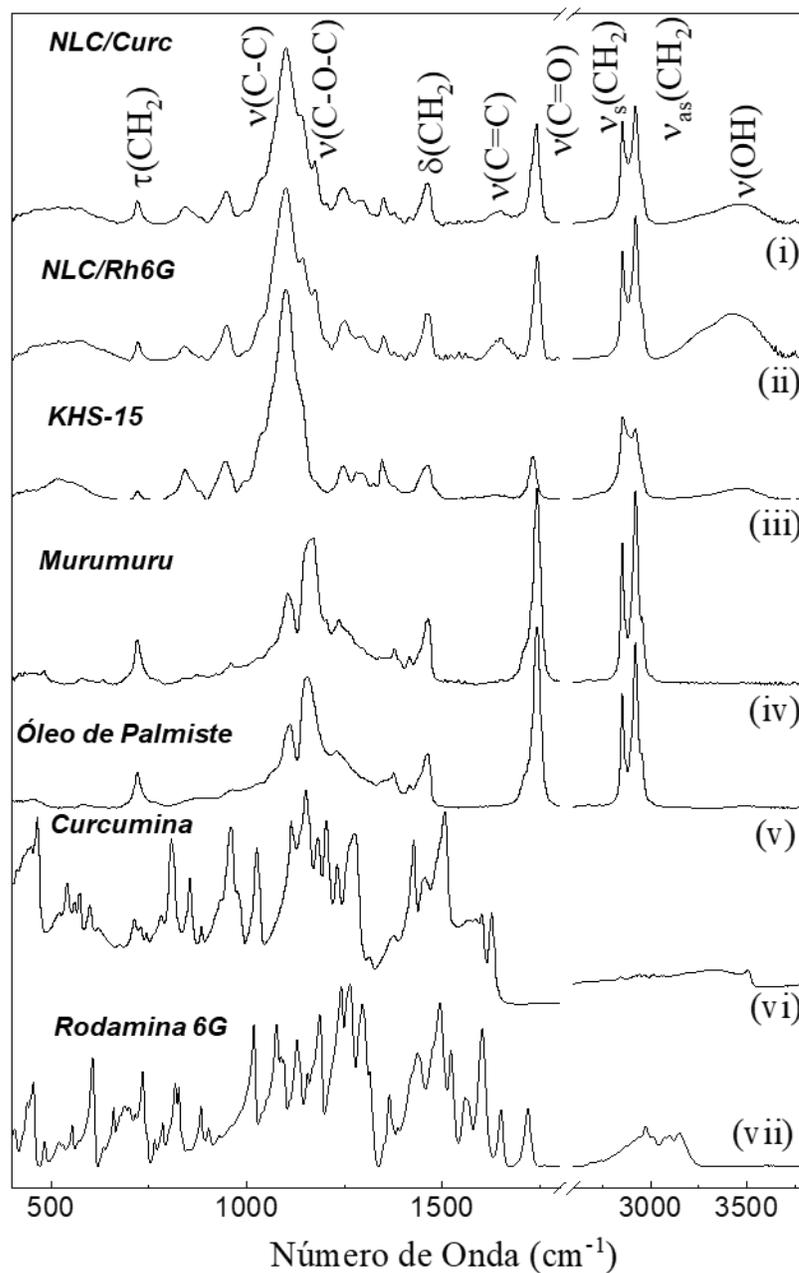


Fig. 28. Espectros FTIR das formulações NLC/Curc (i), NLC/Rh6G (ii), das soluções Curcumina (vi) e Rodamina 6G (vii), solubilizadas em etanol e os espectros do óleo Palmiste (v), da manteiga de Murumuru (iv) e do surfactante kolliphor® (iii).

Na região de maior energia, o espectro de absorção no infravermelho da curcumina exibe uma banda larga centrada em  $\sim 3450 \text{ cm}^{-1}$  e outra mais estreita em  $3010 \text{ cm}^{-1}$ , associadas às vibrações do grupo hidroxila ( $\text{OH}$  livre) e à ligação  $\text{CH}$  do

grupo aril. A banda em  $1626\text{ cm}^{-1}$  é predominantemente atribuída às vibrações de estiramento  $C = C$  e  $C = O$ . A banda fraca em  $1601\text{ cm}^{-1}$  é associada às vibrações de estiramento simétricas do anel aromático ( $\nu(C - C)_{anel}$ ). O pico em  $1508\text{ cm}^{-1}$  corresponde a vibrações  $\nu(C = C)$ , enquanto o modo vibracional da ligação e  $C - O$  do grupo enol aparece em  $1357\text{ cm}^{-1}$ . A banda de absorção da ligação  $C - O - C$  é observada em  $1023\text{ cm}^{-1}$ . Já as vibrações *trans* e *cis* das ligações  $C - H$  do anel aromático são encontradas em  $959$  e  $713\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente [87].

O Kolliphor® apresenta picos característicos em  $3414$ ,  $2876$  e  $1099\text{ cm}^{-1}$ , correspondentes às vibrações das ligações  $O - H$ ,  $C - H$ ,  $C - O$ , respectivamente. As bandas em torno de  $2880$ ,  $1465/1342$  e  $1242\text{ cm}^{-1}$  são devidas, respectivamente, aos modos de estiramento, flexão e torção do metileno  $C - H$ . As bandas em torno de  $950$  e  $1110\text{ cm}^{-1}$  estão associadas aos modos de estiramento das ligações  $C - C$  e  $C - O$ , respectivamente. Finalmente, as bandas em aproximadamente  $533$  e  $860\text{ cm}^{-1}$  correspondem às vibrações do esqueleto molecular [88].

Os espectros de FTIR do óleo de palmiste (v) e da manteiga de murumuru (iv) são bastante semelhantes e apresentam características típicas de lipídios. As bandas de absorção em  $1050\text{--}1200$ ,  $1250\text{--}1300$ ,  $1400\text{--}1500$  e  $2800\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$  estão associadas às vibrações de estiramento simétrico e antissimétrico do metileno ( $\sim 2852$  e  $\sim 2920\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente) e do grupo metil, em aproximadamente  $2955\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_{as}(CH_3)$ ). Outras bandas associadas a diferentes vibrações dos grupos metil e metileno, como deformação e vibração em tesoura da ligação  $CH_2$ , além da deformação simétrica do grupo  $CH_3$ , são encontradas em aproximadamente  $721$ ,  $1465$  e  $1380\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. Por fim, as vibrações de estiramento das ligações  $C = C$  e  $C = O$  (grupo éster carbonila) são observadas em torno de  $1650$  e  $1740\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente [89].

Os espectros de FTIR das NPs NLC/Cur (i) e NLC/Rh6G (ii) exibem características típicas do espectro do Kolliphor® (iii). Não foram observadas evidências diretas da presença de curcumina ou rodamina 6G nos espectros de FTIR dessas NPs. As únicas diferenças detectadas foram pequenas variações nas intensidades e deslocamentos dos modos vibracionais. A mudança mais pronunciada

foi o deslocamento do modo vibracional do modo  $\nu(C=O)$ , encontrado em  $1730\text{ cm}^{-1}$  para o Kolliphor® e em  $1740\text{ cm}^{-1}$  para as formulações NLC/Cur (i) e NLC/Rh6G (ii). Além disso, verificou-se um aumento na intensidade das bandas  $\nu(C=C)$  e  $\nu(C-O-C)$ .

Os espectros Raman da curcumina livre e carregada na matriz lipídica são apresentados na Fig. 29, respectivamente em (i) e (ii). Diversas mudanças espectrais significativas são observadas. As bandas correspondentes às ligações  $C=C$  e  $C=O$  da curcumina livre parecem estar sobrepostas em  $1626\text{ cm}^{-1}$ , com um ombro em  $1635\text{ cm}^{-1}$ . As vibrações do anel aromático, atribuídas ao modo vibracional  $\nu(C_{anel}-C=C)$ , ocorrem  $1601\text{ cm}^{-1}$ .

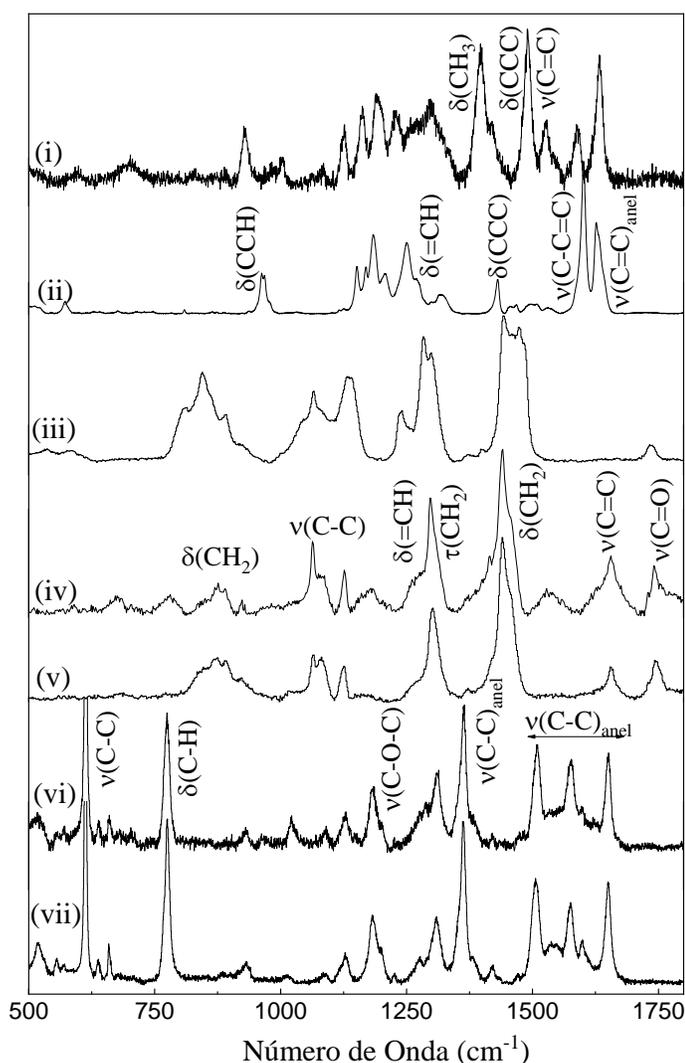


Fig. 29. Espectros Raman das formulações NLC/Cur (i) em NLC/Rh6G (ii), das soluções Curcumina (vi) e Rodamina 6G (vii), solubilizadas em etanol e os espectros do óleo Palmiste (v), da manteiga de Murumuru (iv) e do surfactante kolliphor® (iii).

Após o carregamento na matriz lipídica, observa-se um aumento na intensidade do pico em  $1635\text{ cm}^{-1}$  em relação ao pico em  $1626\text{ cm}^{-1}$ , além da redução da intensidade e do deslocamento do pico em  $1601\text{ cm}^{-1}$  para  $1587\text{ cm}^{-1}$ . Adicionalmente, as vibrações no plano do anel, do tipo  $\delta(CCC)$  e  $\delta(CCH)$ , inicialmente em  $1430\text{ cm}^{-1}$ , deslocam-se para  $1400\text{ cm}^{-1}$  após o carregamento. Esse processo também resulta no surgimento de novos picos em  $1528$ ,  $1490$  e  $1390\text{ cm}^{-1}$ . O primeiro pico pode estar associado a vibrações do tipo  $\nu(C=O)$ ,  $\delta(CCC)$  ou  $\delta(CC=O)$  no plano do anel. Os dois últimos picos podem estar relacionados a vibrações das ligações  $C-O-H$  na forma enólica [87][90].

O surgimento de novos picos associados às ligações na forma enólica sugere, assim como indicado pelos dados de UV-Vis, que a interação da curcumina com a matriz lipídica ocorre preferencialmente por meio da sua estrutura diferuloil conjugada na forma enol, em detrimento da forma  $\beta$ -diceto, devido a uma combinação de fatores estruturais, eletrônicos e energéticos. A forma enol da curcumina apresenta uma estrutura molecular que permite uma maior deslocalização de elétrons ao longo da cadeia diferuloil conjugada. Essa deslocalização confere à molécula uma maior polaridade e, conseqüentemente, uma maior afinidade por ambientes lipídicos, que também possuem características polares devido à presença de grupos éster e outras funcionalidades [91]. A forma  $\beta$ -diceto, por outro lado, possui uma estrutura menos polarizada, com menor capacidade de interagir favoravelmente com a matriz lipídica.

Diferentemente do observado para o curcumina, os espectros Raman das moléculas de rodamina 6G, tanto na forma livre quanto carregada na matriz lipídica, são muito semelhantes. A rodamina 6G livre apresenta sinais Raman em  $614$ ,  $774$ ,  $1187$ ,  $1362$ ,  $1510$ ,  $1578$  e  $1648\text{ cm}^{-1}$ . Os picos obtidos estão em boa concordância com estudos anteriores [92]. O pico de  $614\text{ cm}^{-1}$  corresponde ao modo de flexão no plano do anel  $C-C-C$ . O modo de flexão fora do plano  $C-H$  é observado em  $774\text{ cm}^{-1}$ , enquanto a frequência de alongamento  $C-O-C$  aparece em  $1187\text{ cm}^{-1}$ . Picos

centrados em 1362, 1507, 1571 e 1648  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídos ao estiramento do anel aromático  $C - C$  da molécula de rodamina 6G. Após o carregamento na matriz lipídica as energias vibracionais de todos os picos permanecem praticamente inalteradas, sugerindo que as moléculas de rodamina não interagem com as moléculas formadoras da matriz lipídica. Esse comportamento pode ser explicado levando-se em conta que a rodamina 6G é uma molécula carregada positivamente devido à presença de um grupo amônio quaternário. Essa carga positiva confere à molécula uma alta polaridade, o que a torna mais afim por ambientes aquosos do que por ambientes lipídicos, que são predominantemente apolares. As moléculas lipídicas, como os triglicerídeos presentes no óleo de palmiste e na manteiga de murumuru, são compostas principalmente por cadeias de hidrocarbonetos apolares. Embora possuam grupos éster que conferem alguma polaridade, a maior parte da molécula é apolar.

A diferença na interação entre as moléculas de curcumina e rodamina 6G com os lipídios da matriz explica as distintas morfologias observadas nas imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) das nanopartículas lipídicas (NLCs). A curcumina, devido à sua forte interação com os lipídios, apresenta alta solubilidade no meio lipídico. Essa interação facilita a completa solubilização da curcumina na matriz lipídica, resultando em uma distribuição homogênea das moléculas por todo o volume das NLCs. Nas imagens de MET, essa distribuição homogênea se manifesta na forma levemente ovalada das nanopartículas NLC/Cur, com bordas bem definidas. A uniformidade na forma e no tamanho sugere que a curcumina está uniformemente distribuída na matriz lipídica, sem formar aglomerados ou fases separadas.

Em contraste, a rodamina 6G exibe baixa solubilidade no meio lipídico devido à sua fraca interação com os lipídios. Essa característica leva à aglomeração das moléculas de rodamina 6G no centro das NLCs, formando um núcleo mais denso. Nas imagens de MET, essa aglomeração centralizada se reflete na morfologia mais esférica das nanopartículas de NLC/Rh6G, com bordas com sombreamento irregulares ao redor de um núcleo mais escuro. O núcleo escuro indica a presença da rodamina 6G aglomerada, enquanto o sombreamento irregular nas bordas sugere a presença do revestimento lipídico.

### 5.3. Análises de impressões digitais latentes

Neste estudo, foram analisadas 120 impressões digitais latentes depositadas sobre substratos de vidro e papel plastificado colorido, com o objetivo de avaliar a eficácia das diferentes formulações reveladoras. Dentre essas, 48 impressões foram avaliadas usando formulações recém-preparadas e 48 com formulações envelhecidas por três meses. Imagens fotografias dessas impressões reveladas são mostradas nas Figs 30 e 31, respectivamente.

A eficiência da revelação foi analisada com base em imagens fotográficas das impressões digitais obtidas em um intervalo de tempo variando de 10 minutos a 1 semana após revelação. As Figs 30 (a) e 30 (b) apresentam, respectivamente, as imagens das impressões digitais reveladas com a formulação NLC/Curc frescas e envelhecidas. As Figs 31 (a) e 31 (b) apresentam, respectivamente, as imagens das impressões digitais reveladas com a formulação NLC/Rh6G frescas e envelhecidas.

As impressões digitais depositadas sobre lâmina de vidro são exibidas nas duas primeiras colunas de cada painel, enquanto aquelas depositadas sobre papel plastificado colorido estão nas duas últimas colunas. Além disso, a primeira coluna de cada painel mostra as imagens reveladas com as soluções AB40/EtOH (Fig. 30) e Rh6G/OS-M/EtOH (Fig. 31). A segunda coluna exibe as imagens das impressões digitais reveladas com as formulações NLC/Curc (Fig. 30) e NLC/Rh6G (Fig. 31), tanto na versão fresca quanto envelhecida, respectivamente, nos painéis (a) e (b).

Uma análise visual das imagens indicou que a formulação NLC/Rh6G demonstrou alta eficácia na revelação de impressões digitais latentes, atingindo 100% de sucesso nas amostras analisadas. A formulação NLC/Curc também apresentou um bom desempenho, com 93,7% de sucesso na revelação.

A comparação entre as imagens das impressões digitais reveladas com as formulações NLC/Curc e NLC/Rh6G (frescas) e aquelas obtidas com as soluções AB40/EtOH e Rh6G/OS-M/EtOH evidenciou que as imagens geradas pelas formulações foram mais nítidas e bem definidas do que as produzidas com as soluções. Contudo, embora tenham apresentado uma melhor qualidade de imagem, as impressões digitais reveladas com a formulação NLC/Curc permaneceram visíveis somente por até 120 minutos quando depositadas sobre vidro e por até 60 minutos

quando depositadas sobre papel plastificado colorido. Por outro lado, as impressões digitais tratadas com a formulação NLC/Rh6G mantiveram-se visíveis durante todo o período estudado.

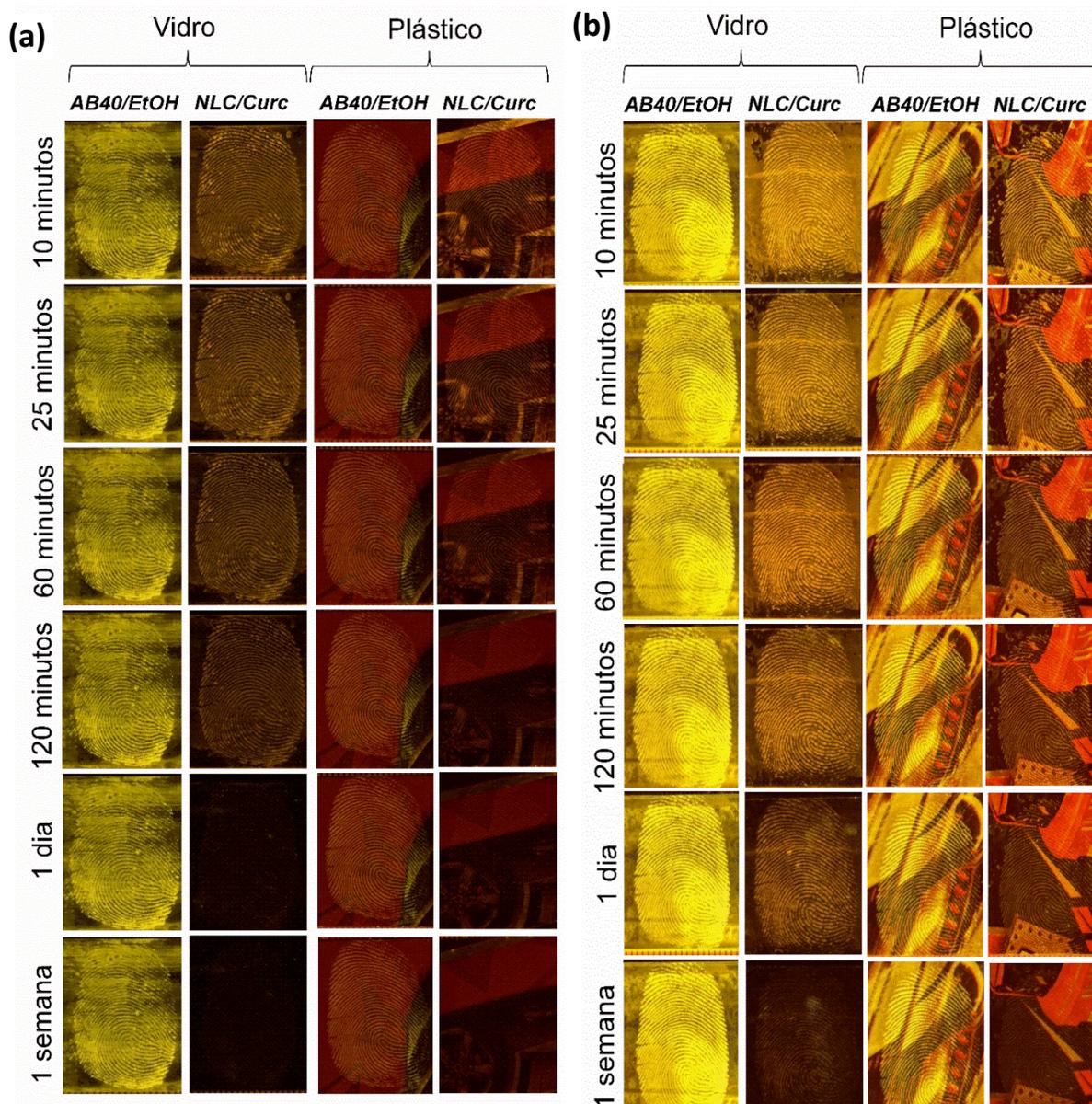


Figura 30. Imagens de impressões digitais depositadas sobre substrato de vidro e plástico colorido reveladas com solução de AB40/EtOH e formulação NLC/Curc. Em (a) e (b) as impressões digitais foram reveladas com as formulações frescas e envelhecidas, respectivamente.

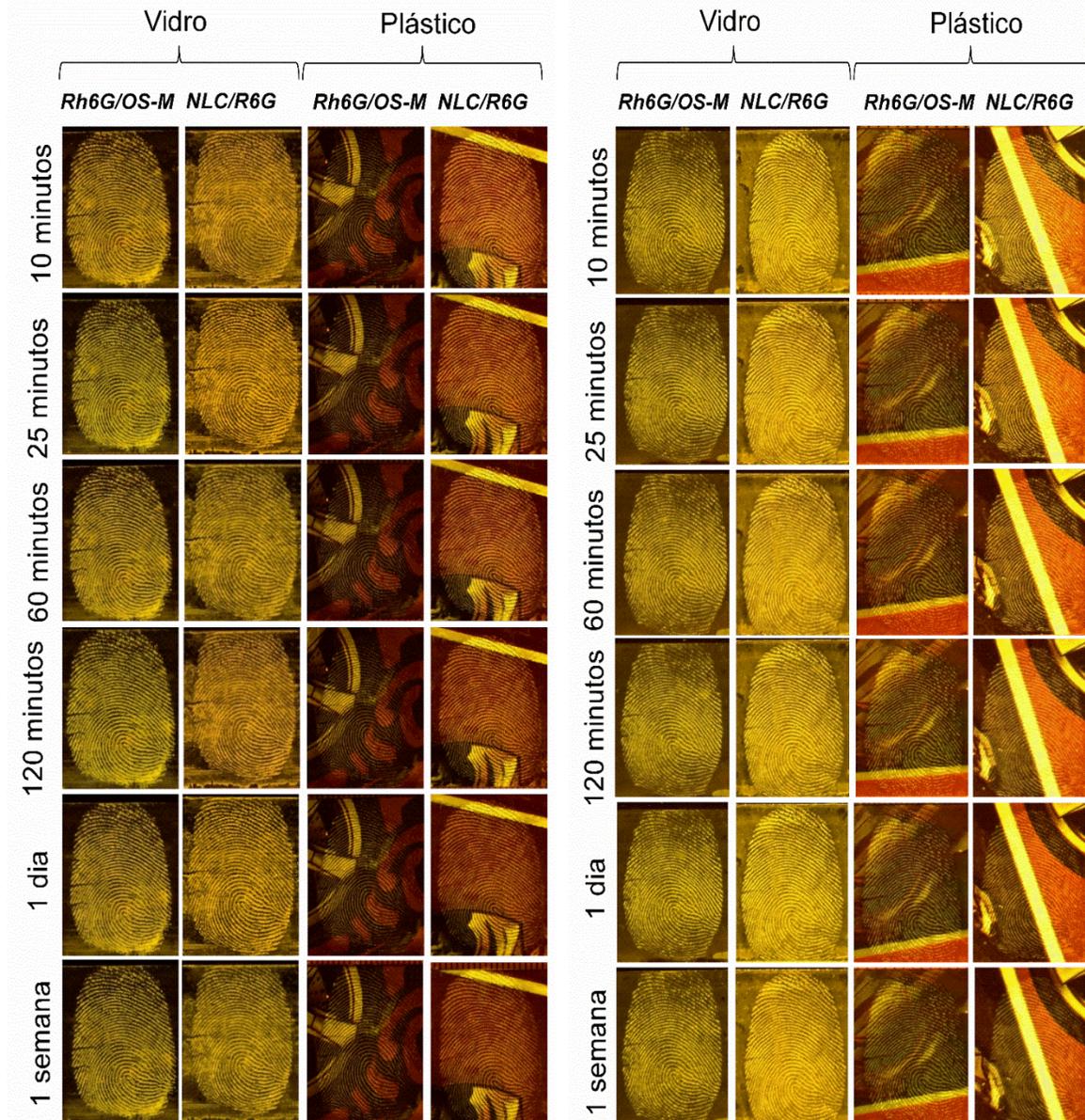


Figura 31. Imagens de impressões digitais depositadas sobre substrato de vidro e plástico colorido reveladas com solução de Rh6G/OS-M/EtHO e formulação NLC/Rh6G. Em (a) e (b) as impressões digitais foram reveladas com as formulações frescas e envelhecidas, respectivamente.

Para realizar uma comparação direta entre a qualidade das revelações utilizando as formulações NLC/Curc e NLC/Rh6G e aquelas obtidas com as soluções AB40/EtOH e Rh6G/OS-M/EtOH, 24 impressões digitais foram depositadas em substratos divididos em duas partes. Imagens fotografias das revelações realizadas com os reveladores NLC/Curc e AB40/EtOH são exibidas na Fig 32(a), enquanto as revelações utilizando os revelados NLC/Rh6G e Rh6G/OS-M/EtOH são apresentados Fig 32 (b). No lado esquerdo dos substratos, as impressões digitais foram reveladas com as formulações NLC/Curc e NLC/Rh6G, enquanto no lado direito foram utilizadas as soluções AB40/EtOH e Rh6G/OS-M/EtOH. Esses experimentos foram realizados com as formulações envelhecidas.

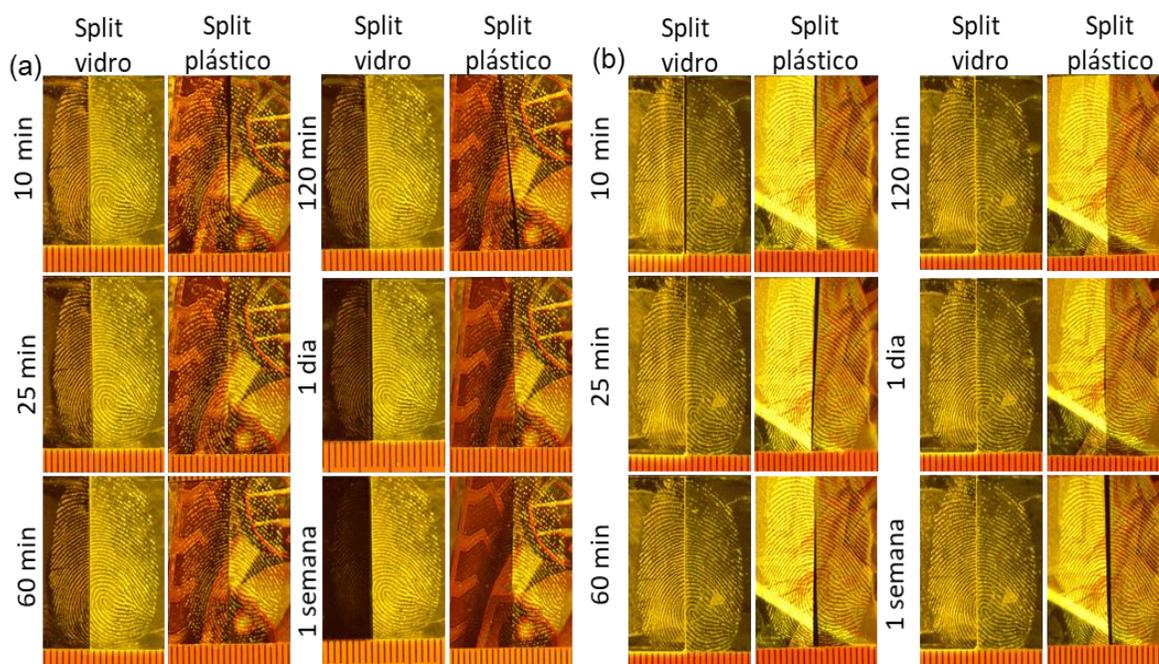


Figura 32. Imagens de impressões digitais depositadas sobre substrato de vidro e plástico colorido, divididos em duas partes. Os fragmentos das impressões depositadas do lado esquerdo de cada substrato foram revelados com as formulações NLC/Curc (a) e NLC/Rh6G (b), enquanto no lado direito foram utilizadas as soluções AB40/EtOH (a) e Rh6G/OS-M/EtOH (b).

Pode ser claramente verificado na Fig. 32 que a qualidade das revelações realizadas com a formulação NLC/Rh6G é comparável à observada nas revelações com a solução Rh6G/OS-M/EtOH. Contudo, o mesmo não ocorreu com as impressões

digitais reveladas com a formulação NLC/Cur, quanto comparada com as revelações realizadas com a solução AB40/EtOH. Enquanto as imagens das impressões digitais reveladas com a formulação NLC/Rh6G permaneceram visíveis durante todo intervalo de tempo estudado, o contraste das cristas das marcas digitais tratadas com NLC/Curc tornou-se fracamente visível a partir de 120 minutos. O escurecimento das marcas digitais reveladas com formulação NLC/Cur pode estar associada com processos oxidativos da curcumina quando exposto ao ar.

#### **5.4. Análise Morfológica dos Níveis de Características**

A fim de fazer uma análise morfológica dermopapilar das impressões digitais aqui estudadas, ampliações das imagens das impressões digitais reveladas com as formulações NLC/Cur e NLC/Rh6G são exibidas nas Figs. 32 e 33, respectivamente. Nas Figs. 32 (a) e 33 (a) são apresentadas as impressões digitais depositadas sobre plástico colorido, enquanto nas Figs. 32 (b) e 33 (b) as depositadas sobre lâmina de vidro.

As análises morfológicas dermopapilares das impressões digitais aqui estudadas se basearam na diferenciação entre as cristas (representadas por linhas de cor amarela) e os sulcos ou vales que as separam, de acordo com a classificação das impressões digitais com base nos níveis de análise, como discutido na seção 2.1.

Como pode ser observado na Fig. 32 (a.1) e (b.1), onde a impressão digital foi revelada com a formulação NLC/Curc, as cristas curvadas entram e saem pelo mesmo local, permitindo a identificação da formação de um núcleo recurvo (presilha), característico do nível I. As linhas incipientes e os poros de suor, mostrados nas Figs 32 (a.2 e a.3) e (b.2 e b.3) são características de Nível III. Características de nível II são mostrados nas ampliações de 4 a 9, onde são evidenciados a presença de confluências, fim de linha, ilhota, delta, arpão e encerro.

Uma importante característica observada na Fig. 32 (a.7) é a presença de cristas na forma de tripode. Essa característica inclui a formação de uma bifurcação de múltiplas cristas, terminação abrupta de cristas e um fragmento de crista, o que indica a presença de um delta. Assim, a impressão digital detectada pode ser classificada como um padrão de presilha externa ou presilha direita. [93][12][94][95][96].

Características semelhantes às encontradas nas imagens mostradas na Fig. 32 também se mostraram presentes nas imagens da impressão digital revelada com a formulação NLC/Rh6G, como mostrada na Fig. 33. Assim, como anteriormente é possível observar características de nível II, como: confluência (a.4 e b.4), fim de linha (a.5 e b.6), começo de linha (a.7 e b.5), ilhota (a.6) entre outras.

Outras características importantes são as linhas incipientes, que correspondem a cristas pouco definidas (Fig. 33 (b.2)), e os poros localizados entre as cristas papilares, ambos pertencentes às características de nível III. A presença das linhas incipientes varia entre indivíduos devido a fatores genéticos e biológicos [97]. Atualmente, poucos reveladores convencionais de impressões digitais conseguem obter resultados nessas condições. Por isso, é fundamental comparar os padrões originais das bases de dados, analisando a distância entre os poros e a localização das linhas incipientes.

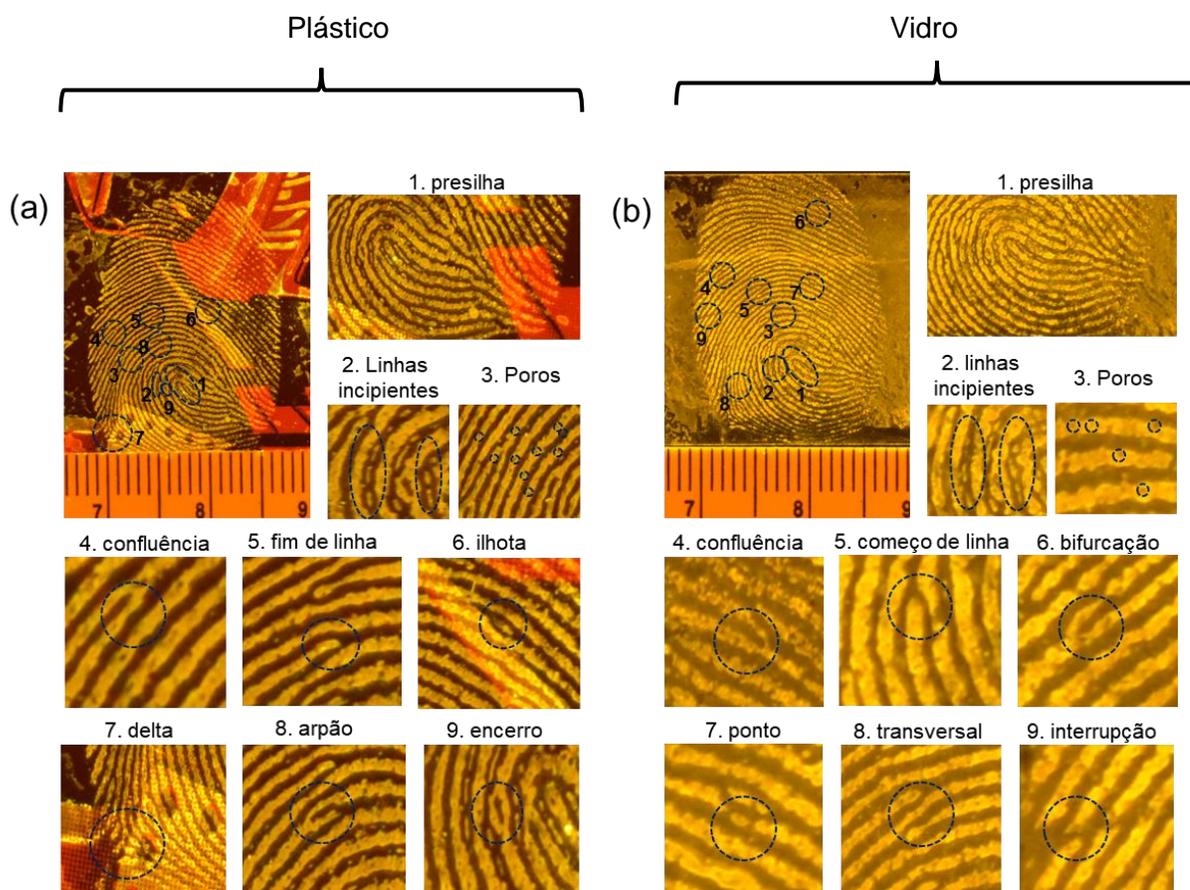


Figura 32. Ampliações da impressão digital depositadas sobre plástico colorido (a) e lamina de vidro (b), reveladas com a formulação NLC/Curc



## CAPÍTULO 6

### 6. Conclusões

Este estudo teve como objetivo desenvolver, caracterizar e avaliar a eficácia de formulações baseadas em nanopartículas lipídicas luminescentes para a revelação de impressões digitais latentes.

As análises de microscopia eletrônica de transmissão (MET) e espalhamento de luz dinâmico (DLS) confirmaram que as nanopartículas apresentam morfologia aproximadamente esférica e tamanho nanométrico com distribuição homogênea.

Os estudos de espectroscopia óptica (UV-Vis, FTIR e Raman) permitiram compreender a interação dos fluoróforos com a matriz lipídica. As análises de UV-Vis indicaram que a rodamina 6G manteve seu espectro característico após a incorporação na matriz lipídica, sugerindo que suas propriedades ópticas não foram significativamente alteradas. Já a curcumina apresentou variações espectrais, evidenciando uma possível interação com os componentes lipídicos. Os espectros Raman confirmaram que a interação da curcumina ocorre preferencialmente por meio da sua estrutura diferuloil conjugada na forma enol, enquanto a rodamina 6G demonstrou baixa interação molecular com a matriz. A espectroscopia UV-Vis corroborou esses achados, evidenciado pelo desaparecimento da banda associada à unidade feruloil na forma  $\beta$ -diceto.

A análise das impressões digitais depositadas em substratos de vidro e papel plastificado colorido revelou que as formulações NLC/Rh6G apresentaram uma alta taxa de sucesso (100%) e uma excelente qualidade de imagem, mantendo as impressões visíveis ao longo de todo o período estudado. Em contrapartida, a formulação NLC/Curc, embora eficaz, apresentou uma durabilidade significativamente menor, desaparecendo após 120 minutos em vidro e 60 minutos em papel plastificado colorido. Essas descobertas contribuem significativamente para o aprimoramento das técnicas de revelação de impressões digitais, especialmente em cenários forenses, onde a qualidade e a durabilidade das impressões podem ser cruciais para a identificação e resolução de crimes.

A comparação entre as imagens reveladas com as formulações NLC/Curc e NLC/Rh6G e as soluções AB40/EtOH e Rh6G/OS-M/EtOH mostrou que as formulações NLC/Curc e NLC/Rh6G proporcionaram imagens mais nítidas e bem definidas, destacando-se pela maior clareza nas marcas das impressões digitais. No entanto, a formulação NLC/Curc demonstrou um escurecimento das marcas com o tempo, possivelmente devido a processos oxidativos da curcumina quando exposta ao ar.

Adicionalmente, a análise morfológica dermopapilar das impressões digitais revelou a presença de características de diferentes níveis de análise, como cristas, sulcos, poros de suor e linhas incipientes, que permitiram a classificação precisa dos padrões das impressões digitais. As impressões digitais reveladas com ambas as formulações NLC/Curc e NLC/Rh6G exibiram características típicas de nível II e III, essenciais para a identificação individualizada.

Os resultados deste estudo demonstram que as formulações aqui desenvolvidas apresentam um excelente potencial para serem incorporadas em protocolos forenses modernos, minimizando riscos ocupacionais e impactos ambientais sem comprometer a qualidade das impressões digitais reveladas. A substituição de corantes convencionais por sistemas nanoestruturados reduz a necessidade de solventes tóxicos e agressivos ao meio ambiente, tornando o processo menos nocivo à saúde humana e mais sustentável.

Portanto, este estudo reafirma que o uso de nanopartículas lipídicas luminescentes pode representar um avanço significativo na investigação forense, combinando alto desempenho, segurança e responsabilidade ambiental.

## **Perspectivas Futuras**

- Controle do pH em formulações lipídicas de curcumina, variando de meio ácido a alcalino, com monitoramento da fotodegradação sob exposição à luz natural.
- Desenvolvimento e avaliação de novas formulações de Rodamina 6G, ajustando as proporções de lipídios e sólidos, visando otimizar a estabilidade coloidal, com índice de polidispersidade (PDI) reduzido e potencial zeta superior a  $\pm 20$  mV.
- Aplicação das formulações em impressões digitais envelhecidas por períodos de 1 dia a 1 ano, obtidas de mais de 20 doadores, incluindo homens e mulheres, com faixa etária entre 18 e 40 anos.

## **REFERENCIAS**

- [1] A. A. Momani and L. T. Kóczy, "A robust fingerprint identification approach using a fuzzy system and novel rotation method," *Pattern Recognit*, vol. 159, Mar. 2025, doi: 10.1016/j.patcog.2024.111134.
- [2] W. J. HERSCHEL, "Skin Furrows of the Hand," *Nature Publishing Group*, 1880, doi: <https://doi.org/10.1038/023076b0>.
- [3] N. E. Richards, A. Langley, and L. J. V. Stimpson, "Development of conductive fingermarks for forensic applications," *Forensic Sci Med Pathol*, 2024, doi: 10.1007/s12024-024-00898-1.
- [4] G. S. Bumbrah, "Cyanoacrylate fuming method for detection of latent fingermarks: a review," Dec. 01, 2017, *Springer Berlin Heidelberg*. doi: 10.1186/s41935-017-0009-7.
- [5] F. M. Gomes, C. M. P. de Pereira, K. de Cássia Mariotti, T. Magaiver Pereira, N. A. dos Santos, and W. Romão, "Study of latent fingerprints – A review," *Forensic Chemistry*, vol. 35, no. March, 2023, doi: 10.1016/j.forc.2023.100525.
- [6] S. Gouse, S. Karnam, H. Girish, and S. Murgod, "Forensic photography: Prospect through the lens," *J Forensic Dent Sci*, vol. 10, no. 1, p. 2, 2018, doi: 10.4103/jfo.jfds\_2\_16.
- [7] Christophe Champod, Chris Lennard, Pierre Margot, and Milutin Stoilovic, *Fingerprints and Other Ridge Skin Impressions*. CRC Press, 2016.
- [8] R. Vadivel, M. Nirmala, and K. Anbukumaran, "Commonly available, everyday materials as non-conventional powders for the visualization of latent fingerprints," Jun. 01, 2021, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.forc.2021.100339.
- [9] R. K. Jain, D. Sunil, and P. Bhagavath, "Organic fluorophores in developing latent fingerprints: an up-to-date review," Jan. 01, 2024, *Springer*. doi: 10.1007/s11998-024-00991-8.
- [10] J. Mei, Y. Hong, J. W. Y. Lam, A. Qin, Y. Tang, and B. Z. Tang, "Aggregation-induced emission: The whole is more brilliant than the parts," Aug. 20, 2014, *Wiley-VCH Verlag*. doi: 10.1002/adma.201401356.
- [11] V. C. Aragão and G. J. Maximo, "Thermophysical properties of blends composed of Amazonian fats and soybean oil," *Food Research International*, vol. 177, no. August 2023, 2024, doi: 10.1016/j.foodres.2023.113911.
- [12] R. S. Ramotowski, H. C. Lee, and R. E. Gaensslen, *Advances in fingerprint technology*, Third Edition. 2018. doi: 10.1007/978-3-319-98734-7\_2.

- [13] I. H. Yu, S. Jou, C. M. Chen, K. C. Wang, L. J. Pang, and J. S. Liao, "Development of latent fingerprint by ZnO deposition," *Forensic Sci Int*, vol. 207, no. 1–3, pp. 14–18, 2011, doi: 10.1016/j.forsciint.2010.07.035.
- [14] N. Jones, M. Stoilovic, C. Lennard, and C. Roux, "Vacuum metal deposition: Developing latent fingerprints on polyethylene substrates after the deposition of excess gold," *Forensic Sci Int*, vol. 123, no. 1, pp. 5–12, 2001, doi: 10.1016/S0379-0738(01)00507-2.
- [15] M. Tapps, L. McMullen, M. E. Gagné, and A. Beaudoin, "Revealing a decades-old fingermark with cyanoacrylate fuming and rhodamine 6G," *Forensic Sci Int*, vol. 300, pp. e9–e12, 2019, doi: 10.1016/j.forsciint.2019.04.025.
- [16] A. Exall, I. Goddard, and H. Bandey, "Preliminary investigations using recover latent fingerprint technology on unfired ammunition and fired cartridge cases," *Science and Justice*, vol. 62, no. 5, pp. 556–568, 2022, doi: 10.1016/j.scijus.2022.08.001.
- [17] IFRG, "Guidelines for the Assessment of Fingermark Detection Techniques," 2014.
- [18] MSDS NiNo3, "Safety Data Sheet-Rhodamine 6G," *Material Safety Data Sheet*, vol. 4, no. 2, pp. 8–10, 2012.
- [19] Zeolite Products, "Material Safety Data Sheet- BASIC YELLOW 40," *Material Safety Data Sheet*, no. 1907, pp. 1–5, 2021.
- [20] R. S. Ramotowski, H. C. Lee, and R. E. Gaensslen, *Advances in fingerprint technology*, Third Edition. 2018. doi: 10.1007/978-3-319-98734-7\_2.
- [21] S. Cadd, M. Islam, P. Manson, and S. Bleay, "Fingerprint composition and aging: A literature review," *Science and Justice*, vol. 55, no. 4, pp. 219–238, 2015, doi: 10.1016/j.scijus.2015.02.004.
- [22] J. H. (2011) Holder, E.H., Robinson, L.O., & Laub, "The fingerprint sourcebook," *Office of Justice Programs, National Insitute of Justice*.
- [23] P. Neumann and C. Republic, "IDENTIFICATION OF PERSONS," vol. 6, no. Cd.
- [24] V. M. Praseetha, S. Bayezeed, and S. Vadivel, "Secure fingerprint authentication using deep learning and minutiae verification," *Journal of Intelligent Systems*, vol. 29, no. 1, pp. 1379–1387, Jan. 2020, doi: 10.1515/jisys-2018-0289.
- [25] S. M. Bleay, R. S. Croxton, and M. Puit, *Fingerprint Development Techniques*, First edit. John Wiley & Sons Ltd, 2018.
- [26] R. Ramasubburayan, K. Kanagaraj, L. Gnanasekaran, N. Thirumalaivasan, and N. Senthilkumar, "Greener Approach Supported Nitrogen-Infused Carbon Dots for Biocompatible Cellular Markers and Fluorescent Ink Based Spray-Assisted

- Fingerprint Analysis,” *Waste Biomass Valorization*, vol. 15, no. 11, pp. 6431–6440, Nov. 2024, doi: 10.1007/s12649-024-02442-2.
- [27] F. M. Gomes, C. M. P. de Pereira, K. de Cássia Mariotti, T. Magaiver Pereira, N. A. dos Santos, and W. Romão, “Study of latent fingerprints – A review,” *Forensic Chemistry*, vol. 35, no. March, 2023, doi: 10.1016/j.forc.2023.100525.
- [28] M. Kondeková, R. Beňuš, S. Masnicová, and P. Švábová, “Distribution of the Minutiae in Hypothenar Palm Prints in Slovak Adults: Indications for Personal Identification,” *J Forensic Sci*, vol. 65, no. 4, pp. 1303–1309, 2020, doi: 10.1111/1556-4029.14299.
- [29] N. Rivaldería, A. Moreno-Piedra, A. Álvarez, and E. Gutiérrez-Redomero, “Study of the fingerprints of a Spanish sample for the determination of the hand and finger,” *Science & Justice*, vol. 64, no. 2, pp. 216–231, Mar. 2024, doi: 10.1016/j.scijus.2024.01.005.
- [30] C. Champod, C. Lennard, P. Margot, and M. Stoilovic, *Fingerprints and Other Ridge Skin Impressions*, vol. Second Edi. CRC Press, 2016.
- [31] V. Khare and A. Singla, “A review on the advancements in chemical examination of composition of latent fingerprint residues,” *Egypt J Forensic Sci*, vol. 12, no. 1, p. 6, Jan. 2022, doi: 10.1186/s41935-021-00262-2.
- [32] W. van Helmond, A. W. van Herwijnen, J. J. H. van Riemsdijk, M. A. van Bochove, C. J. de Poot, and M. de Puit, “Chemical profiling of fingerprints using mass spectrometry,” *Forensic Chemistry*, vol. 16, Dec. 2019, doi: 10.1016/j.forc.2019.100183.
- [33] S. Tian, Y. Wang, S. Liu, Z. Liu, and Y. Zhao, “Toward multidimensional information: A derivatization-free <sc>UHPLC-QqQ MS</sc> / <sc>MS</sc> method for amino acid components of fingerprint,” *J Forensic Sci*, vol. 69, no. 2, pp. 448–460, Mar. 2024, doi: 10.1111/1556-4029.15464.
- [34] W. van Helmond, A. W. van Herwijnen, J. J. H. van Riemsdijk, M. A. van Bochove, C. J. de Poot, and M. de Puit, “Chemical profiling of fingerprints using mass spectrometry,” *Forensic Chemistry*, vol. 16, Dec. 2019, doi: 10.1016/j.forc.2019.100183.
- [35] S. M. Bleay, R. S. Croxton, and M. Puit, *Fingerprint Development Techniques*, First edit. John Wiley & Sons Ltd, 2018.
- [36] G. S. Bumbrah, “Cyanoacrylate fuming method for detection of latent fingermarks: a review,” Dec. 01, 2017, *Springer Berlin Heidelberg*. doi: 10.1186/s41935-017-0009-7.

- [37] R. M. Barros *et al.*, “Using a large-scale cyanoacrylate fuming chamber for latent fingerprint detection in vehicles,” *Australian Journal of Forensic Sciences*, vol. 55, no. 5, pp. 645–655, 2023, doi: 10.1080/00450618.2022.2057590.
- [38] D. Q. Falcão *et al.*, *Nanotechnology in phytotherapy: Current challenges of lipid-based nanocarriers for the delivery of natural products*, no. September 2019. 2018. doi: 10.1016/B978-0-12-813687-4.00003-7.
- [39] D. D’Agostini and L. A. Gioielli, “Distribuição estereoespecífica de lipídios estruturados a partir de gorduras de palma, palmiste e triacilgliceróis de cadeia média,” *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas/Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 38, no. 3, pp. 345–354, 2002, doi: 10.1590/s1516-93322002000300010.
- [40] O. D. Gamallo, H. F. M. Júnior, M. G. de Carvalho, and T. Saldanha, “Chemical interesterification of palm oil and palm kernel oil in the presence of the DAPTS-MCM-41 catalyst. Regiospecific distribution and composition in triacylglycerols,” *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, vol. 37, no. 4, pp. 773–782, 2020, doi: 10.1007/s43153-020-00061-7.
- [41] M. Motoyama, M. Ando, K. Sasaki, and H. O. Hamaguchi, “Differentiation of animal fats from different origins: Use of polymorphic features detected by raman spectroscopy,” *Appl Spectrosc*, vol. 64, no. 11, pp. 1244–1250, 2010, doi: 10.1366/000370210793335070.
- [42] E. K. Sitepu *et al.*, “Green Solvent Improving Mechanical Disruption of Palm Kernel Oil Extraction,” pp. 1–18, 2020.
- [43] M. M. Urugo, T. A. Teka, P. G. Teshome, and T. T. Tringo, “Palm oil processing and controversies over its health effect: Overview of positive and negative consequences,” *J Oleo Sci*, vol. 70, no. 12, pp. 1693–1706, 2021, doi: 10.5650/jos.ess21160.
- [44] A. C. Komaram, E. Anjaneyulu, K. Goswami, R. R. Nayak, and S. Kanjilal, “Detection and quantification of palmolein and palm kernel oil added as adulterant in coconut oil based on triacylglycerol profile,” *J Food Sci Technol*, vol. 58, no. 11, pp. 4420–4428, 2021, doi: 10.1007/s13197-020-04927-z.
- [45] P. Speranza, A. P. B. Ribeiro, and G. A. Macedo, “Application of lipases to regiospecific interesterification of exotic oils from an Amazonian area,” *J Biotechnol*, vol. 218, pp. 13–20, 2016, doi: 10.1016/j.jbiotec.2015.11.025.
- [46] S. K. Tilami and L. Kouřimská, “Assessment of the Nutritional Quality of Plant Lipids Using Atherogenicity and Thrombogenicity Indices,” *Nutrients*, vol. 14, no. 18, 2022, doi: 10.3390/nu14183795.

- [47] E. Pereira, M. C. Ferreira, K. A. Sampaio, R. Grimaldi, A. J. de A. Meirelles, and G. J. Maximo, "Physical properties of Amazonian fats and oils and their blends," *Food Chem*, vol. 278, no. November 2018, pp. 208–215, 2019, doi: 10.1016/j.foodchem.2018.11.016.
- [48] P. T. de Souza *et al.*, "Comprehensive analysis of Amazonian oil and fats with different fatty composition: Murumuru fat (*Astrocaryum murumuru*), cupuassu fat (*Theobroma grandiflorum*), and pracaxi oil (*Pentaclethra macroloba*)," *Food Research International*, vol. 196, no. April, 2024, doi: 10.1016/j.foodres.2024.115022.
- [49] V. C. Aragão and G. J. Maximo, "Thermophysical properties of blends composed of Amazonian fats and soybean oil," *Food Research International*, vol. 177, no. December 2023, 2024, doi: 10.1016/j.foodres.2023.113911.
- [50] A. G. Coelho *et al.*, "Plant-Derived Butters as Lipid Nanocarriers: A Systematic and Prospective Review," *Recent Pat Nanotechnol*, vol. 14, no. 4, pp. 262–275, 2020, doi: 10.2174/1872210514666200522213144.
- [51] A. Umerska, V. Cassisa, N. Matougui, M. L. Joly-Guillou, M. Eveillard, and P. Saulnier, "Antibacterial action of lipid nanocapsules containing fatty acids or monoglycerides as co-surfactants," *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 108, pp. 100–110, 2016, doi: 10.1016/j.ejpb.2016.09.001.
- [52] F. Gao *et al.*, "Preparation, characterization and in vitro study of bellidifolin nanomicelles," *RSC Adv*, vol. 12, no. 34, pp. 21982–21989, Aug. 2022, doi: 10.1039/d2ra02779h.
- [53] K. J. Scheller, S. J. Williams, A. J. Lawrence, B. Jarrott, and E. Djouma, "An improved method to prepare an injectable microemulsion of the galanin-receptor 3 selective antagonist, SNAP 37889, using Kolliphor® HS 15," *MethodsX*, vol. 1, no. December, pp. 212–216, 2014, doi: 10.1016/j.mex.2014.09.003.
- [54] E. Grotz, E. Bernabeu, M. Pappalardo, D. A. Chiappetta, and M. A. Moreton, "Nanoscale Kolliphor® HS 15 micelles to minimize rifampicin self-aggregation in aqueous media," *J Drug Deliv Sci Technol*, vol. 41, pp. 1–6, 2017, doi: 10.1016/j.jddst.2017.06.009.
- [55] BASF, "Kolliphor® HS 15," *Basf*, no. January 2019, pp. 1–5, 2020.
- [56] F. Wang *et al.*, "Preparation and evaluation of camptothecin analogues-loaded lyophilization using Kolliphor® HS 15 as carrier," *J Drug Deliv Sci Technol*, vol. 77, no. October, 2022, doi: 10.1016/j.jddst.2022.103898.

- [57] M. Barzan and F. Hajiesmaeilbaigi, "Investigation the concentration effect on the absorption and fluorescence properties of Rhodamine 6G dye," *Optik (Stuttg)*, vol. 159, pp. 157–161, Apr. 2018, doi: 10.1016/j.ijleo.2018.01.075.
- [58] V. I. Gavrilenko and M. A. Noginov, "Ab initio study of optical properties of rhodamine 6G molecular dimers," *Journal of Chemical Physics*, vol. 124, no. 4, 2006, doi: 10.1063/1.2158987.
- [59] S. Terdale and A. Tantray, "Spectroscopic study of the dimerization of rhodamine 6G in water and different organic solvents," *J Mol Liq*, vol. 225, pp. 662–671, Jan. 2017, doi: 10.1016/j.molliq.2016.10.090.
- [60] H.-J. Kim, S. Wang, and Y.-A. Son, "Synthesis and Properties of Novel Rhodamine 6G Fluorescent Dye Compound," *Textile Coloration and Finishing*, vol. 24, no. 3, pp. 153–157, Sep. 2012, doi: 10.5764/tcf.2012.24.3.153.
- [61] H. Douba, O. Mohammedi, and B. Cheknane, "Adsorption of Rhodamine 6G Dye onto Al-MCM-41 and MCM-41 Mesoporous Materials," *Kemija u industriji*, no. 9–10, Sep. 2022, doi: 10.15255/kui.2022.001.
- [62] A. Mukerjee *et al.*, "Spectroscopic properties of curcumin: Orientation of transition moments," *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 114, no. 39, pp. 12679–12684, Oct. 2010, doi: 10.1021/jp104075f.
- [63] Y. B. Tsaplev, V. A. Lapina, and A. V. Trofimov, "Curcumin in dimethyl sulfoxide: Stability, spectral, luminescent and acid-base properties," *Dyes and Pigments*, vol. 177, Jun. 2020, doi: 10.1016/j.dyepig.2020.108327.
- [64] Y. Guo, C. Yang, Y. Zhang, and T. Tao, "Nanomaterials for fluorescent detection of curcumin," Jan. 15, 2022, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.saa.2021.120359.
- [65] Y. Pan *et al.*, "Curcumin improves glycolipid metabolism through regulating peroxisome proliferator activated receptor  $\gamma$  signalling pathway in high-fat diet-induced obese mice and 3t3-L1 adipocytes," *R Soc Open Sci*, vol. 4, no. 11, Nov. 2017, doi: 10.1098/rsos.170917.
- [66] A. Umerska, V. Cassisa, N. Matougui, M. L. Joly-Guillou, M. Eveillard, and P. Saulnier, "Antibacterial action of lipid nanocapsules containing fatty acids or monoglycerides as co-surfactants," *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 108, pp. 100–110, Nov. 2016, doi: 10.1016/j.ejpb.2016.09.001.
- [67] J. N. Haro-González, M. Martínez-Velázquez, G. A. Castillo-Herrera, and H. Espinosa-Andrews, "Clove essential oil nanoemulsions: development, physical characterization, and anticancer activity evaluation," *J Dispers Sci Technol*, vol. 0, no. 0, pp. 1–9, 2024, doi: 10.1080/01932691.2024.2302067.

- [68] Z. Jafarifar *et al.*, "Preparation and Characterization of Nanostructured Lipid Carrier (NLC) and Nanoemulsion Containing Vitamin D3," *Appl Biochem Biotechnol*, vol. 194, no. 2, pp. 914–929, Feb. 2022, doi: 10.1007/s12010-021-03656-z.
- [69] A. Gordillo-Galeano and C. E. Mora-Huertas, "Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers: A review emphasizing on particle structure and drug release," Dec. 01, 2018, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.ejpb.2018.10.017.
- [70] S. Javed, B. Mangla, Y. Almoshari, M. H. Sultan, and W. Ahsan, "Nanostructured lipid carrier system: A compendium of their formulation development approaches, optimization strategies by quality by design, and recent applications in drug delivery," *Nanotechnol Rev*, vol. 11, no. 1, pp. 1744–1777, 2022, doi: 10.1515/ntrev-2022-0109.
- [71] J. E. Márquez-Castro, A. Licea-Claverie, J. Licea-Rodriguez, L. P. Quiroga-Sánchez, and E. R. Méndez, "Surface grafted gold nanorods (GNRDs) using thermosensitive copolymers with various transition temperatures: Nanomaterials with potential application for photothermal therapy," *Eur Polym J*, vol. 197, Oct. 2023, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2023.112341.
- [72] L. Polo Fonseca and M. I. Felisberti, "Thermo- and UV-responsive amphiphilic nanogels via reversible [4+4] photocycloaddition of PEG/PCL-based polyurethane dispersions," *Eur Polym J*, vol. 160, Nov. 2021, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2021.110800.
- [73] S. N. A. S. Azhar, S. E. Ashari, N. Zainuddin, and M. Hassan, "Nanostructured Lipid Carriers-Hydrogels System for Drug Delivery: Nanohybrid Technology Perspective," *Molecules*, vol. 27, no. 1, 2022, doi: 10.3390/molecules27010289.
- [74] L. Schuh *et al.*, "Integrating Natural Deep Eutectic Solvents into Nanostructured Lipid Carriers: An Industrial Look," *Pharmaceuticals*, vol. 17, no. 7, 2024, doi: 10.3390/ph17070855.
- [75] E. P. Kozhina *et al.*, "Ag-nanowire bundles with gap hot spots synthesized in track-etched membranes as effective sers-substrates," *Applied Sciences (Switzerland)*, vol. 11, no. 4, pp. 1–13, Feb. 2021, doi: 10.3390/app11041375.
- [76] L. Malfatti, K. Suzuki, A. Erker, Y. Jang, and P. Innocenzi, "Photoluminescence of zinc oxide mesostructured films doped with Rhodamine 6G," *J Photochem Photobiol A Chem*, vol. 357, pp. 30–35, Apr. 2018, doi: 10.1016/j.jphotochem.2018.01.043.
- [77] V. G. Sears, S. M. Bleay, H. L. Bandey, and V. J. Bowman, "A methodology for finger mark research," *Science & Justice*, vol. 52, no. 3, pp. 145–160, Sep. 2012, doi: 10.1016/j.scijus.2011.10.006.

- [78] Bleay S, Croxton R, and Puit M, "Fingerprint Development Techniques," 2018.
- [79] Air Science Corporation, "Automatic Cyanoacrylate Fuming Chamber SafeFUME 360," 2022.
- [80] R. Croxton, T. Kent, A. Littlewood, and M. Smith, "An evaluation of inkjet printed amino acid fingerprint test targets for ninhydrin process monitoring – and some observations," *Forensic Sci Int*, vol. 321, Apr. 2021, doi: 10.1016/j.forsciint.2021.110741.
- [81] K. N. Clayton, J. W. Salameh, S. T. Wereley, and T. L. Kinzer-Ursem, "Physical characterization of nanoparticle size and surface modification using particle scattering diffusometry," *Biomicrofluidics*, vol. 10, no. 5, Sep. 2016, doi: 10.1063/1.4962992.
- [82] S. M. Khopde, K. Indira Priyadarsini, D. K. Palit, and T. Mukherjee, "Effect of Solvent on the Excited-state Photophysical Properties of Curcumin¶," *Photochem Photobiol*, vol. 72, no. 5, pp. 625–631, May 2007, doi: 10.1562/0031-8655(2000)0720625eosote2.0.co2.
- [83] Y. Erez, R. Simkovitch, S. Shomer, R. Gepshtein, and D. Huppert, "Effect of acid on the ultraviolet-visible absorption and emission properties of curcumin," *Journal of Physical Chemistry A*, vol. 118, no. 5, pp. 872–884, Feb. 2014, doi: 10.1021/jp411686d.
- [84] Z. Moussa, M. Chebl, and D. Patra, "Fluorescence of tautomeric forms of curcumin in different pH and biosurfactant rhamnolipids systems: Application towards on-off ratiometric fluorescence temperature sensing," *J Photochem Photobiol B*, vol. 173, pp. 307–317, Aug. 2017, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2017.06.011.
- [85] H. N. Nguyen *et al.*, "Curcumin as fluorescent probe for directly monitoring in vitro uptake of curcumin combined paclitaxel loaded PLA-TPGS nanoparticles," *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, vol. 7, no. 2, Jun. 2016, doi: 10.1088/2043-6262/7/2/025001.
- [86] N. I. Georgiev, V. B. Bojinov, and A. I. Venkova, "Design, synthesis and pH sensing properties of novel PAMAM light-harvesting dendrons based on rhodamine 6G and 1,8-naphthalimide," *J Fluoresc*, vol. 23, no. 3, pp. 459–471, May 2013, doi: 10.1007/s10895-013-1168-z.
- [87] P. R. K. Mohan, G. Sreelakshmi, C. V. Muraleedharan, and R. Joseph, "Water soluble complexes of curcumin with cyclodextrins: Characterization by FT-Raman spectroscopy," *Vib Spectrosc*, vol. 62, pp. 77–84, Sep. 2012, doi: 10.1016/j.vibspec.2012.05.002.

- [88] M. A. Altamimi *et al.*, "Evaluation of the bioavailability of hydrocortisone when prepared as solid dispersion," *Saudi Pharmaceutical Journal*, vol. 27, no. 5, pp. 629–636, 2019, doi: 10.1016/j.jsps.2019.03.004.
- [89] J. Han *et al.*, "Rapid Classification and Quantification of Camellia (*Camellia oleifera* Abel.) Oil Blended with Rapeseed Oil Using FTIR-ATR Spectroscopy," *Molecules*, vol. 25, no. 9, May 2020, doi: 10.3390/molecules25092036.
- [90] Q. Peng, C. Zeng, Y. Zhou, S. Lian, and G. Nie, "Rapid Determination of Turmeric Roots Quality Based on the Raman Spectrum of Curcumin," *Food Anal Methods*, vol. 8, no. 1, pp. 103–108, Jan. 2015, doi: 10.1007/s12161-014-9874-y.
- [91] K. I. Priyadarsini, "The chemistry of curcumin: From extraction to therapeutic agent," Dec. 01, 2014, *MDPI AG*. doi: 10.3390/molecules191220091.
- [92] S. Sil, N. Kuhar, S. Acharya, and S. Umopathy, "Is chemically synthesized graphene 'Really' a unique substrate for SERS and Fluorescence quenching?," *Sci Rep*, vol. 3, 2013, doi: 10.1038/srep03336.
- [93] G. Â. da Silva Gomes, L. P. Marouelli de Oliveira, D. da Silva Carvalho, F. C. de Araújo Brito, and R. Y. Matsushita, "Standardizing fingerprint minutiae: A comprehensive inventory and statistical analysis based on Brazilian data," *Forensic Sci Int*, vol. 364, no. June, p. 112233, 2024, doi: 10.1016/j.forsciint.2024.112233.
- [94] S. Wang, W. Wei, Z. Yang, and S. Wang, "Fingerprint Classification by Directional Fields," 2002.
- [95] K. Karu and A. K. Jaint, "FINGERPRINT CLASSIFICATION\*," 1996.
- [96] H. M. Daluz, "Fundamentals of Fingerprint Analysis," 2019.
- [97] C. K. Chaithra *et al.*, "In-situ fabrication of carbon dots on intense cyan-blue emitting CaAl<sub>2</sub>O<sub>4</sub>:Ce<sup>3+</sup> phosphor for enhancing thermal sensing, anti-counterfeiting and fingerprint detection applications," *J Lumin*, vol. 280, May 2025, doi: 10.1016/j.jlumin.2025.121111.