



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
CAMPUS DARCY RIBEIRO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NANOCIÊNCIA E  
NANOBIOTECNOLOGIA

**TESE DE DOUTORADO**

**Emprego de nanomateriais para análise multi-informacional de  
impressões digitais latentes**

**RODRIGO MENESES DE BARROS**

Brasília-DF

2019

**RODRIGO MENESES DE BARROS**

**Emprego de nanomateriais para análise multi-informacional de  
impressões digitais latentes**

Linha de pesquisa: **Aplicação de Materiais Nanoestruturados**

Tese de doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Nanociência e Nanobiotecnologia da Universidade de Brasília, como parte integrante dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Nanociência e Nanobiotecnologia.

**Orientador:** Dr. Luciano Paulino da Silva

Brasília-DF

2019

## **RODRIGO MENESES DE BARROS**

### **Emprego de nanomateriais para análise multi-informacional de impressões digitais latentes**

Linha de pesquisa: **Aplicação de Materiais Nanoestruturados**

Tese de doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Nanociência e Nanobiotecnologia da Universidade de Brasília, como parte integrante dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Nanociência e Nanobiotecnologia.

### **BANCA EXAMINADORA**

---

Dr. Luciano Paulino da Silva (Presidente – Orientador)

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

---

Dr. João Paulo Figueiró Longo (Membro vinculado ao Programa)

Universidade de Brasília (UnB)

---

Dr. Carlos Magno Alves Girelli (Membro externo)

Superintendência de Polícia Federal no Espírito Santo (SR/PF/ES)

---

Dr. Eduardo Fernandes Barbosa (Membro externo)

Universidade Federal do Oeste da Bahia (UFOB)

---

Dra. Ana Caroline Ribeiro de Toledo Pinto (Membro suplente)

Instituto de Identificação da Polícia Civil do Distrito Federal (II/PCDF)

**Brasília-DF, 15 de fevereiro de 2019.**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

**REITORA**

Dra. Márcia Abrahão Moura

**VICE-REITOR**

Dr. Enrique Huelva

**DECANA DE PÓS-GRADUAÇÃO**

Dra. Helena Eri Shimizu

**DECANA DE PESQUISA E INOVAÇÃO**

Dra. Maria Emília Machado Telles Walter

**DIRETOR DO INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

Dr. Jaime Martins de Santana

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
NANOCIÊNCIA E NANBIOTECNOLOGIA**

Dr. Ricardo Bentes de Azevedo

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador, professor Dr. Luciano Paulino da Silva (Embrapa, Cenargen), pela abertura da linha de pesquisa no desenvolvimento de superfícies funcionais, sistemas de nanobiorremediação, nanobiossensores, nanocatalisadores, biomiméticos e nanoforenses, possibilitando os estudos das aplicações de nanomateriais à perícia papiloscópica, além de incontáveis lições sobre a pesquisa e valorosa orientação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Nanociência e Nanobiotecnologia da Universidade de Brasília e aos professores que contribuem para a produção do conhecimento acadêmico e científico.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) e, em especial, ao Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen), na pessoa de seu chefe geral, Dr. José Manoel Cabral de Sousa Dias.

À Direção da Polícia Civil do Distrito Federal, ao Departamento de Polícia Técnica e à Direção do Instituto de Identificação da Polícia Civil do Distrito Federal, em especial a Simão Pedro Albuquerque e Arnaldo Fontenelle pelo apoio institucional despendido durante o desenvolvimento desta pesquisa.

À chefe do Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento do Instituto de Identificação, M. Sc. Leila Lopes Mizokami pelo apoio, companheirismo, exemplo e empenho no desenvolvimento técnico-científico pessoal e institucional.

Aos membros do Laboratório de Nanobiotecnologia da Embrapa (LNANO) pelo aprendizado conjunto, trocas de experiências, apoio técnico, síntese de nanopartículas, debates e colaborações, em especial à professora Dra. Cinthia Caetano Bonatto e à Dra. Ariane Pandolfo Silveira.

Ao líder do Laboratório de Espectrometria de Massa (LEM) da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Prof. Dr. Carlos Bloch Junior.

Ao professor Dr. Gesley Araújo Veloso Martins pela parceria, apoio técnico e síntese da espuma mesocelular de sílica (MCF), bem como de suas funcionalizações.

Ao professor Dr. Marcelo Ramada pela parceria, disponibilidade e apoio técnico nas aquisições por MALDI-TOF MS na Universidade Católica de Brasília (UCB).

À Associação Internacional de Identificação (IAI) pelo incentivo e reconhecimento da importância desta pesquisa no ambiente forense internacional.

À Federação Nacional dos Peritos Oficiais em Identificação (FENAPPI) e à Associação Brasileira de Peritos Papiloscopistas (ASBRAPP) pela valorização deste trabalho e apoio incondicional.

Às agências de fomento CNPq, Capes e FAP-DF.

A todos os colegas que, de alguma maneira, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

## RESUMO

As impressões digitais latentes (IDLs) estão entre os vestígios mais comumente encontrados em cenas de crime. A chegada do século XXI trouxe a possibilidade de análise química desses vestígios e ressignificou o modo de atuação das equipes de perícia, permitindo a aquisição de informações a respeito de hábitos e contaminações dos indivíduos envolvidos no evento delituoso. A técnica de espectrometria de massa por ionização/dessorção a laser assistida por matriz (MALDI-TOF MS) tem se destacado para a análise química de IDLs, porém apresenta algumas limitações para as investigações de pequenas moléculas, devido à supressão de sinais causada pelos intensos íons provenientes das matrizes comumente empregadas. Como alternativas a esse problema, as propriedades de nanomateriais têm sido investigadas para a análise de pequenas moléculas em diferentes tipos de amostras. O presente trabalho avaliou amostras de IDLs por métodos de espectrometria de massa por ionização/dessorção a laser, empregando nanomateriais como agentes ionizantes. A espuma de sílica mesocelular (MCF) e as nanopartículas metálicas de prata (AgNPs) e ouro (AuNPs) sintetizadas por rotas verdes, foram utilizadas para o tratamento de IDLs produzidas por doadores de ambos os sexos, de diferentes idades, tendo sido registrados alguns dos seus hábitos. Os nanomateriais empregados foram caracterizados e a sua potencial aplicação para a revelação e análise química de IDLs foi avaliada. Os resultados mostraram que os nanomateriais oferecem alternativas promissoras capazes de detectar componentes endógenos e exógenos nesses vestígios e em algumas situações, de maneira mais eficiente que pelo emprego de matrizes convencionais. Nas amostras avaliadas, o componente químico mais frequentemente detectado se trata de um surfactante catiônico, possivelmente oriundo de amaciantes de roupas. Os componentes endógenos tiveram sua detecção variável, de acordo com o método empregado. As abordagens investigadas apresentaram um grande potencial de aplicação prática nas rotinas periciais, apresentando escalabilidade e custo baixo, fatores determinantes para o objetivo pretendido.

**PALAVRAS-CHAVE:** Ciências forenses, espectrometria de massa, impressões digitais, ionização/dessorção a laser, matrizes, nanopartículas.

## ABSTRACT

Latent fingerprints are among the most commonly found traces in crime scenes. The 21st century's arrival brought the possibility of chemical analysis of these traces and re-defined the way the experts process the evidence, allowing the addition of information regarding the habits and contamination of the individuals involved in the criminal event. Mass spectrometry matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI-TOF MS) technique has been highlighted for the chemical analysis of latent fingerprints, but presents some limitations for the investigation of small molecules due to the suppression of signals caused by the intense ions from the commonly applied matrices. As alternatives to avoid this problem, the properties of the nanomaterials have been investigated for the analysis of small molecules in different types of samples. The present work evaluated latent fingerprint samples by mass spectrometry laser desorption/ionization methods, employing nanomaterials as ionizing agents. The mesocellular siliceous foam (MCF) and the metallic nanoparticles of silver (AgNPs) and gold (AuNPs), synthesized by green route, were used for the treatment of the latent fingerprints produced by male and female donors with different ages, and some of their habits were recorded. The nanomaterials employed were characterized and their potential application for the development and chemical analysis of latent fingerprints was evaluated. The results showed that nanomaterials offer promising alternatives capable of detecting endogenous and exogenous components of the fingerprint residue, and, in some situations, more efficiently than by using the conventional matrices. In the samples evaluated, the chemical component most frequently detected is possibly from fabric softeners, being a cationic surfactant. The endogenous components were variably detected according to the method applied. The investigated approaches showed a great potential for practical application in forensic routines, with scalability and low cost, factors which are attractive attributes to the intended goal.

**KEYWORDS:** Fingerprints, forensic sciences, laser desorption/ionization, mass spectrometry, matrix, nanoparticles.



## LISTA DE FIGURAS

### • REFERENCIAL TEÓRICO

**Figura 1.** Cristas de fricção da falange distal (porção ventral) do dedo humano (A) e IDL produzida a partir de toque de média pressão do mesmo dedo com uma superfície de vidro – a visualização só é possível devido à transmissão difusa da luz nas gotículas que formam as cristas da impressão (B).

**Figura 2.** Glândulas da pele. Regiões de pele espessa apresentam apenas glândulas sudoríparas écrinas, enquanto as regiões de pele fina apresentam, além de écrinas, glândulas sebáceas associadas aos folículos pilosos. As glândulas sudoríparas apócrinas ocorrem apenas em algumas regiões do corpo, tais como as axilas e a região genital.

**Figura 3.** Estruturas moleculares dos aminoácidos alanina (Ala) e triptofano (Trp). Elaborado com ChemWriter® v. 3.5.1.

**Figura 4.** Estrutura molecular do ácido  $\alpha$ -ciano-4-hidroxicinâmico ( $\alpha$ -CHCA). Elaborado com ChemWriter® v. 3.5.1.

**Figura 5.** Nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas por rota de química verde: os metabólitos de extrato de planta atuam na redução da prata iônica e promovem a cobertura da partícula formada, conferindo-lhe estabilidade coloidal. Representação esquemática de uma nanopartícula (A); visualização das nanopartículas por microscopia eletrônica de transmissão (MET) (B), cortesia: Profa. Dra. Cinthia C. Bonatto.

**Figura 6.** Diferenças de tamanho e heterogeneidade de formas de partículas presentes em reveladores convencionais para o tratamento de IDLs podem ser observadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV): as cristas de IDLs tratadas com o pó magnético correspondem às regiões mais claras intercaladas por sulcos, mais escuros (A); detalhe em maior magnificação da região de crista contendo as partículas do pó (B).

**Figura 7.** Esquema comparativo do processo de ionização/dessorção a laser de MALDI-TOF MS (A) e SALDI-TOF MS (B).

### • CAPÍTULO I – AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE IMPRESSÕES DIGITAIS LATENTES POR MALDI-TOF MS

**Figura I-1.** Resumo gráfico do Capítulo I. As análises químicas de IDLs representam uma quebra de paradigma em Papiloscopia Forense, marcando a agregação de mais informações sobre esses vestígios na transição do século XX para o século XXI. Tradicionalmente, as impressões digitais latentes são utilizadas apenas para a identificação dos indivíduos e, pelas abordagens propostas, permitem também a obtenção de informações adicionais sobre hábitos e presença de contaminantes.

**Figura I-2.** Espectros MALDI-MS representativos da faixa de massa molecular baixa adquiridos mediante aplicação de 1  $\mu$ L de solução de: matriz  $\alpha$ -CHCA (A), matriz  $\alpha$ -CHCA sobre IDL de doador de 30 anos do gênero masculino (B), matriz DHB (C) e matriz DHB sobre IDL do mesmo doador (D).

**Figura I-3.** Espectros MALDI-TOF MS representativos da faixa de massa molecular baixa adquiridos mediante aplicação de 1  $\mu$ L de solução de matriz  $\alpha$ -CHCA sobre: IDL de doador de 20 anos (A), IDL de doador de 34 anos (B) e IDL de doadora de 28 anos (C). \*íons relativos à matriz  $\alpha$ -CHCA (m/z 146, 172, 190, 212, 228, 234, 335, 379 e 441).

**Figura I-4.** Espectros LDI-TOF MS representativos da faixa de massa molecular baixa adquiridos em IDLs de doadores nº 1–10, todos do gênero feminino.

**Figura I-5.** Espectros LDI-TOF MS representativos da faixa de massa molecular baixa adquiridos em IDLs de doadores nº 11–20, todos do gênero masculino.

**Figura I-6.** Espectro LDI-TOF MS representativo da faixa de massa molecular baixa adquirido em amostra de amaciante de roupas comercial (1:10 v/v em água).

**Figura I-7.** Espectros MALDI-TOF MS representativos da faixa de massa molecular baixa adquiridos em IDLs de doadores nº 1–10, todos do gênero feminino. \*íons relativos à matriz  $\alpha$ -CHCA (m/z 146, 164, 172, 178, 190, 212, 228, 335 e 379).

**Figura I-8.** Espectros MALDI-TOF MS representativos da faixa de massa molecular baixa adquiridos em IDLs de doadores nº 11–20, todos do gênero masculino. \*íons relativos à matriz  $\alpha$ -CHCA (m/z 172, 178, 190, 212, 228, 295, 335 e 379).

- **CAPÍTULO II – ESPUMA MESOCELULAR DE SÍLICA (MCF) PARA A REVELAÇÃO E ANÁLISE QUÍMICA DE IMPRESSÕES DIGITAIS LATENTES POR SALDI-TOF MS**

**Figura II-1.** Resumo gráfico do Capítulo II. A espuma mesocelular de sílica, como um material mesoporoso, apresenta poros nanométricos que auxiliam o processo de ionização/dessorção a laser. Esses materiais foram utilizados para o tratamento de IDLs associados ou não a um agente revelador tradicional. As análises químicas de IDLs por essa abordagem foram avaliadas.

**Figura II-2.** Impressão digital depositada por um doador de 34 anos diretamente na placa de MALDI e revelada utilizando a mistura de MCF e pó magnético. As análises foram realizadas em três regiões distintas de cada impressão digital.

**Figura II-3.** Imagem de viscoelasticidade obtida por microscopia de força atômica da superfície da espuma de sílica mesocelular (MCF) em modo fase em (A) 500  $\times$  500 nm e (B) 125  $\times$  125 nm.

**Figura II-4.** Espectros LDI-MS representativos da faixa de massa molecular baixa adquiridos mediante aplicação de 1  $\mu$ L de solução de matriz  $\alpha$ -CHCA (A) ou 1  $\mu$ L de suspensão etanólica de espuma de sílica mesocelular (MCF) (B) que foram separadamente depositados em placa de MALDI MSP 96.

**Figura II-5.** Espectros LDI-MS representativos da faixa de massa molecular baixa de componentes de impressões digitais depositadas por doadora diretamente na placa de MALDI MSP 96 e tratada com  $\alpha$ -CHCA matriz (A), suspensão etanólica de MCF (B) ou mistura de MCF e pó magnético (C).

**Figura II-6.** Espectros LDI-MS representativos da faixa de massa molecular baixa de componentes de impressões digitais depositadas por uma doadora de 28 anos, e doadores de 20 e 34 anos diretamente em uma placa de MALDI MSP 96 e tratadas com mistura de MCF e pó magnético. Cada espectro de um mesmo doador corresponde a uma região distinta da impressão tratada, conforme ilustrado na Fig. II-2.

**Figura II-7.** Espectros SALDI-TOF MS representativos da faixa de massa molecular baixa adquiridos em IDLs tratadas com a mistura de MCF e pó magnético, de doadores nº 1 (A), 2 (B), 3 (C), 5 (D), 6 (E), 7 (F), 9 (G), 11 (H), 13 (I) e 15 (J), todos do gênero feminino. \*íons presentes no controle  $m/z$  116, 211, 268.

**Figura II-8.** Espectros SALDI-TOF MS representativos da faixa de massa molecular baixa adquiridos em IDLs tratadas com a mistura de MCF e pó magnético, doadores nº 4 (A), 8 (B), 10 (C), 12 (D), 14 (E), 16 (F), 17 (G), 18 (H), 19 (I) e 20 (J), todos do gênero masculino. \*íons presentes no controle  $m/z$  127, 211, 268.

- **CAPÍTULO III – NANOPARTÍCULAS METÁLICAS PARA A REVELAÇÃO E ANÁLISE QUÍMICA DE IMPRESSÕES DIGITAIS LATENTES POR SALDI-TOF MS**

**Figura III-1.** Resumo gráfico do Capítulo III. Nanopartículas metálicas sintetizadas por rota verde foram utilizadas para o tratamento de IDLs visando a sua revelação e análise química por SALDI-TOF MS.

**Figura III-2.** Curvas de distribuição de diâmetros hidrodinâmicos (dados em número %) obtidas por espalhamento de luz dinâmico das nanopartículas de prata (AgNPs) (A) e nanopartículas de ouro (AuNPs) (B) sintetizadas por rota verde.

**Figura III-3.** Revelação de impressões digitais depositadas sobre folha de alumínio por suspensão de AgNPs sintetizadas por rota verde, ao longo de um período de 24 h: impressão sebácea produzida por doadora de 29 anos e tratada sete dias após sua aposição (A); impressão sebácea produzida por um doador de 33 anos e tratada imediatamente após sua aposição (B); impressão digital natural produzida por doador de 40 anos e tratada imediatamente após sua aposição (C).

**Figura III-4.** Tratamento de IDLs de doador do gênero masculino depositadas sobre folha de alumínio nos seguintes período e condição de tratamento com a suspensão de AgNPs: 2h, pH = 1 (A); 2h, pH = 2,5 (B); 96h, pH = 2,5 (C); 96h, pH = 4,5 (D).

**Figura III-5.** IDL identificada após revelação com AgNPs obtidas por rota verde e equalização de contraste seguida da extração de minúcias em uma ferramenta de sistema AFIS. As marcações verdes e azuis representam terminações de linha e bifurcações, respectivamente.

**Figura III-6.** Espectros SALDI-TOF MS representativos da faixa de massa molecular baixa de matriz  $\alpha$ -CHCA (A), solução de  $\text{AgNO}_3$  (B) e suspensão de

AgNPs sintetizadas por rota verde (C). Os destaques apresentam os íons de menor intensidade correspondendo a  $\text{Ag}_4^+$  e  $\text{Ag}_5^+$ .

**Figura III-7.** Espectros SALDI-TOF MS representativos da faixa de massa molecular baixa de componentes detectados em IDLs de uma doadora de 26 anos (A), um doador de 48 anos (B) e uma doadora de 33 anos (C) tratadas com a suspensão de AgNPs sintetizadas por rota verde. Os destaques mostram íons de menor intensidade com o padrão isotópico da prata.

**Figura III-8.** Espectros SALDI-TOF MS representativos da faixa de massa molecular baixa de componentes detectados em amaciante de roupa comercial (sem tratamento) (A); IDL de uma doadora de 26 anos tratada com matriz  $\alpha$ -CHCA (B); e IDL da mesma doadora tratada com a suspensão coloidal de AgNPs sintetizadas por rota verde.

**Figura III-9.** Espectros SALDI-TOF MS representativos da faixa de massa molecular baixa de matriz  $\alpha$ -CHCA (A) e suspensão de AuNPs sintetizadas por rota verde (B). Os íons nas  $m/z$  196, 393 e 590 correspondem, respectivamente, a  $\text{Au}^+$ ,  $\text{Au}_2^+$  e  $\text{Au}_3^+$ .

**Figura III-10.** Espectros SALDI-TOF MS representativos da faixa de massa molecular baixa de componentes da suspensão de AuNPs sintetizadas por rota verde (A) e componentes detectados em IDLs de uma doadora de 23 anos (B), um doador de 27 anos (B) e uma doadora de 22 anos (C) tratadas com a suspensão de AuNPs. Os íons nas  $m/z$  196, 393 e 590 correspondem, respectivamente, a  $\text{Au}^+$ ,  $\text{Au}_2^+$  e  $\text{Au}_3^+$ .

## LISTA DE TABELAS

- **REFERENCIAL TEÓRICO**

**Tabela 1.** Principal composição química presente em IDLs.

- **CAPÍTULO I – AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE IMPRESSÕES DIGITAIS LATENTES POR MALDI-TOF MS**

**Tabela I-1.** Informações dos doadores para o Experimento 1.

**Tabela I-2.** Informações dos doadores para o Experimento 2.

- **CAPÍTULO II – ESPUMA MESOCELULAR DE SÍLICA (MCF) PARA A REVELAÇÃO E ANÁLISE QUÍMICA DE IMPRESSÕES DIGITAIS LATENTES POR SALDI-TOF MS**

**Tabela II-1.** Informações dos doadores de IDLs para análise por SALDI-TOF MS utilizando a mistura de MCF e pó magnético.

- **CAPÍTULO III – NANOPARTÍCULAS METÁLICAS PARA A REVELAÇÃO E ANÁLISE QUÍMICA DE IMPRESSÕES DIGITAIS LATENTES POR SALDI-TOF MS**

**Tabela III-1.** Informações dos doadores de IDLs para análise por SALDI-TOF MS utilizando nanopartículas metálicas.

## APRESENTAÇÃO DA TESE

A presente tese intitulada “Emprego de nanomateriais para análise multi-informacional de impressões digitais latentes” está distribuída em parte introdutória (referencial teórico, justificativa e objetivos) e três capítulos apresentados na forma de artigos científicos.

O referencial teórico contextualiza a Papiloscopia Forense no escopo desta pesquisa e aborda os aspectos técnicos e químicos das impressões digitais latentes (IDLs), as técnicas de espectrometria de massa por ionização/dessorção a laser (LDI MS) e o emprego da nanotecnologia para o tratamento desses vestígios. Os tópicos seguintes da parte introdutória apresentam o aspecto inovador desta pesquisa, sua relevância para as aplicações práticas nas rotinas periciais, as etapas que nortearam os experimentos desenvolvidos e os objetivos desta pesquisa.

O Capítulo I apresenta as investigações moleculares de IDLs tratadas ou não com matrizes convencionais de MALDI pela técnica de espectrometria de massa por ionização/dessorção a laser (LDI MS), incluindo todos os achados em experimentos preliminares e confirmatórios. O Capítulo II é voltado ao emprego de um nanomaterial de sílica como alternativa ao emprego das matrizes convencionais para a investigação molecular das IDLs, incluindo a associação desse nanomaterial a um revelador comercial de IDLs, conhecido como “pó magnético”. O Capítulo III apresenta o emprego de nanopartículas de prata e de ouro sintetizadas por rotas de química verde para o tratamento das IDLs tendo por foco tanto a sua revelação em superfície de alumínio quanto sua avaliação molecular por espectrometria de massa por ionização/dessorção a laser (LDI MS).

Este documento se encerra com as Conclusões e Considerações Finais, consistindo em um tópico que trata das principais conclusões obtidas nos Capítulos I, II e III diante dos objetivos propostos para as investigações realizadas e discute desafios e perspectivas no contexto desta pesquisa.

Parte do conteúdo dos Capítulos I e II consta no artigo publicado em março de 2018 no periódico *Science & Justice*, conforme a referência abaixo:

R.M. Barros, M.C.H. Clemente, G.A.V. Martins, L.P. Silva, Application of mesocellular siliceous foams (MCF) for surface-assisted laser desorption ionization mass spectrometry (SALDI-MS) Analysis of fingerprints, *Sci. Jus.* 58 (2018) 264–70.

Um manuscrito contendo a pesquisa apresentada no Capítulo III foi preparado e submetido à revisão de periódico internacional de ciências forenses, encontrando-se em fase de revisão e correção.

Ao longo do desenvolvimento desta pesquisa, os principais resultados obtidos foram apresentados em eventos, nas seguintes modalidades:

- Envio de resumo e apresentação oral no *3rd International Conference on Nanoscience, Nanotechnology and Nanobiotechnology* – Brasília, DF (2015);
- Envio de resumos e apresentações orais nos I, II, III, IV, V e VI Simpósios do Laboratório de Nanobiotecnologia (LNANO) da Embrapa/Cenargen – Brasília, DF (2015 a 2018);
- Envio de resumos e apresentação de painéis nos XXI, XXII e XXIII Encontros do Talento Estudantil da Embrapa – Brasília, DF (2016 a 2018);
- Envio de resumo, apresentação de painel e apresentação oral no XIV Congresso Brasileiro de Identificação – Brasília, DF (2017);
- Envio de resumo, apresentação de painel e apresentação oral no Simpósio de Nanotecnologia do Distrito Federal – Brasília, DF (2018);
- Envio de resumos e apresentação de painéis no *103rd IAI International Educational Conference* da *International Association for Identification* (IAI) – San Antonio, TX, EUA (2018).

## GLOSSÁRIO DE TERMOS TÉCNICOS E ABREVIações

**$\alpha$ -CHCA:** Ácido  $\alpha$ -ciano-4-hidroxicinâmico. Trata-se de uma das matrizes convencionais adotadas para MALDI MS.

**AFIS:** *Automated Fingerprint Identification System* (Sistema Automatizado de Identificação de Impressões Digitais).

**AFM:** *Atomic Force Microscopy* (Microscopia de Força Atômica).

**AgNPs:** Nanopartículas de prata.

**AuNPs:** Nanopartículas de ouro.

**DHB:** ácido di-hidroxibenzóico. Trata-se de uma das matrizes convencionais adotadas para MALDI MS.

**DFO:** 1,8-Diazafluoreno-9-ona

**DLS:** *Dynamic Light Scattering* (espalhamento de luz dinâmico).

**IDL:** Impressão digital latente.

**LDI MS:** *Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry* (Espectrometria de Massa por Ionização/Dessorção a Laser). É normalmente referida por “LDI MS” quando a técnica empregada não envolve o preparo da amostra ou da superfície da placa.

**MALDI MS:** *Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry* (Espectrometria de Massa por Ionização/Dessorção a Laser Assistida por Matriz).

**MCF:** *Mesocellular Siliceous Foam* (Espuma mesocelular de sílica).

**MMD:** *multi-metal deposition*, ou técnica de deposição multi metálica para a revelação de IDLs.

**Ninidrina:** 2,2-Dihidroxiindano-1,3-diona

**ORO:** *Oil Red O* – lisocromo, corante lipofílico.

**Papiloscopia Forense:** ciência que estuda as características específicas dos desenhos papilares e, em especial, as impressões papilares, com fins de individualização humana.

**Photobleaching:** perda de intensidade de luminescência.

**QDs:** *Quantum Dots*, ou pontos quânticos.

**RPS:** ressonância plasmônica de superfície.

**SALDI MS:** *Surface-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry* (Espectrometria de Massa por Ionização/Dessorção a Laser Assistida por Superfície).

**SELDI:** *Surface Enhanced Laser Desorption Ionization*

**SPR:** *Small Particle Reagent* (Reagente de pequenas partículas).



**Sweet spots:** pontos de maior presença da matriz cocrystalizada ao analito, gerando pequenas áreas em que a ionização é favorecida.

**TCLE:** Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

**TOF:** *Time of flight* (tempo de voo).

**Vestígio papiloscópico:** impressão (digital, palmar ou plantar) revelada ou latente deixada na cena de um crime.

**VMD:** *Vacuum metal deposition* (deposição metálica à vácuo).

## SUMÁRIO

<b>1. REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>20</b>
1.1. <i>Papiloscopia Forense .....</i>	20
1.2. <i>Impressões digitais latentes .....</i>	22
1.3. <i>Espectrometria de massa por ionização/dessorção a laser (LDI MS) .....</i>	29
1.4. <i>Nanotecnologia .....</i>	33
1.5. <i>Nanomateriais e impressões digitais latentes .....</i>	35
1.6. <i>Nanomateriais para análises de IDLs por SALDI-TOF MS .....</i>	38
<b>2. JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>41</b>
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>43</b>
3.1. <i>Objetivo Geral .....</i>	43
3.2. <i>Objetivos Específicos .....</i>	43
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>45</b>
<b>CAPÍTULO I – AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE IMPRESSÕES DIGITAIS LATENTES POR MALDI-TOF MS .....</b>	<b>59</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>60</b>
<b>PALAVRAS-CHAVE .....</b>	<b>60</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>61</b>
<b>KEYWORDS .....</b>	<b>61</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>62</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>65</b>
2.1. <i>Materiais.....</i>	65
2.2. <i>Experimento 1 .....</i>	65
2.2.1. <i>Equipamento e método de aquisição.....</i>	65
2.2.2. <i>Doadores.....</i>	65
2.2.3. <i>Produção das amostras.....</i>	66
2.3. <i>Experimento 2 .....</i>	66
2.3.1 <i>Equipamento e método de aquisição.....</i>	66
2.3.2. <i>Doadores.....</i>	67
2.3.3. <i>Produção das amostras.....</i>	68
2.3.4. <i>Análise dos dados .....</i>	68
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>69</b>
3.1. <i>Experimento 1 .....</i>	69
3.2. <i>Experimento 2 .....</i>	71

3.2.1. LDI-TOF MS.....	71
3.2.2. MALDI-TOF MS.....	75
<b>4. CONCLUSÃO.....</b>	<b>80</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>81</b>

**CAPÍTULO II – ESPUMA MESOCELULAR DE SÍLICA (MCF) PARA A REVELAÇÃO E ANÁLISE QUÍMICA DE IMPRESSÕES DIGITAIS LATENTES POR SALDI-TOF MS**  
..... 87

<b>RESUMO.....</b>	<b>88</b>
<b>PALAVRAS-CHAVE.....</b>	<b>88</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>89</b>
<b>KEYWORDS.....</b>	<b>89</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>90</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>91</b>
2.1. <i>Materiais.....</i>	89
2.2. <i>Síntese do suporte de MCF e funcionalização com matriz <math>\alpha</math>-CHCA.....</i>	91
2.3. <i>Caracterização, instrumentação e método de aquisição.....</i>	92
2.4. <i>Amostragem, produção e tratamento de IDLs.....</i>	92
2.5. <i>SALDI-TOF MS utilizando a mistura de MCF e pó magnético para o tratamento de IDLs de 20 doadores.....</i>	94
2.5.1. <i>Instrumentação.....</i>	94
2.5.2. <i>Doadores e produção das amostras.....</i>	94
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>96</b>
3.1. <i>Caracterização do suporte de MCF.....</i>	96
3.2. <i>MCF como agente ionizante.....</i>	98
3.3. <i>Análise de impressões digitais por MCF-LDI MS.....</i>	99
3.4. <i>Outras abordagens.....</i>	104
3.4.1. <i>Avaliação das IDLs de 20 doadores por SALDI-TOF MS utilizando a mistura de MCF e pó magnético.....</i>	104
3.4.2. <i>Funcionalização do suporte de MCF.....</i>	107
<b>4. CONCLUSÃO.....</b>	<b>108</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>109</b>

**CAPÍTULO III – NANOPARTÍCULAS METÁLICAS PARA A REVELAÇÃO E ANÁLISE QUÍMICA DE IMPRESSÕES DIGITAIS LATENTES POR SALDI-TOF MS**  
..... 114

<b>RESUMO.....</b>	<b>115</b>
<b>PALAVRAS-CHAVE.....</b>	<b>115</b>

<b>ABSTRACT .....</b>	<b>116</b>
<b>KEYWORDS .....</b>	<b>116</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>117</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>119</b>
2.1. <i>Materiais.....</i>	119
2.2. <i>Síntese e caracterização das nanopartículas metálicas .....</i>	120
2.3. <i>Espalhamento de luz dinâmico e potencial Zeta.....</i>	120
2.4. <i>Amostragem e preparação das IDLs para os ensaios de revelação .....</i>	120
2.5. <i>Avaliação de qualidade da revelação .....</i>	121
2.6. <i>Instrumentação e preparação de amostras para SALDI-TOF MS.....</i>	122
2.7. <i>Doadores de IDLs para avaliação por SALDI-TOF MS.....</i>	123
2.8. <i>Protocolo de limpeza da placa.....</i>	124
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>124</b>
3.1. <i>Caracterização das nanopartículas metálicas .....</i>	124
3.2. <i>Revelação das IDLs .....</i>	125
3.3. <i>AgNPs para SALDI-TOF MS .....</i>	128
3.4. <i>Análise de IDLs por AgNPs-LDI MS .....</i>	130
3.5. <i>AuNPs para SALDI-TOF MS .....</i>	132
3.6. <i>Análise de IDLs por AuNPs-LDI MS .....</i>	133
<b>4. CONCLUSÃO.....</b>	<b>135</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>136</b>
<b>CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>142</b>
<b>CRONOGRAMA DE ATIVIDADES.....</b>	<b>145</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>146</b>

## 1. REFERENCIAL TEÓRICO

### 1.1. *Papiloscopia Forense*

Em 1880, quando Henry Faulds, médico escocês que atuava no Japão, submeteu uma carta intitulada “*On the Skin-furrows of the Hand*” (sobre os sulcos da pele da mão) ao periódico internacionalmente reconhecido *Nature*, contendo suas conclusões sobre análises de impressões digitais [1], provavelmente não imaginava que estava dando um importante passo para a consolidação do que se tornaria um dos ramos mais consistentes das ciências forenses. Outros importantes trabalhos, como os desenvolvidos por William Herschel na Índia, Francis Galton na Inglaterra e Juan Vucetich na Argentina, somados a outros autores, foram fundamentais para que a comunidade científica compreendesse a enorme relevância que as impressões digitais teriam para a identificação humana, a qual ao final do século XIX superaria o sistema antropométrico defendido por Alphonse Bertillon [2]. Na América Latina, o trabalho de Juan Vucetich foi amplamente acolhido, não apenas pelo desenvolvimento de um sistema de classificação datiloscópico, mas também por sua atuação no primeiro caso de positivação de uma impressão digital proveniente de cena de crime [3,4]. Considerando a terminologia empregada no ambiente policial brasileiro, a ciência que tem por finalidade a identificação humana a partir da análise das impressões papilares geradas pelas cristas de fricção da superfície da pele recebe o nome de “Papiloscopia” e se divide em datiloscopia (impressões dos dedos), quiroscopia (impressões das palmas das mãos) e podoscopia (impressões das plantas dos pés).

Dentre os diferentes ramos das ciências forenses, o estudo das impressões papilares deixadas sobre as superfícies de objetos e materiais intencionalmente tocados e relacionados a práticas criminosas será aqui tratado por “Papiloscopia Forense”. Este ramo consiste em uma das áreas mais importantes para a elucidação das infrações penais, visto o seu potencial para apresentar às investigações aqueles indivíduos envolvidos com o fato criminoso [5]. Em um contexto evolutivo, graças ao desenvolvimento da habilidade preênsil da mão humana [6], a elevada frequência de manipulação de utensílios, instrumentos, documentos, dispositivos eletrônicos, sacolas e outros itens, torna as impressões digitais, via de regra, o vestígio material mais abundante em

cenas de crimes. Uma vez identificada a pessoa que as produziu, contribuem consideravelmente para a apresentação de resultados conclusivos quanto à determinação da autoria delitiva como importante resultado da prática pericial.

Considerando os atuais avanços da tecnologia, os sistemas biométricos tornaram possível a realização de pesquisa de fragmentos de impressões digitais, desde que apresentem minúcias suficientes, em bases de dados contendo milhões de padrões de impressões digitais, apresentando resultados em poucos minutos. Na década de 80, a chegada dessa tecnologia permitiu que a cidade de São Francisco, nos Estados Unidos, experimentasse uma verdadeira revolução nas investigações criminais a partir da implantação de um sistema conhecido pela sigla “AFIS” (*Automated Fingerprint Identification System*). A inovação proporcionou um aumento de 10x na elucidação de crimes baseada em fragmentos de impressões digitais recolhidos em locais de crime pesquisados contra padrões digitais no banco de dados biométricos registrados naquela cidade [7]. No Brasil, bancos biométricos civis e criminais são mantidos por órgãos oficiais de identificação, os Institutos de Identificação que integram as Polícias Técnicas ou Polícias Científicas nas diferentes unidades federativas e, em âmbito nacional, a Polícia Federal. Essa tecnologia tem tornado possível a elucidação de crimes sem a necessidade de apresentação de suspeitos, o que representou uma quebra de paradigma na área e reforçou a importância da Papiloscopia Forense para as investigações brasileiras.

Ao redor do mundo, a Papiloscopia Forense é desenvolvida por profissionais conhecidos por “*fingerprint experts*”, ou os Peritos Papiloscopistas, no Brasil. Esses profissionais são especializados na identificação humana por meio das impressões digitais (ou papilares) e, ressalvadas as diferenças organizacionais e de nomenclaturas encontradas em cada unidade federativa, são também responsáveis pela detecção e análise de impressões digitais latentes (IDLs) provenientes de cenas de crime, além de outras atribuições. Fora do Brasil, a comunidade científica internacional na área é bastante organizada, possuindo instituições que se ocupam de normatizar técnicas, padronizar procedimentos e produzir recomendações em Papiloscopia, como a Associação Internacional para Identificação (*International Association for Identification – IAI*), o Grupo Internacional de Pesquisa em Impressões Digitais (*International*

*Fingerprint Research Group – IFRG*) e o Grupo de Trabalho Científico em Análise, Estudo e Tecnologia de Cristas de Fricção (*Scientific Working Group on Friction Ridge Analysis, Study and Technology – SWGFAST*), dentre outros. Há também periódicos específicos na área forense como o “*Forensic Science International*”, o “*Science & Justice*”, o “*Journal of Forensic Sciences*” e o “*Journal of Forensic Identification*”. A IAI possui um importante papel histórico no desenvolvimento das ciências forenses e, atualmente, conta com mais de 7.000 membros. Essa associação tem contribuído para a divulgação científica entre profissionais das diferentes especialidades dedicadas à identificação humana, pesquisadores e representantes de empresas de tecnologia forense.

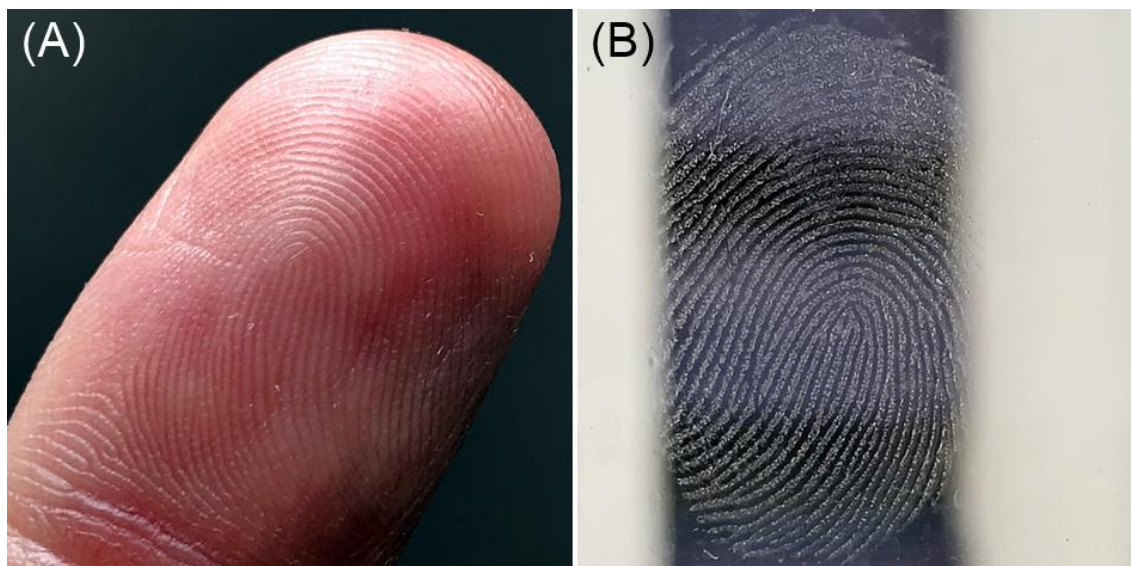
Tradicionalmente, a análise das IDLs envolve a identificação a partir de sua comparação morfológica com padrões papiloscópicos, podendo-se empregar uma metodologia própria, como a metodologia ACE-V, em um exame conhecido por “exame de confronto papiloscópico”, visando concluir sobre a compatibilidade entre o fragmento de impressões digital e o padrão conhecido, resultando em uma identificação positiva [8]. Contudo, novas possibilidades de análises a partir de IDLs têm sido exploradas pela comunidade científica, tais como a análise referente à dinâmica das impressões digitais, incluindo inferências sobre a maneira como os objetos foram manipulados [9] e análises químicas, capazes de apontar a presença de possíveis contaminantes e outras substâncias que sejam de interesse para as investigações [10–13].

A Papiloscopia Forense tem conhecido novos horizontes a partir dos avanços em pesquisas acadêmicas, sendo um campo propício para a aplicação prática de novos conhecimentos. Essa ciência continua inspirando o desenvolvimento de tecnologias que têm se somado na construção de ferramentas importantes no combate aos crimes.

## 1.2. *Impressões digitais latentes*

Os vestígios deixados a partir do contato da pele espessa das falanges dos dedos, das palmas das mãos ou das plantas dos pés com uma determinada superfície geram as impressões digitais, palmares ou plantares, respectivamente. Por serem produzidos por regiões de pele espessa, tais

vestígios apresentam um arranjo de cristas e sulcos que reflete o desenho da superfície da pele (Figura 1) e, do ponto de vista morfológico, atendem a critérios de unicidade, apresentando minúcias que se diferenciam de um indivíduo para o outro [14].



**Fig. 1.** Cristas de fricção da falange distal (porção ventral) do dedo humano (A) e IDL produzida a partir de toque de média pressão do mesmo dedo com uma superfície de vidro – a visualização só é possível devido à transmissão difusa da luz nas gotículas que formam as cristas da impressão (B).

Esses vestígios podem ser classificados como “patentes”, “latentes” ou “moldados” dependendo de como são encontradas nas cenas de crimes [15]. Os fragmentos de impressões digitais “patentes” são os encontrados já na forma visível e assim, dispensam a necessidade de emprego de algum agente revelador. É o caso de impressões produzidas quando os dedos estão contaminados com tintas, óleos, graxas, poeira ou sangue, dentre outras possibilidades. As IDLs são ditas “latentes” diferenciam-se das “patentes” por não serem naturalmente visíveis e, portanto, carecem da aplicação de técnicas de iluminação e revelação apropriadas, capazes de promover contraste visual entre as cristas das impressões e a superfície do objeto manipulado. As IDLs são o tipo mais comumente encontrado em cenas de crimes e, conseqüentemente, o maior alvo de pesquisas. Por fim, as impressões ditas “moldadas” ou “plásticas” são produzidas a partir do contato dos dedos com uma superfície que se deforme, produzindo um molde tridimensional da superfície da



pele espessa. Exemplos deste último tipo são as impressões produzidas em argila, massa de modelar, plástico derretido e silicone.

A formação de IDLs se deve à transferência da complexa composição química disponível sobre a pele para a superfície do objeto manipulado e, considerada a natureza e a porosidade do material, pode apresentar maior ou menor afinidade pelos constituintes dos vestígios papiloscópicos. Por tais razões, certos agentes físicos ou químicos (agentes reveladores) são recomendados para promover a revelação de IDLs, sempre observada a sua adequação ao tipo de superfície. Características como textura, estrutura físico-química, curvatura, temperatura, forças eletrostáticas e energia livre são relevantes para a formação das IDLs e para o seu processo de revelação [16]. Sabe-se que alguns dos componentes químicos presentes nas IDLs são absorvidos por substratos porosos, como papéis ou madeira, de maneira geral. Com isso, aminoácidos e proteínas das IDLs ficam preservados na trama de celulose. Logo, reações químicas que gerem mudança de coloração em presença dos grupamentos amina têm sido mais explorados para a revelação de IDLs nessas superfícies [17]. Isso permite que IDLs produzidas sobre substratos porosos sejam reveladas por reações específicas, mesmo após transcorrido um longo lapso temporal. Já em superfícies não porosas, ou lisas, sua regularidade permite a aplicação de pós de fina granulação ou suspensões, cujas partículas são aderidas ou eletrostaticamente atraídas e aderidas às gotículas que formam as IDLs depositadas sobre a superfície do objeto [18].

Por fim, fatores como idade, gênero, dieta e hábitos pessoais dos indivíduos que manipulam uma determinada superfície são, do ponto de vista químico, bastante relevantes para a formação das IDLs e podem influenciar na suficiência da qualidade para uma futura identificação [16]. Sabe-se que IDLs produzidas por crianças diferem significativamente daquelas produzidas por adultos [19,20] e que indivíduos idosos apresentam algumas alterações estruturais na pele espessa que podem prejudicar a qualidade das IDLs produzidas [21,22]. Algumas diferenças relevantes entre IDLs produzidas por indivíduos de gêneros diferentes podem estar relacionadas à largura das cristas [23] e a seu aspecto químico [24,25]. Os hábitos dos indivíduos também podem contribuir para o desgaste da pele espessa, seja por ação mecânica ou química,

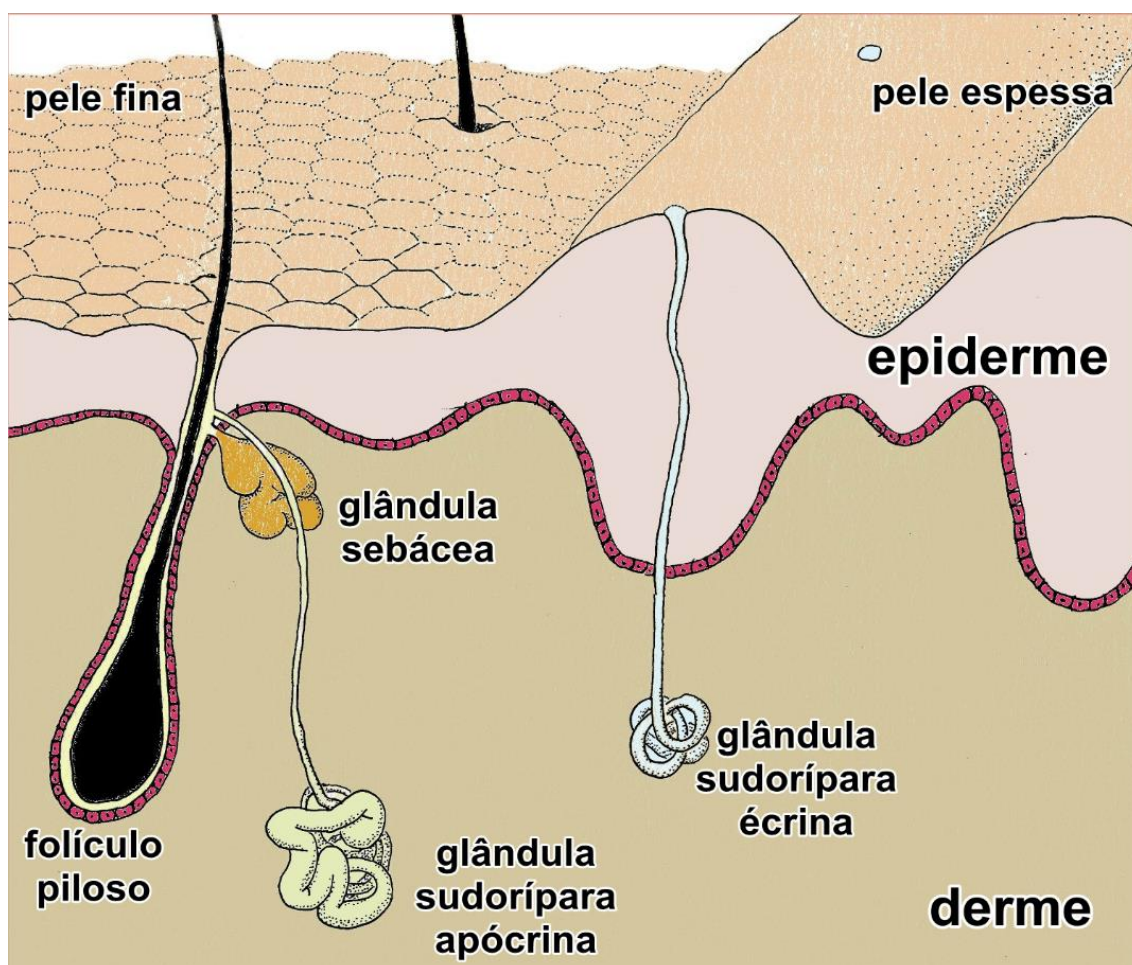
como por exemplo, indivíduos que possuem contato frequente com produtos de limpeza.

A compreensão da composição química das IDLs é relevante considerando muitos aspectos. Primeiramente, entender como os componentes presentes em IDLs interagem com diferentes grupamentos químicos ou materiais é fundamental para o processo de seleção de novos reagentes destinados à sua revelação [26]. Um exemplo seria o reagente conhecido como “ninidrina” (2,2-diidroxindano-1,3-diona), que se condensa com as aminas primárias dos aminoácidos presentes nas IDLs, formando uma imina, que sofre descarboxilação e hidrólise, na presença de água, que se condensa com uma segunda molécula de ninidrina produzindo a púrpura de Ruhemann [27]. Outro exemplo, é o reagente *Oil Red O* (ORO), sendo um lisocromo – corante lipofílico. A sua aplicação em IDLs foi sugerida em 2004 como uma alternativa para a revelação de IDLs sebáceas em superfícies porosas e molhadas, como papel ou papelão, produzindo uma coloração avermelhada [28]. A investigação química de IDLs também aponta para as possibilidades de obter informações adicionais sobre o vestígio, que podem ir muito além de seu aspecto morfológico utilizado para a identificação do indivíduo que o produziu. As possibilidades de conectar IDLs a marcas de dedos (borrões, sem cristas notáveis) [29], apontar o gênero do indivíduo que produziu a impressão, com base em análises de aminoácidos [30], além de detecção de drogas de abuso [10], fármacos [11], explosivos [11,13] e até lubrificantes de preservativos [12], dentre outras abordagens.

A detecção de IDLs envolve torná-las visíveis aplicando alguma técnica específica para a sua revelação. Alguns métodos foram descobertos de maneira acidental, enquanto outros foram frutos de pesquisas específicas na área, podendo apresentar aplicações variáveis de acordo com o tipo da superfície e as condições de temperatura, umidade e confinamento encontradas [16]. No Brasil, as técnicas mais populares são a aplicação de pós de fina granulação à base de carbono ou ferro [18]; a fumigação de cianoacrilato [31]; a aplicação de ninidrina [26]; DFO (1,8-diazafluoreno-9-ona) [26,32]; e o reagente de pequenas partículas (*small particle reagent* – SPR), a partir da suspensão de dissulfeto de molibdênio em uma solução de detergente [26,33]. Dentre as menos comuns, estão a deposição multi metálica (MMD) [15,34], a deposição metálica à vácuo

(VMD) [15,26,35], o emprego de corantes lipofílicos, como o *Sudan Black* [15,26,36] e o *Oil Red O* (ORO) [26,28], a aplicação de corantes fluorescentes como a Rodamina 6G e o Amarelo Básico 40 em etapa subsequentes ao emprego de métodos convencionais [15,26] e as abordagens com nanomateriais que serão tratadas em um tópico específico desta Tese.

As análises químicas de IDLs destacam que seu resíduo consiste da mistura complexa das substâncias endógenas, originárias principalmente das glândulas da pele (Figura 2) e componentes exógenos. Diferentes métodos vêm sendo empregados para essa finalidade, merecendo destaque: cromatografia líquida de camada delgada (TLC) [37], cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC/MS) [38–43], espectrometria de massa por ionização/dessorção por *electrospray* (DESI MS) [44], espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) [45,46], espectroscopia Raman [10,47,48], espectrometria de massa por ionização/dessorção a laser assistida por matriz (MALDI-MS) [11,12,49–55] e espectrometria de massa por ionização/dessorção a laser assistida por superfície (SALDI-MS) [13,52,56–62], além de outros métodos menos frequentes na literatura.



**Fig. 2.** Glândulas da pele. Regiões de pele espessa apresentam apenas glândulas sudoríparas écrinas, enquanto as regiões de pele fina apresentam, além de écrinas, glândulas sebáceas associadas aos folículos pilosos. As glândulas sudoríparas apócrinas ocorrem apenas em algumas regiões do corpo, tais como as axilas e a região genital.

O emprego de todas essas técnicas analíticas para a investigação química das IDLs tem permitido a caracterização de sua natureza complexa, apontando para três possíveis origens: componentes endógenos de origem écrina; componentes endógenos de origem sebácea; ou contaminantes, compreendendo todos aqueles produtos de origem exógena. A Tabela 1 apresenta os componentes químicos de IDLs apontados por diferentes autores.

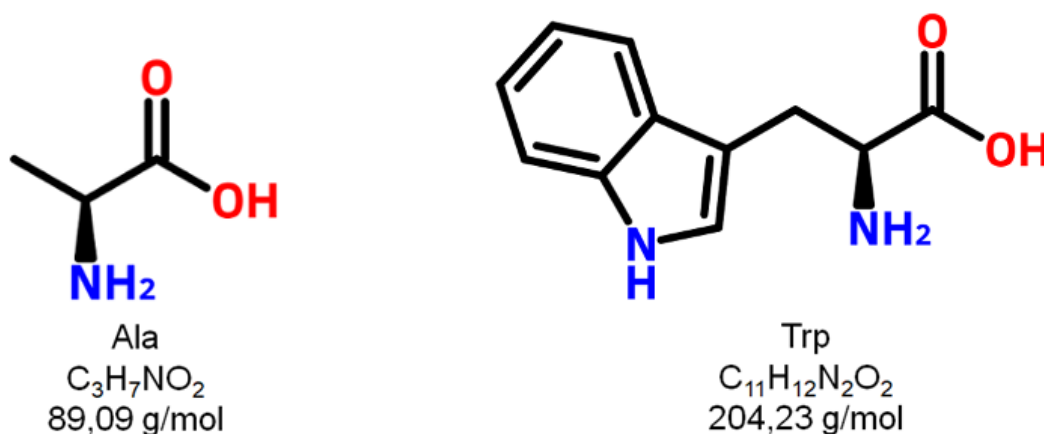
**Tabela 1.** Principal composição química presente em IDLs.

Componente	Método	Referência
<b>Origem écrina</b>		
ácido láctico	HPLC, GC/MS	[16]
peptídeos	FTIR	[16]
aminoácidos	TLC, GC/MS, FTIR, Raman, LDI-TOF MS, MALDI-TOF MS, SALDI-TOF MS	[16,37,53,60]
ureia	GC/MC, FTIR e Raman	[16]

ácido úrico	HPLC	[16]
creatinina	Raman	[16]
vitaminas	TLC, HPLC, MALDI-TOF MS	[16,37,53]
<b>Origem sebácea</b>		
ácido nonanóico	GC/MS	[42]
ácido decanóico	GC/MS	[42]
ácido dodecanóico	SALDI-TOF MS	[60]
ácido miristoleico	GC/MS	[42]
Ácido mirístico	SALDI-TOF MS	[60]
ácido palmitoleico	GC/MS, SALDI-TOF MS	[39,42,60]
ácido palmítico	GC/MS, SALDI-TOF MS	[39,42,60]
ácido oleico	GC/MS, MALDI-TOF MS, SALDI-TOF MS	[38,42,54,56,60]
ácido esteárico	GC/MS, MALDI-TOF MS, SALDI-TOF MS	[39,42,54,56,60]
ésteres graxos	TLC, GC/MS, SALDI-TOF MS	[16,37, 42, 56]
diglicerídeos	GC/MS, FTIR, MALDI-TOF MS, SALDI-TOF MS	[16,53,54,56]
triglicerídeos	TLC, SALDI-TOF MS	[16,37,53,56]
ésteres de colesterol	ESI MS	[63]
esqualeno	GC/MS, SALDI-TOF MS	[16,37,39,42,56,60]
colesterol	GC/MS, MALDI-TOF MS, SALDI-TOF MS	[16,37,39,42,53,54,56]
<b>Contaminantes</b>		
nicotina	MALDI-TOF MS, SALDI-TOF MS	[52,58]
cocaína	DESI MS, MALDI-TOF MS, SALDI-TOF MS	[44,55, 57]
metadona	SALDI-TOF MS	[57]
heroína	SALDI-TOF MS	[57]
explosivos	MALDI-TOF MS, SALDI-TOF MS	[11,13]
cafeína	MALDI-TOF MS	[55]
lubrificante de preservativo	MALDI-TOF MS	[55]
dimetildioctadecilamônio	MALDI-TOF MS, SALDI-TOF MS	[54,55,56]

### 1.3. Espectrometria de massa por ionização/dessorção a laser (LDI MS)

A técnica de espectrometria de massa por ionização/dessorção a laser (LDI MS) começou a ser investigada na década de 1960, quando foi confirmado que a irradiação de um pulso de laser de intensidade alta sobre sais orgânicos levava à formação de íons, sendo possível a análise de suas massas moleculares [64]. Apesar dos significativos avanços nas décadas subsequentes, as aplicações desta técnica eram ainda limitadas devido à fragmentação dos analitos e à análise restrita à faixa de massa de 5–10 kDa [65]. Quando Karas et al. [66] descobriram que a alanina poderia ser mais facilmente ionizada se fosse misturada ao triptofano, a ideia de adicionar pequenas moléculas capazes de absorver a energia do laser (posteriormente denominadas “matrizes”) e transferi-la aos analitos trouxe enormes avanços. O sucesso da ionização/dessorção da alanina foi atribuído às propriedades do triptofano, que, em virtude de sua estrutura molecular contendo aromaticidade, se mostra capaz de absorver a energia do laser, diferentemente da alanina (Figura 3). A técnica de LDI MS que utiliza pequenas moléculas orgânicas ficou popularmente conhecida como espectrometria de massa por ionização/dessorção a laser assistida por matriz (MALDI MS).

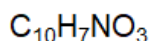
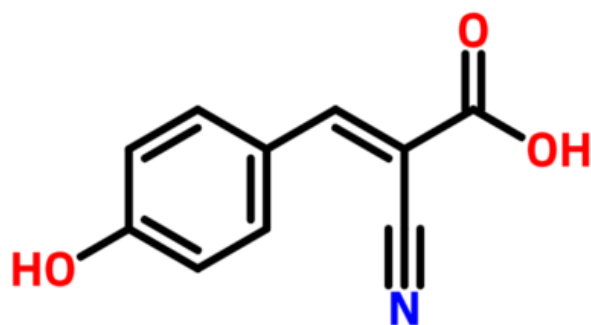


**Fig. 3.** Estruturas moleculares dos aminoácidos alanina (Ala) e triptofano (Trp). Elaborado com ChemWriter® v. 3.5.1.

Em uma direção diferente, ao final da década de 1980, Tanaka et al. [67] relataram, pela primeira vez, a utilização da mistura de nanopartículas de cobalto e glicerol para o tratamento de amostras de proteínas, para promover uma dessorção à laser na análise de proteínas, incluindo as de massas superiores a

20 kDa. Outros trabalhos relevantes foram desenvolvidos adotando silício poroso para a ionização/dessorção (DIOS) [68] e que tem demonstrado importantes possibilidades de detecção de moléculas de massas moleculares inferiores a 3 kDa [69]. Especula-se que os suportes de silício contendo nanoporos são capazes de aprisionar os analitos e simultaneamente absorver a radiação do laser, gerando espectros sem os íons da matriz [70]. Vários tipos de nanomateriais têm sido utilizados para a análise de diferentes tipos de amostras pela técnica de LDI MS. A opção pelo termo “SALDI MS” referindo-se ao emprego de nanomateriais na espectrometria de massa como agentes indutores de ionização/dessorção, em alternativas às matrizes orgânicas convencionais, será explicada na seção 1.6.

As matrizes mais comumente utilizadas são o ácido  $\alpha$ -ciano-4-hidroxicinâmico ( $\alpha$ -CHCA), ácido 2,5-dihidroxibenzóico (DHB), ácido 3,5-dimetóxi-4-hidroxicinâmico (ácido sinapínico) [71]. Uma solução de matriz é preparada em água ultrapura, adicionando um solvente orgânico, normalmente acetonitrila (ACN). Em baixíssima concentração, o ácido trifluoroacético (TFA) também costuma ser adicionado como fonte de contra íons, com o objetivo de reduzir as intensidades dos íons da matriz [65]. Normalmente, as matrizes orgânicas são ácidas, atuando como fontes de prótons para a ionização do analito [72] e apresentam a propriedade óptica de absorver rapidamente a radiação eletromagnética nas faixas do ultravioleta (UV) ou do infravermelho (IR) [72,73]. Tal eficiência está normalmente associada com as estruturas moleculares que incluem ligações duplas conjugadas, conforme se observa na estrutura da matriz  $\alpha$ -CHCA (Figura 4).



189,17 g/mol

**Fig. 4.** Estrutura molecular do ácido  $\alpha$ -ciano-4-hidroxicinâmico ( $\alpha$ -CHCA). Elaborado com ChemWriter® v. 3.5.1.

A solução contendo a matriz é misturada ao analito e, por conter água e um solvente orgânico, permite a dissolução de moléculas hidrofóbicas e hidrofílicas da amostra na solução. Geralmente, 1  $\mu\text{L}$  da amostra a ser investigada é aplicado sobre a placa de MALDI MS (normalmente uma placa de aço) em poços independentes e, em seguida, são recobertos com 1  $\mu\text{L}$  de solução contendo a matriz. O solvente presente nesta solução evapora, deixando apenas a matriz recristalizada, mas agora contendo moléculas do analito associadas aos cristais, atribuindo-se o nome de “cocrystalização” a esse processo [72], importante para a obtenção de bons resultados. Além disso, os íons gerados pelas matrizes e seus fragmentos costumam ser utilizados como “calibrantes” internos do espectrômetro de massa, quando da etapa de aquisição. Alguns modelos de equipamentos também admitem a aquisição de espectros de massa em modo de imagem (MALDI-MSI). Essa técnica de imageamento químico foi descrita pela primeira vez por Caprioli et al. [74] e alguns pesquisadores têm defendido a sua importância para a obtenção de imagens de distribuição espacial dos íons presentes em diversas amostras [75], inclusive em IDLs [49–51,53–55].

É importante destacar que “MALDI” se refere à fonte de íons, ou seja, ao método pelo qual os íons são gerados a partir de um analito neutro, e “TOF” (*time of flight*) se refere ao tipo de analisador de massa, sendo que outros tipos já



foram utilizados com sucesso [76]. Entretanto, como MALDI-TOF é a combinação mais estabelecida comercialmente, tem sido a mais comumente utilizada em pesquisas [77]. Suas vantagens incluem a facilidade na preparação das amostras, a elevada tolerância à contaminação por sais e surfactantes, dentre outros compostos, sendo mais sensível que outras técnicas de ionização a laser [77]. A técnica se tornou uma ferramenta analítica poderosa para a análise de proteínas, peptídeos, biopolímeros, polímeros sintéticos [80], lipídeos [78], dentre outros analitos.

No contexto forense, no que se refere à análise química de amostras complexas, e mais especificamente das IDLs, a técnica de MALDI-TOF MS tem recebido um importante destaque. Desde 2011, o *Fingermark Research Group* (FRG) da Universidade de Sheffield Hallam (SHU) tem se empenhado em desenvolver protocolos para inserir essa técnica, de maneira compatível, na rotina dos laboratórios de perícia papiloscópica [79]. Contudo, persistem alguns desafios como o transporte do vestígio encontrado em outras superfícies para a placa de MALDI e a forma de tratamento da amostra para sua cocristalização com a matriz, durante sua preparação [80].

Uma limitação conhecida da técnica envolve a detecção de moléculas orgânicas abaixo de 700 Da (região de grande interesse forense), devido à intensidade de sinal alta dos íons da matriz utilizada para ionização em tal faixa de massa, podendo gerar interferências e, inclusive, resultar na supressão de sinal do analito [70]. Por essa razão, abordagens alternativas que substituam as matrizes por nanomateriais têm sido investigadas por promoverem melhorias na eficiência da ionização/dessorção a laser (LDI), resultando na acentuação da intensidade de sinal de pequenas moléculas. Como as IDLs apresentam uma natureza complexa, a sua investigação química por tais abordagens também tem sido alvo de pesquisas [52,56,59–62].

#### 1.4. Nanotecnologia

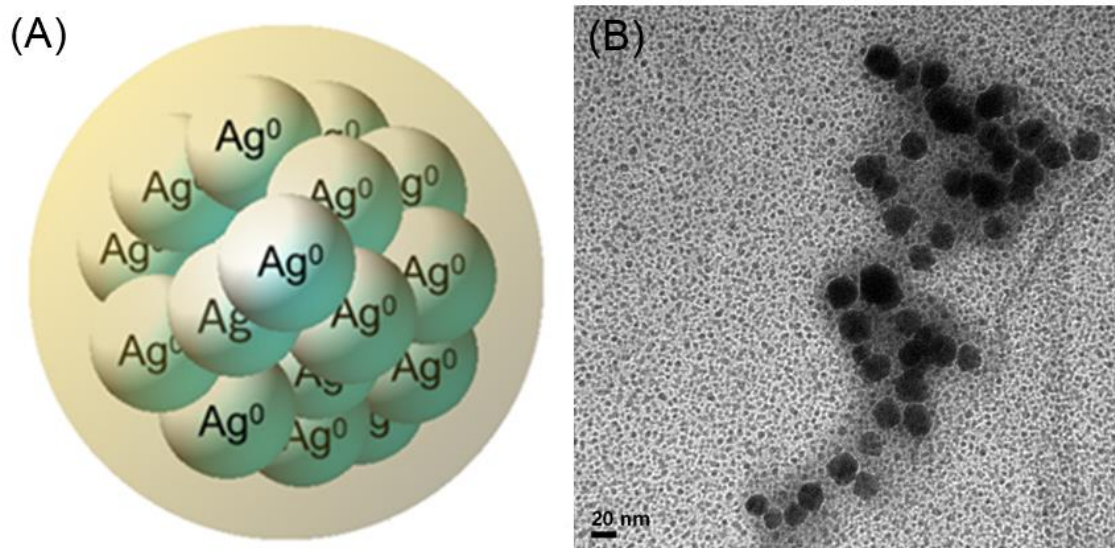
Em 1959, o conceito de nanotecnologia foi apresentado por Richard Feynman, posteriormente laureado com o Nobel de Física. Na palestra intitulada “*There’s Plenty of Room at the Bottom*” (tradução: “Há Bastante Espaço lá Embaixo”), Feynman [81] realizava uma série de previsões sobre grandes inovações que a exploração da nanoescala poderia trazer para as ciências. A ideia de manipular a matéria em uma escala extremamente reduzida, no nível de moléculas e átomos tem apresentado diversas possibilidades em inúmeras e crescentes aplicações em química, física, biologia, inclusive na medicina e em áreas da saúde [82].

É importante distinguirmos os termos “nanociência”, o qual consiste no estudo de fenômenos em escalas muito pequenas, e “nanotecnologia”, que se relaciona a uma finalidade específica e com utilidade para a sociedade [83]. Em 1994, o Grupo de Trabalho da Sociedade Real Britânica [84] aprimorou o conceito de “nanociência” como sendo o estudo dos fenômenos e a manipulação de materiais nas escalas atômica, molecular e macromolecular, nas quais as propriedades da matéria diferem significativamente daquelas encontradas em escalas maiores. Já o termo “nanotecnologia” se relaciona ao desenho, caracterização, produção e aplicação de estruturas, dispositivos e sistemas por controle de forma e tamanho na escala nanométrica. Dentre as possíveis definições disponíveis, definem-se como nanomateriais, em termos práticos, aqueles intencionalmente produzidos que apresentam uma ou mais dimensões compreendidas entre 1 e 100 nm ou compostos por partes discretas e funcionais, tanto internamente ou em sua superfície, que tenham uma ou mais dimensões iguais ou inferiores a 100 nm, incluindo estruturas, aglomerados ou agregados, os quais podem ter o tamanho acima de 100 nm, mas mantêm propriedades características da nanoescala [85].

Há duas principais abordagens para a produção de nanomateriais. A primeira delas é denominada “*top-down*”, na qual estruturas maiores são reduzidas a estruturas menores até atingirem dimensões dentro da nanoescala (1–100 nm), mantendo suas propriedades originais (ex: moagem) [86]. A segunda é denominada “*bottom-up*” e consiste na produção dos nanomateriais a partir de átomos ou moléculas por um processo de montagem em escala

nanométrica [87]. Os nanomateriais podem ser utilizados em inúmeras aplicações, trazendo novas soluções ou as aprimorando em diversas áreas.

Considerando o aumento na demanda por nanomateriais, a preocupação com o acúmulo de resíduos tóxicos e perigosos ao meio ambiente gerados por rotas de síntese química tem indicado a importância dos métodos abarcados pelos princípios de “química verde”, que considera os esforços mundiais para a redução desses resíduos [88]. A adoção de processos sustentáveis deve adotar estratégias para minimizar a utilização de produtos tóxicos, inflamáveis ou corrosivos e maximizar a eficiência de processos químicos adotando, preferencialmente, a água como solvente nas rotas de sínteses e reagentes que apresentem toxicidade baixa [89]. Considerando estratégias em nanotecnologia, componentes biológicos de extratos de plantas (metabólitos primários e secundários), por exemplo, têm sido empregados como agentes redutores dos íons metálicos para a formação de nanopartículas metálicas [90] (Figura 5). Extratos ou materiais de outros organismos também têm sido utilizados para essa finalidade [91], mesmo que o mecanismo envolvido na síntese não tenha sido completamente elucidado.

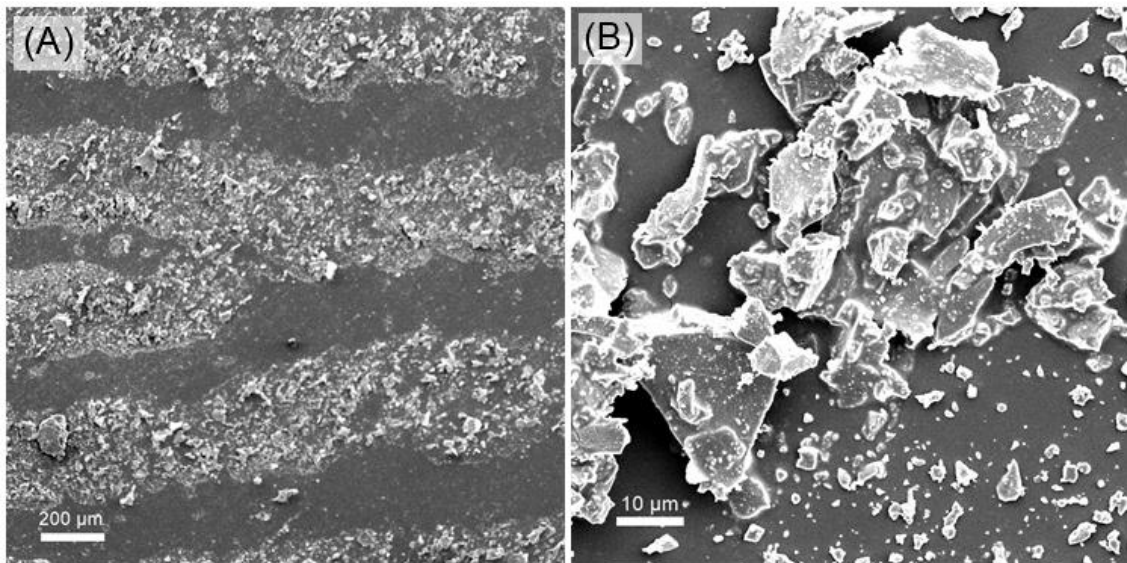


**Fig. 5.** Nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas por rota de química verde: os metabólitos de extrato de planta atuam na redução da prata iônica e promovem a cobertura da partícula formada, conferindo-lhe estabilidade coloidal. Representação esquemática de uma nanopartícula (A); visualização das nanopartículas por microscopia eletrônica de transmissão (MET) (B), cortesia: Profa. Dra. Cinthia C. Bonatto.

### 1.5. *Nanomateriais e impressões digitais latentes*

Apesar da efetividade de métodos convencionais utilizados para a detecção de IDLs, existem ainda diversas limitações relativas à sua aplicação, gerando inconveniências dentro do cenário de adversidades enfrentadas na rotina das perícias. Tais limitações podem estar relacionadas a: custo e portabilidade de reagentes e equipamentos; necessidade de câmara climatizada para o favorecimento de uma reação; contraste pouco acentuado entre as cristas das impressões e a superfície dos objetos; interação do reagente com a superfície do objeto; baixa seletividade do reagente aos componentes das impressões; e toxicidade [18,92]. Os reveladores convencionais podem apresentar partículas muito heterogêneas em tamanhos e formas (Figura 6), pois vários dos pós reveladores disponíveis no mercado são comumente produzidos a partir de um processo de moagem. Nesse contexto, os nanomateriais têm sido investigados como potenciais agentes alternativos para a revelação de IDLs [92–96], pois suas propriedades apontam para um ganho adicional de sensibilidade e seletividade devido a algumas de suas propriedades, como:

- (1) Tamanho reduzido: partículas menores e de tamanhos homogêneos podem favorecer a resolução de IDLs reveladas [92–97] diminuindo o risco de prejudicar a revelação da impressão, como tipicamente pode ocorrer em técnicas convencionais como a aplicação de pós em excesso ou fumigação por cianoacrilato por tempo elevado;
- (2) Propriedades luminescentes: alguns nanomateriais apresentam propriedades luminescentes na ampla faixa de comprimentos de ondas que vai do ultravioleta (UV) ao infravermelho (IR) [92,94–99], o que pode contribuir para a acentuação do contraste entre as cristas e o substrato onde a IDL é detectada;
- (3) Funcionalização: a superfície de nanopartículas pode ser ligada a moléculas ou grupamentos funcionais, o que pode oferecer uma vasta gama de possibilidades para favorecer a interação com componentes específicos das IDLs [95–100].



**Fig. 6.** Diferenças de tamanho e heterogeneidade de formas de partículas presentes em reveladores convencionais para o tratamento de IDLs podem ser observadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV): as cristas de IDLs tratadas com o pó magnético correspondem às regiões mais claras intercaladas por sulcos, mais escuros (A); detalhe em maior magnificação da região de crista contendo as partículas do pó (B).

Em termos gerais, os nanomateriais que têm sido empregados para a análise de IDLs podem ser classificados em três categorias: nanopartículas metálicas, principalmente de prata (AgNPs) e ouro (AuNPs) [26,93,101–104]; nanopartículas de óxidos metálicos, como as de dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>NPs) [93,94,105], de óxido de zinco (ZnONPs) [93,106] e de óxido de alumínio (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>NPs) [107,108]; e nanomateriais semicondutores, como os *quantum dots* (QDs) [94,109–111] com suas propriedades ópticas incomuns e as nanopartículas de sílica (SiO<sub>2</sub>NPs) [95,97,98,100,112].

As nanopartículas metálicas têm recebido considerável atenção por se apresentarem como candidatas imediatas ao aprimoramento de técnicas tradicionais disponíveis nos laboratórios de papiloscopia forense, como o uso de AgNPs na suspensão conhecida por “revelador físico de prata” (AgPD) [113] e uso de AgNPs e/ou AuNPs em etapas sequenciais da deposição multimetálica (MMD) [34,93,101,104]. Por sua vez, os nanomateriais de óxidos metálicos foram desenvolvidos para a formulação de nanopós destinados ao favorecimento do contraste em revelações de IDLs em diferentes superfícies [107]. As TiO<sub>2</sub>NPs têm sido utilizadas como pós brancos ou reagente de pequenas partículas (SPR) branco, utilizado na forma de suspensão ou pasta

sobre superfícies escuras para a revelação de IDLs [114]. Quanto aos nanomateriais semicondutores, alguns experimentos avaliaram a eficiência da interação de QDs, incluindo para impressões ensanguentadas [109] e em superfícies adesivas [110]. Porém, desafios como baixa eficiência na detecção, complicações no manuseio, *photobleaching* (perda de intensidade de luminescência) e toxicidade permanecem sendo discutidas [94].

Merecem destaque as nanopartículas do óxido de silício ou sílica ( $\text{SiO}_2\text{NPs}$ ), pois agregam as vantagens da nanoescala de maneira muito versátil. Nanopartículas híbridas de sílica e corantes orgânicos têm sido construídas, tendo a sílica uma função de material suporte, uma vez que proporciona estabilidade físico-química, protegendo o corante ligado de perturbações externas [95]. Além disso, a sílica é biocompatível e apresenta uma superfície passível de funcionalização, o que pode favorecer a sua interação com as IDLs, levando a uma melhoria na detecção, conforme demonstrado por Huang et al. [115]. As nanopartículas de sílica foram testadas para a detecção de IDLs, tendo sido ligadas, com sucesso, aos corantes tris (2,2'-bipiridil) dicloro-rutenio (II) hexahidratado (RuBpy), Rodamina 6G, Rodamina B [111], PR254A (pigmento vermelho 254) [98]. Moret et al. [100] também demonstraram que a funcionalização das  $\text{SiO}_2\text{NPs}$  como grupamentos silanóis contendo ácidos carboxílicos pode favorecer a interação das nanopartículas com as IDLs, contribuindo para o esclarecimento de que as interações entre nanopartículas e os componentes presentes em IDLs não são exclusivamente eletrostáticas. Contudo, uma vez que as IDLs se tratam de misturas complexas, mais pesquisas são necessárias para elucidar os mecanismos de interação e as especificidades entre esses vestígios e os nanomateriais, sendo esse também um dos objetivos do presente trabalho.

Considerando as nanopartículas metálicas e a possibilidade de sintetizá-las de acordo com os princípios estabelecidos para a química verde, alguns benefícios para o contexto das aplicações forenses podem ser alcançados. A facilidade de síntese e preparação, a baixa toxicidade dos reagentes e produtos, a escalabilidade prática e a não agressividade ao meio ambiente, torna os nanomateriais obtidos em nanotecnologia verde desejáveis para o emprego em

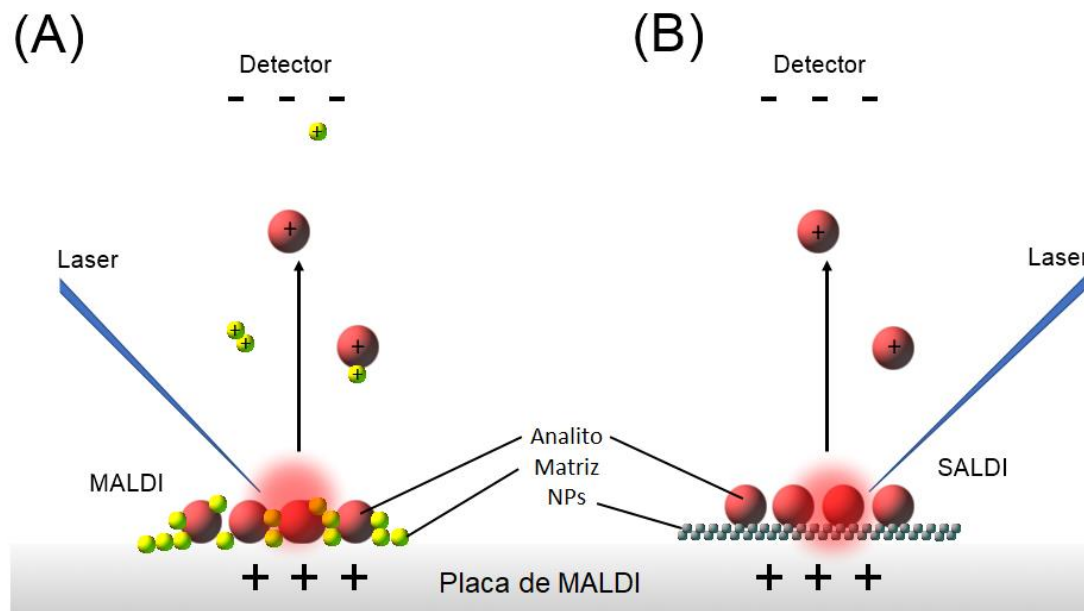
laboratórios de perícia papiloscópica, onde tradicionalmente são utilizados reagentes tóxicos e nocivos.

#### 1.6. *Nanomateriais para análises de IDLs por SALDI-TOF MS*

Conforme mencionado anteriormente, Tanaka et al. [67] utilizaram nanopartículas de cobalto em glicerol ao invés de uma matriz orgânica para aprimorar o processo de ionização. A técnica de SALDI MS envolve o uso de um substrato, geralmente um material nanoestruturado agindo como suporte sólido que transfere energia para o analito no processo [70]. Os substratos utilizados possuem propriedades de absorção da radiação UV, possibilitando a transferência de energia ao analito de modo similar ao que ocorreria com a matriz em MALDI MS [60]. O termo “SALDI” foi originalmente proposto por Sunner et al. em 1995, utilizando micropartículas de grafite para a análise de peptídeos e proteínas [116]. O termo enfatiza a importância crítica das estruturas em superfície na preparação das amostras e no processo de ionização/dessorção. Desde então, uma grande variedade de superfícies tem sido investigada como substrato para SALDI com diferentes níveis de sucesso [117].

Diferentes terminologias têm sido utilizadas por autores para se referir à técnica de SALDI MS de acordo com o tipo de material empregado. Exemplos são “*matrix-free*” (livre de matriz), “*matrix-less*” (sem matriz), “MALDI com matriz inorgânica”, “*desorption ionization on silicon*” (ionização/dessorção em silício) (DIOS) e “*nanowire-assisted laser desorption/ionization*” (ionização/dessorção a laser assistida por nanofios) (NALDI) [117]. Também são encontrados na literatura os termos “*surface enhanced laser desorption/ionization*” (melhoramento de superfície para ionização/dessorção a laser) (SELDI), “*surface enhanced affinity capture*” (melhoramento de superfície com afinidade de captura) (SEAC), “*surface enhanced neat desorption*” (melhoramento de superfície para aumento de dessorção) (SEND) [70], referindo-se a algum mecanismo de seletividade por moléculas para favorecer a detecção e para a otimização do processo de dessorção. Reforça-se que, no presente trabalho, foi adotada a denominação “SALDI MS” de maneira genérica, para tratar do emprego de materiais ou nanomateriais na espectrometria de massa como

agentes de ionização/dessorção, em substituição às matrizes orgânicas convencionais (Figura 7).



**Fig. 7.** Esquema comparativo do processo de ionização/dessorção a laser de MALDI-TOF MS (A) e SALDI-TOF MS (B).

Normalmente se recorre à técnica de SALDI MS para contornar limitações encontradas em análises utilizando matrizes convencionais. A principal limitação de MALDI MS diz respeito à investigação de pequenas moléculas, pois frequentemente os íons intensos provenientes das matrizes geram interferências, podendo, inclusive, causar a supressão de sinal do analito na região de faixas de massa inferiores a 1000 Da [61,70,118–122]. Outras limitações estão relacionadas à sensibilidade seletiva de cada matriz e não distribuição uniforme entre matriz e analito na cocristalização, afetando a reprodutibilidade [70,121,122]. Há atributos desejáveis para que um determinado material seja efetivamente considerado como bom substrato para SALDI MS. O aumento da performance de ionização/dessorção a laser, a redução da intensidade do laser requerido para alcançar a ionização/dessorção, o predomínio de íons moleculares do analito nos espectros gerados e a possibilidade de analisar diferentes classes de componentes, são alguns desses atributos [117].



O interesse da comunidade científica pela técnica de SALDI MS cresceu muito quando os nanomateriais foram percebidos como potenciais agentes promotores de ionização/dessorção [123]. Assim, as abordagens envolvendo a nanotecnologia têm se mostrado viáveis para investigações de amostras tidas como desafiadoras por técnicas convencionais. As vantagens da nanotecnologia nessa aplicação incluem o alto rendimento, a ausência de interferências da matriz na região de massa molecular baixa do espectro, a aquisição de perfis globais a partir de amostras biológicas complexas, além do imageamento químico de tecidos biológicos [121]. Devido às vantagens típicas da nanoescala, alguns nano-objetos e materiais nanoestruturados, tais como nanotubos de carbono [124,125], nanotubos de óxido de titânio [122], superfícies nanoporosas de silício [61,69,126], nanopartículas de zinco, titânio, ferro, selênio [121], nanopartículas de ouro [121,126–129] e nanopartículas de prata [56,130,131], dentre outros, têm sido eficientes no processo de ionização/dessorção de analitos presentes em amostras complexas.

As análises de IDLs por SALDI-TOF MS vêm demonstrando sucesso na detecção de pequenas moléculas a partir de aplicações com diferentes nanomateriais. Por essa técnica, Rowell et al. [57], Benton et al. [52,58] e Lim et al. [59,60,130] detectaram nicotina, cotinina, drogas de abuso, explosivos e fármacos em IDLs tratadas com nanopartículas de sílica; Sekuła et al. [62], Nizioł & Ruman [131] e Nizioł et al. [132] utilizaram nanomateriais de prata para a detecção de componentes endógenos de IDLs que normalmente não seriam detectados por matrizes convencionais; Cheng et al. [133] utilizaram nanoligas de ouro e prata para a análise de IDLs e detectaram ácidos graxos endógenos; Sekuła et al. [134] utilizaram nanopartículas de ouro para a detecção de mais de 100 componentes endógenos e exógenos em IDLs com elevadas acurácia e reprodutibilidade; e, por fim, Kusano et al. [135] detectaram componentes endógenos e exógenos de IDLs tratadas por nanopartículas de óxido de ferro.

## 2. JUSTIFICATIVA

A Papiloscopia Forense, como ramo importante das ciências forenses, foi alvo de grandes avanços no século XX, principalmente com o emprego dos sistemas automatizados para pesquisa de impressões digitais (AFIS) e o desenvolvimento de novos reagentes para o tratamento e revelação de IDLs. Consagrou-se como atividade de grande efetividade para a resolução de crimes nos quais os vestígios são recuperados de vários tipos de objetos e materiais. No entanto, com o surgimento de novas possibilidades instrumentais analíticas acessíveis a pesquisadores de diferentes áreas do conhecimento, um novo horizonte para o tratamento e análise de IDLs tem se apresentado.

Dentre as diferentes técnicas analíticas disponíveis, as técnicas baseadas em LDI-TOF MS se destacam por sua sensibilidade, acurácia, praticidade e preservação (não destruição) das amostras. Parte considerável da comunidade científica internacional tem investigado a aplicação dessas técnicas para a análise de IDLs, visando a uma potencial adequação desta técnica às rotinas periciais específicas de análises de impressões digitais. Um elevado volume de publicações dedicadas à esta finalidade tem sido notado, visando não apenas à adaptação de protocolos já estabelecidos, mas também às diversas possibilidades de empregar diferentes materiais para a acentuação dos sinais de analitos.

Devido à dificuldade na detecção de pequenas moléculas orgânicas utilizando MALDI-TOF MS, uma vez que a intensidade de sinal alta dos íons das matrizes convencionais gera interferências e supressão de sinal do analito em tal faixa de massa, o interesse por SALDI-TOF MS cresceu visando obter melhoria na eficiência da absorção da energia do laser, emissão de campo elétrico, cocristalização da amostra e supressão do sinal de espécies não desejáveis. A técnica envolve o uso de um substrato, geralmente um nanomaterial agindo como fase sólida que transfere energia para o analito no processo de LDI. Tem sido demonstrado que alguns nanomateriais (tipicamente ao menos uma das dimensões ou estruturas compreendidas em 1–100 nm) oferecem vantagens para o processo de LDI de analitos presentes em amostras complexas quando comparados às matrizes convencionais.

Nesse contexto, alguns estudos vêm relatando a obtenção de melhorias em sensibilidade e reprodutibilidade do sinal do espectro de massa a partir da utilização de nanomateriais para a análise de compostos de massa molecular baixa, incluindo componentes endógenos e exógenos presentes em IDLs por SALDI-TOF MS. Outro aspecto importante envolve o emprego da nanotecnologia para a revelação das IDLs em superfícies diversas, incluindo aquelas em que os métodos tradicionais não se mostram eficientes. Do ponto de vista prático, são desejáveis as abordagens de síntese de nanomateriais que apresentem custo relativamente baixo, escalabilidade e toxicidade baixa.

Uma outra estratégia importante consiste no estabelecimento de uma conexão viável entre o processo de revelação de IDLs e a sua análise química. Os nanomateriais têm sido apontados como candidatos promissores para essa finalidade, podendo oferecer o duplo benefício de revelar as IDLs e, ao mesmo tempo, torná-las preparadas para as análises por SALDI-TOF MS. As matrizes convencionais apresentam uma série de inconvenientes nesse contexto, principalmente custo alto, toxicidade elevada e reprodutibilidade baixa.

Portanto, são consideradas etapas essenciais desta pesquisa as investigações sobre:

- (1) Aspectos químicos de IDLs de amostras de indivíduos por MALDI-TOF MS e SALDI-TOF MS, com a possibilidade de apontar seus componentes mais frequentes;
- (2) Afinidades e interações específicas entre nanomateriais e as IDLs;
- (3) Aplicação de nanomateriais como agentes reveladores de IDLs, preferencialmente que também sirvam como substratos para SALDI-TOF MS.

A possibilidade de obtenção de novas informações quando da análise de vestígios recolhidos em cenas de crime representa um ganho para as ciências forenses, impactando diretamente nas práticas periciais. Assim, o desenvolvimento de métodos para a análise multi-informacional de IDLs, empregando nanomateriais, é desejável e pode significar o estabelecimento de uma nova rotina na prática pericial que inclua estratégias complementares de análise dos vestígios papiloscópicos.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. *Objetivo Geral*

Avaliar a aplicação de nanomateriais em amostras de IDLs para sua revelação e submissão à análise química por espectrometria de massa por ionização/dessorção a laser (LDI-TOF MS).

#### 3.2. *Objetivos Específicos*

- a) Viabilizar método prático para análise química de IDLs por MALDI-TOF MS, utilizando as matrizes convencionais, principalmente  $\alpha$ -CHCA, aplicadas em solução (método tradicional) (Capítulo I);
- b) Avaliar os efeitos da substituição da matriz por espuma de sílica mesocelular (MCF suporte livre ou funcionalizado) para SALDI-TOF MS e investigar suas implicações para a análise química das amostras de IDLs (Capítulo II);
- c) Caracterizar a MCF (suporte livre ou funcionalizado) quanto à topografia e estrutura em alta resolução por microscopia de força atômica (AFM) (Capítulo II);
- d) Avaliar os efeitos da substituição da matriz por suspensão de AgNPs ou AuNPs (sintetizadas por rotas verdes) para SALDI-TOF MS e investigar suas implicações para a análise química das amostras de IDLs (Capítulo III);
- e) Caracterizar as AgNPs e AuNPs (sintetizadas por rotas verdes) sob os pontos de vista estrutural (tamanho) por espalhamento da luz dinâmico (DLS), propriedades ópticas por espectrofotometria e estabilidade coloidal por potencial Zeta de superfície (Capítulo III);
- f) Detectar componentes endógenos e exógenos das IDLs na faixa de  $m/z$  100 a 1000 (faixa de massas moleculares baixas) com obtenção de perfis moleculares por MALDI-TOF MS (Capítulo I) e SALDI-TOF MS (Capítulos II e III);

g) Avaliar o potencial dos nanomateriais como agentes reveladores de IDLs, visando a uma concomitante preparação para análises químicas (Capítulos II e III).

## REFERÊNCIAS

- [1] H. Faulds. On the skin-furrows of the hand, *Nature* 22 (1880) 605.
- [2] R.M. Caplan, How fingerprints came into use in personal identification, *J. Am. Acad. Dermatol.* 23 (1990) 109–14.
- [3] M.G. Ferrari, D. Galeano, Polícia, antropometria e datiloscopia: história transnacional dos sistemas de identificação, do rio da Prata ao Brasil, *Hist. Ciênc. Saúde-Manguinhos* 23 (2016) 171–94.
- [4] J. Rodriguez, Fingerprints and crime. *Am. Hist. Rev.* 109 (2004) 387–416.
- [5] N. Kaushal, P. Kaushal, Human identification and fingerprints: a review, *J. Biomet. Biostat.* (2011)123.
- [6] M.W. Hamrick, Primate origins: evolutionary change in digital ray patterning and segmentation, *J. Hum. Evol.* (2001) 339–51.
- [7] K.R. Moses, Automated Fingerprint Identification System (AFIS), in: E.H. Holder, L.O. Robinson, J.H. Laub (Eds.), *The Fingerprint Sourcebook*, National Institute of Justice, U.S., 2010, pp. 1–33.
- [8] SWGFAST, Document #8 Standard for the documentation of analysis, comparison, evaluation, and verification (ACE-V), Vol. 2.0, 2013, pp. 1–14.
- [9] A. V Maceo, Qualitative assessment of skin deformation: a pilot study, *J. Forensic Identif.* 59 (2009) 390–440.
- [10] M.J. West, M.J. Went, The spectroscopic detection of drugs of abuse in fingerprints after development with powders and recovery with adhesive lifters, *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* 71 (2009) 1984–8.
- [11] K. Kaplan-Sandquist, M.A. LeBeau, M.L. Miller, Chemical analysis of pharmaceuticals and explosives in fingermarks using matrix-assisted laser desorption ionization/time-of-flight mass spectrometry, *Forensic Sci. Int.* 235 (2014) 68–77.
- [12] R. Bradshaw, R. Wolstenholme, R.D. Blackledge, M.R. Clench, L.S. Ferguson, S. Francese, A novel matrix-assisted laser desorption/ionisation mass spectrometry imaging based methodology for the identification of

- sexual assault suspects, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 25 (2011) 415–22.
- [13] F. Rowell, J. Seviour, A.Y. Lim, C.G. Elumbaring-Salazar, J. Loke, J. Ma, Detection of nitro-organic and peroxide explosives in latent fingermarks by DART- and SALDI-TOF-mass spectrometry, *Forensic Sci. Int.* 221 (2012) 84–91.
- [14] C.J. Lennard, C. Champod, P. Margot, M. Stoilovic, Friction ridge skin and prints, in: *Fingerprints and other ridge skin impressions*, CRC Press, Boca Raton, 2016, pp. 1–32.
- [15] B. Yamashita, M. French, Latent print development, in: E.H. Holder, L.O. Robinson, J.H. Laub (Eds.), *The Fingerprint Sourcebook*, National Institute of Justice, U.S., 2010, pp. 1–67.
- [16] A. Girod, R. Ramotowski, C. Weyermann, Composition of fingermark residue: a qualitative and quantitative review, *Forensic Sci. Int.* 223 (2012) 10–24.
- [17] R. Jelly, E.L.T. Patton, C. Lennard, S.W. Lewis, K.F. Lim, The detection of latent fingermarks on porous surfaces using amino acid sensitive reagents: a review, *Anal. Chim. Acta.* 652 (2009) 128–42.
- [18] G.S. Sodhi, J. Kaur, Powder method for detecting latent fingerprints: a review, *Forensic Sci. Int.* 120 (2001) 172–6.
- [19] K.M. Antoine, S. Mortazavi, A.D. Miller, L.M. Miller, Chemical differences are observed in children's versus adults' latent fingerprints as a function of time, *J. Forensic Sci.* 55 (2010) 513–8.
- [20] D.K. Williams, C.J. Brown, J. Bruker, Characterization of children's latent fingerprint residues by infrared microspectroscopy: forensic implications, *Forensic Sci. Int.* 206 (2011) 161–5.
- [21] M. Stücker, M. Geil, S. Kyeck, K. Hoffman, A. Röchling, U. Memmel, P. Altmeyer, Interpapillary lines--the variable part of the human fingerprint, *J. Forensic Sci.* 46 (2001) 857–61.

- [22] L.R.V. Silva, L.L. Mizokami, P.R. Vieira, S.A.S. Kuckelhaus, Longitudinal and retrospective study has demonstrated morphometric variations in the fingerprints of elderly individuals, *Forensic Sci. Int.* 259 (2016) 41–6.
- [23] R.M. Barros, B.E.F. Faria, S.A.S. Kuckelhaus, Morphometry of latent palmprints as a function of time, *Sci. Justice* 53 (2013) 402–8.
- [24] B. Emerson, J. Gidden, J.O. Lay, B. Durham, Laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry of triacylglycerols and other components in fingermark samples, *J. Forensic Sci.* 56 (2011) 381–9.
- [25] C. Huynh, E. Brunelle, L. Halámková, J. Agudelo, J. Halánek, Forensic identification of gender from fingerprints, *Anal. Chem.* 87 (2015) 11531–6.
- [26] J.B. Friesen, Forensic chemistry: the revelation of latent fingerprints, *J. Chem. Educ.* 92 (2015) 497–504.
- [27] M. Friedman, Applications of the Ninhydrin Reaction for Analysis of Amino Acids, Peptides, and Proteins to Agricultural and Biomedical Sciences, *J. Agric. Food Chem.* 52 (2004) 385–406.
- [28] A. Rawji, A. Beaudoin, Oil Red O versus physical developer on wet papers: A Comparative Study, *J. Forensic Identif.* 56 (2006) 33–54.
- [29] L. Ferguson, R. Bradshaw, R. Wolstenholme, M. Clench, S. Francese, Two-step matrix application for the enhancement and imaging, *Anal. Chem.* 83 (2011) 5585–91.
- [30] C. Huynh, E. Brunelle, L. Halámková, J. Agudelo, J. Halánek, Forensic Identification of Gender from Fingerprints, *Anal. Chem.* 87 (2015) 11531–6.
- [31] S.P. Wargacki, L. a Lewis, M.D. Dadmun, Understanding the chemistry of the development of latent fingerprints by superglue fuming, *J. Forensic Sci.* 52 (2007) 1057–62.
- [32] M. Stoilovic, Improved method for DFO development of latent fingerprints, *Forensic Sci. Int.* 60 (1993) 141–53.



- [33] P. Cucè, G. Polimeni, A.P. Lazzaro, G. De Fulvio, Small particle reagents technique can help to point out wet latent fingerprints, *Forensic Sci. Int.* 146 (2004) 7–8.
- [34] C. Fairley, S.M. Bleay, V.G. Sears, N. NicDaeid, A comparison of multi-metal deposition processes utilising gold nanoparticles and an evaluation of their application to “low yield” surfaces for finger mark development, *Forensic Sci. Int.* 217 (2012) 5–18.
- [35] N. Jones, M. Stoilovic, C. Lennard, C. Roux, Vacuum metal deposition: Developing latent fingerprints on polyethylene substrates after the deposition of excess gold, *Forensic Sci. Int.* 123 (2001) 5–12.
- [36] A. Castelló, F. Francés, F. Verdú, Solving underwater crimes: development of latent prints made on submerged objects, *Sci. Justice.* 53 (2013) 328–31.
- [37] S. Bramble, Separation of latent fingermark residue by thin-layer chromatography, *J. Forensic Sci.* 40 (1995) 969–75.
- [38] K.G. Asano, C.K. Bayne, K.M. Horsman, M. V Buchanan, Chemical composition of fingerprints for gender determination, *J. Forensic Sci.* 47 (2002) 805–7.
- [39] N.E. Archer, Y. Charles, J.A. Elliott, S. Jickells, Changes in the lipid composition of latent fingerprint residue with time after deposition on a surface., *Forensic Sci. Int.* 154 (2005) 224–39.
- [40] B. Hartzell-Baguley, R.E. Hipp, N.R. Morgan, S.L. Morgan, Chemical composition of latent fingerprints by gas chromatography–mass spectrometry. An experiment for an instrumental analysis course, *J. Chem. Educ.* 84 (2007) 689.
- [41] C. Weyermann, C. Roux, C. Champod, Initial results on the composition of fingerprints and its evolution as a function of time by GC/MS analysis, *J. Forensic Sci.* 56 (2011) 102–8.
- [42] A. Girod, C. Weyermann, Lipid composition of fingermark residue and donor classification using GC/MS, *Forensic Sci. Int.* 238 (2014) 68–82.

- [43] R.S. Croxton, M.G. Baron, D. Butler, T. Kent, V.G. Sears, Variation in amino acid and lipid composition of latent fingerprints, *Forensic Sci. Int.* 199 (2010) 93–102.
- [44] D.R. Ifa, N.E. Manicke, A. Dill, R.G. Cooks, Latent fingerprint chemical imaging by mass spectrometry, *Science* 321 (2008) 805.
- [45] N.J. Crane, E.G. Bartick, R.S. Perlman, S. Huffman, Infrared spectroscopic imaging for noninvasive detection of latent fingerprints., *J. Forensic Sci.* 52 (2007) 48–53.
- [46] K.M. Antoine, S. Mortazavi, A.D. Miller, L.M. Miller, Chemical differences are observed in children's versus adults' latent fingerprints as a function of time, *J. Forensic Sci.* 55 (2010) 513–8..
- [47] E. Widjaja, Latent fingerprints analysis using tape-lift, Raman microscopy, and multivariate data analysis methods, *Analyst.* 134 (2009) 769–75.
- [48] R.M. Connatser, S.M. Prokes, O.J. Glembocki, R.L. Schuler, C.W. Gardner, S.A. Lewis, L.A. Lewis, Toward surface-enhanced Raman imaging of latent fingerprints., *J. Forensic Sci.* 55 (2010) 1462–70.
- [49] R. Bradshaw, N. Denison, S. Francese, Implementation of MALDI MS profiling and imaging methods for the analysis of real crime scene fingermarks, *Analyst.* 142 (2017) 1581–90.
- [50] L.S. Ferguson, F. Wulfert, R. Wolstenholme, J.M. Fonville, M.R. Clench, V.A. Carolan, S. Francese, Direct detection of peptides and small proteins in fingermarks and determination of sex by MALDI mass spectrometry profiling, *Analyst.* 137 (2012) 4686–92.
- [51] R. Bradshaw, W. Rao, R. Wolstenholme, M.R. Clench, S. Bleay, S. Francese, Separation of overlapping fingermarks by Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation Mass Spectrometry Imaging, *Forensic Sci. Int.* 222 (2012) 318–26.
- [52] M. Benton, M.J. Chua, F. Gu, F. Rowell, J. Ma, Environmental nicotine contamination in latent fingermarks from smoker contacts and passive smoking, *Forensic Sci. Int.* 200 (2010) 28–34.

- [53] L. Ferguson, R. Bradshaw, R. Wolstenholme, M. Clench, S. Francese, Two-Step Matrix Application for the Enhancement and Imaging, *Anal. Chem.* 83 (2011) 5585–91.
- [54] R. Wolstenholme, R. Bradshaw, M.R. Clench, S. Francese, Study of latent fingerprints by matrix-assisted laser desorption/ionisation mass spectrometry imaging of endogenous lipids, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 23 (2009) 3031–9.
- [55] S. Francese, R. Bradshaw, L.S. Ferguson, R. Wolstenholme, M.R. Clench, S. Bleay, Beyond the ridge pattern: multi-informative analysis of latent fingerprints by MALDI mass spectrometry, *Analyst.* 138 (2013) 4215–28.
- [56] N. Lauzon, M. Dufresne, V. Chauhan, P. Chaurand, Development of laser desorption imaging mass spectrometry methods to investigate the molecular composition of latent fingerprints, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 26 (2015) 878–86.
- [57] F. Rowell, K. Hudson, J. Seviour, Detection of drugs and their metabolites in dusted latent fingerprints by mass spectrometry, *Analyst* 134 (2009) 701–7.
- [58] M. Benton, F. Rowell, L. Sundar, M. Jan, Direct detection of nicotine and cotinine in dusted latent fingerprints of smokers by using hydrophobic silica particles and MS, *Surf. Interface Anal.* 42 (2010) 378–85.
- [59] A.Y. Lim, J. Ma, Y.C.F. Boey, Development of nanomaterials for SALDI-MS analysis in forensics, *Adv. Mater.* 24 (2012) 4211–6.
- [60] A.Y. Lim, Z. Ma, J. Ma, F. Rowell, Separation of fingerprint constituents using magnetic silica nanoparticles and direct on-particle SALDI-TOF-mass spectrometry, *J. Chromatogr. B.* 879 (2011) 2244–50.
- [61] T. Guinan, P. Kirkbride, P.E. Pigou, M. Ronci, H. Kobus, N.H. Voelcker, Surface-assisted laser desorption ionization mass spectrometry techniques for application in forensics, *Mass Spectrom. Rev.* (2014) 1–14.
- [62] J. Sekuła, J. Nizioł, W. Rode, T. Ruman, Silver nanostructures in laser desorption/ionization mass spectrometry and mass spectrometry imaging, *Analyst* 140 (2015) 6195–209.

- [63] G. De Paoli, S. a Lewis, E.L. Schuette, L. a Lewis, R.M. Connatser, T. Farkas, Photo- and thermal-degradation studies of select eccrine fingerprint constituents, *J. Forensic Sci.* 55 (2010) 962–9.
- [64] F.J. Vastola, R.O. Mumma, A.J. Pirone, Analysis of organic salts by laser ionization, *Organ. Mass Spec.* 3 (1970) 101–4.
- [65] M. Rainer, M.N. Qureshi, G.K. Bonn, Matrix-free and material-enhanced laser desorption/ionization mass spectrometry for the analysis of low molecular weight compounds, *Anal. Bioanal. Chem.* 400 (2011) 2281–8.
- [66] M. Karas, D. Bachmann, F. Hillenkamp, Influence of the wavelength in high-irradiance ultraviolet laser desorption mass spectrometry of organic molecules, *Anal. Chem.* 57 (1985) 2935–9.
- [67] K. Tanaka, H. Waki, Y. Ido, S. Akita, Y. Yoshida, T. Yoshida, T. Matsuo, Protein and polymer analyses up to  $m/z$  100000 by laser ionization time-of-flight mass spectrometry, *Rapid Comm. Mass Spec.* 2 (1988) 151–3.
- [68] J. Wei, J.M. Buriak, G. Siuzdak, Desorption-ionization mass spectrometry on porous silicon, *Nature* 399 (1999) 243–6.
- [69] W. Lewis, Z. Shen, M. Finn, G. Siuzdak, Desorption/ionization on silicon (DIOS) mass spectrometry: background and applications, *Int. J. Mass Spectrom.* 266 (2003) 107–16.
- [70] N. Bergman, D. Shevchenko, J. Bergquist, Approaches for the analysis of low molecular weight compounds with laser desorption/ionization techniques and mass spectrometry, *Anal. Bioanal. Chem.* 406 (2014) 49–61.
- [71] B.M. Ham, J.T. Jacob, R.B. Cole, MALDI-TOF MS of phosphorylated lipids in biological fluids using immobilized metal affinity chromatography and a solid ionic crystal matrix, *Anal. Chem.* 77 (2005) 4439–47.
- [72] R. Zenobi, R. Knochenmuss, Ion formation in MALDI mass spectrometry, *Mass Spectrom. Rev.* 17 (1998) 337–66.
- [73] K. Dreisewerd, S. Berkenkamp, A. Leisner, A. Rohlfing, C. Menzel, Fundamentals of matrix-assisted laser desorption/ionization mass

- spectrometry with pulsed infrared lasers, *Int. J. Mass Spectrom.* 226 (2003) 189–209.
- [74] R.M. Caprioli, T.B. Farmer, J. Gile, <molecular imaging of biological sample localization of peptides and proteins using MALDI-TOF MS, *Anal. Chem.* 69 (1997) 4751–60.
- [75] M. Peukert, A. Matros, G. Lattanzio, S. Kaspar, J. Abadía, H.P. Mock, Spatially resolved analysis of small molecules by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometric imaging (MALDI-MSI), *New Phytol.* 193 (2012) 806–15.
- [76] B. Fuchs, K. Arnold, J. Schiller, Mass spectrometry of biological molecules, in: R.A. Meyers (Ed.), *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, Chichester, 2008, pp 1–39.
- [77] M. Bucknall, K.Y.C. Fung, M.W. Duncan, Practical quantitative biomedical applications of MALDI-TOF mass spectrometry, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 13 (2002) 1015–27.
- [78] B. Fuchs, J. Schiller, Application of MALDI-TOF mass spectrometry in lipidomics, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 111 (2009) 83–98.
- [79] R. Bradshaw, S. Bleay, R. Wolstenholme, M.R. Clench, S. Francese, Towards the integration of matrix assisted laser desorption ionisation mass spectrometry imaging into the current fingerprint examination workflow, *Forensic Sci. Int.* 232 (2013) 111–24.
- [80] R. Bradshaw, N. Denison, S. Francese, Development of operational protocols for the analysis of primary and secondary fingerprint lifts by MALDI-MS imaging, *Anal. Methods.* 8 (2016) 6795–804.
- [81] A. Nouailhat, *An Introduction to Nanoscience and Nanotechnology*, vol. 10, John Wiley & Sons, London, 2008, pp. 1–206.
- [82] R.R. Arvizo, S. Bhattacharyya, R.A. Kudgus, K. Giri, R. Bhattacharya, P. Mukherjee, Intrinsic therapeutic applications of noble metal nanoparticles: past, present and future, *Chem Soc Rev.* 41 (2012) 2943–70.

- [83] R.W. Whatmore, Nanotechnology - What is it? Should we be worried? *Occup. Med.* 56 (2006) 295–9.
- [84] The Royal Society & The Royal Academy of Engineering, Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties, Clyvedon Press, London, 2004, pp. 1–116.
- [85] W.G. Kreyling, M. Semmler-Behnke, Q. Chaudhry, A complementary definition of nanomaterial, *Nano Today*. 5 (2010) 165–8.
- [86] B. Van Eerdenbrugh, G. Van den Mooter, P. Augustijns, Top-down production of drug nanocrystals: nanosuspension stabilization, miniaturization and transformation into solid products, *Int. J. Pharm.* 364 (2008) 64–75.
- [87] V. Balzani, Nanoscience and nanotechnology: the bottom-up construction of molecular devices and machines, *Pure Appl. Chem.* 80 (2008) 1631–50.
- [88] M. Poliakoff, Green Chemistry: science and politics of change, *Science* 807 (2009) 807–11.
- [89] P. Anastas, N. Eghbali, Green chemistry: principles and practice, *Chem. Soc. Rev.* 39 (2010) 301–12.
- [90] L.P. Silva, I.G. Reis, C.C. Bonatto, Green synthesis of metal nanoparticles by plants: current trends and challenges, in: V.A. Basiuk, E.V. Basiuk (Eds.), *Green processes for nanotechnology*, Springer Cham, Switzerland, 2015, pp. 259–75.
- [91] V.K. Sharma, R.A. Yngard, Y. Lin, Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities, *Adv. Colloid Interface Sci.* 145 (2009) 83–96.
- [92] M. Wang, M. Li, A. Yu, J. Wu, C. Mao, Rare earth fluorescent nanomaterials for enhanced development of latent fingerprints, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 7 (2015) 28110-5.
- [93] M.J. Choi, A.M. McDonagh, P. Maynard, C. Roux, Metal-containing nanoparticles and nano-structured particles in fingerprint detection, *Forensic Sci. Int.* 179 (2008) 87–97.

- [94] J. Dilag, H.J. Kobus, A. V Ellis, Nanotechnology as a new tool for fingerprint detection: a review, *Curr. Nanosci.* (2011) 153–9.
- [95] A. Leśniewski, Hybrid organic–inorganic silica based particles for latent fingerprints development: A review, *Synth. Met.* (2016) 4–11.
- [96] C. Champod, P. Margot, A. Bécue, Use of quantum dots in aqueous solution to detect blood fingerprints on non-porous surfaces, *Forensic Sci. Int.* 191 (2009) 36–41.
- [97] B.J. Theaker, K.E. Hudson, F.J. Rowell, Doped hydrophobic silica nano- and micro-particles as novel agents for developing latent fingerprints, *Forensic Sci. Int.* 174 (2008) 26–34.
- [98] Y.J. Kim, H.S. Jung, J. Lim, S.J. Ryu, J.K. Lee, Rapid Imaging of Latent Fingerprints Using Biocompatible Fluorescent Silica Nanoparticles, *Langmuir* 32 (2016) 8077–83.
- [99] M. Wang, Y. Zhu, C. Mao, Synthesis of NIR-responsive NaYF<sub>4</sub>: Yb, Er upconversion fluorescent nanoparticles using an optimized solvothermal method and their applications in enhanced development of latent fingerprints on various smooth substrates, *Langmuir* 31 (2015) 7084-90.
- [100] S. Moret, A. Bécue, C. Champod, Nanoparticles for fingerprint detection: an insight into the reaction mechanism, *Nanotechnology.* 25 (2014) 1–10.
- [101] M. Sametband, I. Shweky, U. Banin, D. Mandler, J. Almog, Application of nanoparticles for the enhancement of latent fingerprints, *Chem. Comm.* 11 (2007) 1142–4.
- [102] A. Bécue, C. Champod, P. Margot, Use of gold nanoparticles as molecular intermediates for the detection of fingerprints, 168 (2007) 169–76.
- [103] D. Gao, F. Li, J. Song, X. Xu, Q. Zhang, L. Niu, One step to detect the latent fingerprints with gold nanoparticles, *Talanta* 80 (2009) 479–83.
- [104] S. Moret, A. Bécue, Single-Metal deposition for fingerprint detection—a simpler and more efficient protocol, *J. Forensic Identif.* 65 (2015) 118–37.

- [105] A. Cantu, Notes on some latent fingerprint visualization techniques developed by Dr George Sanders, US Secret Service, Forensic Service Division, Washington, 1996.
- [106] M.J. Choi, K.E. McBean, P.H.R. Ng, A.M. McDonagh, P.J. Maynard, C. Lennard, C. Roux, An evaluation of nanostructured zinc oxide as a fluorescent powder for fingerprint detection, *Journal of Materials Science* 43 (2008) 732–7.
- [107] G.S. Sodhi, J. Kaur, Nanoparticle size fingerprint dusting composition based on fluorescent eosin Y dye, *Fingerprint Whorld* 32 (2006) 146–7.
- [108] G.S. Sodhi, J. Kaur, A novel, nanoparticle size fingerprint detecting composition based on fluorescent lucifer Y stain, *Fingerprint Whorld* 34 (2007) 24–5.
- [109] C. Champod, P. Margot, A. Bécue, Use of quantum dots in aqueous solution to detect blood fingermarks on non-porous surfaces, *Forensic Sci. Int.* 191 (2009) 36–41.
- [110] R. Yang, B. Xia, Y. Wang, J. Liu, Application of CdTe Quantum Dots to Development Fingerprints on Adhesive Surfaces, *Mater. Sci. Forum.* 694 (2011) 874–80.
- [111] F. Gao, C. Lv, J. Han, X. Li, Q. Wang, J. Zhang, C. Chen, Q. Li, X. Sun, J. Zheng, L. Bao, X. Li, CdTe-montmorillonite nanocomposites: control synthesis, UV radiation-dependent photoluminescence, and enhanced latent fingerprint detection, *J. Phys. Chem. C.* 115 (2011) 21574–83.
- [112] S. Moret, A. Bécue, C. Champod, Functionalised silicon oxide nanoparticles for fingerprint detection, *Forensic Sci. Int.* 259 (2016) 10–8.
- [113] M. de la Hunty, S. Moret, S. Chadwick, C. Lennard, X. Spindler, C. Roux, An effective Physical Developer (PD) method for use in Australian laboratories, *Aust. J. Forensic Sci.* 50 (2018) 666–71.
- [114] D.C. Wade, Development of latent prints with titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>), *J. Forensic Identif.* 52 (2002) 551–9.



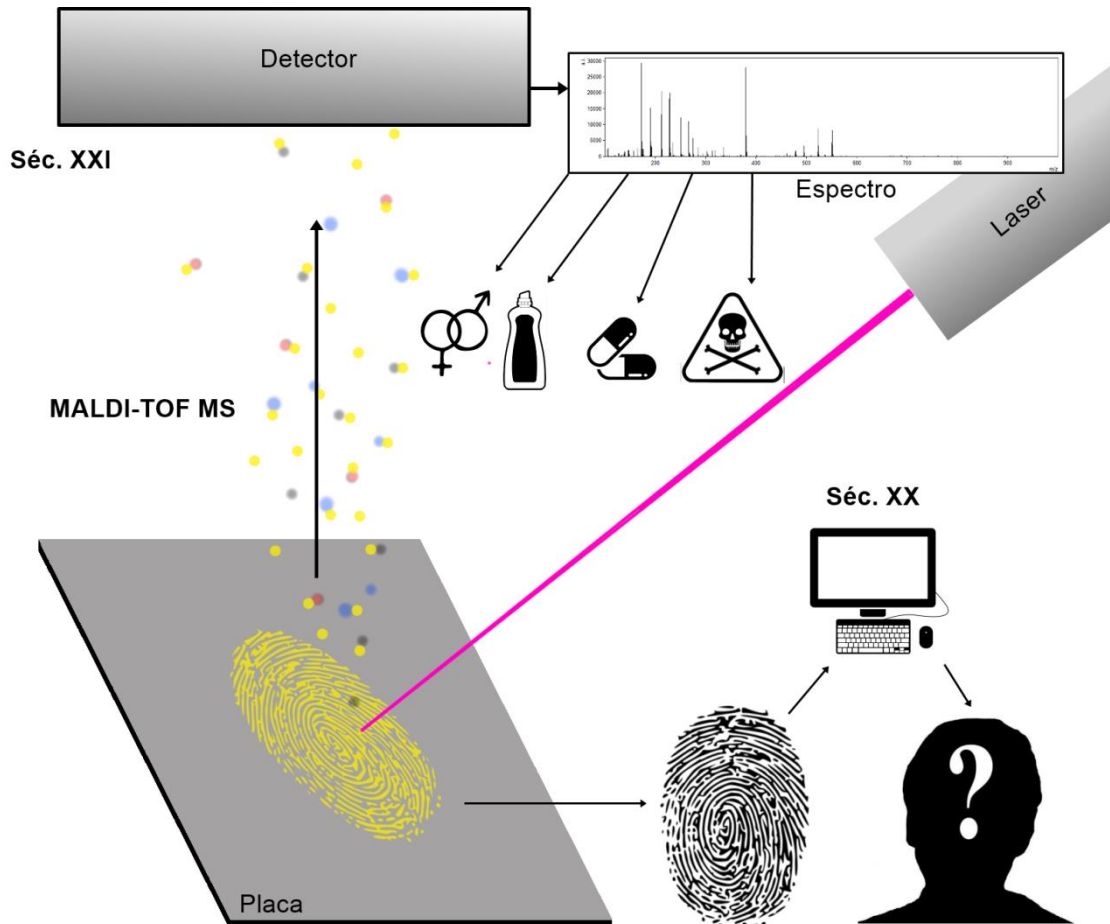
- [115] W. Huang, X. Li, H. Wang, X. Xu, H. Liu, Synthesis of amphiphilic silica nanoparticles for latent fingerprint detection, *Anal. Lett.* 2719 (2015) 1524–35.
- [116] J. Sunner, E. Dratz, Y.C. Chen, Graphite surface-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry of peptides and proteins from liquid solutions, *Anal. Chem.* 67 (1995) 4335–42.
- [117] K.P. Law, J.R. Larkin, Recent advances in SALDI-MS techniques and their chemical and bioanalytical applications, *Anal. Bioanal. Chem.* 399 (2011) 2597–622.
- [118] Y.C. Ho, M.C. Tseng, Y.W. Lu, C.C. Lin, Y.J. Chen, M.R. Fuh, Nanoparticle-assisted MALDI-TOF MS combined with seed-layer surface preparation for quantification of small molecules, *Anal. Chim. Acta.* 697 (2011) 1–7.
- [119] P.A. Kuzema, Small-molecule analysis by surface-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry, *J. Anal. Chem.* 66 (2011) 1227–42.
- [120] X. Su, H.Y. Zhou, F.C. Chen, B.X. Gao, Z.W. Liu, Y.H. Zhang, F. Liu, F. Liu, Z.R. Li, Z.X. Gao, Modified SBA-15 matrices for high-throughput screening of melamine in milk samples by MALDI-TOF MS, *Int. J. Mass Spectrom.* 338 (2013) 39–44.
- [121] C.-K. Chiang, W.-T. Chen, H.-T. Chang, Nanoparticle-based mass spectrometry for the analysis of biomolecules, *Chem. Soc. Rev.* 40 (2011) 1269–81.
- [122] G. Piret, D. Kim, H. Drobecq, Y. Coffinier, O. Melnyk, P. Schmuki, R. Boukherroub, Surface-assisted laser desorption-ionization mass spectrometry on titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanotube layers, *Analyst* 137 (2012) 3058–63.
- [123] Z. Guo, A.A.A. Ganawi, Q. Liu, L. He, Nanomaterials in mass spectrometry ionization and prospects for biological application, *Anal. Bioanal. Chem.* 384 (2006) 584–92.

- [124] S. Xu, Y. Li, H. Zou, J. Qiu, Z. Guo, B. Guo, Carbon nanotubes as assisted matrix for laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry., *Anal. Chem.* 75 (2003) 6191–5.
- [125] S. Ren, Y. Guo, Carbon nanotubes (2,5-dihydroxybenzoyl hydrazine) derivative as pH adjustable enriching reagent and matrix for MALDI analysis of trace peptides, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 17 (2006) 1023–7.
- [126] C.L. Su, W.L. Tseng, Gold nanoparticles as assisted matrix for determining neutral small carbohydrates through laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, *Anal. Chem.* 79 (2007) 1626–33.
- [127] W.Y. Chen, J.T. Huang, Y.C. Cheng, C. Chien, C.W. Tsao, Fabrication of nanostructured silicon by metal-assisted etching and its effects on matrix-free laser desorption/ionization mass spectrometry, *Anal. Chim. Acta.* 687 (2011) 97–104.
- [128] R. Liu, J.F. Liu, X.X. Zhou, G. Bin Jiang, Cysteine modified small ligament au nanoporous film: An easy fabricating and highly efficient surface-assisted laser desorption/ionization substrate, *Anal. Chem.* 83 (2011) 3668–74.
- [129] S.K. Kailasa, H. Wu, One-pot synthesis of dopamine dithiocarbamate functionalized gold nanoparticles for quantitative analysis of small molecules and phosphopeptides in SALDI- and MALDI-MS, *Analyst* 137 (2012) 1629–38.
- [130] Y. Lim, F. Rowell, C.G. Elumbaring-Salazar, J. Loke, J. Ma, Detection of drugs in latent fingerprints by mass spectrometric methods, *Anal. Methods.* 5 (2013) 4378–85.
- [131] J. Nizioł, T. Ruman, Surface-transfer mass spectrometry imaging on a monoisotopic silver nanoparticle enhanced target, *Anal. Chem.* 85 (2013) 12070–6.
- [132] J. Nizioł, W. Rode, Z. Zieliński, T. Ruman, Matrix-free laser desorption–ionization with silver nanoparticle-enhanced steel targets, *Int. J. Mass Spectrom.* 335 (2013) 22–32.

- [133] Y.H. Cheng, Y. Zhang, S.L. Chau, S.K.M. Lai, H.W. Tang, K.M. Ng, Enhancement of image contrast, stability, and SALDI-MS detection sensitivity for latent fingerprint analysis by tuning the composition of silver-gold nanoalloys, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 8 (2016) 29668–75.
- [134] J. Sekuła, J. Nizioł, W. Rode, T. Ruman, Gold nanoparticle-enhanced target (AuNPET) as universal solution for laser desorption/ionization mass spectrometry analysis and imaging of low molecular weight compounds, *Anal. Chim. Acta.* 875 (2015) 61–72.
- [135] M. Kusano, S. Kawabata, Y. Tamura, D. Mizoguchi, M. Murouchi, H. Kawasaki, R. Arakawa, K. Tanaka, Laser desorption/ionization mass spectrometry (LDI-MS) of lipids with iron oxide nanoparticle-coated targets, *Mass Spectrom.* 3 (2014) 26–34.

## CAPÍTULO I

### AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE IMPRESSÕES DIGITAIS LATENTES POR MALDI-TOF MS



**Fig. I-1.** Resumo gráfico do Capítulo I. As análises químicas de IDLs representam uma quebra de paradigma em Papiloscopia Forense, marcando a agregação de mais informações sobre esses vestígios na transição do século XX para o século XXI. Tradicionalmente, as impressões digitais latentes são utilizadas apenas para a identificação dos indivíduos e, pelas abordagens propostas, permitem também a obtenção de informações adicionais sobre hábitos e presença de contaminantes.

## RESUMO

As impressões digitais latentes (IDLs) vêm sendo utilizadas desde o final do século XIX como importante prova na elucidação de crimes. Com o desenvolvimento de técnicas analíticas, várias abordagens vêm sendo empregadas para a análise química de IDLs. A técnica de MALDI-TOF MS é considerada não destrutiva, tendo recebido a atenção de diferentes grupos de pesquisa voltados às análises de IDLs. O presente Capítulo teve por objetivo a investigação da composição química de IDLs por LDI-TOF MS e MALDI-TOF MS, na faixa de massas moleculares baixas. Experimentos preliminares e comprobatórios avaliaram a composição química de IDLs produzidas por 24 doadores, entre homens e mulheres pelas técnicas de MALDI-TOF e LDI-TOF MS. Os íons mais frequentes estão relacionados a componentes exógenos, sendo uma das origens prováveis o amaciante utilizado na lavagem de roupas. Alguns possíveis componentes endógenos, de origem sebácea também foram detectados. A técnica de MALDI-TOF MS demonstrou que o uso de matrizes apresenta limitações, principalmente devido ao elevado número de íons de alta intensidade que podem suprimir o sinal de analitos presentes nas amostras.

**PALAVRAS-CHAVE:** Ciências forenses, contaminantes, espectrometria de massa, impressões digitais, ionização/dessorção a laser, matriz.

## **ABSTRACT**

Latent fingerprints have been used since the end of the 19th century as important evidence for crime solving. Considering the development of analytical techniques, several approaches have been used for the chemical analysis of latent fingerprints. The MALDI-TOF MS technique is considered non-destructive, and has been received attention of different research groups focused on LFMs analyses. The present Chapter aimed to investigate the chemical composition of LFMs by LDI-TOF MS and MALDI-TOF MS, in the low molecular mass range. Preliminary and supporting experiments evaluated the chemical composition of latent fingerprints produced by 24 donors, men and women, using the MALDI-TOF and LDI-TOF MS techniques. The most frequent ions are related to exogenous components, with the most likely source being the fabric softener used on clothing wash. Some possible endogenous sebaceous components were also detected. The MALDI-TOF MS technique demonstrated that the use of matrices has limitations, mainly due to the abundance of high-intensity ions that can cause signal suppression of analytes present in the samples.

**KEYWORDS:** Contaminants, fingerprints, forensic science, laser desorption/ionization, mass spectrometry, matrix.

## 1. INTRODUÇÃO

As impressões digitais latentes (IDLs) são vestígios materiais comumente encontrados em locais de crimes e, desde o final século XIX [1], vêm sendo analisados visando a identificação de indivíduos envolvidos em evento criminoso. A ciência que estuda esses vestígios é conhecida por “Papiloscopia Forense” e, ao longo do século XX ganhou robustez pelo desenvolvimento de uma diversidade de técnicas para revelação [2] e o surgimento de sistemas biométricos capazes de realizar pesquisas de impressões digitais em grandes bases de dados em poucos minutos [3]. Contudo, até o final do século XX, as análises de IDLs baseavam-se, normalmente, na obtenção da imagem bidimensional do padrão de cristas e sulcos por métodos físicos, químicos ou ópticos e pela sua comparação morfológica com padrões de origem conhecida de indivíduos.

Com o desenvolvimento e a popularização de técnicas analíticas, diferentes abordagens têm sido empregadas para investigar a composição química complexa das IDLs, o que passou a oferecer novas possibilidades no contexto das investigações criminais. Considerando as técnicas já utilizadas para a análise de IDLs, a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC/MS) [4–6] é certamente a mais destrutiva, uma vez que exige a coleta e dissolução das IDLs, extraindo seus componentes e os injetando no equipamento para a análise, não sendo considerada uma técnica operacional para casos reais. Já as técnicas de ionização/dessorção por electrospray (DESI MS) [7], ionização/dessorção a laser tipo MALDI MS [8–10] e SALDI MS [11–13] e as espectroscopias de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e Raman [14–16] são mais atraentes, visto serem consideradas não destrutivas, permitindo a preservação do padrão papiloscópico das IDLs e o arquivamento da prova. Do ponto de vista experimental, a técnica de GC/MS, assim como outras técnicas destrutivas, permitiram a aquisição de informações importantes sobre a composição endógena das IDLs e suas modificações em função do tempo [17].

Dentre as técnicas consideradas não destrutivas para a análise de IDLs, MALDI MS tem se destacado pela facilidade de preparação das amostras, rápido processamento e alta sensibilidade. O mecanismo de MALDI MS é baseado na

irradiação de laser pulsado em uma matriz cristalizada com os analitos para induzir os processos de ionização/dessorção [18,19]. A absorção de energia resulta em uma transição de fase da matriz combinada ao analito, seguida de fotoionização [20]. O processo exato da ionização por MALDI ainda não está completamente esclarecido, mas pode ser explicado por um mecanismo envolvendo etapas primária e secundária [21]. A ionização primária se refere à formação e separação de íons pela incidência do laser, enquanto a ionização secundária se refere à formação de íons devido às reações moleculares. De acordo com o modelo de Karas et al. [22], os íons devem estar incluídos em agregados de vários tamanhos durante o processo de dessorção. O potencial de ionização em fase sólida, na placa de MALDI, pode ser baixo, mas é assistido pela energia do laser e mantido por energia térmica criada em todo o processo [20].

A preparação das amostras consiste em um dos aspectos mais importantes para a técnica de MALDI MS, uma vez que fatores indesejáveis mínimos podem influenciar significativamente os resultados. Em geral, ácidos orgânicos fracos como os ácidos cinâmicos são considerados materiais eficientes para a absorção de energia (matrizes) por esta técnica [19]. Acredita-se que as matrizes possuem uma dupla função: a absorção da energia do laser e o isolamento dos analitos uns dos outros, evitando a formação de agregados heterogêneos [23]. Os analitos e a matriz são depositados sequencialmente (ou previamente misturados) na placa de MALDI em pequenos volumes de suspensão (0,5–2  $\mu\text{L}$ ), convencionalmente utilizando micropipetas.

As matrizes  $\alpha$ -CHCA e DHB, derivadas do ácido cinâmico e do ácido benzoico, respectivamente, têm constado na lista de matrizes preferidas para as análises de peptídeos e proteínas [19]. Fatores como a relação de concentração entre matriz e analito, a escolha da matriz, a presença de contaminantes, a temperatura, o caráter hidrofóbico ou hidrofílico, solubilidade do analito na matriz e o tempo transcorrido desde a preparação são cruciais para a obtenção de bons resultados [19]. Há também diferentes formas de preparação possíveis que deverão se adequar às particularidades de cada amostra que se deseja analisar.

As IDLs podem ser compostas por substâncias endógenas ou exógenas dependendo do tipo de material que estiver em contato prévio com a pele [17].



As glândulas das palmas das mãos e das plantas dos pés produzem uma secreção essencialmente écrina (suor), o que difere da secreção das glândulas sebáceas, associadas ao folículo piloso em regiões de pele fina do corpo [24,25]. No entanto, devido ao contato regular das mãos com regiões do corpo como a face, o cabelo e os antebraços, as IDLS são compostas de misturas de substâncias encontradas em ambas as origens, em particular ácidos graxos, triacilgliceróis, colesterol, esqualeno, aminoácidos, proteínas e compostos inorgânicos [17]. Além disso, tem sido demonstrado que os componentes sofrem degradação em função do tempo gerando modificações químicas relevantes [4,5,26].

Algumas técnicas analíticas têm possibilitado o imageamento químico das IDLs e têm sido alvo de várias pesquisas, principalmente na última década [8–10,27,28]. Em 2009, Caprioli et al. [27], detectaram íons de lipídeos endógenos suficientes para a obtenção de imagens moleculares de impressões com um nível de detalhamento bastante satisfatório, utilizando a técnica de MALDI-TOF MS para o imageamento químico (MALDI MSI). A possibilidade de obtenção do padrão morfológico bidimensional da impressão digital com base na distribuição espacial de íons específicos presentes tem aumentado o interesse por essa abordagem. Contudo, tem sido discutido como essa informação poderia ser adotada na prática forense [29,30], uma vez que, em cenários reais, as IDLs são reveladas (e portanto, seu padrão morfológico é adquirido nesta etapa) antes de serem submetidas a análises químicas, o que faria da abordagem analítica, inevitavelmente, um procedimento secundário na rotina pericial [31].

O método de aplicação da matriz é um aspecto crucial para a técnica de MALDI MS, pois interfere na extração do analito e em sua cocristalização com a matriz [28]. A forma mais utilizada envolve a aplicação da matriz em suspensão, dissolvida em solvente apropriado antes da deposição. No entanto, depois de apresentada por Aerni et al. [32], a aplicação da matriz seca (em pó) sobre diferentes amostras com o uso de um pincel tem sido discutida [28,33–35]. Especificamente para o tratamento de IDLs, Ferguson et al. [35] apresentaram o método “*dry-wet*” (seco-molhado) que consistiu na aplicação da matriz ácido alfa-ciano-4-hidroxicinâmico ( $\alpha$ -CHCA) em pó sobre as IDLs com um pincel, seguida

da aplicação de solução solvente borrifada para a dissolução do analito e da matriz, gerando a cocristalização, obtendo um resultado satisfatório.

O presente capítulo tem por objetivo investigar a composição química de IDLs por MALDI-TOF MS e LDI-TOF MS, na faixa de massas moleculares baixas ( $m/z$  100–1000), seguindo um protocolo convencional.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### *2.1. Materiais*

O ácido alfa-ciano-4-hidroxicinâmico ( $\alpha$ -CHCA) e o ácido dihidroxibenzoico (DHB) foram adquiridos de Bruker Daltonics. A acetonitrila (ACN) e o ácido trifluoroacético (TFA) foram adquiridos de JT Baker e Mallinckrodt, respectivamente. Também foi adquirido, em um mercado local, um frasco de amaciante de roupas de uso comercial (Mon Bijou) para avaliação da possível fonte de íons detectados em IDLs.

### *2.2. Experimento 1*

#### *2.2.1. Equipamento e método de aquisição*

As análises químicas foram realizadas utilizando um equipamento comercial MALDI-TOF MS (MicroFlex, Bruker Daltonics, Alemanha) com calibração externa no modo refletido positivo na faixa de  $m/z$  100 a 1000, com 1000 disparos de laser por espectro. Foi aplicado 1  $\mu$ L de matriz  $\alpha$ -CHCA (10 mg/mL de  $\alpha$ -CHCA em 70:30 ACN–0,5% TFA aq.) ou de matriz DHB (10 mg/mL de DHB em 70:30 ACN–0,5% TFA aq.) em poços individuais da placa de aço (MSP 96, Bruker Daltonics) livres ou sobre as amostras de IDLs.

#### *2.2.2. Doadores*

Foram selecionados quatro doadores, de ambos os gêneros (homens e mulheres), com diferentes faixas etárias (idades), para a produção das IDLs.

Informações referentes a gênero, idade, dieta específica e tabagismo podem ser observadas na Tabela I-1.

**Tabela I-1.** Informações dos doadores para o Experimento 1.

Nº	Gênero	Idade	Dieta	Tabagismo
1	Masculino	30	sem restrições	Não
2	Masculino	34	sem restrições	Não
4	Masculino	20	sem restrições	Não
4	Feminino	28	sem restrições	Não

### 2.2.3. Produção das amostras

Um método próprio de reposição, mistura e homogeneização das secreções da pele, com o objetivo de simular a condição natural da pele para a produção das amostras de IDLs, foi utilizado de acordo com protocolo de Barros et al. [36], consistindo em:

- (1) esfregaço das palmas nos antebraços por 10 s;
- (2) leve toque na testa com a palma esquerda;
- (3) esfregaço das palmas entre si por 10 s.

As IDLs foram produzidas a partir de um toque de média pressão dos indicadores direito e esquerdo em diferentes áreas de uma mesma placa de MALDI MS, de modo a não ocorrer sobreposição entre as IDLs depositadas. A produção das amostras se deu após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), conforme aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília/Processo UnB nº. 65610716.5.0000.5558 (ANEXO I).

## 2.3. Experimento 2

### 2.3.1. Equipamento e método de aquisição

As análises dos perfis moleculares foram realizadas utilizando um equipamento comercial AutoFlex Speed MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Alemanha) com um laser de nitrogênio (337 nm), utilizando calibração externa

(íons de matriz  $\alpha$ -CHCA em 190,04 e 379,09  $m/z$ ) em modo refletido positivo na faixa de  $m/z$  100 a 1000, com 100 disparos do laser por ponto (2000 disparos por espectro). Foi aplicado 1  $\mu$ L de matriz  $\alpha$ -CHCA (10 mg/mL de  $\alpha$ -CHCA em 70:30 ACN–0,5% TFA aq.) em poços individuais de uma placa de aço (MTP 384, Bruker Daltonics) livres e onde as amostras de IDLs estavam presentes. A matriz depositada foi secada à temperatura ambiente antes das análises por MALDI-TOF MS. As IDLs de doadores distintos (Tabela 2) foram depositadas diretamente sobre a placa de MALDI por um contato de média pressão entre o dedo indicador e a superfície da placa. Todas as análises foram conduzidas em três regiões distintas (poços) da mesma IDL em regiões contendo a matriz e sem a matriz (sem tratamento), permitindo uma avaliação de reprodutibilidade. Também foi aplicado 1  $\mu$ L de amaciante de roupas comercial (1:10 em água) sobre a placa, em triplicata, e deixado a secar à temperatura ambiente e analisado sem tratamento.

### 2.3.2. Doadores

Foram selecionados 20 doadores, entre homens e mulheres de diferentes idades, para a produção das IDLs. As seguintes perguntas foram respondidas pelos doadores:

- 1) *Qual a sua idade?*
- 2) *Possui dieta específica? (ex: vegetariano, vegano)*
- 3) *É fumante? Se sim, quantos cigarros por dia?*
- 4) *Faz uso frequente de algum medicamento? Se sim, qual ou quais?*
- 5) *Utilizou algum medicamento nas últimas 24 h? Se sim, qual ou quais?*
- 6) *Tomou banho pela manhã (antes de doar suas impressões)?*
- 7) *Utilizou cosméticos como xampus, sabonetes, cremes, protetor solar e/ou maquiagem nas horas que antecederam o exame? Se sim, quais?*
- 8) *Possui o hábito de lavar a louça e/ou realizar a faxina em casa sem o uso de luvas?*
- 9) *Tem contato frequente com algum produto químico específico (exceto cosméticos)?*
- 10) *Ingeriu café (bebida) pela manhã (antes de doar suas impressões)?*

Os doadores também foram questionados a relatar possíveis doenças congênitas ou crônicas que tivessem diagnóstico, incluindo quaisquer anormalidades. A Tabela I-2 apresenta as informações dos doadores baseadas em suas respostas.

**Tabela I-2.** Informações dos doadores para o Experimento 2.

Nº	Gênero	Idade	Dieta	Tabagismo	Medicamento	Banho	Cosmético	Café
1	F	28	Não	Não	Anticoncepcional)	Sim	Hidratante	Não
2	F	24	Não	Não	Antidepressivo	Sim	Hidratante	Sim
3	F	22	Não	Não	Anticoncepcional	Sim	Prot. solar (P.S.)	Sim
4	F	30	Não	Não	Analgésico	Sim	Hidratante/P.S.	Sim
5	F	21	Não	Não	Não	Não	Hidratante	Sim
6	F	31	Não	Não	Antidepressivo	Não	Hidratante	Não
7	F	26	Não	Não	Não	Não	Maquiagem	Não
8	F	32	Não	Não	Anticoncepcional	Não	Maquiagem/P.S.	Não
9	F	29	Não	Não	Anticoncepcional/Psicoativo	Não	Hidratante	Não
10	F	20	Não	Sjm	Analgésico	Não	Hidratante	Não
11	M	39	Não	Não	Analgésico	Não	Perfume	Não
12	M	38	Não	Não	Não	Sim	P.S.	Sim
13	M	33	Não	Não	Não	Não	Não	Não
14	M	24	Não	Não	Não	Não	Não	Não
15	M	40	Não	Não	Protetor gástrico	Não	Não	Não
16	M	34	Não	Não	Antiviral	Sim	Hidratante	Sim
17	M	52	Não	Não	Não	Sim	Hidratante	Sim
18	M	30	Não	Não	Não	Sim	Não	Não
19	M	47	Não	Nao	Broncodilatador	Sim	Hidratante	Sim
20	M	36	Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim

### 2.3.3. Produção das amostras

A produção das amostras de IDLs se deu conforme o apresentado na seção 2.2.3.

### 2.3.4. Análise dos dados

Os dados foram organizados a partir das razões  $m/z$  e intensidades dos íons detectados por LDI-TOF MS nas amostras de IDLs de 20 indivíduos, 10 homens e 10 mulheres submetidos a diferentes tratamentos. Os dados foram analisados para avaliação da frequência dos íons detectados para cada tratamento, visando ao estabelecimento de perfis de componentes moleculares típicos de acordo com as informações obtidas nos questionários.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Experimento 1

A matriz de ácido  $\alpha$ -CHCA, cuja massa molar corresponde a 189,17 g/mol, utilizada como controle e calibrante nas análises realizadas por espectrometria de massa MALDI-TOF, apresentou seis íons intensos (majoritários) oriundos da matriz em  $m/z$  146  $[M-CO_2+H]^+$ , 172  $[M-H_2O+H]^+$ , 190  $[M+H]^+$ , 212  $[M+Na]^+$ , 335  $[2M-CO_2+H]^+$  e 379  $[2M+H]^+$  (Fig. I-2A). De maneira semelhante, seis íons do ácido dihidroxibenzoico (DHB), cuja massa molar corresponde a 154,12 g/mol, foram observados como de maior intensidade em  $m/z$  137  $[M+H-H_2O]^+$ , 155  $[M+H]^+$ , 177  $[M+Na]^+$ , 193  $[M+K]^+$ , 199  $[M-H+2Na]^+$  e 273  $[2M+H-2H_2O]^+$  (Fig. I-2C).

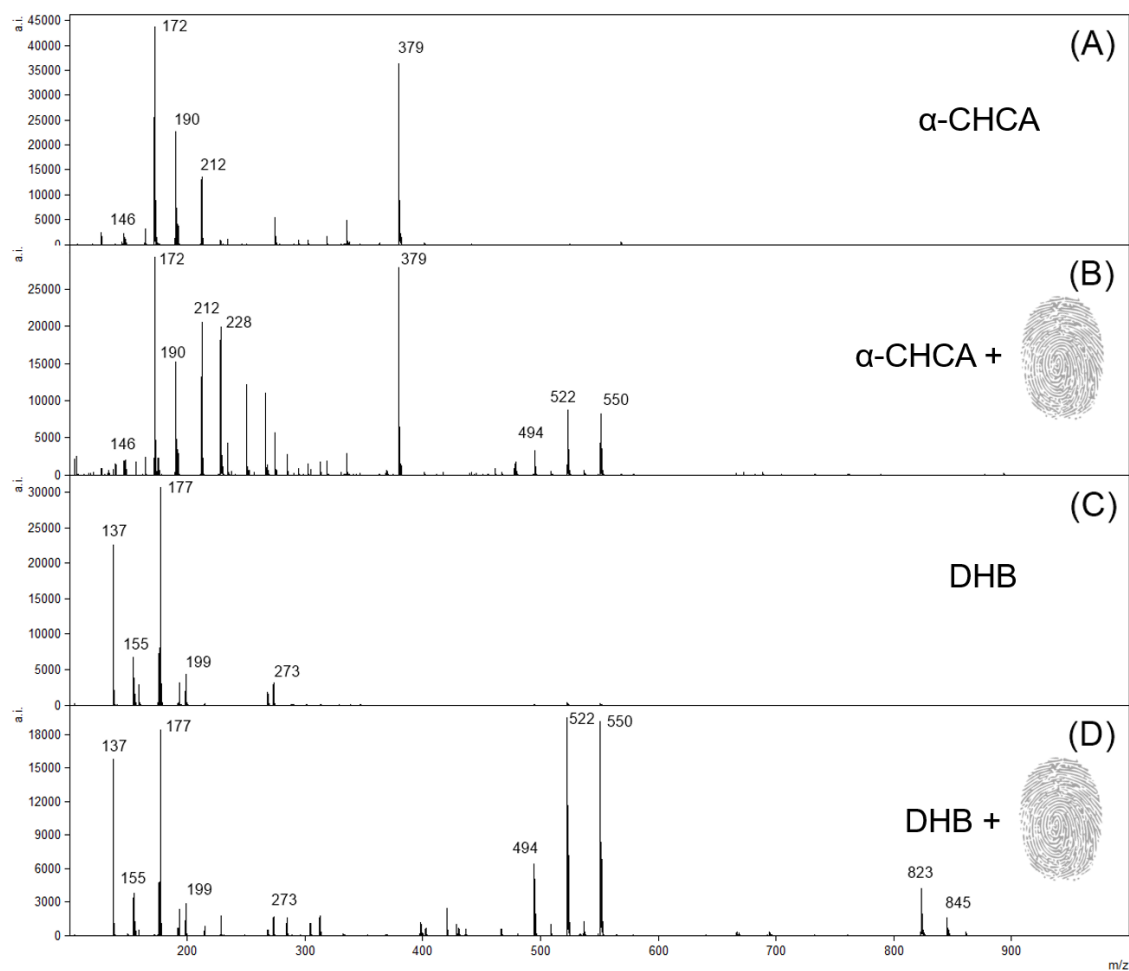
A IDL de um doador de 30 anos do gênero masculino, que foi analisada após o tratamento com a matriz de  $\alpha$ -CHCA, apresentou um espectro bastante semelhante ao espectro da matriz, com o acréscimo apenas de íons intensos nas  $m/z$  550, 522 e 494, e alguns menos intensos (Fig. I-2B). Um resultado semelhante foi obtido para a IDL tratada por DHB, com a prevalência dos íons da matriz, acrescidos de íons intensos em  $m/z$  550, 522 e 494, e em  $m/z$  823 e 845.

As IDLs de três outros doadores, que foram analisadas após tratamento com  $\alpha$ -CHCA, apresentaram espectros semelhantes ao obtido anteriormente, com maior intensidade para os íons em  $m/z$  550, 522 e 494 (Fig. I-3). Com exceção dos íons da matriz, foram comuns às amostras os íons em  $m/z$  250, 266, 284, 369, 461, 656, 682 e 761. A confirmação das identidades dos íons citados não foi possível pelo método adotado. Não foram observadas diferenças de presença ou ausência (qualitativas) de íons entre as amostras dos doadores, mesmo considerando suas diferenças de gênero, idade e possíveis hábitos. De todo modo é possível realizar algumas elucubrações e especulações acerca de possíveis apontamentos.

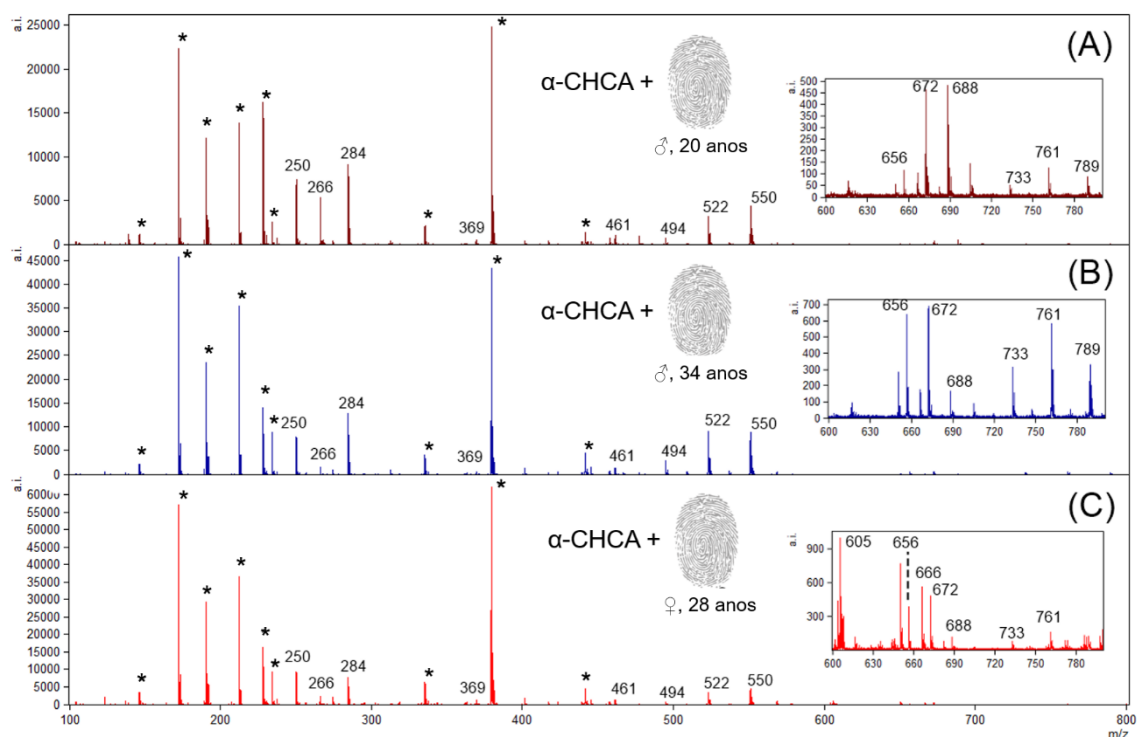
O íon detectado em  $m/z$  284 possivelmente corresponde ao cátion quaternário de amônio oriundo da fragmentação do íon de dimetildioctadecilamônio detectável em  $m/z$  550,6  $[C_{38}H_{80}N]^+$ , que também apresenta fragmentos em  $m/z$  522,6  $[C_{36}H_{76}N]^+$  e 494,6  $[C_{34}H_{72}N]^+$ , conforme

identificados por Manier et al. [37] e relatado por diferentes autores em IDLs avaliadas por MALDI e SALDI-TOF MS [12,34,38-,39].

O íon de baixa intensidade relativo detectado em  $m/z$  369 poderia corresponder ao íon de colesterol (386,6 g/mol) desidratado  $[M-H_2O+H]^+$ , conforme detectado em IDLs analisadas por MALDI-TOF MS por Wolstenholme et al. [8] e por Bradshaw et al. [40], também utilizando a matriz  $\alpha$ -CHCA.



**Fig. I-2.** Espectros MALDI-MS representativos da faixa de massa molecular baixa adquiridos mediante aplicação de 1  $\mu$ L de solução de: matriz  $\alpha$ -CHCA (A), matriz  $\alpha$ -CHCA sobre IDL de doador de 30 anos do gênero masculino (B), matriz DHB (C) e matriz DHB sobre IDL do mesmo doador (D).



**Fig. I-3.** Espectros MALDI-TOF MS representativos da faixa de massa molecular baixa adquiridos mediante aplicação de 1  $\mu$ L de solução de matriz  $\alpha$ -CHCA sobre: IDL de doador de 20 anos (A), IDL de doador de 34 anos (B) e IDL de doadora de 28 anos (C). \*íons relativos à matriz  $\alpha$ -CHCA ( $m/z$  146, 172, 190, 212, 228, 234, 335, 379 e 441).

A abordagem empregada foi capaz de sinalizar para a presença de um possível componente de origem endógena e alguns íons relativos a componentes exógenos. No entanto, a diferenciação molecular entre IDLs de diferentes doadores não foi alcançada por essa abordagem, provavelmente devido à típica supressão do sinal dos analitos presentes nas IDLs por decorrência da alta intensidade dos íons da matriz.

### 3.2. Experimento 2

#### 3.2.1. LDI-TOF MS

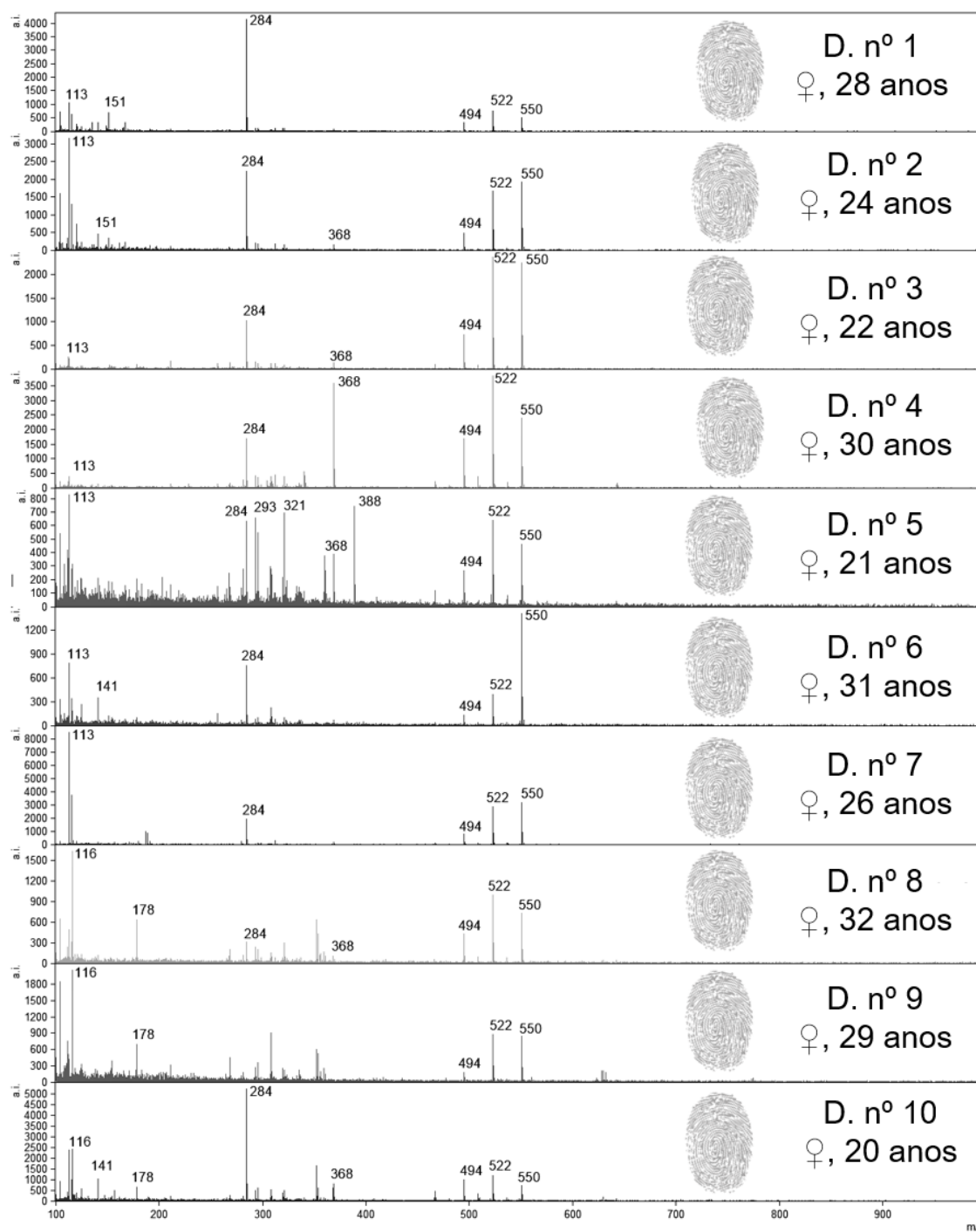
Os resultados para IDLs analisadas por LDI MS (sem tratamento) apontaram que, considerando as IDLs de 20 doadores, entre homens e mulheres de diferentes idades, há maior prevalência de íons detectados na faixa de  $m/z$  de 100 a 600, sendo que os íons em  $m/z$  550, 522, 494, 368, 284 e 113 foram



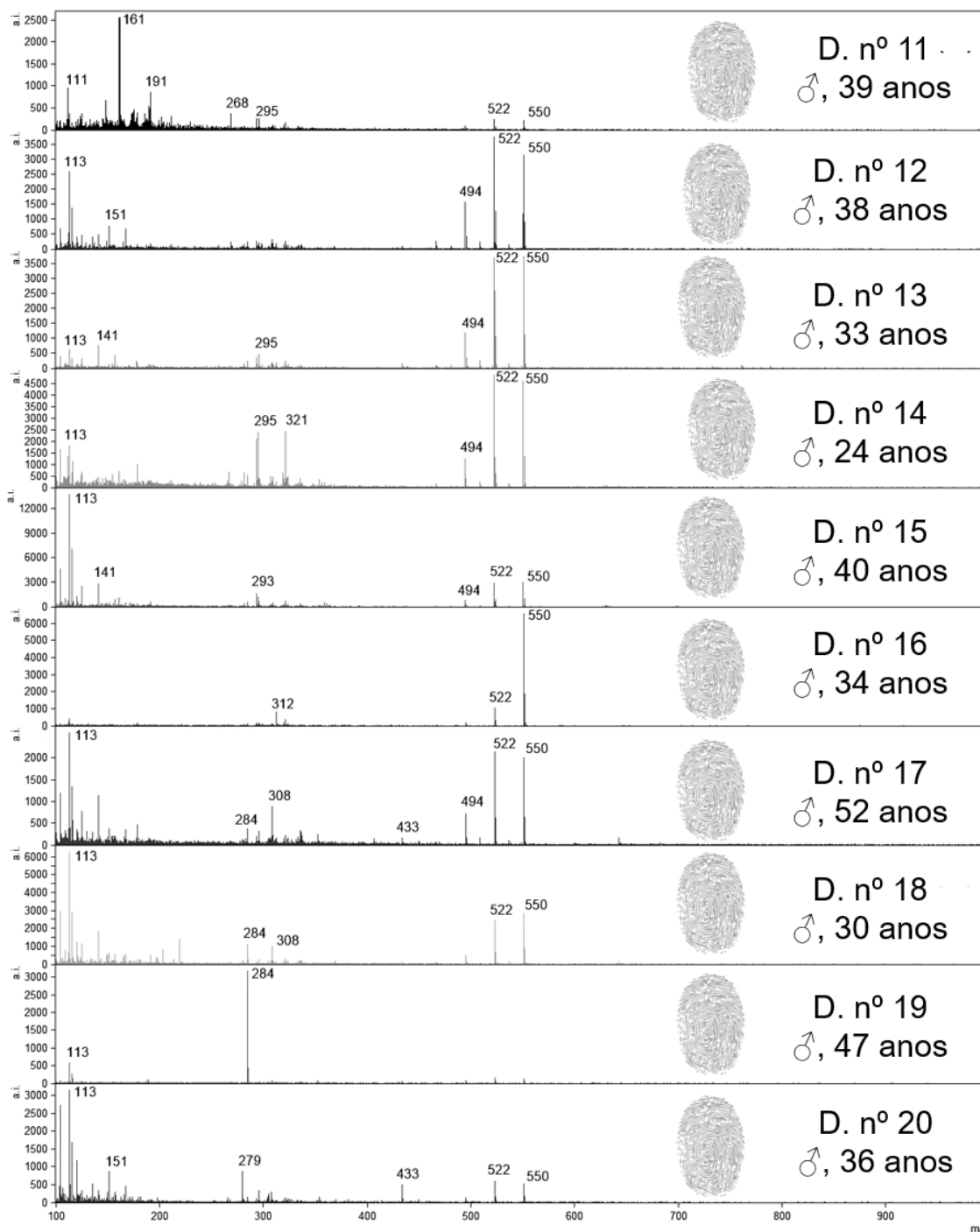
os mais frequentes nas amostras (Fig. I-4 e I-5). Além disso, observou-se um maior número de íons/espectro detectados para doadores do gênero masculino (média = 32,3) do que feminino (média = 27,5), contrariando uma hipótese sobre a influência do uso de cosméticos como cremes, maquiagem e protetor solar nos perfis moleculares de IDLs, hábito mais frequente em doadoras (Tabela I-2).

O íon detectado em  $m/z$  368 foi relativamente frequente nas amostras de IDLs. Walton & Verbeck [41], utilizando uma abordagem de SALDI-TOF MS, detectaram um íon em  $m/z$  368,4 e o apontaram como sendo colesterol desidratado, em conformidade ao trabalho de Bosner et al. [42], possivelmente correspondendo à forma não protonada do colesterol (386,6 g/mol) desidratado  $[M-H_2O]^+$ . No entanto, essa forma é diferente da protonada  $[M-H_2O+H]^+$  detectada em  $m/z$  369 nas amostras de IDLs tratadas com  $\alpha$ -CHCA e analisadas por MALDI-TOF MS [8,39], o que convergiu com os resultados preliminares deste trabalho. Considerando essa hipótese, o espectro da doadora nº 4 apresentou o íon em  $m/z$  368 dentre os mais intensos do espectro (Fig. I-4), tendo relatado um histórico de hipercolesterolemia familiar e confirmado que no período em que doou suas IDLs, a taxa de colesterol em seu sangue se encontrava elevada. Curiosamente, este íon foi detectado apenas em amostras de IDLs de mulheres (Fig. I-4 e I-5). Outra hipótese é de que o íon em  $m/z$  368 esteja relacionado à fragmentação do cátion quaternário de amônio dimetildioctadecilamônio detectado em  $m/z$  550,6  $[C_{38}H_{80}N]^+$ , assim como os íons detectados em  $m/z$  284, 494 e 522 que foram detectados conjuntamente em IDLs [38] e em documentos [43,44].

O íon em  $m/z$  433 detectado nas IDLs dos doadores nº 17 e 20 (Fig. I-5) foi apontado por Emerson et al. [45] como íon formado pelo esqualeno ligado ao átomo de sódio, detectado por LDI-TOF MS. O esqualeno é um precursor do colesterol, sendo um dos lipídeos comumente encontrados sobre a pele humana [17,46]. Em contraposição a outras conclusões desses autores para a análise de IDLs por LDI-TOF MS (sem tratamento com matrizes), não foram obtidos íons distintos na região de  $m/z$  700–900, o que corresponderia à região de detecção de triacilgliceróis (TAGs). Alguns espectros apresentaram um ruído de fundo indesejável, artefato decorrente do necessário aumento de intensidade do laser no equipamento para a obtenção de sinal suficiente às aquisições.



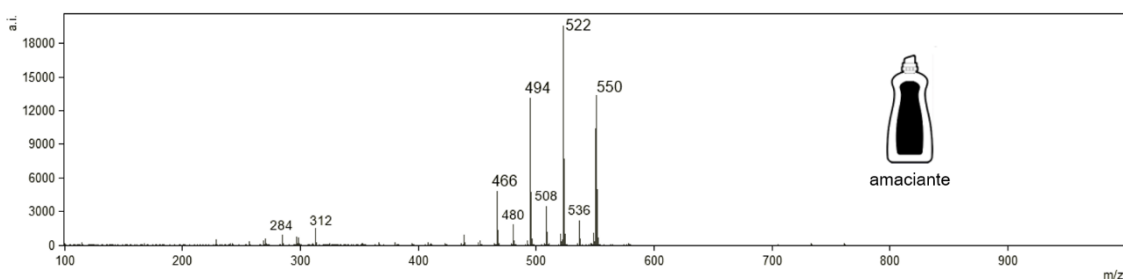
**Fig. I-4.** Espectros LDI-TOF MS representativos da faixa de massa molecular baixa adquiridos em IDLs de doadores nº 1–10, todos do gênero feminino.



**Fig. I-5.** Espectros LDI-TOF MS representativos da faixa de massa molecular baixa adquiridos em IDLs de doadores nº 11–20, todos do gênero masculino.

A amostra de amaciante de roupas também foi avaliada por LDI-TOF MS (Fig. I-6), visando à investigação sobre a possível origem do íon de dimetildioctadecilamônio, tendo sido confirmada a detecção dos íons de intensidade elevada em  $m/z$  550, 522, 494 e 466, reforçando o padrão sucessivo

de fragmentação deste composto em perdas de massa de  $m/z$  28  $[\text{C}_2\text{H}_4]^+$ . Também foram detectados íons intermediários e de menor intensidade nos  $m/z$  536 ( $550 - [\text{CH}_2]^+$  com variação de  $m/z = 14$ ), 508 ( $522 - [\text{CH}_2]^+$ ) e 480 ( $494 - [\text{CH}_2]^+$ ). Também foram detectados íons em  $m/z$  284 ( $550 - [\text{C}_{19}\text{H}_{38}]^+$  variação de  $m/z = 266$ ) e 312 ( $550 - [\text{C}_{17}\text{H}_{34}]^+$  variação de  $m/z = 238$ ) com menor intensidade. O conjunto de íons com maior intensidade do amaciante também foi detectado em todas as amostras de IDLs avaliadas por LDI-TOF MS neste trabalho (Fig. I-4 e I-5), apresentando intensidades variáveis que podem estar relacionadas à sua presença em roupas lavadas com amaciantes e o contato das mãos com as roupas ou superfícies que entrem em contato com as roupas, além de outros produtos contendo este composto.



**Fig. I-6.** Espectro LDI-TOF MS representativo da faixa de massa molecular baixa adquirido em amostra de amaciante de roupas comercial (1:10 v/v em água).

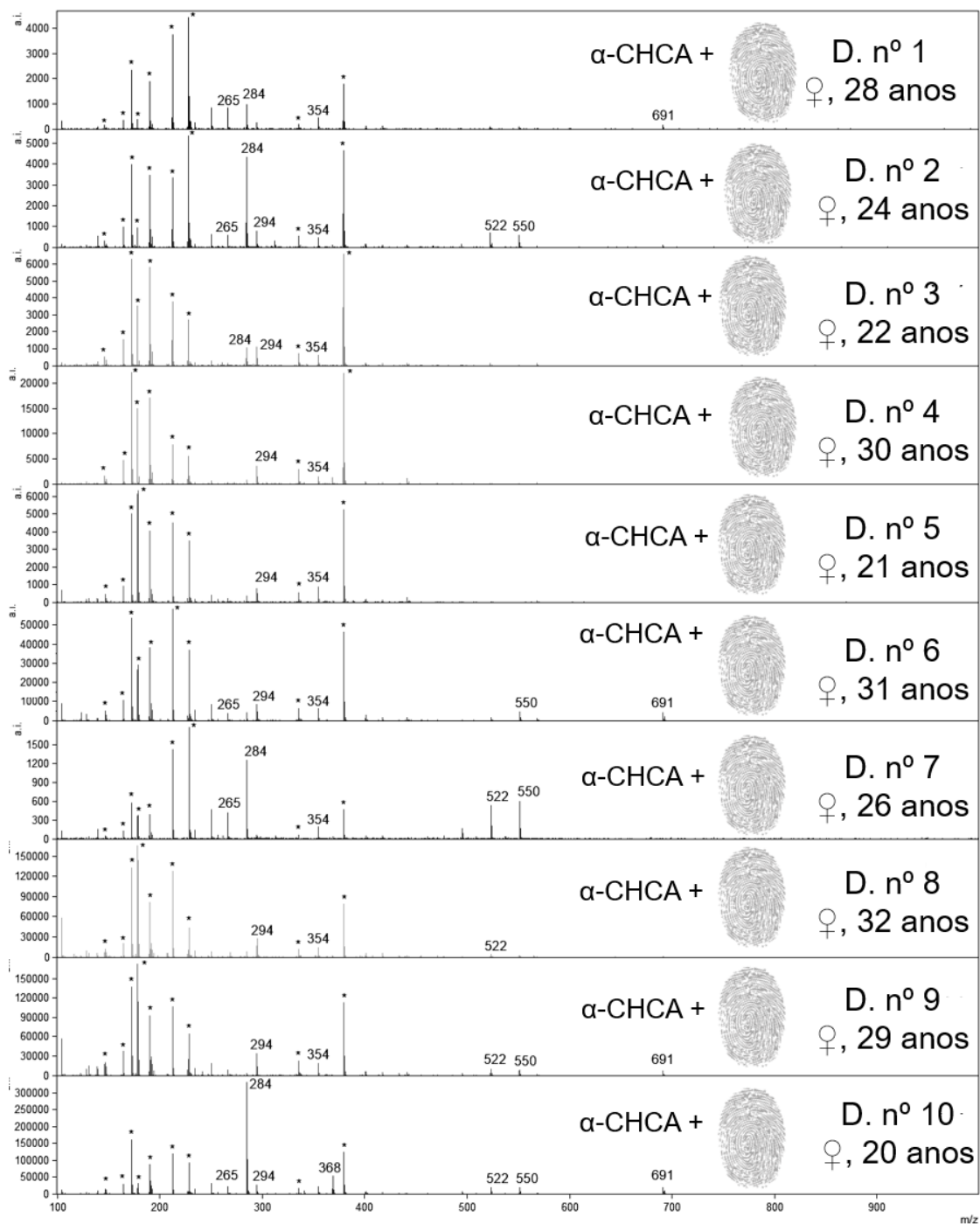
### 3.2.2. MALDI-TOF MS

A amostra de matriz  $\alpha$ -CHCA apresentou íons intensos em  $m/z$  146, 172, 178, 190, 212, 228, 294, 335 e 379, tendo gerado vários outros íons menos intensos, totalizando 93 componentes moleculares detectados na amostra da matriz livre (controle). Quando essa matriz foi utilizada para o tratamento das IDLs, observou-se um maior número de íons detectados, quando comparado aos resultados da investigação química de IDLs por LDI-TOF MS.

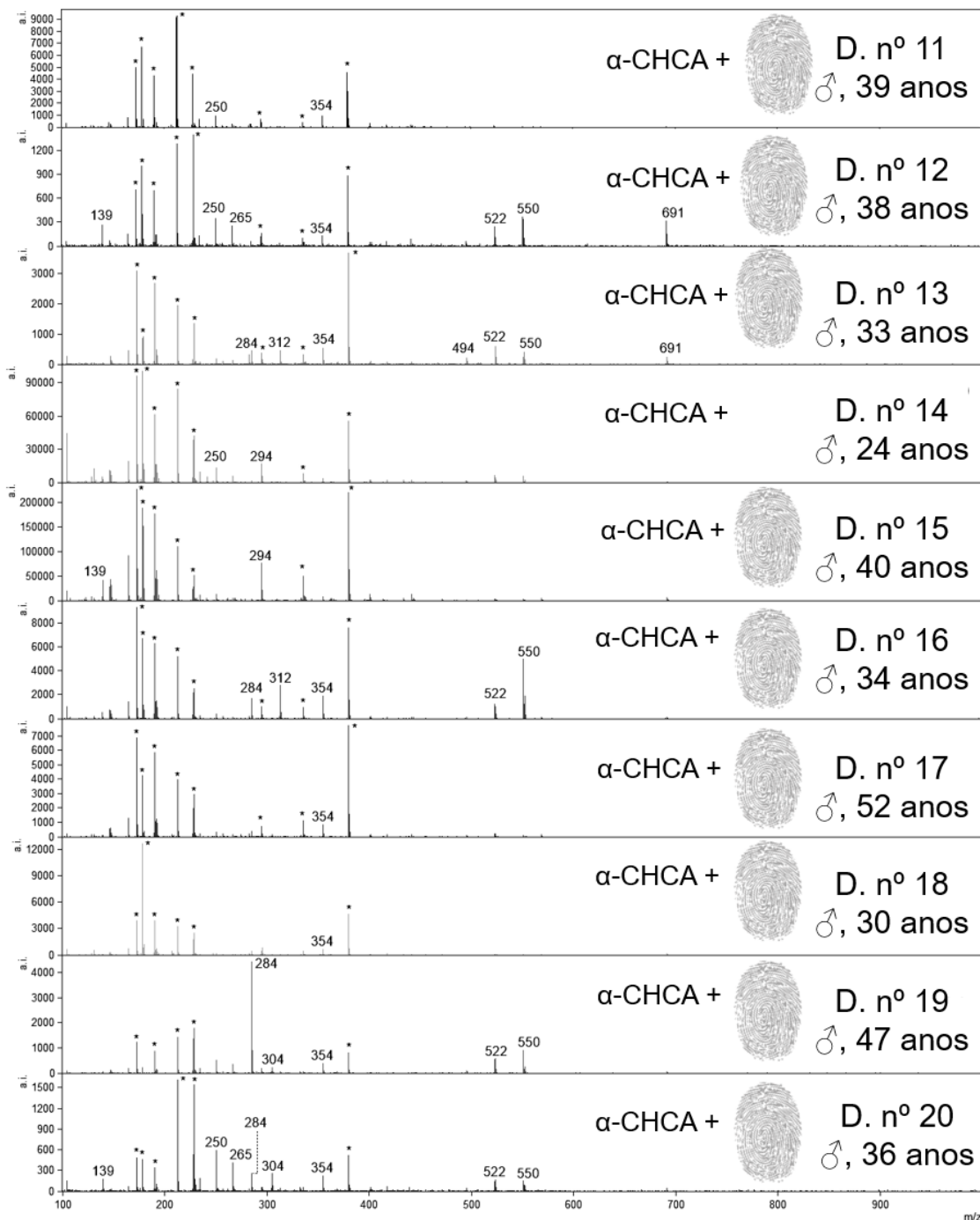
Assim como o obtido para LDI-TOF MS, houve maior prevalência de íons detectados na faixa de  $m/z$  de 100 a 600, com exceção do íon em  $m/z$  691 (e alguns outros de menor intensidade), estando entre os mais frequentes, juntamente com os íons nos  $m/z$  550, 522, 494, 354, 284 e 265 (Fig. I-7 e I-8). Foram observadas diferenças nos perfis moleculares de IDLs produzidas por diferentes doadores, sendo que para a abordagem por MALDI-TOF MS foram

detectados mais íons/espectro para doadores do gênero feminino (média=50) do que para doadores do gênero masculino (média=39).

A abordagem não trouxe prejuízos para a detecção dos íons supostamente relacionados ao amaciante de roupas ( $m/z$  550, 522, 494 e 284) nas amostras de IDLs. Contudo, a intensidade alta dos íons da matriz, fez com que, para algumas amostras, esses íons fossem notados de maneira mais discreta (Fig. I-7A, I-7C, I-7D, I-7E, I-7H e Fig. I-8A, I-8D, I-8E, I-8G, I-8H). Esses íons foram apontados por Bradshaw et al. [31,34,40] como alvos para o imageamento químico de IDLs.



**Fig. I-7.** Espectros MALDI-TOF MS representativos da faixa de massa molecular baixa adquiridos em IDLs de doadores n° 1–10, todos do gênero feminino. \*íons relativos à matriz  $\alpha$ -CHCA ( $m/z$  146, 164, 172, 178, 190, 212, 228, 335 e 379).



**Fig. I-8.** Espectros MALDI-TOF MS representativos da faixa de massa molecular baixa adquiridos em IDLs de doadores nº 11–20, todos do gênero masculino. \*íons relativos à matriz  $\alpha$ -CHCA ( $m/z$  172, 178, 190, 212, 228, 295, 335 e 379).

O íon em  $m/z$  368 (possível colesterol) foi detectado nos espectros das doadoras de nº 4 e 10 por esta abordagem (Fig. I-7). O íon detectado em  $m/z$  265 nos espectros de sete IDLs produzidas por doadores de ambos os gêneros (doadores nº 1, 2, 6, 7, 10, 12 e 20) (Fig. I-7 e I-8), foi indicado como ácido oleico

desidratado, sendo, de acordo com trabalhos anteriores, um dos íons mais comuns em IDLs [26,35,36]. Não foram encontradas possíveis correspondências para os íons em  $m/z$  139, 294, 312, 354 ou 691 na literatura científica.

De maneira geral, a quantidade e a intensidade dos íons da matriz não favoreceram a investigação de componentes específicos na faixa de massas moleculares baixas que pudessem ser utilizados para a construção de um perfil individual capaz de diferenciar doadores ou que permitisse uma correlação entre hábitos específicos e presença ou ausência de determinados íons. Alguns íons detectados pela técnica livre de matriz (LDI MS) não foram observados ou foram observados com intensidades muito inferiores por MALDI MS. A supressão de sinal causada por íons intensos das matrizes convencionais já havia sido relatada na literatura por diferentes autores [11–13,19,39,48]. Além disso, a baixa reprodutibilidade da técnica adotada pode ser notada pela diferença nos valores de intensidade (eixo  $y$ ), tendo sido bastante variável, às vezes para aquisições de um mesmo indivíduo.

Diferentes formas de aplicação da matriz para tratamento das IDLs foram propostas por Francese et al. [10] em que a matriz é depositada utilizando um sistema de “*autospray*” sequencial e por Ferguson et al. [28,35], com a aplicação da matriz em pó seguida de um volume do solvente borrifado sobre a amostra. Tais diferenças podem explicar o não favorecimento da detecção dos componentes putativamente identificados nos trabalhos citados: valina ( $m/z$  118), ácido palmitoleico ( $m/z$  255), ácido oleico ( $m/z$  283), ácido esteárico ( $m/z$  285), esqualeno ( $m/z$  411) e triacilgliceróis ( $m/z$  700–900). No entanto, nenhum trabalho apresentou o espectro completo na faixa de massas moleculares baixas, tendo demonstrado apenas regiões muito específicas.

As abordagens envolvendo SALDI-TOF MS para análises de IDLs [11–13,29,38,47] têm se mostrado como importantes alternativas na investigação de pequenas moléculas presentes em misturas complexas, evitando as inconveniências das matrizes e adicionando reprodutibilidade às análises.



#### 4. CONCLUSÃO

O presente Capítulo I envolveu a investigação molecular de IDLs de 24 doadores por duas técnicas de espectrometria de massa por ionização/dessorção a laser. A aplicação da técnica de LDI-TOF MS (livre de matriz) demonstrou a ocorrência de íons passíveis de dessorção nas amostras, cuja detecção independe de matrizes, principalmente, aqueles relativos aos contaminantes provenientes de produtos como amaciantes de roupa. Ambas as técnicas empregadas demonstraram ser plenamente possível a utilização de abordagens analíticas para tratamento e análise de IDLs visando apontar a presença de componentes endógenos (lipídeos) e exógenos (surfactante catiônico), de maneira prática e rápida. Os resultados dos experimentos utilizando a técnica de MALDI-TOF MS demonstraram que o uso de matrizes abriga alguns inconvenientes, principalmente o elevado número de íons de grande intensidade que podem causar supressão de sinal de analitos presentes nas amostras. Não foi possível, considerando as técnicas empregadas, estabelecer perfis moleculares específicos que pudessem efetivamente ser relacionados a gênero, idade ou à dieta, uso de medicamentos e outros hábitos dos indivíduos cujas IDLs foram analisadas. Também não foi possível, pelas abordagens adotadas neste Capítulo, a sugestão de uma individualização química pela análise de IDLs na faixa de  $m/z$  100–1000. Faz-se necessário explorar meios de aprimorar as detecções de pequenas moléculas em IDLs, a fim de maximizar a obtenção de informações sobre esses vestígios, de maneira a empregar a espectrometria de massa como estratégia complementar em investigações policiais baseadas em vestígios de impressões digitais.

## REFERÊNCIAS

- [1] R.M. Caplan, How fingerprints came into use in personal identification, *J. Am. Acad. Dermatol.* 23 (1990) 109–14.
- [2] J.B. Friesen, Forensic chemistry: the revelation of latent fingerprints, *J. Chem. Educ.* 92 (2015) 497–504.
- [3] R. Allen, P. Sankar, S. Prabhakar, Fingerprint identification technology, in: J. Wayman, A. Jain, D. Maltoni, D. Maio (Eds.), *Biometric systems: technology, design and performance evaluation*, Springer, London, 2005, pp. 22–61.
- [4] N.E. Archer, Y. Charles, J.A. Elliott, S. Jickells, Changes in the lipid composition of latent fingerprint residue with time after deposition on a surface., *Forensic Sci. Int.* 154 (2005) 224–39.
- [5] C. Weyermann, C. Roux, C. Champod, Initial results on the composition of fingerprints and its evolution as a function of time by GC/MS analysis, *J. Forensic Sci.* 56 (2011) 102–8.
- [6] A. Girod, C. Weyermann, Lipid composition of fingermark residue and donor classification using GC/MS, *Forensic Sci. Int.* 238 (2014) 68–82.
- [7] D.R. Ifa, N.E. Manicke, A. Dill, R.G. Cooks, Latent fingerprint chemical imaging by mass spectrometry, *Science* 321 (2008) 805.
- [8] R. Wolstenholme, R. Bradshaw, M.R. Clench, S. Francese, Study of latent fingermarks by matrix-assisted laser desorption/ionisation mass spectrometry imaging of endogenous lipids, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 23 (2009) 3031–9.
- [9] L.S. Ferguson, F. Wulfert, R. Wolstenholme, J.M. Fonville, M.R. Clench, V.A. Carolan, S. Francese, Direct detection of peptides and small proteins in fingermarks and determination of sex by MALDI mass spectrometry profiling, *Analyst.* 137 (2012) 4686–92.
- [10] S. Francese, R. Bradshaw, L.S. Ferguson, R. Wolstenholme, M.R. Clench, S. Bleay, Beyond the ridge pattern: multi-informative analysis of latent fingermarks by MALDI mass spectrometry, *Analyst.* 138 (2013) 4215–28.

- [11] A.Y. Lim, Z. Ma, J. Ma, F. Rowell, Separation of fingerprint constituents using magnetic silica nanoparticles and direct on-particle SALDI-TOF-mass spectrometry, *J. Chromatogr. B* 879 (2011) 2244–50.
- [12] N. Lauzon, M. Dufresne, V. Chauhan, P. Chaurand, Development of laser desorption imaging mass spectrometry methods to investigate the molecular composition of latent fingermarks, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 26 (2015) 878–86.
- [13] J. Sekuła, J. Nizioł, W. Rode, T. Ruman, Gold nanoparticle-enhanced target (AuNPET) as universal solution for laser desorption/ionization mass spectrometry analysis and imaging of low molecular weight compounds, *Anal. Chim. Acta* 875 (2015) 61–72.
- [14] N.J. Crane, E.G. Bartick, R.S. Perlman, S. Huffman, Infrared spectroscopic imaging for noninvasive detection of latent fingerprints, *J. Forensic Sci.* 52 (2007) 48–53.
- [15] M. Tahtouh, P. Despland, R. Shimmon, J.R. Kalman, B.J. Reedy, The application of infrared chemical imaging to the detection and enhancement of latent fingerprints: method optimization and further findings, *J. Forensic Sci.* 52 (2007) 1089–96.
- [16] K.M. Antoine, S. Mortazavi, A.D. Miller, L.M. Miller, Chemical differences are observed in children's versus adults' latent fingerprints as a function of time, *J. Forensic Sci.* 55 (2010) 513–8.
- [17] A. Girod, R. Ramotowski, C. Weyermann, Composition of fingerprint residue: a qualitative and quantitative review, *Forensic Sci. Int.* 223 (2012) 10–24.
- [18] J.K. Lewis, J. Wei, G. Siuzdak, Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry in peptide and protein analysis, in: R.A. Meyers, *Encyclopedia of analytical chemistry*, 2000, pp. 5880–94.
- [19] M. Rainer, M.N. Qureshi, G.K. Bonn, Matrix-free and material-enhanced laser desorption/ionization mass spectrometry for the analysis of low molecular weight compounds, *Anal. Bioanal. Chem.* 400 (2011) 2281–8.

- [20] R. Zenobi, R. Knochenmuss, Ion formation in MALDI mass spectrometry, *Mass Spectrom. Rev.* 17 (1998) 337–66.
- [21] R. Knochenmuss, Ion formation mechanisms in UV-MALDI, *Analyst* 131 (2006) 966–86.
- [22] M. Karas, M. Glückmann, J. Schäfer, Ionization in matrix-assisted laser desorption/ionization: singly charged molecular ions are the lucky survivors, *J. Mass Spectrom.* 35 (2000) 1–12.
- [23] F. Hillenkamp, M. Karas, R.C. Beavis, B.T. Chait, Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of biopolymers, *Anal. Chem.* 63 (1991) 1193A-203A.
- [24] A.V. Maceo, Anatomy and Physiology of Adult Friction Ridge Skin, in: E.H. Holder, L.O. Robinson, J.H. Laub (Eds.), *The Fingerprint Sourcebook*, National Institute of Justice, U.S., 2010, pp. 1–26.
- [25] T.H. Sakuma, H.I. Maibach, Oily skin: an overview, *Skin Pharmacol. Physiol.* 25 (2012) 227–35.
- [26] R. Wolstenholme, S. Francese, R. Bradshaw, Study of lipid distribution and degradation in latent fingerprints by spectroscopic imaging techniques, *Sci. Justice* 50 (2010) 37–8.
- [27] R.M. Caprioli, T.B. Farmer, J. Gile, Molecular imaging of biological samples: localization of peptides and proteins using MALDI-TOF MS, *Anal. Chem.* 69 (1997) 4751–60.
- [28] L. Ferguson, R. Bradshaw, R. Wolstenholme, M. Clench, S. Francese, Two-step matrix application for the enhancement and imaging, *Anal. Chem.* 83 (2011) 5585–91.
- [29] F. Rowell, K. Hudson, J. Seviour, Detection of drugs and their metabolites in dusted latent fingermarks by mass spectrometry, *Analyst* 134 (2009) 701–7.
- [30] K. Kaplan-Sandquist, M.A. LeBeau, M.L. Miller, Chemical analysis of pharmaceuticals and explosives in fingermarks using matrix-assisted laser desorption ionization/time-of-flight mass spectrometry, *Forensic Sci. Int.* 235 (2014) 68–77.

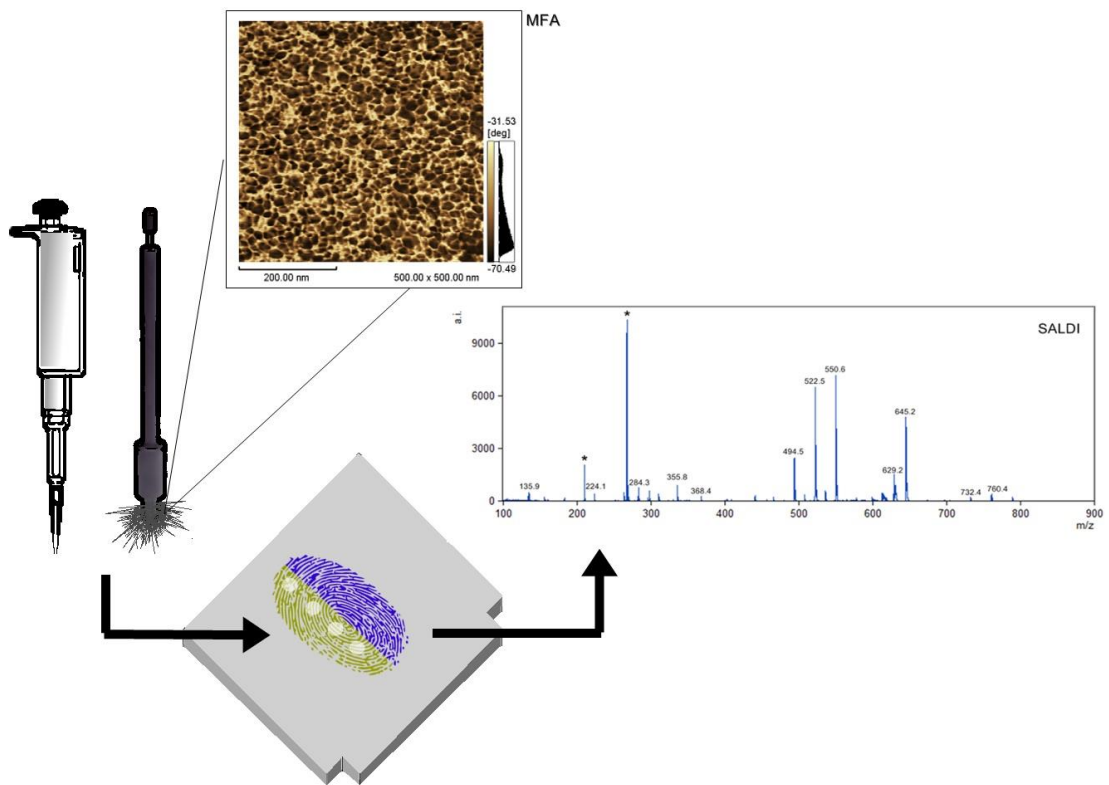
- [31] R. Bradshaw, N. Denison, S. Francese, Development of operational protocols for the analysis of primary and secondary fingermark lifts by MALDI-MS imaging, *Anal. Methods*. 8 (2016) 6795–804.
- [32] H.R. Aerni, D.S. Cornett, R.M. Caprioli, Automated acoustic matrix deposition for MALDI sample preparation, *Anal. Chem.* 78 (2006) 827–34.
- [33] J.A. Hankin, R.M. Barkley, R.C. Murphy, Sublimation as a method of matrix application for mass spectrometric imaging, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 18 (2007) 1646–52.
- [34] R. Bradshaw, S. Bleay, R. Wolstenholme, M.R. Clench, S. Francese, Towards the integration of matrix assisted laser desorption ionisation mass spectrometry imaging into the current fingermark examination workflow, *Forensic Sci. Int.* 232 (2013) 111–24.
- [35] L.S. Ferguson, S. Creasey, R. Wolstenholme, M.R. Clench, S. Francese, Efficiency of the dry-wet method for the MALDI-MSI analysis of latent fingermarks. *J. Mass Spectrom.* 48 (2013) 677–84.
- [36] R.M. Barros, B.E.F. Faria, S.A.S. Kuckelhaus, Morphometry of latent palmprints as a function of time, *Sci. Justice* 53 (2013) 402–8.
- [37] M.L. Manier, D.S. Cornett, D.L. Hachey, R.M. Caprioli, Identification of dimethyldioctadecylammonium ion ( $m/z$  550.6) and related species ( $m/z$  522.6, 494.6) as a source of contamination in mass spectrometry, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 19 (2009) 666–70.
- [38] R.M. Barros, M.C.H. Clemente, G.A.V. Martins, L.P. Silva, Application of mesocellular siliceous foams (MCF) for surface-assisted laser desorption ionization mass spectrometry (SALDI-MS) analysis of fingermarks, *Sci. Justice* 58 (2018) 264–70.
- [39] M. Kusano, S. Kawabata, Y. Tamura, D. Mizoguchi, M. Murouchi, H. Kawasaki, R. Arakawa, K. Tanaka, Laser desorption/ionization mass spectrometry (LDI-MS) of lipids with iron oxide nanoparticle-coated targets, *Mass Spectrom.* 3 (2014) A0026–34.

- [40] R. Bradshaw, R. Wolstenholme, R.D. Blackledge, M.R. Clench, L.S. Ferguson, S. Francese, A novel matrix-assisted laser desorption/ionisation mass spectrometry imaging based methodology for the identification of sexual assault suspects, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 25 (2011) 415–22.
- [41] B.L. Walton, G.F. Verbeck, Soft-landing ion mobility of silver clusters for small-molecule matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry and imaging of latent fingerprints, *Anal. Chem.* 86 (2014) 8114–20.
- [42] M.S. Bosner, R.E. Ostlund, O. Osofisan, J. Grosklos, C. Fritschle, L.G. Lange, Assessment of percent cholesterol absorption in humans with stable isotopes, *J. Lipid Res.* 34 (1993) 1047–53.
- [43] E. Morgado, M. Fernando, K. Gomes, E. Luiz, M. Aurélio, Z. Arruda, W. Fortunato, D.C. Rocha, R. Borges, W. De Souza, M. Nogueira, D. Nascimento, Direct and non-destructive proof of authenticity for the 2nd generation of Brazilian real banknotes via easy ambient sonic spray ionization mass spectrometry, *Sci. Justice* 54 (2014) 459–64.
- [44] D.N. Correa, E.M. Schmidt, M.F. Franco, J.J. Zacca, W. Fortunato, D.C. Rocha, A.D.P. Barbosa, R. Borges, W. Souza, M.N. Eberlin, Analyzing brazilian driver's license authenticity by easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry, *Am. J. Anal. Chem.* 7 (2016) 342–50.
- [45] B. Emerson, J. Gidden, J.O. Lay, B. Durham, Laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry of triacylglycerols and other components in fingerprint samples, *J. Forensic Sci.* 56 (2011) 381–9.
- [46] K.A. Mountfort, H. Bronstein, N. Archer, S.M. Jickells, Identification of oxidation products of squalene in solution and in latent fingerprints by ESI-MS and LC/APCI-MS, *Anal. Chem.* 79 (2007) 2650–7.
- [47] T. Guinan, P. Kirkbride, P.E. Pigou, M. Ronci, H. Kobus, N.H. Voelcker, Surface-assisted laser desorption ionization mass spectrometry techniques for application in forensics, *Mass Spectrom. Rev.* (2014) 1–14.

- [48] P.A. Kuzema, Small-molecule analysis by surface-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry, *J. Anal. Chem.* 66 (2011) 1227–42.

## CAPÍTULO II

### ESPUMA MESOCELULAR DE SÍLICA (MCF) PARA A REVELAÇÃO E ANÁLISE QUÍMICA DE IMPRESSÕES DIGITAIS LATENTES POR SALDI-TOF MS



**Fig. II-1.** Resumo gráfico do Capítulo II. A espuma mesocelular de sílica, como um material mesoporoso, apresenta poros nanométricos que auxiliam o processo de ionização/dessorção a laser. Esses materiais foram utilizados para o tratamento de IDLs associados ou não a um agente revelador tradicional. As análises químicas de IDLs por essa abordagem foram avaliadas.



## RESUMO

As aplicações da nanotecnologia em ciências forenses têm contribuído por disponibilizar novas abordagens, incluindo a avaliação química de impressões digitais latentes (IDLs). Métodos alternativos à utilização de matriz convencional para a espectrometria de massa por ionização/dessorção a laser visando à detecção de pequenas moléculas orgânicas têm sido investigados a partir do tratamento de amostras com nanomateriais. O presente Capítulo II investigou a aplicação de espuma de sílica mesocelular (MCF) como agente ionizante para análise química de IDLs. Amostras de IDLs de doadores distintos foram depositadas diretamente sobre uma placa de MALDI e 1µL de suspensão de MCF ou uma mistura de MCF e pó magnético (aplicação seca) foram utilizadas para tratamento. A análise das amostras sugeriu a presença de íons relacionados a componentes moleculares endógenos e exógenos, incluindo lipídeos da secreção sebácea e cátions quaternários de amônio comumente presentes em produtos de limpeza e amaciantes. Foram obtidos resultados promissores e reprodutíveis para as IDLs tratadas com a mistura de MCF e pó magnético.

**PALAVRAS-CHAVE:** Ciência forense, detecção, DIOS, espectrometria de massa, pó magnético.

## **ABSTRACT**

The applications of nanotechnology in forensic sciences have contributed to the development of new approaches including chemical evaluation of latent fingerprints (LFMs). Alternative matrix-free methods in laser desorption/ionization mass spectrometry aiming for the detection of small organic molecules has been investigated by treating samples with nanomaterials. The present Chapter II investigated the application of mesocellular siliceous foam (MCF) as an ionizing agent for laser desorption/ionization (LDI-MS) analysis of LFMs. LFM samples from distinct donors were deposited directly onto a MALDI target plate and 1  $\mu$ L of MCF suspension or a MCF/magnetic powder mixture were used for treatment. Analysis of samples showed ions possibly related to endogenous and exogenous molecular components, including lipids from human sebum and quaternary ammonium cations commonly present in cleaning products and softeners. Promising and reproducible results were obtained for the fingerprints treated with the MCF/magnetic powder mixture.

**KEYWORDS:** Detection, DIOS, forensic sciences, magnetic powder, mass spectrometry.

## 1. INTRODUÇÃO

Impressões digitais latentes (IDLs) consistem em vestígios materiais muito importantes para o processo de identificação humana no contexto das ciências forenses. Os componentes moleculares endógenos das IDLs são tipicamente aminoácidos, proteínas, compostos inorgânicos, ácidos graxos, fosfolípídeos, ésteres de ácidos graxos, esteróis, esqualeno e outros compostos orgânicos [1–4]. Além disso, a presença de componentes exógenos como drogas, explosivos, cosméticos, agrotóxicos e outros contaminantes podem ser de grande interesse, do ponto de vista forense, por agregarem informações valiosas às investigações [5–9]. Assim, abordagens periciais avançadas consideram não apenas a morfologia das impressões, mas seus marcadores moleculares.

A técnica de espectrometria de massa por ionização/dessorção a laser assistida por matriz (MALDI-TOF MS) é rápida, robusta e sensível para detectar os componentes moleculares de amostras complexas. No entanto, a detecção de pequenas moléculas orgânicas utilizando essa técnica é comumente dificultada pela propensão das matrizes convencionais de MALDI a formarem fragmentos exibidos como sinais intensos nos espectros, que terminam por suprimir outros íons em faixas de massa próximas. Algumas abordagens alternativas à matriz têm sido exploradas buscando superar tais limitações [10–12]. O interesse no desenvolvimento de novos nanomateriais como agentes ionizantes para a técnica de espectrometria de massa por ionização/dessorção a laser (LDI-MS) cresceu substancialmente, permitindo, no contexto de ciências forenses, análises químicas em amostras biológicas, como saliva, urina, sangue e impressões digitais [13–15].

A aplicação de silício poroso para ionização/dessorção (DIOS) em espectrometria de massa tem sido relatada para análises de moléculas pequenas durante quase duas décadas, mostrando sensibilidade e versatilidade [16]. A espuma de sílica mesocelular (MCF) é um nanomaterial sintetizado com um modelo de polímero constituído por poros (22-42 nm de diâmetro) interligados por espaços de ~ 10 nm [17], utilizados como suportes para catalisadores, em separações envolvendo moléculas grandes [18], e para a

captura e armazenamento de carbono para reduzir as emissões de dióxido de carbono na atmosfera após a combustão [19].

O crescente interesse pela nanotecnologia permitiu o desenvolvimento de novos métodos para a revelação de impressões digitais latentes e a adequação de materiais à base de sílica para SALDI-MS tem sido discutida [20]. No presente Capítulo II foi avaliada a viabilidade de uma abordagem baseada em LDI-MS para a análise de componentes químicos presentes em impressões digitais latentes tratadas com MCF como uma suspensão etanólica ou em uma mistura com pó magnético, configurando etapa conhecida como Fase 1 de acordo com recomendações do Grupo Internacional de Pesquisa em Impressões Digitais (IFRG – *International Fingerprint Research Group*) [21].

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Materiais

Tetraetil ortosilicato (TEOS) (Aldrich), etanol (99%) (Vetec), metanol (99%) (Vetec), copolímero tribloco anfifílico (Pluronic P123) (Aldrich), HCl (36-38% p/p) (Vetec), NH<sub>4</sub>F (99,99%) (Aldrich), heptano (99%) (Vetec), tolueno (99%) (Vetec) e 3-Aminopropiltriétoxisilano (APTES) (99%) (Aldrich) foram adquiridos de representantes locais. Ácido alfa-ciano-4-hidroxicinâmico ( $\alpha$ -CHCA), acetonitrila (ACN) e ácido trifluoroacético (TFA) foram adquiridos de Bruker Daltonics, JT Baker e Mallinckrodt, respectivamente. O pó magnético para a revelação de impressões digitais (preto regular) e o respectivo aplicador (Sirchie) foram obtidos como cortesia do Instituto de Identificação da Polícia Civil do Distrito Federal para realização dos testes. Uma mistura seca de MCF e pó magnético (1:10 v/v) foi produzida utilizando agitador de tubos tipo vórtex.

### 2.2. Síntese do suporte de MCF e funcionalização com matriz $\alpha$ -CHCA

O suporte MCF foi sintetizado seguindo o protocolo estabelecido por Schmidt-Winkel et al. [18]. A funcionalização do suporte de MCF envolveu a ligação à matriz  $\alpha$ -CHCA conforme o protocolo estabelecido por Mullens et al. [22]. O suporte foi inicialmente ligado ao APTES e lavado utilizando metanol em

três ciclos de 15 min a 2000 rpm, com retirada do sobrenadante. Foi adotada a proporção de 190 mg de matriz  $\alpha$ -CHCA por 1 g de MCF-APTES em solução de metanol, com mistura realizada em agitador magnético por 4 h, seguida por três novos ciclos de lavagem com metanol. Após esse procedimento, a suspensão de MCF-APTES- $\alpha$ -CHCA foi secada em estufa a 70°C por 5 h, gerando um pó de cor amarela clara que foi utilizado para o tratamento das IDLs.

### *2.3. Caracterização, instrumentação e método de aquisição*

A caracterização da superfície das partículas da amostra de MCF foi realizada por microscopia de força atômica (AFM) em um instrumento SPM-9600 (Shimadzu) operando em modo de fase-dinâmico após a deposição e secagem de 1  $\mu$ L de suspensão (0,1 mg de MCF em 1 mL de etanol) na superfície de mica recém clivada, que foi montada em um suporte de metal utilizando fita adesiva de dupla face para análise em escâner com uma dimensão de varredura máxima de 125  $\mu$ m  $\times$  125  $\mu$ m e sondas de silício com constantes de mola variáveis (cerca de 42 N/m). As imagens adquiridas apresentaram resolução de 512  $\times$  512 linhas e foram processadas para a correção de ajuste de plano de varredura. Todas as análises moleculares foram realizadas utilizando um equipamento comercial MALDI-TOF MS (MicroFlex, Bruker Daltonics) com calibração externa no modo refletido positivo na faixa de m/z 100 a 1000, com 1000 disparos de laser por poço.

### *2.4. Amostragem, produção e tratamento de IDLs*

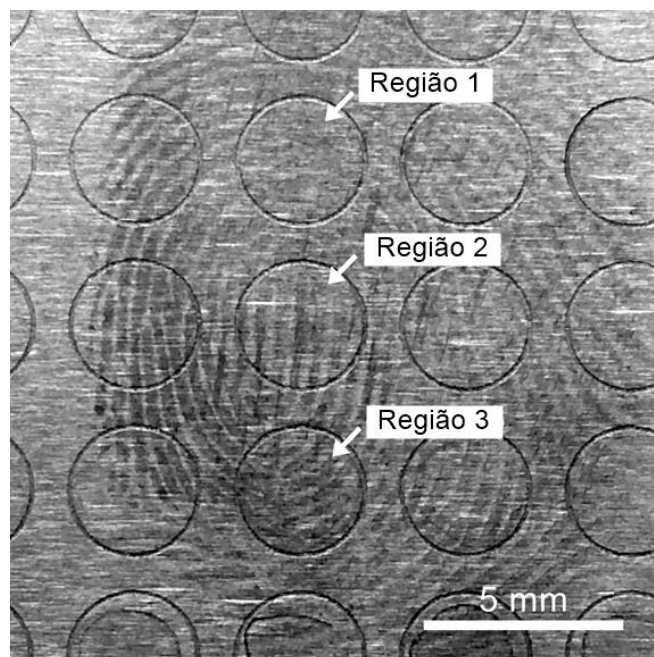
Impressões digitais latentes de uma doadora do gênero feminino e dois doadores do gênero masculino foram depositadas diretamente sobre a placa de MALDI por um contato de pressão média entre os dedos indicadores e a superfície da placa e analisados no mesmo dia. Os doadores não seguiram uma dieta específica nem declararam o uso de drogas de abuso, fármacos ou tabagismo. No entanto, a doadora informou ter utilizado cremes para corpo e cabelo antes do procedimento.

Um método próprio de reposição, mistura e homogeneização das secreções da pele, com o objetivo de simular a condição natural da pele para a produção das amostras de IDLs, foi utilizado de acordo com protocolo de Barros et al. [23], consistindo em:

- (1) esfregação das palmas nos antebraços por 10 s;
- (2) leve toque na testa com a palma esquerda;
- (3) esfregação das palmas entre si por 10 s.

As IDLs foram produzidas a partir de um toque de média pressão dos indicadores direito e esquerdo em diferentes áreas de uma mesma placa de MALDI MS, de modo a não ocorrer sobreposição entre as IDLs depositadas. A produção das amostras se deu após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), conforme aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília/Processo UnB nº. 65610716.5.0000.5558 (ANEXO I).

Foi depositado 1  $\mu$ L de matriz  $\alpha$ -CHCA (10 mg/mL de  $\alpha$ -CHCA em 70:30 ACN-0,5% de TFA) ou de suspensão etanólica de MCF (0,01 g de MCF em 1 mL de etanol) em poços específicos da placa e nos locais em que as IDLs dos dedos indicadores direitos dos doadores estavam presentes. Os reagentes depositados foram secados em condições ambientais antes da análise por MALDI-TOF MS. Além disso, as IDLs produzidas pelos dedos indicadores esquerdos dos mesmos doadores foram tratadas com a mistura de MCF e pó magnético (Fig. II-2), simulando o procedimento comum para revelação de impressões digitais latentes, utilizando o pó magnético adotado pela rotina pericial. As análises foram realizadas em três regiões distintas (poços) de uma mesma impressão, permitindo uma avaliação da reprodutibilidade.



**Fig. II-2.** Impressão digital depositada por um doador de 34 anos diretamente na placa de MALDI e revelada utilizando a mistura de MCF e pó magnético. As análises foram realizadas em três regiões distintas de cada impressão digital.

## 2.5. SALDI-TOF MS utilizando a mistura de MCF e pó magnético para o tratamento de IDLs de 20 doadores

### 2.5.1. Instrumentação

As análises químicas (moleculares) das abordagens adicionais foram realizadas utilizando um equipamento comercial AutoFlex Speed MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Alemanha) equipado com um laser de nitrogênio (337 nm) com calibração externa (íons de matriz  $\alpha$ -CHCA em  $m/z$  190,04 e 379,09) operado em modo refletido positivo na faixa de  $m/z$  100 a 1000, com 100 disparos do laser por ponto (2000 disparos por espectro). Foi aplicada a mistura de MCF e pó magnético em poços individuais da placa de aço (MTP 384, Bruker Daltonics) livres ou onde as amostras de IDLs estavam presentes.

### 2.5.2. Doadores e produção das amostras

Foram selecionados vinte doadores, entre homens e mulheres de diferentes idades, para a produção de amostras adicionais de IDLs para a análise por SALDI-TOF MS utilizando a mistura de MCF e Pó Magnético descrita na

seção 2.1. para o tratamento das IDLs. As seguintes perguntas foram submetidas aos doadores:

- 1) *Qual a sua idade?*
- 2) *Possui dieta específica? (ex: vegetariano, vegano)*
- 3) *É fumante? Se sim, quantos cigarros por dia?*
- 4) *Faz uso frequente de algum medicamento? Se sim, qual ou quais?*
- 5) *Utilizou algum medicamento nas últimas 24 h? Se sim, qual ou quais?*
- 6) *Tomou banho pela manhã (antes de doar suas impressões)?*
- 7) *Utilizou cosméticos como xampus, sabonetes, cremes, protetor solar e/ou maquiagem nas horas que antecederam o exame? Se sim, quais?*
- 8) *Possui o hábito de lavar a louça e/ou realizar a faxina em casa sem o uso de luvas?*
- 9) *Tem contato frequente com algum produto químico específico (exceto cosméticos)?*
- 10) *Ingeriu café (bebida) pela manhã (antes de doar suas impressões)?*

Os doadores também foram questionados a relatar sobre possíveis doenças congênitas ou crônicas que possuíssem, incluindo quaisquer anormalidades. A Tabela II-1 apresenta as informações dos doadores baseadas em suas respostas.

**Tabela II-1.** Informações dos doadores de IDLs para análise por SALDI-TOF MS utilizando a mistura de MCF e pó magnético.

Nº	Gênero	Idade	Dieta	Tabagismo	Medicamento	Banho	Cosmético	Café
1	F	28	Não	Não	Anticoncepcional)	Sim	Hidratante	Não
2	F	24	Não	Não	Antidepressivo	Sim	Hidratante	Sim
3	F	22	Não	Não	Anticoncepcional	Sim	Prot. solar (P.S.)	Sim
4	F	30	Não	Não	Analgésico	Sim	Hidratante/P.S.	Sim
5	F	21	Não	Não	Não	Não	Hidratante	Sim
6	F	31	Não	Não	Antidepressivo	Não	Hidratante	Não
7	F	26	Não	Não	Não	Não	Maquiagem	Não
8	F	32	Não	Não	Anticoncepcional	Não	Maquiagem/P.S.	Não
9	F	29	Não	Não	Anticoncepcional/Psicoativo	Não	Hidratante	Não
10	F	20	Não	Sim	Analgésico	Não	Hidratante	Não
11	M	39	Não	Não	Analgésico	Não	Perfume	Não
12	M	38	Não	Não	Não	Sim	P.S.	Sim
13	M	33	Não	Não	Não	Não	Não	Não
14	M	24	Não	Não	Não	Não	Não	Não
15	M	40	Não	Não	Protetor gástrico	Não	Não	Não
16	M	34	Não	Não	Antiviral	Sim	Hidratante	Sim



17	M	52	Não	Não	Não	Sim	Hidratante	Sim
18	M	30	Não	Não	Não	Sim	Não	Não
19	M	47	Não	Nao	Broncodilatador	Sim	Hidratante	Sim
20	M	36	Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim

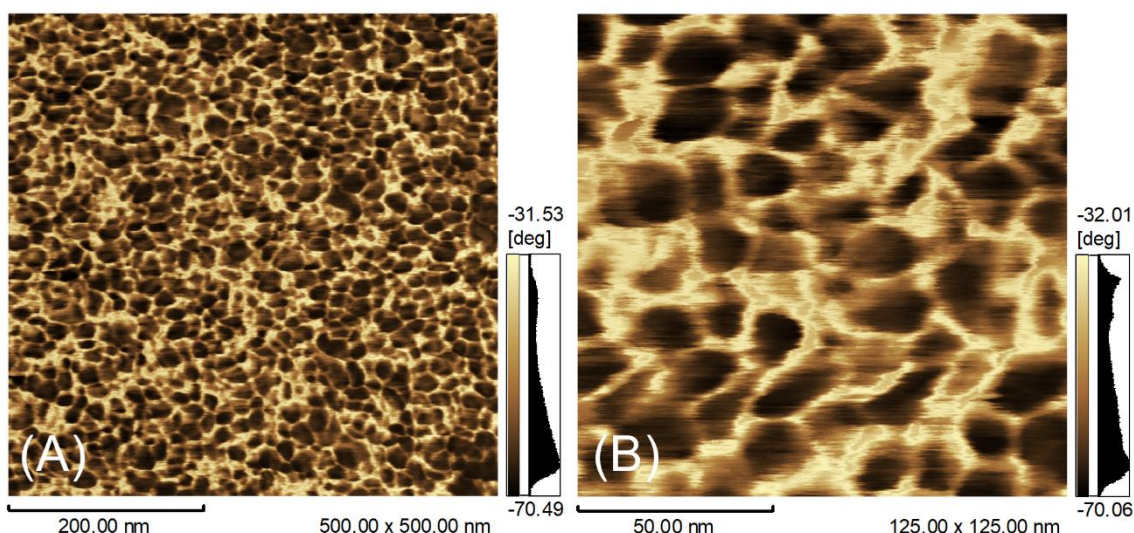
As IDLs foram produzidas a partir do toque de média pressão dos dedos indicadores direito e esquerdo em diferentes áreas de uma mesma placa de aço MTP 384, de modo a não ocorrer sobreposição entre as amostras. Também foi realizado o procedimento de decalque de IDLs produzidas sobre superfície de lâminas de vidro e tratadas com a mistura de MCF e pó magnético. Essas amostras foram transferidas, com o auxílio de fita dupla face, para a placa de MALDI.

Assim como nas abordagens anteriores, as amostras foram produzidas após assinatura do TCLE conforme aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília/Processo UnB nº. 65610716.5.0000.5558 (ANEXO I).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Caracterização do suporte de MCF

A análise da superfície do suporte de MCF por AFM mostrou uma superfície porosa não ordenada, com diâmetro de poro variando de 10 a 20 nm (Fig. II-3), sendo considerada uma estrutura de sílica mesoporosa (largura de poros entre 2 e 50 nm). A literatura relata que a morfologia da superfície e a porosidade da sílica nanoestruturada podem afetar a intensidade de sinal em LDI MS [24]. Rainer et al. [25] observaram que o tamanho dos poros desempenha um papel importante no processo de ionização/dessorção, com melhores resultados para partículas de sílica com diâmetro de poro acima de 30 nm. A influência do tamanho dos poros do suporte de MCF no processo de ionização requer mais estudos.

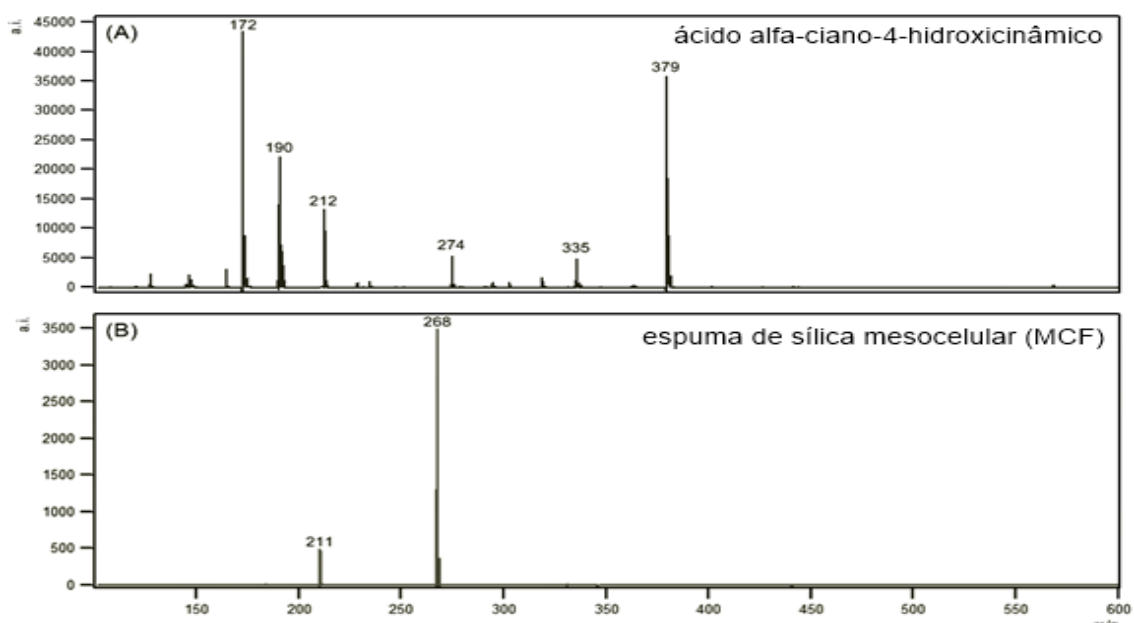


**Fig. II-3.** Imagem de viscoelasticidade obtida por microscopia de força atômica da superfície da espuma de sílica mesocelular (MCF) em modo fase em 500 × 500 nm (A) e 125 × 125 nm (B).

Diferentes tipos de funcionalizações na superfície do suporte MCF podem favorecer certas interações moleculares, conferindo vantagens em termos de especificidade, versatilidade e amplificação de sinais úteis para abordagens forenses. As aplicações de partículas à base de sílica híbrida foram investigadas por Leśniewski [20] e foram indicadas para a revelação de IDLs e produção de interações específicas com componentes moleculares distintos. Lim et al. [26] utilizaram partículas de sílica funcionalizadas para separar componentes polares (aminoácidos) e não-polares (esqualeno e ácidos graxos) de IDLs para sua posterior análise direta por SALDI-TOF MS. Outra abordagem inovadora foi proposta por Mullens et al. [22] utilizando sílica gel modificada ou sílica mesoporosa para imobilizar covalentemente moléculas de  $\alpha$ -CHCA para a análise LDI-MS de pequenas moléculas, reduzindo a intensidade dos íons pertencentes à matriz. Esta abordagem foi adaptada para a MCF no presente estudo, conforme descrito na seção 2.2 e os respectivos resultados serão apresentados na seção 3.4 do presente Capítulo II. A funcionalização do suporte MCF com outros nanomateriais também merece ser investigada em estudos futuros.

### 3.2. MCF como agente ionizante

A análise da matriz  $\alpha$ -CHCA como controle por MALDI-TOF MS mostrou seis íons intensos em  $m/z$  172, 190, 212, 274, 335 e 379, enquanto a suspensão de MCF em etanol apresentou íons menos intensos, com dois componentes moleculares proeminentes em  $m/z$  nominal de 211 e 268, os quais poderiam ser utilizados como marcadores internos para calibração (Fig. II-4). Para MALDI, sabe-se que a faixa do espectro abaixo de  $m/z$  700 é dominada principalmente por fragmentos dos íons da matriz que suprimem o sinal de pequenas moléculas de interesse [24]. Visando contornar as possíveis interferências causadas pelo uso de matrizes orgânicas convencionais, as alternativas oferecidas pela nanotecnologia têm sido alvo de pesquisas. Devido às suas propriedades únicas, os materiais nanoestruturados são considerados excelentes candidatos ao processo LDI MS por estudos mais modernos [25].



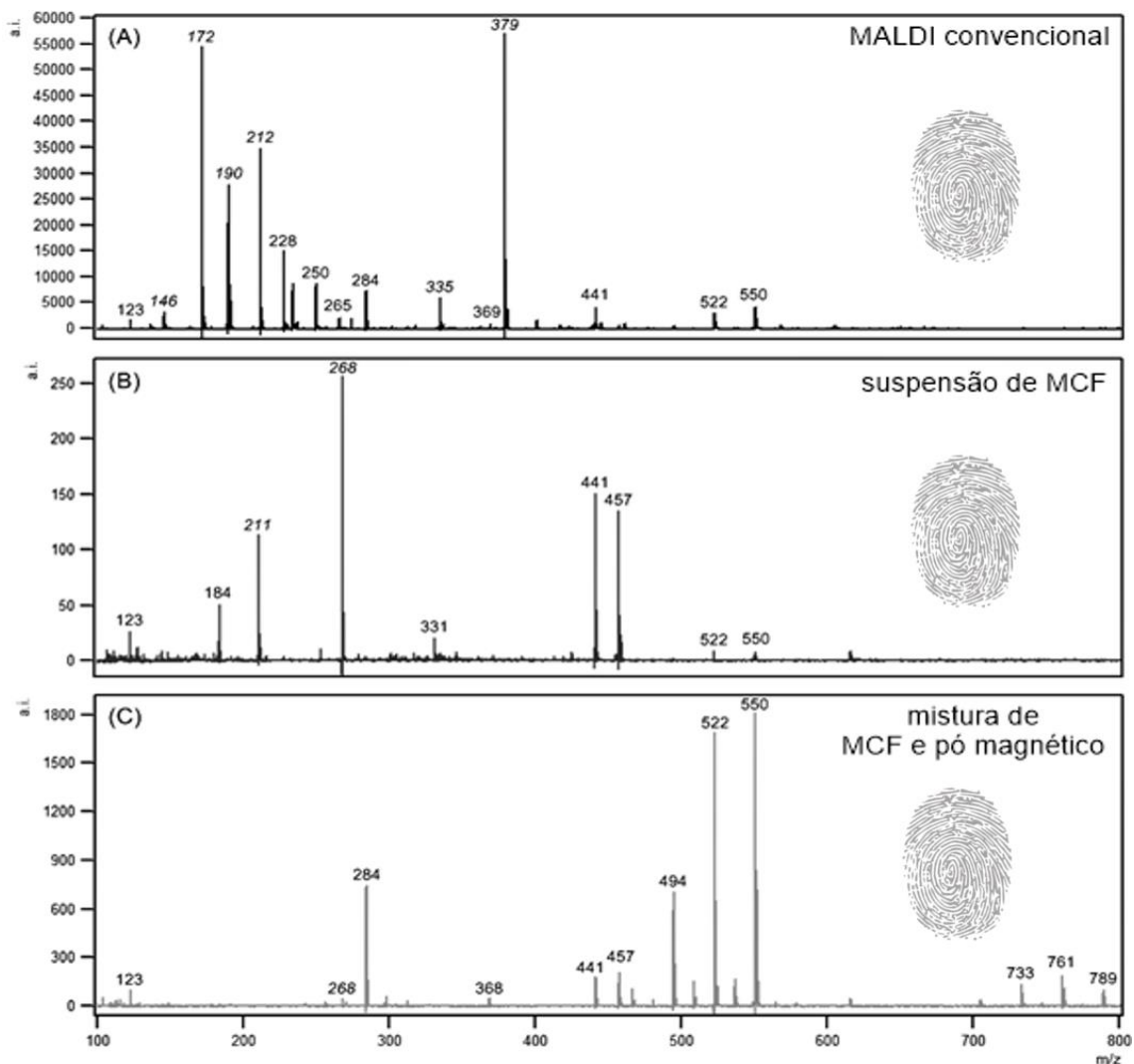
**Fig. II-4.** Espectros LDI-MS representativos da faixa de massa molecular baixa adquiridos mediante aplicação de 1  $\mu$ L de solução de matriz  $\alpha$ -CHCA (A) ou 1  $\mu$ L de suspensão etanólica de espuma de sílica mesocelular (MCF) (B) que foram separadamente depositados em placa de MALDI MSP 96.

Considerando as técnicas baseadas em nanomateriais aplicadas no presente estudo, uma diminuição do número de íons intensos foi observada e é desejável para as aplicações forenses, o que potencialmente poderia melhorar a detecção de drogas ilícitas e explosivos em impressões digitais [6,27,28], dentre outros compostos. No entanto, a redução geral na intensidade do sinal

(eixo y) observada nas abordagens SALDI-MS pode ser um fator limitante para a detecção de moléculas presentes em baixas abundâncias relativas, como pode ocorrer em materiais biológicos.

### *3.3. Análise de impressões digitais por MCF-LDI MS*

O tratamento das IDLs com métodos distintos permitiu a detecção de íons possivelmente relacionados a componentes moleculares endógenos ou exógenos (Fig. II-5). Os íons em  $m/z$  265 e 369 foram detectados nas IDLs de todos os doadores, quando tratadas com matriz  $\alpha$ -CHCA, demonstrando baixa intensidade e tendo sido previamente relatados por Wolstenholme et al. [4] em um estudo semelhante, utilizando MALDI-TOF MS. Esses íons, provavelmente, correspondem a fragmentos dos lipídeos endógenos ácido oleico e colesterol, respectivamente, e não foram detectados ao utilizar a suspensão etanólica da MCF ou a mistura MCF/pó magnético para tratar as IDLs.



**Fig. II-5.** Espectros LDI-MS representativos da faixa de massa molecular baixa de componentes de impressões digitais depositadas por doadora diretamente na placa de MALDI MSP 96 e tratada com matriz  $\alpha$ -CHCA (A), suspensão etanólica de MCF (B) ou mistura de MCF e pó magnético (C).

Os íons em  $m/z$  494, 522 e 550 foram detectados em todas as amostras e apresentaram sinais mais intensos em IDLs tratadas com matriz  $\alpha$ -CHCA (Fig. II-5A) ou a mistura de MCF e pó magnético (Fig. II-5C). Esses íons possivelmente correspondem a cátions de amônio quaternário que contêm grupos de hidrocarbonetos de cadeia longa, conforme relatado anteriormente por Manier et al. [29] utilizando espectrometria de massa de ionização por *electrospray* (ESI), tendo sido confirmados por determinações de massas exatas e fragmentação por MS/MS por Keller et al. [30]. Segundo aqueles autores, o íon em  $m/z$  550,6 corresponde ao dimetildiocetadecilamônio  $[C_{38}H_{80}N]^+$  e os íons em  $m/z$  522,6  $[C_{36}H_{76}N]^+$  e 494,6  $[C_{34}H_{72}N]^+$  são seus fragmentos, sendo contaminantes comuns em técnicas modernas de espectrometria de massa. No presente estudo, outro possível cátion de amônio quaternário foi detectado em

$m/z$  284 e provavelmente também está relacionado à presença de dimetildioctadecilamônio e seus fragmentos. Uma vez que a fonte mais provável desses produtos são amaciantes de roupas, conforme discutido no capítulo anterior (Capítulo I, Fig. I-6), além de possivelmente serem empregados em cosméticos e produtos de higiene pessoal [31], sua presença em IDLs não causou estranheza. Além disso, Bradshaw et al. [32] sugeriram que este composto ocorra devido às atividades diárias de limpeza que levariam a uma contaminação esperada. Os mesmos autores apontaram que o uso do íon em  $m/z$  550 como marcador molecular para o imageamento químico de IDLs recuperadas em cenas de crime deve ser incentivado.

Schmidt et al. [33] e Correa et al. [34] relataram a detecção de um conjunto de cátions de amônio quaternário em cédulas brasileiras de Real autênticas e carteiras de motorista, respectivamente. De acordo com os trabalhos daqueles autores, o conjunto de íons em  $m/z$  284, 368, 494, 522 e 550 pode ser utilizado como identidade química para garantir a autenticidade dos documentos. No entanto, o presente estudo concorda com outros que indicam a onnipresença de dimetildioctadecilamônio e seus fragmentos em IDLs [4,7,32,35–38], o que poderia dificultar o uso inequívoco de tais íons para a verificação da autenticidade de documentos que são comumente manuseados.

A detecção de íons em  $m/z$  733, 761 e 789 ocorreu com maior intensidade nas IDLs tratadas com a mistura de MCF e pó magnético (Fig. II-5C), o que pode indicar uma vantagem desta abordagem para a detecção de alguns compostos endógenos. De acordo com Emerson et al. [39], que estudou triacilgliceróis (TAGs) em um dedo indicador masculino por LDI-TOF MS, o íon em  $m/z$  789 pode ser um TAG oxidado. Além disso, os autores argumentam que, ao contrário dos óleos alimentares e outras aplicações que envolvem quantidades maiores de analitos, a incorporação de um solvente e/ou matriz no esquema de preparação da amostra para as IDLs produziram espectros sem componentes moleculares de interesse discerníveis na região dos TAGs. Contudo, se a detecção desses tipos de lipídeos, que são constituintes conhecidos das secreções da pele humana, pudesse ser favorecida por técnicas de LDI sem matriz, melhores resultados para essa faixa de massa teriam sido observadas no Capítulo I. No entanto, quando comparada à ionização utilizando a matriz  $\alpha$ -

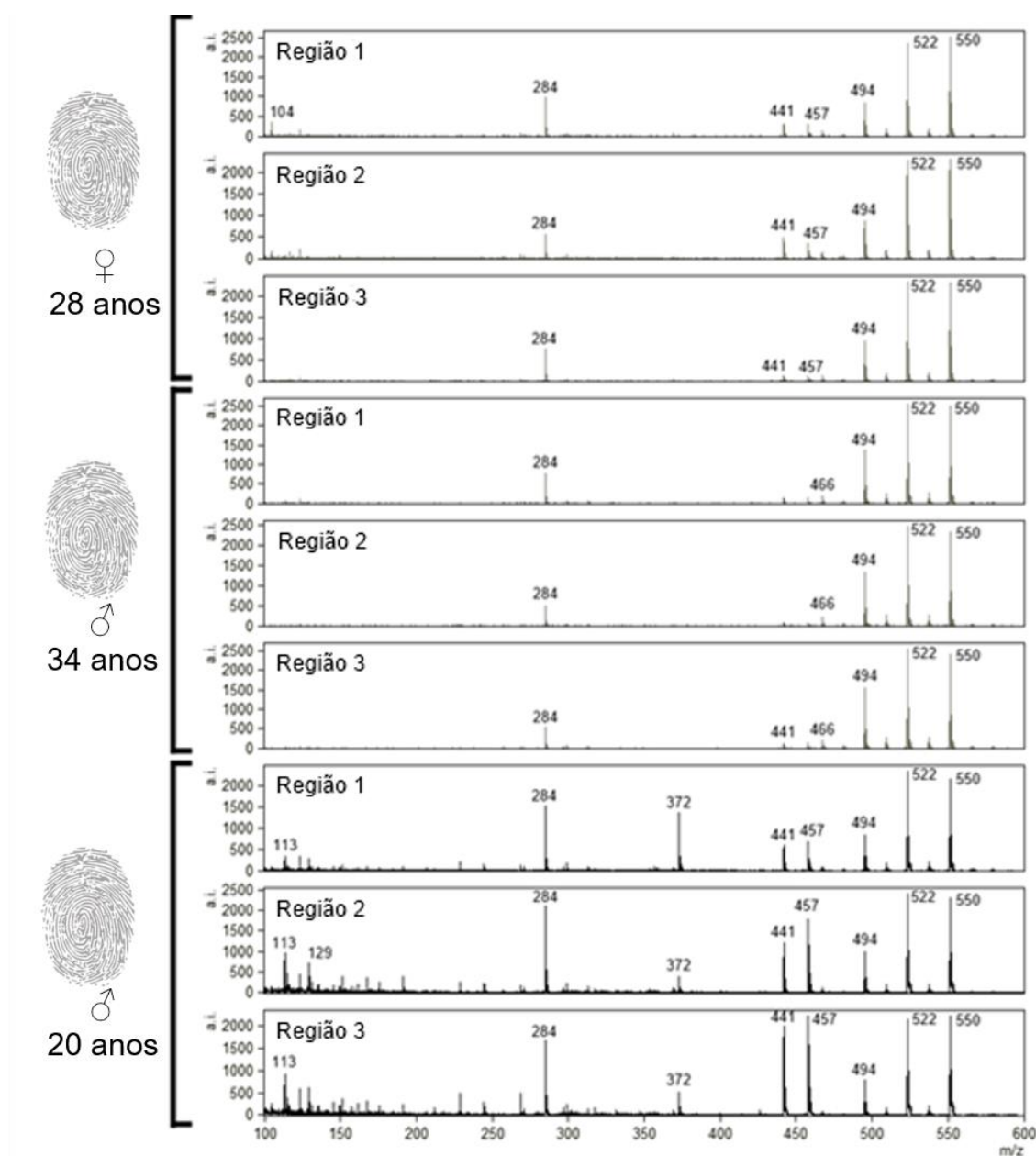
CHCA, as análises de LDI-MS de amostras tratadas com suspensão de MCF ou a mistura de pó resultaram em espectros com intensidade de íons reduzida (eixo y) (Fig. II-5B e II-5C). Além disso, foi necessário um aumento da intensidade do laser (cerca de 90%) para atingir uma intensidade de sinal satisfatória, o que, de fato, se mostrou uma desvantagem desta abordagem.

Considerando as abordagens alternativas aplicadas a LDI MS, a melhor intensidade do sinal foi obtida com o tratamento das amostras com a mistura de MCF e pó magnético (Fig. II-5C), quando comparada ao tratamento com a suspensão etanólica de MCF (Fig. II-5B). Da mesma forma, Ferguson et al. observaram maior intensidade de sinal e clareza dos detalhes das cristas nas IDLs tratadas pelo método de aplicação de matriz em pó, quando comparado ao método convencional de aplicação por pipetagem [41]. A forma de pó pode favorecer as interações entre o agente ionizante e as gotículas do resíduo de IDLs, favorecendo o processo de ionização.

Aparentemente, o tratamento das IDLs com a mistura de MCF e pó magnético não apresentou prejuízo no desempenho da revelação, em termos de detalhes de crista, como mostrado na Fig. II-2. O suporte MCF sozinho (isto é, não misturado com o pó magnético) consiste em um pó branco higroscópico que, em contato com o resíduo de impressão latente, forma regiões de agregação irregular, resultando em uma revelação sem nitidez de cristas. Vale ressaltar que após análises sucessivas das amostras, o método não se mostrou destrutivo, preservando sua adequação para fins de identificação. Mais testes foram realizados para avaliar possíveis vantagens do suporte de MCF como agente de SALDI-TOF MS para análise de IDLs. Investigações de amostras de um maior número de doadores e aproximações a cenários mais realistas, incluindo IDLs reveladas e decalcadas de outras superfícies, e transferidas para a placa foram discutidos nas seções subsequentes.

A abordagem apresentada utilizando a mistura de MCF e pó magnético demonstrou reprodutibilidade, uma vez que os espectros obtidos para diferentes regiões da mesma impressão latente demonstraram íons muito similares para cada doador (Fig. II-6). Os resultados sugerem que alguns íons podem ser úteis para distinguir IDLs de indivíduos distintos, como o íon em  $m/z$  372, detectado apenas na amostra do doador de 20 anos. Esse tipo de informação pode ser útil

para estabelecer uma conexão química entre borrões e impressões digitais nítidas que tenham sido produzidos por um mesmo indivíduo, conforme sugerido por van Dam et al. [40].



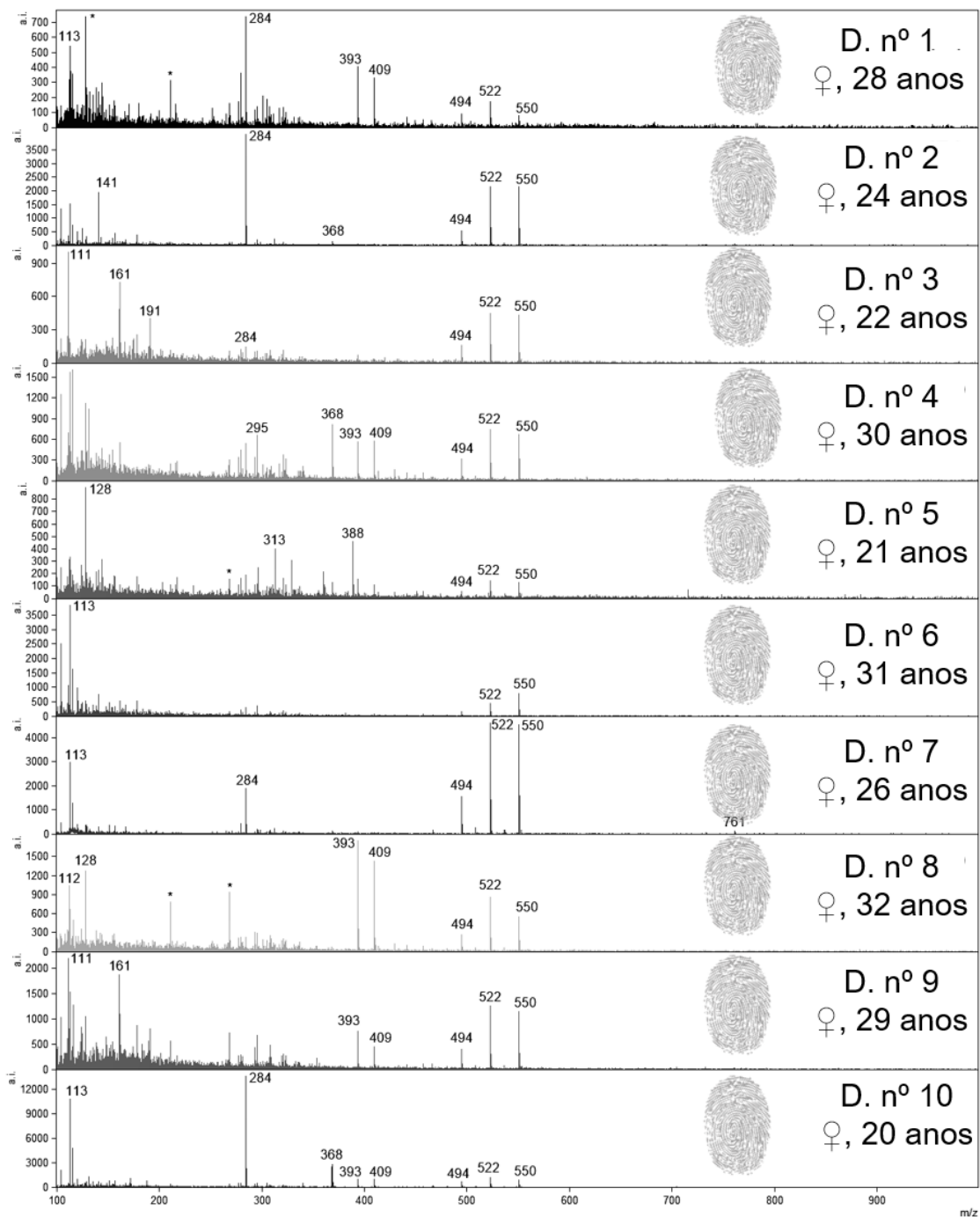
**Fig. II-6.** Espectros LDI-MS representativos da faixa de massa molecular baixa de componentes de impressões digitais depositadas por uma doadora de 28 anos, e doadores de 20 e 34 anos diretamente em uma placa de MALDI MSP 96 e tratadas com mistura de MCF e pó magnético. Cada espectro de um mesmo doador corresponde a uma região distinta da impressão tratada, conforme ilustrado na Fig. II-2.



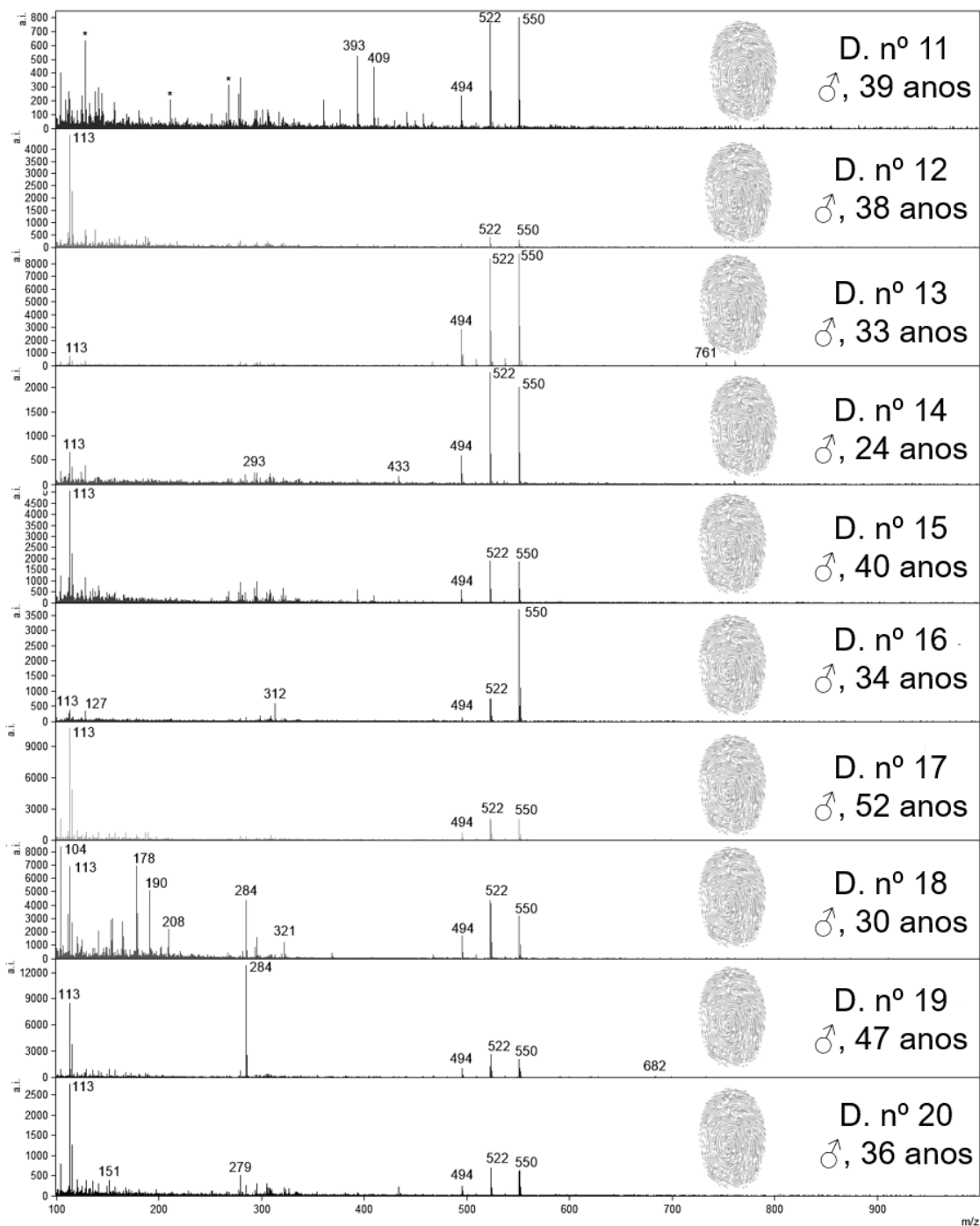
### 3.4. Outras abordagens

#### 3.4.1. Avaliação das IDLs de 20 doadores por SALDI-TOF MS utilizando a mistura de MCF e pó magnético

As figuras II-7 e II-8 apresentam os espectros obtidos para as IDLs de 20 doadores tratadas pela mistura de MCF ao pó magnético utilizado para a revelação das amostras produzidas sobre a placa de MALDI. Os resultados apontaram que, considerando homens e mulheres de diferentes idades, assim como os resultados obtidos anteriormente, há maior prevalência de íons detectados na faixa de  $m/z$  de 100 a 600, sendo que os íons em  $m/z$  550, 522, 494, 284 e 113 foram os mais frequentes nas amostras dos doadores. A detecção de íons possivelmente relativos ao surfactante catiônico dimetildioctadecilamônio, cuja origem provável é o amaciante de roupas não causou surpresas, uma vez que os mesmos íons foram detectados em IDLs pelas estratégias de LDI-TOF MS e MALDI-TOF MS (Capítulo I), além de já terem sido relatados em vários outros trabalhos de investigação química de IDLs [4,7,32,35–38].



**Fig. II-7.** Espectros SALDI-TOF MS representativos da faixa de massa molecular baixa adquiridos em IDLs tratadas com a mistura de MCF e pó magnético, de doadores nº 1–10, todos do gênero feminino. \*íons presentes no controle  $m/z$  116, 211, 268.



**Fig. II-8.** Espectros SALDI-TOF MS representativos da faixa de massa molecular baixa adquiridos em IDLs tratadas com a mistura de MCF e pó magnético, doadores n° 11–20, todos do gênero masculino. \*íons presentes no controle  $m/z$  127, 211, 268.

Observaram-se valores de média coincidentes para abundância de íons por espectro, para amostras produzidas por doadores do gênero masculino (média = 32) e feminino (média = 32), apesar das maiores frequências no uso de

medicamentos ou de cosméticos relatadas por mulheres (Tabela II-1). Chamou a atenção o fato do íon em  $m/z$  368 ter sido detectado com maior frequência em doadores do gênero feminino (Fig. II-7, doadores nº 2, 4, 10 e Anexo IV). Não foram detectados possíveis aminoácidos, diferentemente do observado por Lim et al. [26] utilizando nanopartículas de sílica. A baixa intensidade dos íons em  $m/z$  211 e 268 não permitiu confirmar a prévia sugestão de sua utilização como calibrantes internos.

Não foram encontradas prevalências de outros íons que pudessem estar relacionados a agrupamentos específicos como gênero, tabagismo, uso de medicamentos, ingestão de café ou outros hábitos. Logo, a abordagem empregada revelou que a mistura de MCF ao pó magnético para o tratamento de IDLs, apesar de efetivamente não comprometer a capacidade de revelação do pó magnético, não se mostrou plenamente adequada ao emprego nas rotinas periciais para análises químicas de IDLs. Tal conclusão se deve às baixas intensidades dos íons detectados e ao considerável ruído de fundo nos espectros, o que acabou tornando esses resultados bastante semelhantes àqueles obtidos para LDI-TOF MS (sem tratamento) (Capítulo I, Figuras I-4 e I-5, e(Anexo II).

Considerando cenários reais em que os pós de fina granulação são empregados para a revelação de IDLs, normalmente se precede ao decalque das impressões, após a aplicação do pó, para análise e posterior arquivamento dos vestígios relacionados ao crime. Para viabilizar este protocolo, acrescentando a ele uma eventual abordagem por SALDI-TOF MS, seria necessário recolher as IDLs de sua superfície original, preferencialmente com uma fita dupla face para que pudesse ser transferida para a placa de MALDI e ser submetida ao equipamento. Tal procedimento poderia gerar perdas de analitos, conforme discutido por Bradshaw et al. [42,43].

#### *3.4.2. Funcionalização do suporte de MCF*

A funcionalização do suporte de MCF com a matriz  $\alpha$ -CHCA utilizando APTES, descrita no item 2.2 não apresentou quaisquer melhorias nas detecções de componentes químicos em IDLs e nem na intensidade de sinal.

Também não foi obtido sucesso nas aquisições para IDLs decalcadas de outras superfícies, pois, aparentemente, o material adesivo da fita dupla face afetou o processo de desorção dos analitos presentes.

#### **4. CONCLUSÃO**

As abordagens por espectrometria de massa podem permitir análises químicas de moléculas endógenas e exógenas presentes em IDLs, adicionando informações valiosas às investigações. Métodos que contornem as interferências causadas por matrizes convencionais em análises químicas de moléculas pequenas podem ser vantajosos e, no presente capítulo, foi obtido êxito na ionização de componentes de IDLs utilizando uma mistura de MCF e pó magnético. Apesar da reprodutibilidade nas abordagens de SALDI-TOF MS ter sido capaz de apontar para a possibilidade de conectar borrões e impressões nítidas em um primeiro momento, ao investigar a aplicação em uma amostra de 20 indivíduos, não foi constatada uma unicidade química individual detectável.

Considerando as aplicações forenses de nanomateriais para técnicas de LDI-TOF MS na análise de amostras biológicas, os materiais à base de sílica devem ser investigados mais profundamente, incluindo a funcionalização da superfície para a detecção de moléculas específicas e detecção na faixa de massa molecular baixa.

## REFERÊNCIAS

- [1] A. Girod, C. Weyermann, Lipid composition of fingermark residue and donor classification using GC/MS, *Forensic Sci. Int.* 238 (2014) 68–82.
- [2] A. Girod, R. Ramotowski, C. Weyermann, Composition of fingermark residue: a qualitative and quantitative review, *Forensic Sci. Int.* 223 (2012) 10–24.
- [3] K.M. Antoine, S. Mortazavi, A.D. Miller, L.M. Miller, Chemical differences are observed in children's versus adults' latent fingerprints as a function of time, *J. Forensic Sci.* 55 (2010) 513–8.
- [4] R. Wolstenholme, R. Bradshaw, M.R. Clench, S. Francese, Study of latent fingermarks by matrix-assisted laser desorption / ionisation mass spectrometry imaging of endogenous lipids, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 23 (2009) 3031–9.
- [5] K. Kaplan-Sandquist, M. a LeBeau, M.L. Miller, Chemical analysis of pharmaceuticals and explosives in fingermarks using matrix-assisted laser desorption ionization/time-of-flight mass spectrometry, *Forensic Sci. Int.* 235 (2014) 68–77.
- [6] F. Rowell, J. Seviour, A.Y. Lim, C.G. Elumbaring-Salazar, J. Loke, J. Ma, Detection of nitro-organic and peroxide explosives in latent fingermarks by DART- and SALDI-TOF-mass spectrometry, *Forensic Sci. Int.* 221 (2012) 84–91.
- [7] R. Bradshaw, R. Wolstenholme, R.D. Blackledge, M.R. Clench, L.S. Ferguson, S. Francese, A novel matrix-assisted laser desorption/ionisation mass spectrometry imaging based methodology for the identification of sexual assault suspects, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 25 (2011) 415–22.
- [8] P. Hazarika, S.M. Jickells, K. Wolff, D.A. Russell, Multiplexed detection of metabolites of narcotic drugs from a single latent fingermark, *Anal. Chem.* 82 (2010) 9150–4.

- [9] M. Benton, M.J. Chua, F. Gu, F. Rowell, J. Ma, Environmental nicotine contamination in latent fingermarks from smoker contacts and passive smoking, *Forensic Sci. Int.* 200 (2010) 28–34.
- [10] A.Y. Lim, F. Gu, Z. Ma, J. Ma, F. Rowell, Doped amorphous silica nanoparticles as enhancing agents for surface-assisted time-of-flight mass spectrometry, *Analyst* 136 (2011) 2775–85.
- [11] C.-K. Chiang, W.-T. Chen, H.-T. Chang, Nanoparticle-based mass spectrometry for the analysis of biomolecules, *Chem. Soc. Rev.* 40 (2011) 1269–81.
- [12] P. A. Kuzema, Small-molecule analysis by surface-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry, *J. Anal. Chem.* 66 (2011) 1227–42.
- [13] A.Y. Lim, J. Ma, Y.C.F. Boey, Development of nanomaterials for SALDI-MS analysis in forensics, *Adv. Mater.* 24 (2012) 4211–6.
- [14] C. Lei, K. Qian, O. Noonan, A. Nouwens, C. Yu, Applications of nanomaterials in mass spectrometry analysis, *Nanoscale* 5 (2013) 12033–42.
- [15] T. Guinan, P. Kirkbride, P.E. Pigou, M. Ronci, H. Kobus, N.H. Voelcker, Surface-assisted laser desorption ionization mass spectrometry techniques for application in forensics, *Mass Spectrom. Rev.* 34 (2015) 627–40.
- [16] J. Wei, J.M. Buriak, G. Siuzdak, Desorption-ionization mass spectrometry on porous silicon, *Nature* 399 (1999) 243–6.
- [17] J.S. Lettow, Y.J. Han, P. Schmidt-Winkel, P.D. Yang, D.Y. Zhao, G.D. Stucky, J.Y. Ying, Hexagonal to mesocellular foam phase transition in polymer-templated mesoporous silicas, *Langmuir* 16 (2000) 8291–5.
- [18] P. Schmidt-Winkel, W.W. Lukens, D. Zhao, P. Yang, B.F. Chmelka, G.D. Stucky, V. Uni, S. Barbara, Mesocellular siliceous foams with uniformly sized cells and windows, *J. Am. Chem. Soc.* 121 (1999) 254–5.
- [19] D.J.N. Subagyono, Z. Liang, G.P. Knowles, A.L. Chaffee, Amine modified mesocellular siliceous foam (MCF) as a sorbent for CO<sub>2</sub>, *Chem. Eng. Res. Des.* 89 (2011) 1647–57.

- [20] A. Leśniewski, Hybrid organic–inorganic silica based particles for latent fingerprints development: a review, *Synth. Met.* 222 (2016) 124–31.
- [21] IFRG, Guidelines for the assessment of fingerprint detection techniques, *J. Forensic Ident.* 64 (2014) 174–200.
- [22] C.P. Mullens, S.R. Anugu, W. Gorski, S.B.H. Bach, Modified silica-containing matrices towards the MALDI-TOF-MS detection of small molecules, *Int. J. Mass Spectrom.* 308 (2011) 311–5.
- [23] R.M. Barros, B.E.F. Faria, S.A.S. Kuckelhaus, Morphometry of latent palmprints as a function of time, *Sci. Justice* 53 (2013) 402–8.
- [24] C. Lei, K. Qian, O. Noonan, A. Nouwens, C. Yu, Applications of nanomaterials in mass spectrometry analysis, *Nanoscale* 5 (2013) 12033–42.
- [25] M. Rainer, M.N. Qureshi, G.K. Bonn, Matrix-free and material-enhanced laser desorption/ionization mass spectrometry for the analysis of low molecular weight compounds, *Anal. Bioanal. Chem.* 400 (2011) 2281–8.
- [26] A.Y. Lim, Z. Ma, J. Ma, F. Rowell, Separation of fingerprint constituents using magnetic silica nanoparticles and direct on-particle SALDI-TOF-mass spectrometry, *J. Chrom. B* 879 (2011), 2244–50.
- [27] F. Rowell, K. Hudson, J. Seviour, Detection of drugs and their metabolites in dusted latent fingerprints by mass spectrometry, *Analyst* 134 (2009) 701–7.
- [28] A.Y. Lim, F. Rowell, C.G. Elumbaring-Salazar, J. Loke, J. Ma, Detection of drugs in latent fingerprints by mass spectrometric methods, *Anal. Methods* 5 (2013) 4378–85.
- [29] M.L. Manier, D.S. Cornett, D.L. Hachey, R.M. Caprioli, Identification of dimethyldioctadecylammonium ion ( $m/z$  550.6) and related species ( $m/z$  522.6, 494.6) as a source of contamination in mass spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 19 (2008) 666–70.
- [30] B.O. Keller, J. Sui, A.B. Young, R.M. Whittal, Interferences and contaminants encountered in modern mass spectrometry, *Anal. Chim. Acta* 627 (2008) 71–81.

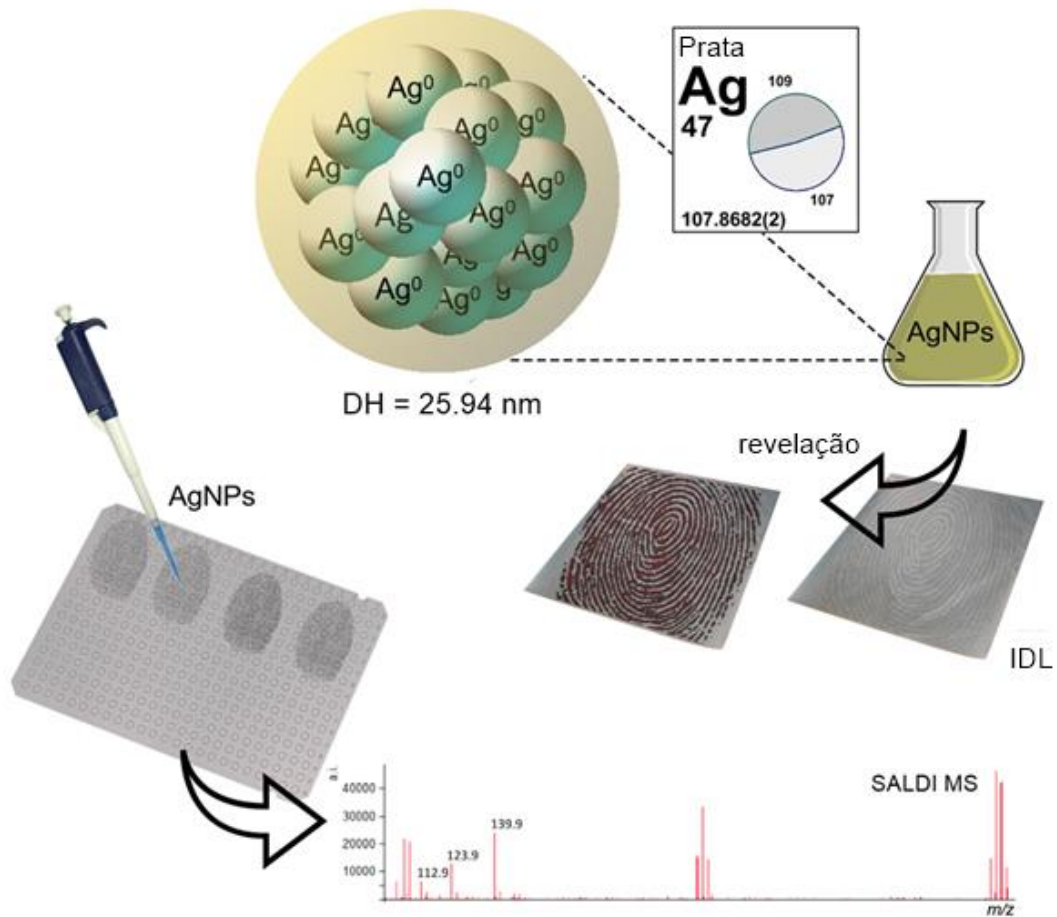


- [31] A. Paez, A. Howe. Skin deep the role of cationic emulsifiers in the development of modern skin care. High lipophile systems offer enhanced consumer benefits without sacrificing aesthetics. *Can. Chem. News* 56 (2004) 14–7.
- [32] R. Bradshaw, W. Rao, R. Wolstenholme, M.R. Clench, S. Bleay, S. Francese, Separation of overlapping fingerprints by Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation Mass Spectrometry Imaging, *Forensic Sci. Int.* 222 (2012) 318–26.
- [33] E.M. Schmidt, M. F. Franco, K.G. Regino, E.L. Lehmann, M.A.Z. Arruda, W.F.C. Rocha, R. Borges, W. Souza, M.N. Eberlin, D.N. Correa, Direct and non-destructive proof of authenticity for the 2nd generation of Brazilian real banknotes via easy ambient sonic spray ionization mass spectrometry, *Sci. Justice* 54 (2014) 459–64.
- [34] D.N. Correa, E.M. Schmidt, M.F. Franco, J.J. Zacca, W. Fortunato, D.C. Rocha, A.D.P. Barbosa, R. Borges, W. De Souza, M.N. Eberlin, Analyzing brazilian driver's license authenticity by easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry, *Am. J. Anal. Chem.* 7 (2016) 342–50.
- [35] M.J. Bailey, N.J. Bright, R.S. Croxton, S. Francese, L.S. Ferguson, S. Hinder, S. Jickells, B.J. Jones, S.G. Kazarian, J.J. Ojeda, R.P. Webb R. Wolstenholme, S. Bleay, Chemical characterization of latent fingerprints by matrix-assisted laser desorption ionization, time-of-flight secondary ion mass spectrometry, mega electron volt secondary mass spectrometry, gas chromatography/mass spectrometry, X-ray photoelectron spectroscopy, and attenuated total reflection Fourier transform infrared spectroscopic imaging: an intercomparison, *Anal. Chem.* 84 (2012) 8514-23.
- [36] R. Bradshaw, S. Bleay, R. Wolstenholme, M.R. Clench, S. Francese, Towards the integration of matrix assisted laser desorption ionisation mass spectrometry imaging into the current fingerprint examination workflow, *Forensic Sci. Int.* 232 (2013) 111–24.

- [37] S. Francese, R. Bradshaw, L.S. Ferguson, R. Wolstenholme, M.R. Clench, S. Bleay, Beyond the ridge pattern: multi-informative analysis of latent fingerprints by MALDI mass spectrometry, *Analyst* 138 (2013) 4215–28.
- [38] N. Lauzon, M. Dufresne, V. Chauhan, P. Chaurand, Development of Laser Desorption Imaging Mass Spectrometry Methods to Investigate the Molecular Composition of Latent Fingerprints, *J. Am. Soc. Mass Spec.* 26 (2015) 878–86.
- [39] B. Emerson, J. Gidden, J.O. Lay, B. Durham, Laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry of triacylglycerols and other components in fingerprint samples, *J. Forensic Sci.* 56 (2011) 381–9.
- [40] A. van Dam, F.T. van Beek, M.C.G. Aalders, T.G. van Leeuwen, S.A.G. Lambrechts, Techniques that acquire donor profiling information from fingerprints - A review, *Sci. Justice* 56 (2016) 143–54.
- [41] L.S. Ferguson, S. Creasey, R. Wolstenholme, M.R. Clench, S. Francese, Efficiency of the dry-wet method for the MALDI-MSI analysis of latent fingerprints. *J. Mass Spectrom.* 48 (2013) 677–84.
- [42] R. Bradshaw, N. Denison, S. Francese, Development of operational protocols for the analysis of primary and secondary fingerprint lifts by MALDI-MS imaging, *Anal. Methods* 8 (2016) 6795–804.
- [43] R. Bradshaw, N. Denison, S. Francese, Implementation of MALDI MS profiling and imaging methods for the analysis of real crime scene fingerprints, *Analyst* 142 (2017) 1581–90.

### CAPÍTULO III

## NANOPARTÍCULAS METÁLICAS PARA A REVELAÇÃO E ANÁLISE QUÍMICA DE IMPRESSÕES DIGITAIS LATENTES POR SALDI-TOF MS



**Fig. III-1.** Resumo gráfico do Capítulo III. Nanopartículas metálicas sintetizadas por rota verde foram utilizadas para o tratamento de IDLs visando a sua revelação e análise química por SALDI-TOF MS.

## RESUMO

Os avanços na nanotecnologia têm incluído o desenvolvimento de novas técnicas para a detecção de impressões digitais latentes (IDLs). Considerando os diferentes tipos de nanomateriais e suas aplicações, as nanopartículas metálicas têm sido utilizadas como agentes reveladores de IDLs presentes em superfícies não adequadas aos métodos tradicionalmente estabelecidos. O presente Capítulo III explorou uma nova abordagem utilizando nanopartículas de prata (AgNPs) e de ouro (AuNPs) produzidas por rotas de síntese verde para a revelação de IDLs em uma superfície metálica não porosa e molhada. Impressões digitais naturais, sebáceas e écrinas foram produzidas sobre folhas de papel alumínio comerciais por doadores distintos e mantidas em uma suspensão de AgNPs ou AuNPs em recipientes individuais. As nanopartículas metálicas também foram avaliadas como alternativas às matrizes convencionais em espectrometria de massa por ionização/dessorção a laser. As impressões reveladas apresentaram cristas de coloração marrom escura com detalhamento nas amostras naturais ou sebáceas. As abordagens de espectrometria de massa apresentaram algumas vantagens, sendo que as AgNPs favoreceram a detecção de componentes endógenos e exógenos das IDLs. A síntese verde de nanopartículas metálicas pode oferecer um novo método econômico, ecologicamente amigável e escalonável para a revelação de IDLs em superfícies metálicas molhadas ou submetidas à umidade.

**PALAVRAS-CHAVE:** AgNPs, AuNPs, ciência forense, espectrometria de massa, impressões digitais.

## **ABSTRACT**

Advances in nanotechnology have included the development of new techniques and protocols for latent fingerprints (LFMs) detection. Considering the different types of nanomaterials and their applications, metal-based nanoparticles have been explored as developers for latent fingerprints present on surfaces that are not suitable for the traditionally established methods. The present Chapter III explored a new approach using green synthesized silver nanoparticles (AgNPs) and gold nanoparticles (AuNPs) for latent fingerprints development on a non-porous wetted metallic surface. Natural, groomed, and eccrine fingerprints were produced by three distinct donors over commercial aluminum foils and were maintained in a suspension of green synthesized AgNPs or AuNPs in individual recipients. The metallic nanoparticles were also evaluated as alternatives for conventional matrices on laser desorption/ionization mass spectrometry. The developed fingerprints showed dark-brownish ridges and presented fine ridge detail in natural or groomed fingerprints. Mass spectrometry approaches showed some advantages, and the AgNPs favored the detection of endogenous and exogenous components present in the marks. Green synthesized metallic nanoparticles may offer a new cost effective, eco-friendly, and easily scaled up method for application in metallic surfaces that have been wetted or submitted to moisture.

**KEYWORDS:** AgNPs, AuNPs, fingerprints, forensic science, mass spectrometry.

## 1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a nanotecnologia tem sido explorada para o fornecimento de novas possibilidades em ciências forenses, incluindo a detecção e tratamento de impressões digitais latentes (IDLs) [1]. Dentre as possíveis vantagens da escala nanométrica está a elevada razão entre a área de superfície e o volume de nanopartículas, o que é bastante desejável para a obtenção de seletividade e sensibilidade em aplicações baseadas nas interações de superfícies [2]. Além disso, outros atributos físicos, como a possibilidade de funcionalização da superfície das nanopartículas [3], características ópticas únicas [1] e propriedades de transporte de elétrons [2] podem ser bastante úteis, se empregadas para a detecção de IDLs. Assim, a nanotecnologia tem apresentado resultados inovadores no campo da perícia papiloscópica, tendo mostrado resultados mais atraentes do que aqueles produzidos por métodos historicamente estabelecidos [1,5].

As IDLs consistem de misturas complexas envolvendo as secreções da pele, podendo incluir contaminantes, que são transferidas da superfície da pele às superfícies de objetos tocados [5]. São vestígios materiais importantes no cenário forense, pois geralmente são indicativos da presença de pessoas e da manipulação de objetos e materiais encontrados em locais de crime. Normalmente, as IDLs encontram-se invisíveis e exigem que um ou mais agentes físicos ou químicos, chamados de “agentes reveladores”, estabeleçam contraste entre as cristas e os sulcos da impressão [6], o que é essencial para concluir o processo de identificação.

O trabalho de revisão desenvolvido por Girod et al. [5] demonstrou que as IDLs apresentam uma elevada diversidade de compostos naturais, que podem ser de origem écrina ou sebácea. Os de origem écrina são proteínas, aminoácidos, ureia, amônia, ácido úrico, creatinina e sais. Já os de origem sebácea são os ácidos graxos, ésteres graxos, diacilgliceróis, triacilgliceróis, colesterol e esqualeno. Além disso, podem estar presentes nas IDLs alguns contaminantes que podem ter importância forense, como fármacos, explosivos e drogas de abuso [7–9]. Sabe-se que alguns fatores podem alterar a qualidade da revelação de IDLs, sendo necessária a investigação sistemática da interação

físico-química específica ou inespecífica entre determinados materiais e os componentes das IDLs.

Além das nanopartículas de sílica [3,10], os pontos quânticos (QDs) [11–13] e nanocompostos [14–16], as nanopartículas metálicas têm oferecido resultados bastante promissores para a revelação de IDLs [2,17–20]. Dentre as nanopartículas metálicas de maior interesse, as nanopartículas de ouro (AuNPs) têm sido mais comumente empregadas, provavelmente devido à estabilidade do ouro frente à oxidação, tendo sido utilizadas na técnica de deposição multi metálica (MMD) para a revelação de impressões digitais [21]. A técnica se baseia na deposição de ouro coloidal no resíduo das IDLs seguido da redução da prata na superfície do ouro [2,6,21,22], e é indicada tanto para a recuperação de IDLs em superfícies porosas quanto em superfícies não porosas, secas ou molhadas [23].

Algumas pesquisas mostraram ainda a possibilidade de funcionalização das AuNPs permitindo o aprisionamento de moléculas de corantes, inclusive fluorescentes, nas cavidades da ciclodextrina (agente de cobertura), visando à utilização da fluorescência para a acentuação de contraste nas IDLs [18]. Stauffer et al. propuseram a técnica de deposição uni metálica (SMD) em substituição à técnica de MMD, adicionando hidroxilamina e cloreto áurico às IDLs tratadas com o ouro coloidal [24]. Outro agente revelador consagrado é o chamado “revelador físico de prata” (Ag-PD), o qual se baseia na interação entre nanopartículas de prata (AgNPs) (ou prata coloidal) e os constituintes hidrofóbicos do resíduo das impressões digitais [25], utilizando um sal de ferro para a redução do nitrato de prata aquoso [26]. Este método foi consolidado como um reagente para a revelação de IDLs em superfícies porosas, como papeis, podendo ser aplicadas nestas superfícies quando úmidas ou molhadas.

Uma vez que os métodos de síntese química de nanopartículas, como ocorre na síntese de alguns reveladores tradicionais à base de metais para IDLs, resultam em alguns componentes tóxicos que, se absorvidos, podem ter efeitos nocivos aos usuários e principalmente ao ambiente, as rotas de síntese verde têm sido investigadas. Destacam-se características eco amigáveis e rotas mais baratas, além de utilizarem propriedades redutoras de extratos de recursos biológicos, incluindo plantas [27]. Tais vantagens são particularmente relevantes

para soluções tecnológicas destinadas ao uso em larga escala, como é o caso dos agentes reveladores de IDLs, empregados em locais de crimes e laboratórios dos Institutos de Identificação.

A utilização de nanopartículas metálicas em espectrometria de massa por ionização/dessorção a laser assistida por superfície (SALDI MS) tem sido avaliada para análises de pequenas moléculas [28-30], incluindo a análise forense de IDLs por imageamento químico por meio de AgNPs-LDI MS [31]. O mecanismo mais aceito é de que a energia do laser dissocia a interação entre o analito e a superfície das AgNPs, transportando o analito para a fase gasosa [32]. Vantagens como uma alta tolerância a sais, eliminação de interferências de íons relacionados às matrizes convencionais, reprodutibilidade e presença de calibrantes internos também têm sido apontadas pelos autores [28].

No presente Capítulo III foi explorada uma nova abordagem utilizando suspensões de AgNPs e AuNPs sintetizadas por rotas de síntese verde para a revelação direta de IDLs produzidas sobre uma superfície metálica molhada.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### *2.1. Materiais*

Ácido  $\alpha$ -ciano-4-hidroxicinâmico ( $\alpha$ -CHCA), acetonitrila (ACN) e ácido trifluoroacético (TFA) foram adquiridos de Bruker Daltonics, JT Baker e Mallinckrodt, respectivamente. Nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) e cloreto de ouro (III) hidratado foram adquiridos de Prat-Lab Brasil e Sigma-Aldrich, respectivamente. Propanol (99%) (Vetec), metanol (Vetec) e hipoclorito de sódio (1%) foram obtidos de representantes comerciais locais. Ácido cítrico monohidratado (Vetec) foi utilizado para o ajuste de pH das suspensões de AgNPs. Também foi adquirido um amaciante de roupas de uso comercial (Mon Bijou) em um mercado local.



## *2.2. Síntese e caracterização das nanopartículas metálicas*

O extrato das folhas de uma planta nativa do bioma Cerrado foi utilizado para a síntese verde das nanopartículas de prata (AgNPs) ou de ouro (AuNPs), produzidas de acordo com o protocolo descrito por Bonatto e Silva [33]. A síntese foi monitorada por espectrofotometria de luz visível utilizando o espectrofotômetro UV-Vis Q898U (Quimis, Brasil) no comprimento de onda de 450 nm durante 2,5 h, com o uso de cubetas de plástico de 1 cm de comprimento. Ao final da síntese, as amostras foram caracterizadas opticamente como a curva de absorção a 350–550 nm para avaliar o pico de absorção máximo.

## *2.3. Espalhamento de luz dinâmico e potencial Zeta*

O diâmetro hidrodinâmico e o índice de polidispersividade (PDI) das AgNPs ou AuNPs foram analisados por espectroscopia de correlação de fótons (espalhamento de luz dinâmico - DLS) e o potencial Zeta por mobilidade eletroforética. As medições foram adquiridas utilizando um equipamento ZetaSizer Nano ZS (Malvern, Reino Unido) com laser He-Ne (4 mW) operando a 633 nm e detecção de luz em 173°. Três medições foram realizadas em modo automático, à temperatura ambiente e os dados adquiridos foram processados utilizando o programa *ZetaSizer*, versão 7.11.

## *2.4. Amostragem e preparação das IDLs para os ensaios de revelação*

Impressões digitais naturais, sebáceas e écrinas dos dedos indicador e médio direitos foram depositadas individualmente sobre folhas de papel alumínio comercial por três doadores não fumantes: uma mulher de 29 anos, um homem de 33 e outro de 40 anos. Além disso, todos declararam ter uma dieta omnívora, sem distúrbios de pele e não utilizavam nenhum medicamento durante o período do experimento. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília/Processo UnB nº. 65610716.5.0000.5558.

As impressões naturais foram produzidas sem lavagem ou preparação prévia. As impressões sebáceas foram produzidas a partir de um toque na testa

e na região do nariz. As impressões écrinas foram produzidas após cada doador lavar as mãos com água e sabão e, em seguida, manter a mão direita dentro de um saco plástico por 20 min, para estímulo da sudorese, conforme Ferguson et al. [34]. As amostras foram imediatamente tratadas ou deixadas a 25°C e 50% de R.H em incubadora durante 7 dias antes do tratamento. Cada IDL depositada sobre folha de alumínio foi separada cuidadosamente em tiras com uma tesoura no intuito de evitar danos devido ao manuseio das amostras. Cada tira foi depositada, individualmente, em placa de Petri com diâmetro de ~50 mm e numerada. Foram adicionados 5 mL da suspensão de AgNPs a cada placa, tendo em seguida sido cobertas e mantidas a 25°C e 50% de R.H. no escuro por um período de 24 h.

Adicionalmente, IDLs sebáceas de uma doadora não fumante de 22 anos e de um doador não fumante de 34 anos foram depositadas sobre folhas de papel alumínio para avaliação da revelação por deposição multi metálica (MMD). Foi realizado um tratamento inicial com suspensão de AuNPs, seguido de lavagem e tratamento com suspensão de AgNPs, conforme o protocolo para MMD estabelecido por Sametband et al. [22]. Também foi avaliada a revelação de IDLs submetidas apenas à solução de AgNPs em diferentes valores de pH ácido, regulado por concentração de ácido cítrico, visando o favorecimento de interações eletrostáticas entre as AgNPs e componentes das IDLs. Esse tratamento tratamento foi realizado pela imersão das IDLs sobre tiras de papel alumínio em suspensão de AgNPs pelo período de 2 h ou 96 h.

### *2.5. Avaliação de qualidade da revelação*

Para a aferição da qualidade da revelação, as impressões reveladas foram avaliadas considerando o quantitativo de detalhes de nível 2 em cristas Visíveis e foram fotografadas. Uma das IDLs reveladas foi submetida a uma ferramenta de extração de minúcias de sistema AFIS para quantificação e reconhecimento computadorizado (Dynamic Matching Array, NEC Latin America, v. 1.0). Essa impressão também foi submetida à pesquisa em uma base biométrica de 3,5 milhões de pessoas instalada no Instituto de Identificação da Polícia Civil do Distrito Federal.

## 2.6. Instrumentação e preparação de amostras para SALDI-TOF MS

As análises químicas foram realizadas utilizando um equipamento AutoFlex Speed MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Alemanha) equipado com um laser de nitrogênio (337 nm) com calibração externa (íons de matriz  $\alpha$ -CHCA em 190,04 e 379,09  $m/z$ ), em modo refletido positivo, na faixa de  $m/z$  100 a 1000, com 100 disparos do laser por ponto (2000 disparos por espectro). Foi aplicado 1  $\mu$ L de matriz  $\alpha$ -CHCA (10 mg/mL de  $\alpha$ -CHCA em 70:30 ACN–0,5% TFA aq.) ou suspensão de AgNPs ou de AuNPs (1 mM equivalente ao sal metálico) em poços individuais da placa de aço (MTP 384, Bruker Daltonics) livres e onde as amostras de IDLs estavam presentes. Os reagentes depositados foram secados à temperatura ambiente antes das análises de MALDI/SALDI.

Um método próprio de reposição, mistura e homogeneização das secreções da pele, com o objetivo de simular a condição natural da pele para a produção das amostras de IDLs, foi utilizado de acordo com protocolo de Barros et al. [35], consistindo em:

- (1) esfregação das palmas nos antebraços por 10 s;
- (2) leve toque na testa com a palma esquerda;
- (3) esfregação das palmas entre si por 10 s.

As IDLs foram produzidas a partir de um toque de média pressão do dedo indicador direito dos doadores em diferentes áreas de uma mesma placa de MALDI MS, de modo a não ocorrer sobreposição entre as IDLs depositadas. A produção das amostras se deu após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), conforme aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília/Processo UnB nº. 65610716.5.0000.5558 (ANEXO I).

Todas as análises foram conduzidas em três regiões distintas (poços) da mesma IDL, permitindo uma avaliação de reprodutibilidade. Também foi aplicado 1  $\mu$ L de amaciante de roupas comercial (1:10 H<sub>2</sub>O) sobre a placa, em triplicata, e deixado a secar à temperatura ambiente e analisado de maneira similar.

## 2.7. Doadores de IDLs para avaliação por SALDI-TOF MS

Foram selecionados seis doadores, entre homens e mulheres de diferentes idades, para a produção das IDLs para tratamento com AgNPs ou AuNPs visando à análise química na faixa de massa molecular baixa. As seguintes perguntas foram submetidas aos doadores:

- 1) Qual a sua idade?
- 2) Possui dieta específica? (ex: vegetariano, vegano)
- 3) É fumante? Se sim, quantos cigarros por dia?
- 4) Faz uso frequente de algum medicamento? Se sim, qual ou quais?
- 5) Utilizou algum medicamento nas últimas 24 h? Se sim, qual ou quais?
- 6) Tomou banho pela manhã (antes de doar suas impressões)?
- 7) Utilizou cosméticos como xampus, sabonetes, cremes, protetor solar e/ou maquiagem nas horas que antecederam o exame? Se sim, quais?
- 8) Possui o hábito de lavar a louça e/ou realizar a faxina em casa sem o uso de luvas?
- 9) Tem contato frequente com algum produto químico específico (exceto cosméticos)?
- 10) Ingeriu café (bebida) pela manhã (antes de doar suas impressões)?

Os doadores também foram questionados a relatar sobre doenças congênitas ou crônicas que possuíssem, incluindo quaisquer anormalidades. A Tabela III-1 apresenta as informações dos doadores baseadas em suas respostas.

**Tabela III-1.** Informações dos doadores de IDLs para análise por SALDI-TOF MS utilizando nanopartículas metálicas.

Tratamento	Gênero	Idade	Dieta	Tabagismo	Medicamento	Banho	Cosmético	Café
AgNPs	F	26	Não	Não	Progesterona	Não	Prot. solar	Não
AgNPs	M	48	Não	Não	Rosuvastatina	Sim	Não	Sim
AgNPs	F	33	Sim*	Não	Vitaminas	Sim	Creme/Maquiagem	Não
AuNPs	F	23	Não	Não	Não	Sim	Maquiagem	Sim
AuNPs	M	27	Não	Sim (2)	Não	Não	Creme	Sim
AuNPs	F	22	Não	Não	Não	Não	Creme/Maquiagem	Sim

\*não ingestão de carne vermelha

## 2.8. Protocolo de limpeza da placa

Notou-se que após a aplicação de nanopartículas metálicas sobre a placa de MALDI, os protocolos tradicionais para a limpeza da placa mostraram-se ineficientes para a remoção dos sinais, principalmente, dos íons da prata. Portanto, foi adotado um protocolo de limpeza de placa, desenvolvido no âmbito desta pesquisa, com as seguintes etapas:

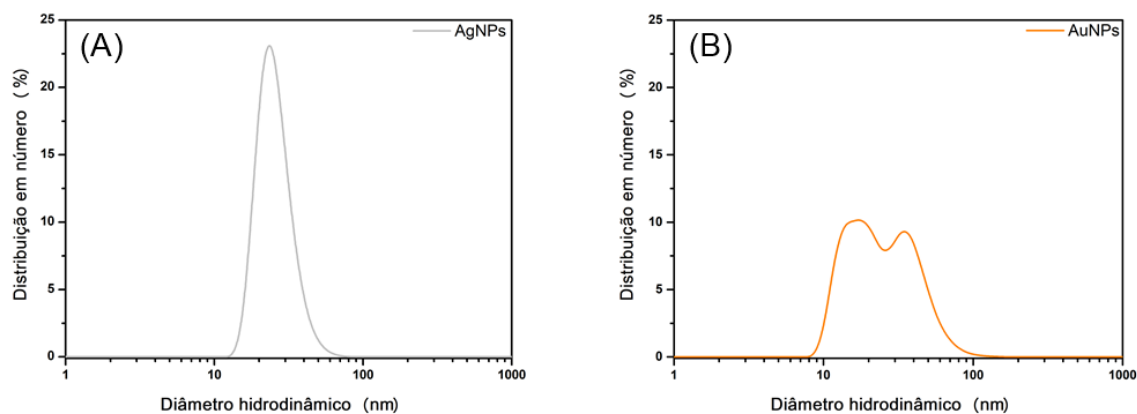
- (1) mergulhar a placa em solução de hipoclorito de sódio a 1% em água deionizada (1:3 v/v);
- (2) manter por 20 min sob agitação mecânica;
- (3) limpeza mecânica da superfície com lenço de papel de limpeza;
- (4) mergulhar a placa em solução de isopropanol e metanol;
- (5) manter por 20 min sob agitação mecânica;
- (6) limpeza mecânica da superfície com lenço de papel de limpeza.

A adoção deste protocolo contornou a necessidade de realizar um eventual polimento para a remoção dos íons metálicos adsorvidos na placa.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1. Caracterização das nanopartículas metálicas

O diâmetro nanométrico e o Pdl moderado das AgNPs e das AuNPs foram confirmados pela análise por DLS (Fig. III-2). Para as AgNPs foi obtido um diâmetro hidrodinâmico médio de  $25,94 \pm 0,30$  nm e um Pdl de  $0,659 \pm 0,085$ ; enquanto para as AuNPs os valores foram de  $94,26 \pm 4,53$  nm e  $0,353 \pm 0,041$ , respectivamente. Além disso, as AgNPs apresentaram um potencial Zeta de  $-33,4 \pm 2,6$  mV, indicando uma estabilidade coloidal moderada. Já as AuNPs apresentaram um potencial Zeta de  $23,8 \pm 2,3$  mV.



**Fig. III-2.** Curvas de distribuição de diâmetros hidrodinâmicos (dados em número %) obtidas por espalhamento de luz dinâmico das nanopartículas de prata (AgNPs) (A) e nanopartículas de ouro (AuNPs) (B) sintetizadas por rota verde.

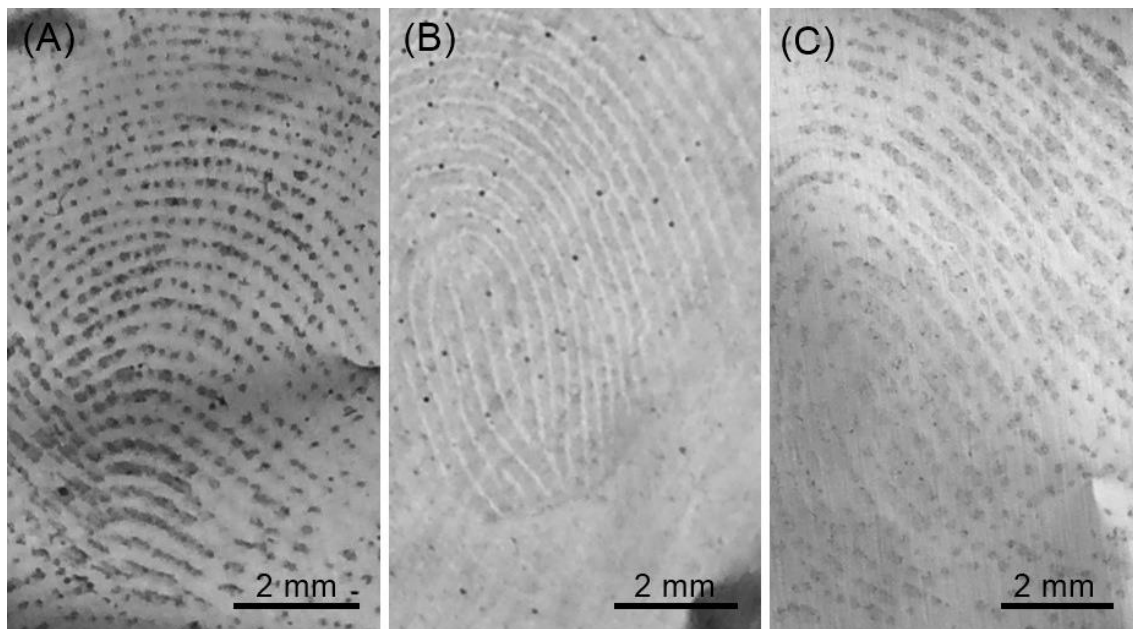
A mudança de cor da suspensão e análise espectrofotométrica foram utilizadas para monitoramento do sucesso da formação de AgNPs. As AgNPs absorvem radiação na região visível do espectro eletromagnético e as propriedades ópticas são diretamente relacionadas à ressonância plasmônica de superfície (RPS) [36-37]. O pico máximo observado em comprimento de onda de 420 nm indicou a formação e correspondeu à RPS das AgNPs.

Vários estudos relataram a possibilidade de aplicações de AgNPs produzidas por rotas de síntese verde em catálise [38], sensores [39], biomedicina e medicina [40–42]. No entanto, ainda não havia relatos na literatura sobre o uso dessas partículas para a revelação de impressões digitais latentes, sendo este artigo pioneiro quanto à essa aplicação.

### 3.2. Revelação das IDLs

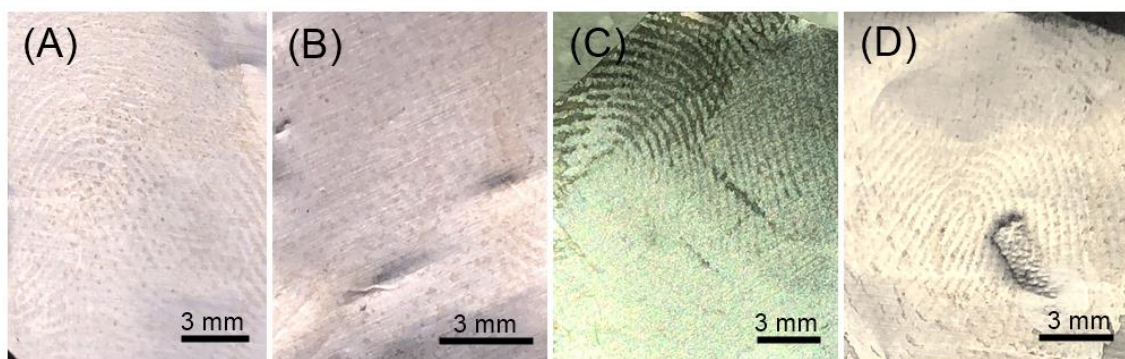
Em geral, foram obtidas revelações de boa qualidade ao utilizar a suspensão de AgNPs para o tratamento de IDLs naturais ou sebáceas, com um contraste maior entre cristas e sulcos observado para as amostras envelhecidas (Fig. III-3A). As IDLs reveladas apresentaram cristas de coloração marrom-escuro e, embora pontilhadas em alguns casos, apresentaram detalhes nítidos das cristas, resultados, em termos visuais, bastante parecidos aos obtidos a partir do emprego do revelador físico de prata (AgPD) para o tratamento de IDLs

por de la Hunty et al. [25]. Observou-se um contraste menos pronunciado para IDLs mais recentes (Fig. III-3B, III-3C). As IDLs écrinas não foram reveladas pelo método empregado.



**Fig. III-3.** Revelação de impressões digitais depositadas sobre folha de alumínio por suspensão de AgNPs sintetizadas por rota verde, ao longo de um período de 24 h: impressão sebácea produzida por doadora de 29 anos e tratada sete dias após sua aposição (A); impressão sebácea produzida por um doador de 33 anos e tratada imediatamente após sua aposição (B); impressão digital natural produzida por doador de 40 anos e tratada imediatamente após sua aposição (C).

As tentativas de revelação de IDLs utilizando a suspensão de AuNPs não obtiveram êxito, mesmo com a aplicação sequencial da suspensão de AgNPs. Uma possível explicação se refere à carga de superfície obtida para as AuNPs sintetizadas para o presente estudo. De acordo com alguns autores, o mecanismo de revelação por essa técnica se baseia na ligação entre as AuNPs carregadas negativamente e os componentes de carga positiva do resíduo das IDLs [21,22,43]. Tal hipótese subsidia a exigência de redução de pH nas soluções, em atendimento ao protocolo adotado [22]. Nesse sentido, as revelações utilizando a suspensão de AgNPs, carregadas negativamente, apresentaram melhores resultados para valores ácidos de pH (Fig. III-4), dispensando a etapa de tratamento com o ouro coloidal. O resultado do tratamento visando à revelação de IDLs em papel alumínio foi mais bem-sucedido, em termos qualitativos, para o período de 96 h nas faixas de pH de 2,5 e 4,5 (Fig. III-4C, III-4D).

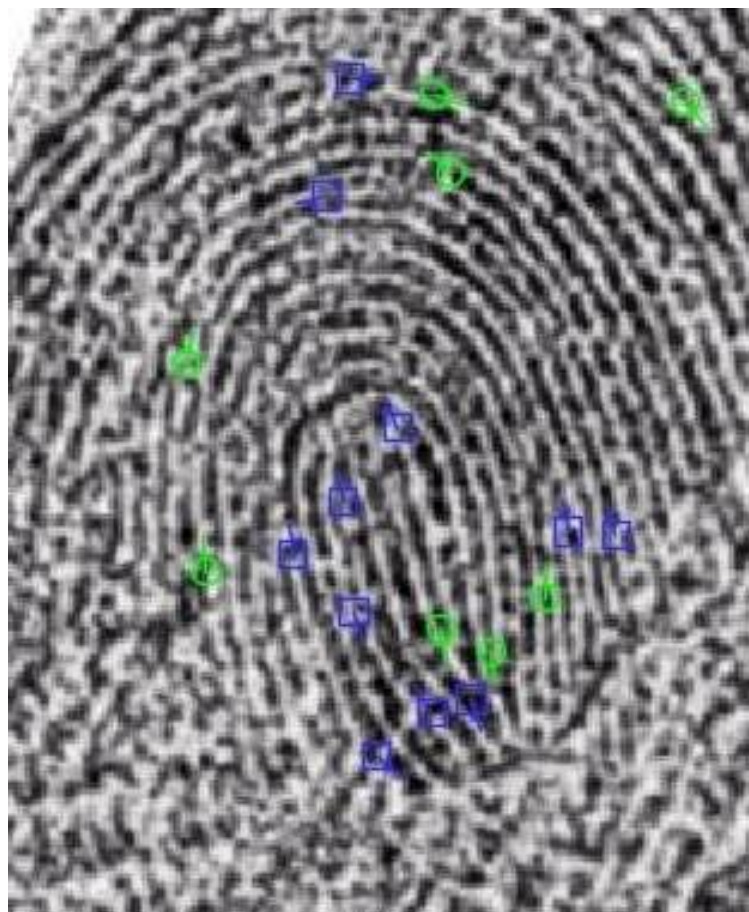


**Fig. III-4.** Tratamento de IDLs de doador do gênero masculino depositadas sobre folha de alumínio nos seguintes período e condição de tratamento com a suspensão de AgNPs: 2h, pH = 1 (A); 2h, pH = 2,5 (B); 96h, pH = 2,5 (C); 96h, pH = 4,5 (D).

O mecanismo envolvido na interação entre as nanopartículas e o resíduo de IDLs permanece sendo alvo de pesquisas. Conforme mencionado, a hipótese de interação eletrostática afirma que partículas carregadas negativamente são atraídas por componentes carregados positivamente, como aminoácidos, proteínas e lipídios insaturados, formando, assim, sítios de nucleação para agregação adicional de partículas [44,45]. Uma vez que esta hipótese foi recentemente questionada para a detecção das IDLs [46], o potencial Zeta negativo de AgNPs pode não desempenhar um papel tão significativo neste processo. É possível que as moléculas do extrato vegetal (por exemplo, fenóis e alcoóis) que participam como agentes redutores e de cobertura, também possam apresentar afinidade química por moléculas presentes no resíduo das IDLs.

A IDL revelada e submetida à ferramenta de extração de minúcias apresentou um número bastante satisfatório de minúcias reconhecidas automaticamente (em torno de 70 minúcias) e boa acentuação do contraste entre cristas e sulcos após o uso de filtros de imagem apropriados (Fig. III-5). O elevado número de minúcias reconhecidas normalmente corresponde a um resultado positivo na pesquisa por correspondência com padrões em um banco de dados com 3,5 milhões de indivíduos.





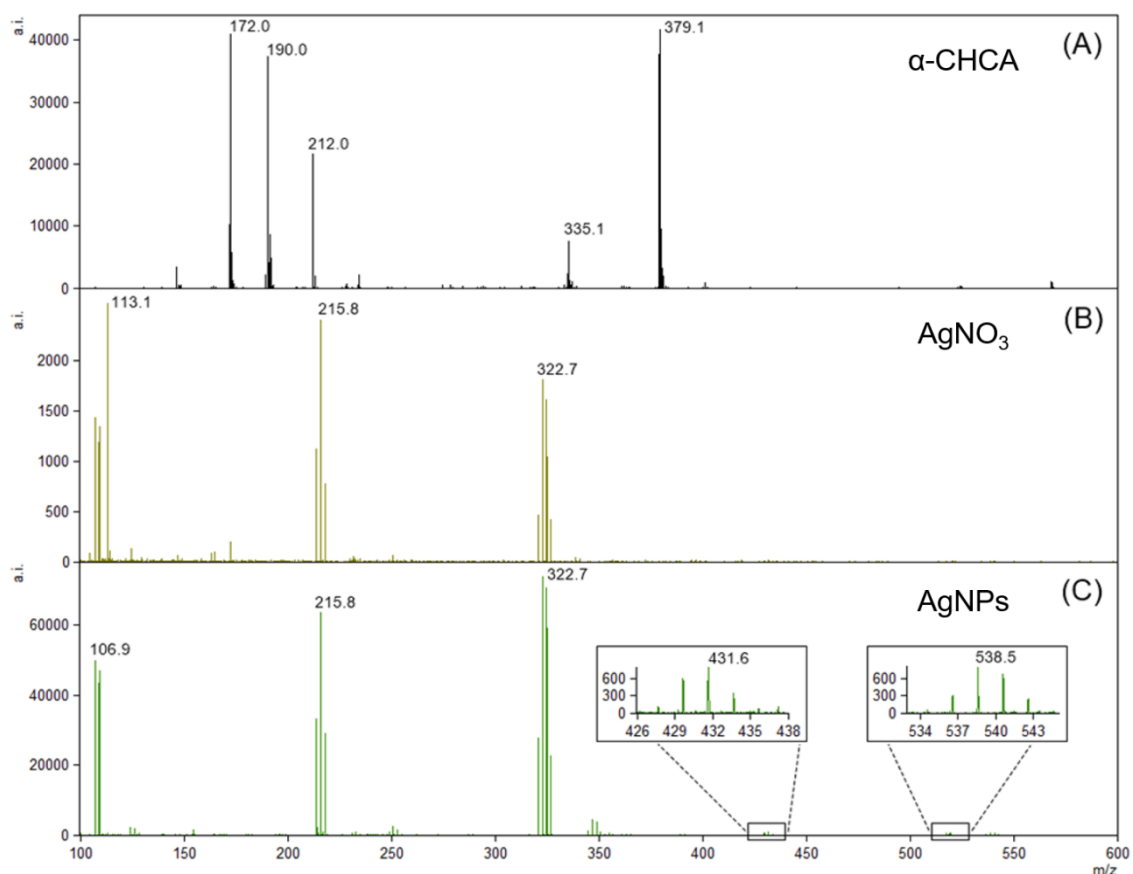
**Fig. III-5.** IDL identificada após revelação com AgNPs obtidas por rota verde e equalização de contraste seguida da extração de minúcias em uma ferramenta de sistema AFIS. As marcações verdes e azuis representam terminações de linha e bifurcações, respectivamente.

De acordo com Sodhi e Kaur [26], o AgPD tradicional é utilizado para detectar IDLs em luvas de látex, superfícies de borracha, lados adesivo e não adesivo de fitas adesivas, madeira, porcelana, tecidos sintéticos e diferentes tipos de papel. A revelação de IDLs em papel alumínio a partir do tratamento com AgNPs sintetizadas por rota verde se mostrou viável para a aplicação em superfícies metálicas molhadas ou submetidas à umidade.

### 3.3. AgNPs para SALDI-TOF MS

Considerando as inconveniências das matrizes comerciais para análises por MALDI-TOF MS, abordagens alternativas têm sido investigadas para alcançar uma detecção acurada de pequenas moléculas [32]. Os espectros de massa para a solução de  $\text{AgNO}_3$  ou suspensão de AgNPs foram obtidos na faixa

de massa molecular baixa, tendo sido menos ruidosos que os obtidos para a matriz  $\alpha$ -CHCA (Fig. III-6A). Os mesmos íons detectados no espectro da solução de  $\text{AgNO}_3$  ( $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Ag}_2^+$  e  $\text{Ag}_3^+$ , respectivamente nas  $m/z$  106,9; 215,8 e 322,7) (Fig. III-6B) apresentaram uma intensidade relativa pelo menos 20x maior para as AgNPs sintetizadas por rota verde (Fig. III-6C). Os íons correspondentes a  $\text{Ag}_4^+$  ( $m/z$  431,6) e  $\text{Ag}_5^+$  ( $m/z$  538,5) também foram detectados mas apresentaram uma intensidade menor do que aquela observada para os íons citados anteriormente (destaques da Fig. III-6C). Os íons da prata têm sido apontados como bons candidatos para a calibração interna, possivelmente oferecendo uma vantagem para a melhoria de acurácia na detecção [28–31]. Além disso, como apresentado por Lauzon et al. [47], os íons da prata podem ser facilmente determinados pela presença do padrão isotópico de  $^{107}\text{Ag}$  e  $^{109}\text{Ag}$ , com abundâncias relativas de 52% e 48%, respectivamente. Outras possíveis vantagens das AgNPs em LDI-TOF MS incluem a sua confiabilidade e janela estreita de íons, alta resolução, ausência de *sweet spots* (o que representa maior homogeneidade nas amostras) e uma ampla variedade de aplicações [28].

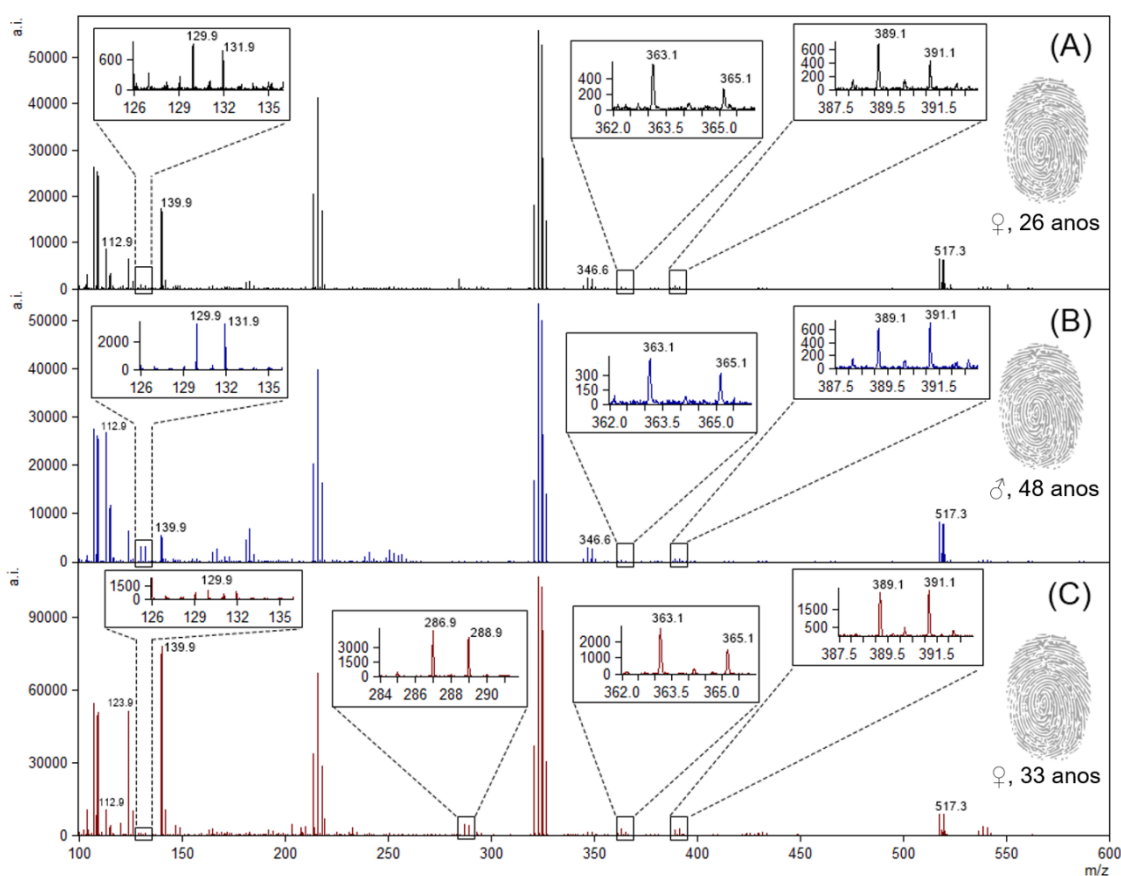


**Fig. III-6.** Espectros SALDI-TOF MS representativos da faixa de massa molecular baixa de matriz  $\alpha$ -CHCA (A), solução de  $\text{AgNO}_3$  (B) e suspensão de AgNPs sintetizadas por rota verde (C). Os destaques apresentam os íons de menor intensidade correspondendo a  $\text{Ag}_4^+$  e  $\text{Ag}_5^+$ .

### 3.4. Análise de IDLs por AgNPs-LDI MS

Os íons detectados em  $m/z$  112,9 e 123,9 foram observados com maior intensidade nas IDLs tratadas com a suspensão de AgNPs (Fig. III-7), mas também foram detectados na amostra controle de AgNPs. Os íons observados em  $m/z$  129,9 e 131,9 foram anteriormente sugeridos para a localização de cristas em IDLs por técnicas de imageamento químico [28], possivelmente correspondendo a  $[^{107}\text{Ag.Na}]^+$  e  $[^{109}\text{Ag.Na}]^+$ , respectivamente. Uma das prováveis fontes de sódio é a secreção das glândulas sudoríparas écrinas presentes em abundância nas regiões de pele espessa do corpo. O íon intenso em  $m/z$  139,9 foi exclusivo para as IDLs, no presente estudo, pois não foi detectado na amostra controle da suspensão de AgNPs. Para valores de  $m/z$  maiores, os resultados foram semelhantes aos apresentados na literatura, especificamente ao já citado estudo de Lauzon et al. [47], que investigou IDLs

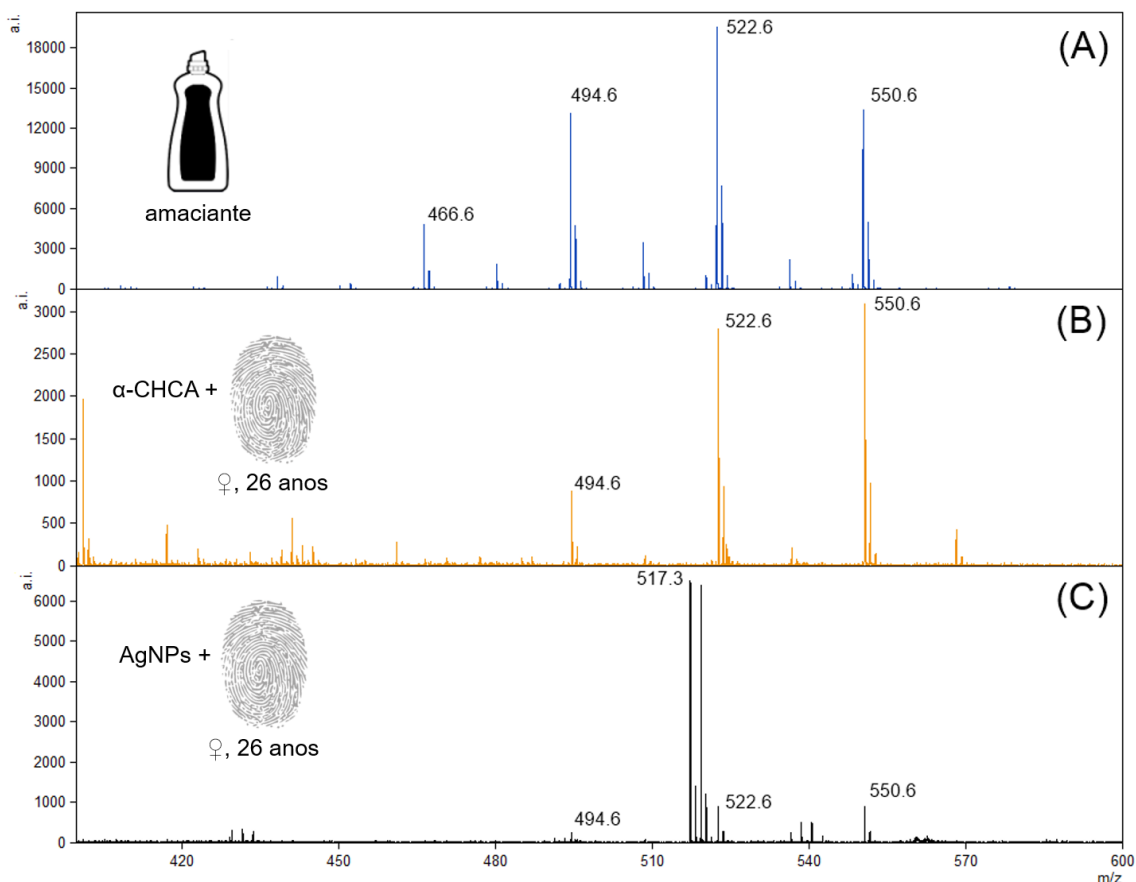
tratadas com a prata metálica por LDI-TOF MS. Tais detecções possivelmente correspondem aos íons resultantes da interação dos íons da prata com lipídeos:  $[M+^{107}\text{Ag}]^+$ ,  $m/z$  363,1 (ácido palmítico),  $m/z$  389,1 (ácido oleico) e  $m/z$  517,3 (esqualeno), com algumas diferenças em intensidades relativas (destaques na Fig. III-7). Em algumas IDLs, o íon em  $m/z$  286,9 apresentou uma considerável intensidade (Fig. III-7C, destaque), mas sua identificação precisará ser futuramente confirmada.



**Fig. III-7.** Espectros SALDI-TOF MS representativos da faixa de massa molecular baixa de componentes detectados em IDLs de uma doadora de 26 anos (A), um doador de 48 anos (B) e uma doadora de 33 anos (C) tratadas com a suspensão de AgNPs sintetizadas por rota verde. Os destaques mostram íons de menor intensidade com o padrão isotópico da prata.

Os íons em  $m/z$  550,6, 522,6 e 494,6 podem corresponder ao componente exógeno dimetildiocetadecilamônio e seus fragmentos. Tais componentes são comumente detectados em IDLs por diferentes abordagens [47–50] e sua provável fonte é o amaciante de roupas comercial, uma vez que íons de maior

intensidade relativa foram detectados pela análise da amostra do amaciante de roupas por LDI-TOF MS livre de matriz (Fig. III-8).

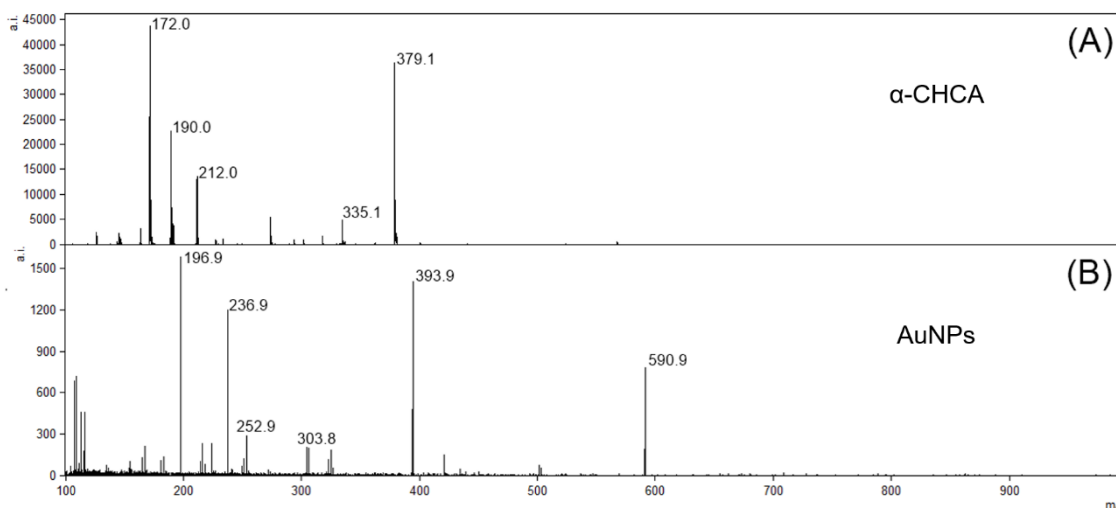


**Fig. III-8.** Espectros SALDI-TOF MS representativos da faixa de massa molecular baixa de componentes detectados em amaciante de roupa comercial (sem tratamento) (A); IDL de uma doadora de 26 anos tratada com matriz  $\alpha$ -CHCA (B); e IDL da mesma doadora tratada com a suspensão coloidal de AgNPs sintetizadas por rota verde.

### 3.5. AuNPs para SALDI-TOF MS

Assim como para as AgNPs, os espectros para a suspensão de AuNPs foram obtidos na faixa de massa molecular baixa, tendo, da mesma forma, apresentado menos interferentes que os obtidos para a matriz  $\alpha$ -CHCA (Fig. III-9). Os íons detectados no espectro de massa da suspensão de AuNPs foram  $\text{Au}^+$ ,  $\text{Au}_2^+$  e  $\text{Au}_3^+$  em  $m/z$  196,9; 393,9 e 590,9, respectivamente. Diferentemente da prata, o ouro é considerado o elemento monoisotópico de maior massa, apresentando apenas  $^{197}\text{Au}$  como isótopo estável [51]. A intensidade de sinal

(eixo y) da amostra de AuNPs (Fig. III-9B) mostrou-se muito inferior quando comparada à amostra de AgNPs (Fig. III-6C).

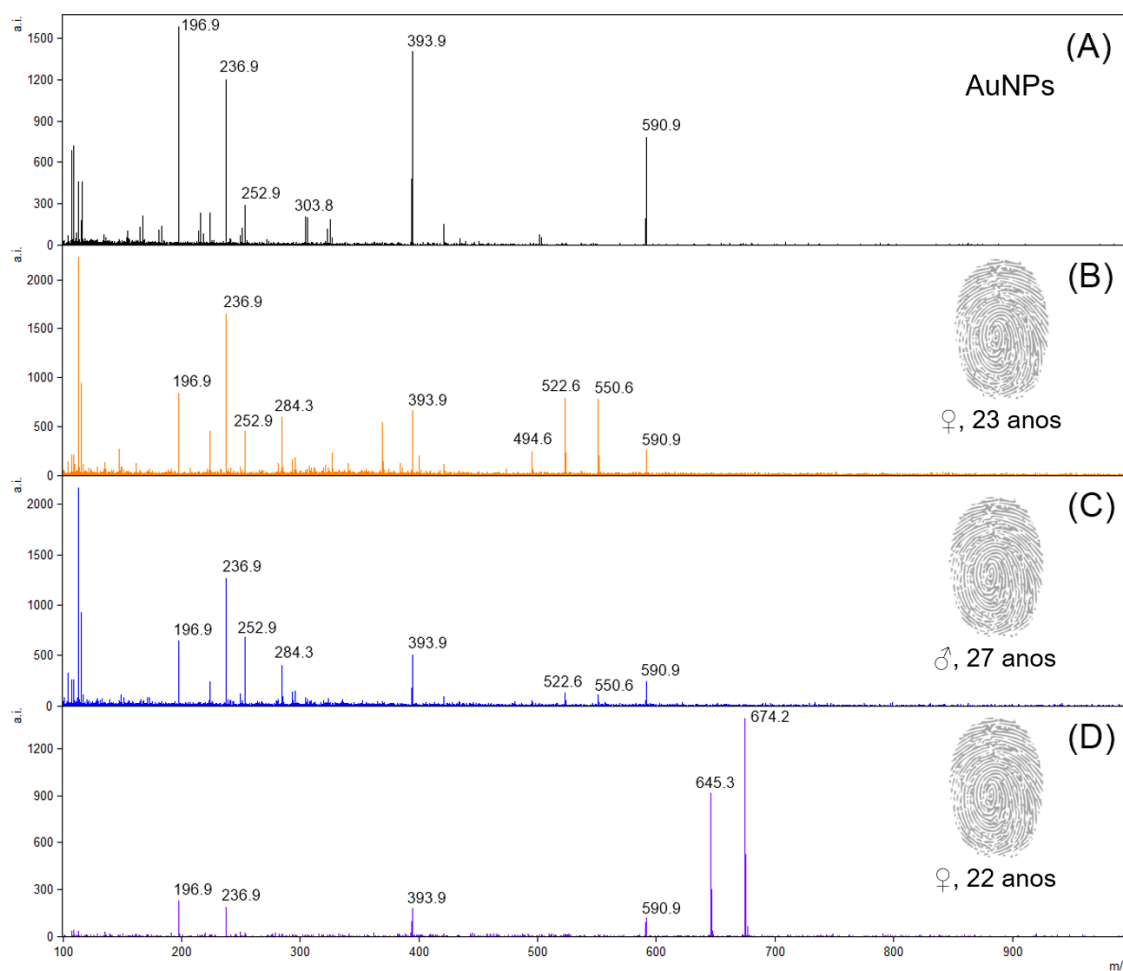


**Fig. III-9.** Espectros SALDI-TOF MS representativos da faixa de massa molecular baixa de matriz  $\alpha$ -CHCA (A) e suspensão de AuNPs sintetizadas por rota verde (B). Os íons nas  $m/z$  196, 393 e 590 correspondem, respectivamente, a  $\text{Au}^+$ ,  $\text{Au}_2^+$  e  $\text{Au}_3^+$ .

### 3.6. Análise de IDLs por AuNPs-LDI MS

A análise de IDLs utilizando a suspensão coloidal de AuNPs sintetizada por rota verde por SALDI-TOF MS apresentou a proeminência dos íons do ouro. As IDLs dos doadores nº 4 e 5 apresentaram os íons possivelmente referentes ao dimetildiocetadecilamônio e seus fragmentos nas  $m/z$  550, 522, 494 e 284 (Fig. III-10B e III-10C). A IDL da doadora de 22 anos (nº 6) apresentou íons exclusivos nas  $m/z$  645 e 674. Esses resultados não foram semelhantes aos obtidos por Sekuła et al. [52], que utilizaram AuNPs para o tratamento de placa de MALDI e análise de pequenas moléculas em diversas amostras, incluindo IDLs. No entanto, aqueles autores realizaram o enriquecimento da placa com cátions de sódio, para facilitar o processo de ionização. Ainda segundo Sekuła et al. [52], a técnica possui elevada acurácia, permite uma análise relativamente rápida e possui reprodutibilidade elevada. De acordo com Tang et al. [53], as AuNPs favorecem o processo de ionização/dessorção, permitindo uma análise direta de componentes endógenos e exógenos de IDLs. Os pesquisadores detectaram uma série de ácidos graxos em formas não protonadas, tendo sido possível a utilização da técnica também para o imageamento químico das IDLs.

Os nanomateriais de ouro têm sido utilizados como substratos de SALDI-TOF MS para a detecção de pequenas moléculas [52]. É possível que resultados mais promissores que os obtidos no presente Capítulo III, considerando o emprego de AuNPs para a análise de IDLs, venham a ser alcançados a partir de estratégias que favoreçam a interação dessas nanopartículas com os componentes presentes nas impressões.



**Fig. III-10.** Espectros SALDI-TOF MS representativos da faixa de massa molecular baixa de componentes da suspensão de AuNPs sintetizadas por rota verde (A) e componentes detectados em IDLs de uma doadora de 23 anos (B), um doador de 27 anos (C) e uma doadora de 22 anos (D) tratadas com a suspensão de AuNPs. Os íons nas  $m/z$  196, 393 e 590 correspondem, respectivamente, a  $Au^+$ ,  $Au_2^+$  e  $Au_3^+$ .

#### **4. CONCLUSÃO**

O desenvolvimento de novos reveladores de IDLs que apresentem vantagens sobre métodos convencionais é desejável por especialistas da área forense. Reveladores de IDLs que apresentem custo baixo, fácil escalabilidade para a síntese em larga escala e sejam amigáveis ao meio ambiente são ainda mais vantajosos, principalmente para os peritos que trabalham diretamente nos laboratórios de exames papiloscópicos e ficam diretamente expostos a esses materiais. No presente Capítulo III, suspensões de AgNPs e AuNPs obtidas por síntese verde foram utilizadas para o tratamento de IDLs, tendo as AgNPs demonstrado grande potencial para a revelação dos tipos naturais ou sebáceos em superfícies de papel alumínio molhado. Além disso, o tratamento das IDLs com as AgNPs sintetizadas por rota verde apresentaram uma alternativa promissora para a análise química adequada à detecção de componentes endógenos ou exógenos presentes em IDLs. Além disso, as possíveis detecções de alguns lipídeos endógenos e sais foram favorecidas por essa abordagem, com resultados melhores, para algumas detecções, que os apresentados pela técnica convencional, utilizando matriz.



## REFERÊNCIAS

- [1] J. Dilag, H.J. Kobus, A. V Ellis, Nanotechnology as a new tool for fingerprint detection: a review, *Curr. Nanosci.* (2011) 153-9.
- [2] M.J. Choi, A.M. McDonagh, P. Maynard, C. Roux, Metal-containing nanoparticles and nano-structured particles in fingerprint detection, *Forensic Sci. Int.* 179 (2008) 87-97.
- [3] S. Moret, A. Bécue, C. Champod, Functionalised silicon oxide nanoparticles for fingerprint detection, *Forensic Sci. Int.* 259 (2016) 10-8.
- [4] C. Lennard, Fingerprint detection: future prospects, *Aust. J. For. Sci.* 39 (2007) 73–80.
- [5] A. Girod, R. Ramotowski, C. Weyermann, Composition of fingerprint residue: A qualitative and quantitative review, *Forensic Sci. Int.* 223 (2012) 10-24.
- [6] J.B. Friesen, Forensic chemistry: The revelation of latent fingerprints, *J. Chem. Educ.* 92 (2015) 497–504.
- [7] K. Kaplan-Sandquist, M. a LeBeau, M.L. Miller, Chemical analysis of pharmaceuticals and explosives in fingerprints using matrix-assisted laser desorption ionization/time-of-flight mass spectrometry., *Forensic Sci. Int.* 235 (2014) 68–77.
- [8] F. Rowell, J. Seviour, A.Y. Lim, C.G. Elumbaring-Salazar, J. Loke, J. Ma, Detection of nitro-organic and peroxide explosives in latent fingerprints by DART- and SALDI-TOF-mass spectrometry, *Forensic Sci. Int.* 221 (2012) 84–91.
- [9] M. Benton, M.J. Chua, F. Gu, F. Rowell, J. Ma, Environmental nicotine contamination in latent fingerprints from smoker contacts and passive smoking., *Forensic Sci. Int.* 200 (2010) 28–34.
- [10] A. Leśniewski, Hybrid organic–inorganic silica based particles for latent fingerprints development: A review, *Synth. Met.* (2016) 4–11.

- [11] R. Yang, B. Xia, Y. Wang, J. Liu, Application of CdTe Quantum Dots to Development Fingerprints on Adhesive Surfaces, *Mater. Sci. Forum.* 694 (2011) 874–80.
- [12] C. Champod, P. Margot, A. Becue, Use of quantum dots in aqueous solution to detect blood fingermarks on non-porous surfaces, *Forensic Sci. Int.* 191 (2009) 36–41.
- [13] S.J. Ryu, H.S. Jung, J.K. Lee, Latent fingerprint detection using semiconductor quantum dots as a fluorescent inorganic nanomaterial for forensic application, *Bull. Korean Chem. Soc.* 36 (2015) 2561–4.
- [14] A. Lafi, I. Shehadi, M. El Naggari, H. Alawadhi, H.E. Abdou, A.A. Mohamed, Forensic Nanotechnology: Engineering Polyaniline Nanocomposites for Latent Fingerprints Development, *J. Nanosci. Nanotechnol.* 17 (2017) 2865–72.
- [15] M. Wang, M. Li, A. Yu, J. Wu, C. Mao, J. Accepted, Rare Earth Fluorescent Nanomaterials for Enhanced Development of Latent Fingerprints, *ACS Appl. Mater. Interfaces.* (2015).
- [16] Y.J. Jin, Y.J. Luo, G.P. Li, J. Li, Y.F. Wang, R.Q. Yang, W.T. Lu, Application of photoluminescent CdS/PAMAM nanocomposites in fingerprint detection, *Forensic Sci. Int.* 179 (2008) 34–8.
- [17] A. Becue, C. Champod, P. Margot, Use of gold nanoparticles as molecular intermediates for the detection of fingermarks, *Forensic Sci. Int.* 168 (2007) 169–76.
- [18] C. Champod, P. Margot, A. Becue, Fingerprint detection based on the in situ growth of luminescent nanoparticles — Towards a new generation of multimetal deposition, *Forensic Sci. Int.* 179 (2008) 39–43.
- [19] N. Jaber, A. Lesniewski, H. Gabizon, S. Shenawi, D. Mandler, J. Almog, *Angewandte Communications Visualization of Latent Fingermarks by Nanotechnology : Reversed Development on Paper — A Remedy to the Variation in Sweat Composition* , (2012) 12224–7.

- [20] S. Moret, A. Bécue, Single-Metal Deposition for Fingerprint Detection—A Simpler and More Efficient Protocol, *J. Forensic Identif.* 65 (2015) 118–137.
- [21] C. Fairley, S.M. Bleay, V.G. Sears, N. NicDaeid, A comparison of multi-metal deposition processes utilising gold nanoparticles and an evaluation of their application to “low yield” surfaces for finger mark development, *Forensic Sci. Int.* 217 (2012) 5-18.
- [22] M. Sametband, I. Shweky, U. Banin, D. Mandler, J. Almog, Application of nanoparticles for the enhancement of latent fingerprints., *Chem. Commun. (Camb)*. (2007) 1142–4.
- [23] P. Hazarika, D.A. Russell, Advances in fingerprint analysis, *Angew Chem. Int.* (2012) 3524–31.
- [24] E. Stauffer, A. Becue, K.V. Singh, K.R. Thampi, C. Champod, P. Margot, Single-metal deposition (SMD) as a latent fingerprint enhancement technique: An alternative to multimetal deposition (MMD), *Forensic Sci. Int.* 168 (2007).
- [25] M. de la Hunty, S. Moret, S. Chadwick, C. Lennard, X. Spindler, C. Roux, An effective Physical Developer (PD) method for use in Australian laboratories, *Aust. J. Forensic Sci.* 50 (2018) 666–71.
- [26] G.S. Sodhi, J. Kaur, Physical developer method for detection of latent fingerprints: A review, *Egypt. J. Forensic Sci.* 6 (2016) 44–7.
- [27] M. Ramya, M.S. Subapriya, Green synthesis of silver nanoparticles, *Int. J. Pharma Med. Biol. Sci.* 1 (2012) 55-61.
- [28] J. Nizioł, T. Ruman, Surface-transfer mass spectrometry imaging on a monoisotopic silver nanoparticle enhanced target, *Anal. Chem.* 85 (2013) 12070–6.
- [29] J. Nizioł, W. Rode, B. Laskowska, T. Ruman, Novel monoisotopic <sup>109</sup>AgNPET for laser desorption/ionization mass spectrometry, *Anal. Chem.* 85 (2013) 1926–31.

- [30] J. Nizioł, W. Rode, Z. Zieliński, T. Ruman, Matrix-free laser desorption–ionization with silver nanoparticle-enhanced steel targets, *Int. J. Mass Spectrom.* 335 (2013) 22–32.
- [31] J. Sekuła, J. Nizioł, W. Rode, T. Ruman, Silver nanostructures in laser desorption/ionization mass spectrometry and mass spectrometry imaging, *Analyst.* 140 (2015) 6195–209.
- [32] N. Bergman, D. Shevchenko, J. Bergquist, Approaches for the analysis of low molecular weight compounds with laser desorption/ionization techniques and mass spectrometry, *Anal. Bioanal. Chem.* 406 (2014) 49–61.
- [33] C.C. Bonatto, L.P. Silva, Higher temperatures speed up the growth and control the size and optoelectrical properties of silver nanoparticles greenly synthesized by cashew nutshells, *Ind. Crops Prod.* 58 (2014) 46–54.
- [34] L.S. Ferguson, F. Wulfert, R. Wolstenholme, J.M. Fonville, M.R. Clench, V.A. Carolan, S. Francese, Direct detection of peptides and small proteins in fingerprints and determination of sex by MALDI mass spectrometry profiling, *Analyst* 137 (2012) 4686–92.
- [35] R.M. Barros, B.E.F. Faria, S.A.S. Kuckelhaus, Morphometry of latent palmprints as a function of time, *Sci. Justice* 53 (2013) 402–8.
- [36] P.K. Jain, X. Huang, I.H. El-Sayed, M. El-Sayed, Review of some interesting surface plasmon resonance-enhanced properties of noble metal nanoparticles and their applications to biosystems, *Plasmonics* 2 (2007) 107–18.
- [37] V. Amendola, O.M. Bakr, F. Stallacci, A study of the surface plasmon resonance of silver nanoparticles by the discrete dipole approximation method: Effect of shape, size, structure, and assembly, *Plasmonics* 5 (2010) 85–97.
- [38] V.S. Suwith, D. Philip, Catalytic degradation of methylene blue using biosynthesized gold and silver nanoparticles. *Spectrochim Acta Mol Biomol Spectrosc.* 118 (2014) 526–32.

- [39] R. Sithara, P. Selvakumar, C. Arun, S. Anandan, P. Sivashanmugama, Economical synthesis of silver nanoparticles using leaf extract of *Acalypha hispida* and its application in the detection of Mn(II) ions, *J. Adv. Res.* 8 (2017) 561–8.
- [40] N. Khatoon, J.A. Mazumder, M. Sardar, Biotechnological applications of green synthesized silver nanoparticles. *J Nanosci. Curr. Res.* 107 (2017) 1–8.
- [41] S.J.P. Jacob, J.S. Finub, A. Narayanan, Synthesis of silver nanoparticles using *Piper longum* leaf extracts and its cytotoxic activity against Hep-2 cell line. *Colloids Surf B Biointerfaces* 91 (2012) 212–4.
- [42] I.-M. Chung, I. Park, K. Seung-Hyun, M. Thiruvengadam, G. Rajakumar, Plant-mediated synthesis of silver nanoparticles: Their characteristic properties and therapeutic applications. *Nanoscale Res. Lett.* 40 (2016) 1–14.
- [43] M.J. Choi, A.M. McDonagh, P. Maynard, C. Roux, Metal-containing nanoparticles and nano-structured particles in fingerprint detection, *Forensic Sci. Int.* 179 (2008) 87–97.
- [44] G.M. Mong, C.E. Petersen, T.R.W. Clauss, Advanced fingerprint analysis project fingerprint constituents, Pacific Northwest National Lab., Richland, 1999, pp. 1–14.
- [45] A.A. Cantu, J.L. Johnson, Silver physical development of latent prints, in: H.C. Lee, R.E. Gaensslen (Eds.), *Advances in fingerprint technology*, CRC Press, Boca Raton, 2001, pp. 242–7.
- [46] S. Moret, A. Bécue, C. Champod, Nanoparticles for fingerprint detection: an insight into the reaction mechanism, *Nanotechnology.* 25 (2014) 1–10.
- [47] N. Lauzon, M. Dufresne, V. Chauhan, P. Chaurand, Development of laser desorption imaging mass spectrometry methods to investigate the molecular composition of latent fingerprints, *J. Am. Soc. Mass Spec.* 26 (2015) 878–886.

- [48] R. Bradshaw, S. Bleay, R. Wolstenholme, M.R. Clench, S. Francese, Towards the integration of matrix assisted laser desorption ionisation mass spectrometry imaging into the current fingerprint examination workflow., *Forensic Sci. Int.* 232 (2013) 111–24.
- [49] S. Francese, R. Bradshaw, L.S. Ferguson, R. Wolstenholme, M.R. Clench, S. Bleay, Beyond the ridge pattern: multi-informative analysis of latent fingerprints by MALDI mass spectrometry., *Analyst.* 138 (2013) 4215–28.
- [50] R.M. Barros, M.C.H. Clemente, G.A.V. Martins, L.P. Silva, Application of mesocellular siliceous foams (MCF) for surface-assisted laser desorption ionization mass spectrometry (SALDI-MS) Analysis of fingerprints, *Sci. Jus.* 58 (2018) 264–70.
- [51] M.O. Faltens, D.A. Shieley, Mössbauer spectroscopy of gold compounds, *J. Chem. Phys.* 53 (1970) 4249–64.
- [52] J. Sekuła, J. Nizioł, W. Rode, T. Ruman, Gold nanoparticle-enhanced target (AuNPET) as universal solution for laser desorption/ionization mass spectrometry analysis and imaging of low molecular weight compounds, *Anal. Chim. Acta.* 875 (2015) 61–72.
- [53] H.W. Tang, W. Lu, C.M. Che, K.M. Ng, Gold nanoparticles and imaging mass spectrometry: double imaging of latent fingerprints, *Anal. Chem.* 82 (2010) 1589–93.

## CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente Tese obteve sucesso na avaliação de aspectos químicos de amostras de IDLs, assim como seu tratamento por nanomateriais no que tange a sua revelação e análise química por espectrometria de massa por ionização/dessorção a laser (LDI-TOF MS).

O Capítulo I demonstrou a viabilidade das abordagens por MALDI-TOF MS para a obtenção de perfis moleculares de IDLs produzidas por 24 doadores. Ainda que o emprego de matrizes convencionais tenha resultado na supressão de sinal de pequenas moléculas, o objetivo específico do capítulo pôde ser alcançado, ampliando-se a compreensão sobre aspectos químicos das IDLs. Adicionalmente, dados os resultados obtidos, tornou-se essencial a investigação de estratégias alternativas para avaliações moleculares dessas amostras, o que foi apresentado nos capítulos seguintes.

Nos Capítulos II e III foram avaliadas possíveis aplicações de nanomateriais objetivando contornar os atributos indesejáveis das matrizes convencionais. O Capítulo II demonstrou que foram viáveis análises químicas de IDLs empregando a espuma de sílica mesocelular (MCF), inclusive podendo ser associada a um revelador comercial de IDLs. Já o Capítulo III apresentou as vantagens do emprego de suspensões de AgNPs ou AuNPs sintetizadas por rotas verdes para o tratamento de IDLs, tanto visando a sua revelação quanto a investigação molecular por SALDI-TOF MS. Os nanomateriais utilizados foram caracterizados por diferentes técnicas e de acordo com sua natureza e estrutura.

Foram detectados possíveis componentes endógenos e exógenos de IDLs na faixa de massas moleculares baixas com obtenção de perfis moleculares por MALDI-TOF MS e SALDI-TOF MS. Como perspectivas futuras, IDLs contaminadas com drogas de abuso, explosivos, venenos e fármacos, dentre outros produtos de importância forense, poderão ser avaliadas pelas abordagens aqui apresentadas.

As vantagens dos nanomateriais para o contexto desta pesquisa puderam ser observadas tanto em relação à capacidade de atuarem como agentes ionizantes, quanto ao seu potencial emprego para a revelação das IDLs. Em especial, a formulação de AgNPs aqui utilizada apresentou um elevado potencial

para emprego em rotinas periciais; todavia, do ponto de vista prático, a transferência das IDLs reveladas sobre os suportes primários para a placa de MALDI, com a finalidade de obtenção de seus perfis moleculares, permanece sendo um desafio para concretizar as investigações multi-informacionais na construção de novas rotinas periciais.

As técnicas de LDI-TOF MS se destacam pelo caráter não destrutivo, por sua sensibilidade e praticidade. Porém, a identificação precisa dos íons detectados permanece como uma limitação, pois essas técnicas analíticas não oferecem uma alta resolução e, portanto, carecem de métodos complementares confirmatórios. Esse fato deve ser considerado para análises de amostras complexas, como as IDLs, as quais podem conter múltiplos componentes de origens desconhecidas e não apontados na literatura científica.

Tendo em vista que a Papiloscopia Forense é uma das áreas de grande relevância para as ciências forenses, visto a sua enorme contribuição para apontar os autores e outros envolvidos em eventos delituosos, os achados desta Tese apontam que o emprego de nanomateriais nesta área oferecem perspectivas promissoras em investigações sobre:

- 1) Caracterização química de IDLs visando elucidar a complexa variação de componentes endógenos e exógenos presentes na pele humana, bem como a sua evolução em função do tempo;
- 2) Funcionalizações dos nanomateriais de sílica, visando interações específicas que venham a favorecer a revelação e a análise de IDLs por SALDI-TOF MS;
- 3) Interações de nanopartículas metálicas com IDLs apostas sobre diferentes tipos de superfícies, assim como o estudo das condições de tratamento que otimizem essas interações;
- 4) Interações dos íons metálicos com diferentes moléculas que favoreçam a sensibilidade e a acurácia nas detecções por SALDI-TOF MS, contribuindo para um aumento de resolução e redução de ruído de fundo na obtenção de perfis moleculares;
- 5) O comportamento de outros nanomateriais frente às IDLs, podendo oferecer diferenças de contraste por coloração ou fluorescência e a



amplificação de sinais em técnicas analíticas, assim como o imageamento químico de IDLs.

## CRONOGRAMA DE ATIVIDADES

Semestre

Atividades	1º	2º	3º	4º	5º	6º	7º	8º
1. Revisão de literatura	x	x	x	x	x	x	x	x
2. Disciplinas da Pós-Graduação	x	x	x	x				
3. Preparação e submissão do projeto ao Comitê de Ética em Pesquisa	x	x	x					
4. Viabilização do método de tratamento das amostras por MALDI-TOF MS	x	x	x	x				
5. Detecção e provável identificação de componentes	x	x	x	x	x	x		
6. Viabilização do método de tratamento das amostras por LDI-TOF MS				x	x			
7. Avaliação da substituição da matriz por MCF			x	x	x	x	x	
8. Avaliação da funcionalização da MCF					x	x	x	
9. Caracterização de nanomateriais				x	x	x	x	
10. Exame de qualificação					x			
11. Avaliação da substituição da matriz por AgNPs						x	x	
12. Avaliação da substituição da matriz por AuNPs							x	
13. Análise de dados			x	x	x	x	x	
14. Participação em eventos de divulgação científica		x	x	x	x	x	x	x
15. Publicação de artigos científicos					x		x	x
16. Redação da tese								x
17. Defesa da tese								x

## ANEXOS


## ANEXO I

### Aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa e Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

#### - DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Análise multi-informacional de vestígios papilares por espectrometria de massa por ionização/dessorção a laser assistida por nanopartículas (NPs-LDI-MS)  
**Pesquisador Responsável:** Rodrigo Meneses de Barros  
**Área Temática:**  
**Versão:** 1  
**CAAE:** 65610716.5.0000.5558  
**Submetido em:** 10/03/2017  
**Instituição Proponente:** Instituto de Biologia da Universidade de Brasília  
**Situação da Versão do Projeto:** Aprovado  
**Localização atual da Versão do Projeto:** Pesquisador Responsável  
**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio



Comprovante de Recepção:  PB\_COMPROVANTE\_RECEPCAO\_812045

UNB - FACULDADE DE  
MEDICINA DA UNIVERSIDADE  
DE BRASÍLIA



#### COMPROVANTE DE ENVIO DO PROJETO

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Análise multi-informacional de vestígios papilares por espectrometria de massa por ionização/dessorção a laser assistida por nanopartículas (NPs-LDI-MS)

**Pesquisador:** Rodrigo Meneses de Barros

**Versão:** 1

**CAAE:** 65610716.5.0000.5558

**Instituição Proponente:** Instituto de Biologia da Universidade de Brasília

##### DADOS DO COMPROVANTE

**Número do Comprovante:** 020099/2017

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

Informamos que o projeto Análise multi-informacional de vestígios papilares por espectrometria de massa por ionização/dessorção a laser assistida por nanopartículas (NPs-LDI-MS) que tem como pesquisador responsável Rodrigo Meneses de Barros, foi recebido para análise ética no CEP UnB - Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília em 13/03/2017 às 08:47.

**Endereço:** Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina  
**Bairro:** Asa Norte **CEP:** 70.910-900  
**UF:** DF **Município:** BRASÍLIA  
**Telefone:** (61)3107-1918 **E-mail:** cepfm@unb.br



### **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE**

O(a) Senhor(a) está sendo convidado(a) a participar do projeto **Análise multi-informacional de vestígios papilares por espectrometria de massa por ionização/dessorção a laser assistida por nanopartículas (NPs-LDI-MS)**. O objetivo desta pesquisa é avaliar a aplicação de nanomateriais de sílica, nanopartículas metálicas (AuNPs, AgNPs, dentre outras) em amostras de vestígios papilares submetidas à análise química por espectrometria de massa por ionização/dessorção a laser (LDI-MS).

O(a) senhor(a) receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguramos que seu nome será mantido em rigoroso sigilo através da omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo(a). A sua participação será através da **produção de impressões digitais latentes, por meio de contato entre as falanges distais dos dedos indicadores, em placas apropriadas, não havendo qualquer incômodo físico. O procedimento será realizado no laboratório de Nanobiotecnologia, PBI/EMBRAPA/CENARGEM**, na data combinada de \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ com um tempo estimado de **10 minutos** para sua realização. Informo que o(a) Senhor(a) pode se recusar a responder (ou participar de qualquer procedimento) qualquer questão que lhe traga constrangimento, podendo desistir de participar da pesquisa em qualquer momento sem nenhum prejuízo. Sua participação é voluntária, isto é, não há pagamento por sua colaboração. Os resultados da pesquisa serão divulgados na Instituição **Universidade de Brasília** podendo ser publicados posteriormente. Os dados e materiais utilizados na pesquisa ficarão sob a guarda do pesquisador por um período de no mínimo cinco anos, após esse período serão destruídos ou mantidos na instituição. Caso possua qualquer dúvida quanto à pesquisa, por favor, telefone para o Dr(a). Luciano Paulino da Silva, no Laboratório de Nanobiotecnologia, PBI telefone: (61) 34484969, no horário: 08:00 às 18:00 h.

Este projeto foi Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do sujeito da pesquisa podem ser obtidos através do telefone: (61) 3107-1918 ou do e-mail [cepfm@unb.br](mailto:cepfm@unb.br).

Tendo compreendido os objetivos, riscos e benefícios de sua participação na pesquisa e havendo concordância quanto a sua participação na mesma, o campo abaixo deverá ser preenchido e assinado.

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_  
Nome / assinatura

\_\_\_\_\_  
Rodrigo Meneses de Barros (pesquisador responsável)  
PPGNano – Universidade de Brasília  
Tel: 61 98116-7081

Brasília, \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

*Este documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o sujeito da pesquisa.*

## ANEXO II

### Tabelas de íons *m/z* e intensidade

#### LDI-TOF MS

D1		D2		D3		D4		D5	
<i>m/z</i>	Intens.	<i>m/z</i>	Intens.	<i>m/z</i>	Intens.	<i>m/z</i>	Intens.	<i>m/z</i>	Intens.
104	697	103	192	112	247	111	845	103	321
105	155	104	1615	113	201	113	388	104	4853
113	1099	106	171	211	174	121	215	106	469
115	625	110	169	256	126	123	257	111	578
120	245	111	299	268	150	124	198	113	8620
121	148	113	3168	284	1022	125	295	115	3815
125	155	115	1287	293	134	145	237	117	270
135	326	120	672	308	104	148	682	120	2729
141	335	121	179	312	124	161	2540	121	1249
149	190	125	152	368	147	173	323	125	1255
151	693	141	459	466	98	174	296	131	346
165	126	151	267	494	724	175	385	141	3856
167	289	154	140	522	2409	177	232	143	419
191	97	167	219	550	2365	178	315	149	420
284	4154	284	2226			185	351	151	718
295	106	293	188			187	210	154	313
312	107	295	160			189	463	157	1717
319	104	312	193			190	412	161	373
321	95	321	156			191	743	165	560
494	324	368	147			201	253	167	1624
522	810	494	480			211	292	187	353
550	526	522	1795			268	341	189	269
		550	1988			293	251	191	246
						295	215	197	334
						321	130	213	397
						494	99	256	247
						522	266	265	216
						550	225	267	415
								268	197
								279	197
								281	500
								284	2927
								293	1244
								295	1076
								304	357
								307	239
								308	318
								309	311
								312	699
								319	369
								321	1376
								323	327
								335	278
								340	1095
								368	6913
								466	431
								480	163
								494	2547
								508	478
								522	6467
								536	352
								550	5067
								642	120
								733	148
								761	188

---

D6		D7		D8		D9		D10	
<i>m/z</i>	Intens.	<i>m/z</i>	Intens.	<i>m/z</i>	Intens.	<i>m/z</i>	Intens.	<i>m/z</i>	Intens.



522	4935	307	276	359	158
536	203	309	395	368	775
550	4665	319	227	466	428
629	98.4	321	786	480	121
760	83.8	323	233	494	999
		335	359	508	317
		354	216	522	1194
		359	498	536	148
		361	302	548	120
		363	159	550	756
		466	123	630	192
		494	818	642	118
		508	141	732	87
		522	2982		
		536	140		
		550	3127		
		627	130		
		629	220		
		631	115		
		697	92		

D16		D17		D18		D19		D20	
m/z	Intens.	m/z	Intens.	m/z	Intens.	m/z	Intens.	m/z	Intens.
112	182	100	283	104	2829	113	592	103	419
113	409	104	1153	106	321	115	261	104	2753
115	139	109	269	109	768	116	126	106	353
178	157	109	233	112	604	189	116	107	211
284	137	112	323	113	6364	284	3175	109	166
293	169	113	2501	115	2860	352	98	113	3031
295	171	115	1243	120	1218	494	94	115	1630
296	95	116	574	123	285	522	191	117	155
298	126	120	293	125	1160	550	155	120	1090
308	127	121	253	133	325			122	171
312	857	125	705	141	1860			123	210
319	179	129	309	143	266			125	336
321	394	135	226	149	474			129	183
323	127	141	1041	151	469			135	497
494	169	151	377	157	505			137	148
522	1096	167	341	165	407			141	345
550	6871	178	443	167	489			149	304
		284	350	178	257			151	789
		293	171	181	218			155	125
		295	262	191	463			157	228
		307	167	197	404			162	147
		308	339	203	754			165	182
		308	804	213	258			167	425
		312	165	219	1347			171	121
		321	227	279	198			173	120
		333	170	284	1114			181	140
		335	209	293	148			197	125
		336	274	295	235			265	116
		352	227	305	173			279	884
		433	145	308	322			284	149
		494	763	308	872			293	97
		508	171	319	141			295	318
		522	2201	321	248			303	95
		536	112	333	133			304	157
		550	2093	334	149			305	214
		643	181	335	193			307	290
				336	169			321	118
				368	192			323	97
				433	107			353	156
				494	502			369	87
				508	99			433	525
				522	2506			494	141
				536	130			522	582
				550	3004			550	538



## ANEXO III

### Tabelas de íons *m/z* e intensidade

#### MALDI-TOF MS

D1		D2		D3		D4		D5	
<i>m/z</i>	Intens.	<i>m/z</i>	Intens.	<i>m/z</i>	Intens.	<i>m/z</i>	Intens.	<i>m/z</i>	Intens.
104	311	104	140	104	198	104	287	139	213
146	170	139	531	128	141	128	153	146	475
164	357	146	298	139	246	146	372	147	201
172	2334	147	156	146	522	147	194	164	1082
178	420	164	955	147	277	164	785	172	6152
190	1968	172	4046	164	1529	172	5065	178	3068
192	159	178	965	172	6145	178	6924	189	233
212	3863	189	208	178	3469	189	239	190	4628
228	4576	190	3475	189	256	190	4289	192	441
234	272	191	466	190	5793	207	197	212	5502
250	856	192	380	191	660	212	9178	227	231
266	755	212	3394	192	628	227	187	228	4515
284	967	227	246	212	3858	228	4414	234	428
294	261	228	5363	227	240	234	630	250	671
335	183	230	239	228	2728	250	1008	266	367
354	456	234	171	234	190	256	147	272	224
379	1852	250	551	250	248	266	273	284	904
401	129	266	544	261	146	268	146	294	891
417	138	284	4419	266	149	282	152	295	351
522	102	294	770	284	1084	284	287	300	165
550	86	312	303	294	1017	294	672	304	351
691	184	335	498	295	269	295	339	312	147
		354	437	335	695	335	401	335	660
		368	120	354	626	354	938	340	194
		379	4423	379	6520	379	4622	354	1019
		400	138	400	121	401	299	368	987
		401	129	401	112	417	222	379	6376
		417	110	417	105	441	204	400	113
		441	108	441	139	522	86.7	401	188
		494	161	522	154			417	162
		522	689	568	139			441	340
		550	649					443	121
		691	101					522	120

D6		D7		D8		D9		D10	
<i>m/z</i>	Intens.	<i>m/z</i>	Intens.	<i>m/z</i>	Intens.	<i>m/z</i>	Intens.	<i>m/z</i>	Intens.
104	697	152	177	139	261	139	156	104	259
128	192	164	10764	164	154	164	133	146	251
130	185	172	54868	172	708	172	566	164	447
138	208	176	314	178	981	178	372	172	3135
139	186	178	30093	190	648	190	389	178	931
146	459	189	2241	212	1234	212	1426	190	2688
147	239	190	38889	228	1422	228	1787	212	1978
164	878	192	4652	234	121	234	135	227	138
172	4935	200	761	250	343	250	434	228	1323
178	6332	207	922	266	249	266	415	250	152
189	209	208	302	294	123	284	1288	256	116
190	4017	212	59619	295	116	354	192	266	133
192	394	227	2337	335	107	379	490	282	284
212	4421	228	36972	354	117	494	177	284	459
227	202	230	623	379	890	522	558	294	374
228	3550	231	1002	441	86.2	550	638	312	450
234	143	234	5524	522	250			335	309
250	387	247	372	550	343			354	495
250	140	250	8564	691	318			379	3714
256	168	252	351					494	233
266	235	256	881					522	593
284	347	266	3770					550	401

294	767	268	345	552	90.4
295	395	268	543	691	231
335	576	270	399		
354	898	274	195		
379	5262	278	355		
388	97	282	517		
400	150	284	4353		
401	162	291	355		
417	103	293	186		
441	245	294	8887		
568	77	295	3440		
		304	523		
		309	197		
		310	228		
		312	522		
		316	273		
		317	188		
		333	599		
		335	6547		
		337	901		
		354	6306		
		362	417		
		363	197		
		379	47746		
		400	1350		
		401	2531		
		413	301		
		417	1651		
		433	344		
		439	459		
		441	1662		
		443	504		
		445	177		
		455	280		
		461	288		
		471	316		
		494	352		
		506	227		
		522	1509		
		524	375		
		550	4741		
		568	1018		
		666	105		
		691	4552		

D11		D12		D13		D14		D15	
m/z	Intens.	m/z	Intens.	m/z	Intens.	m/z	Intens.	m/z	Intens.
100	1	102	307	104	57826	104	20692	104	13595
102	443	104	45078	107	2004	107	4350	107	1751
104	58711	107	935	114	964	116	1612	121	958
107	1097	114	810	116	1211	118	809	122	2283
113	393	116	833	117	510	121	2552	123	542
116	4410	118	540	118	914	122	7288	128	5394
117	1124	121	386	121	962	123	1561	130	2853
118	1152	122	1478	122	2965	128	8379	138	1646
121	528	123	520	123	933	130	4705	139	9889
122	2022	128	5518	128	9870	135	1072	146	15874
123	516	130	13184	130	16118	137	743	147	10000
128	9913	132	2015	132	2586	138	8671	150	2554
130	5554	137	403	138	14344	139	42895	152	653
135	456	138	5097	139	9349	146	43334	164	29619
138	5566	139	2732	146	20080	147	30536	172	162777
146	12189	144	271	147	12808	150	940	178	31212
147	6698	144	664	152	1469	152	3959	189	4905
150	1761	146	10769	156	441	156	716	190	89528
152	761	147	5892	160	537	162	763	191	16889
155	658	150	416	162	1066	164	94004	192	10884
161	409	152	926	164	38125	172	234151	194	787
162	603	162	537	172	139998	173	46100	207	927

163	447	163	344	173	18324	176	7054	212	122730
164	21037	164	20000	178	178664	178	191859	227	6948
172	135365	172	97554	191	28750	189	10824	228	92648
176	4233	173	8602	192	15359	190	178141	230	3759
178	170987	178	104018	194	7399	191	45977	234	14159
187	427	189	4218	207	1997	192	37525	250	33270
189	4788	190	61494	208	901	194	11694	252	1093
190	82740	191	10546	212	107810	199	1049	256	6053
191	12655	192	6880	227	9063	207	1545	266	21765
192	9550	194	3477	228	64184	208	1944	274	1085
194	5969	207	1400	231	2580	212	111304	284	338848
198	2041	208	425	234	11510	216	1283	285	55541
207	6570	212	86698	240	1295	225	1002	294	27178
212	131385	227	4258	241	6882	227	23031	304	2975
227	4738	228	42531	247	2044	228	50516	312	2528
228	43881	230	1041	250	18533	231	4837	326	1158
234	9435	231	1109	252	596	234	12198	333	1836
240	986	234	9733	256	1560	240	4079	335	17436
247	2459	240	1018	261	1217	242	1070	340	9652
250	7990	241	5215	266	8594	247	1392	354	21657
256	1476	247	1311	268	1503	250	15153	362	1590
261	773	250	13085	270	832	261	4072	369	54267
266	1501	252	390	274	2556	266	4464	379	126074
268	6857	256	526	278	1053	268	4989	395	1011
278	645	261	606	282	616	270	1447	400	5016
279	695	266	5557	284	4079	274	3145	401	7083
282	1436	268	809	291	984	278	2574	413	1023
284	8537	270	543	294	34487	284	3671	417	4450
291	804	274	575	295	9615	291	2334	433	1406
293	675	278	451	304	1078	294	76825	439	1389
294	17652	284	1511	308	912	304	1154	441	2099
295	24848	291	438	309	910	308	1884	455	649
301	1333	294	16998	310	710	309	2318	461	1298
303	769	295	3391	312	1417	310	1805	467	1160
304	838	304	547	316	1033	316	1290	471	1030
309	555	308	383	318	686	317	1574	477	904
312	1297	309	334	318	688	318	1425	494	6968
316	599	310	331	320	1054	320	1401	506	923
320	1421	312	425	327	731	327	1658	509	1219
333	1121	318	371	333	2679	331	1893	522	20540
335	12029	331	337	335	23362	333	5737	536	1300
337	1508	333	1081	337	2659	335	50408	550	20361
351	1628	335	8063	343	907	337	6295	568	1747
352	2660	337	808	354	19332	343	2484	666	312
354	14086	343	409	361	616	354	8664	691	20801
362	807	354	3972	362	2147	361	1822	733	323
368	1779	362	727	363	782	362	4459	761	361
379	81087	365	361	365	863	365	2749		
391	668	379	56879	367	655	379	222893		
395	2872	395	897	368	714	395	2512		
397	1045	397	299	379	116411	397	979		
400	2306	400	2295	395	1417	398	1326		
401	5253	401	2018	400	6511	400	13173		
407	1827	413	492	401	5249	401	5319		
413	524	417	2122	413	1316	413	2808		
417	6200	433	2009	417	4322	414	885		
433	2568	439	755	433	3210	417	1542		
439	1449	441	2141	439	1365	433	4803		
441	2045	443	779	441	5172	441	13095		
443	709	454	240	443	1620	443	4664		
454	2121	455	468	454	463	471	3290		
455	793	467	244	455	934	483	701		
471	2076	471	599	461	485	485	1447		
477	667	494	1715	467	619	494	948		
493	426	506	341	471	1271	506	2207		
494	1558	522	6483	483	455	520	604		
522	4948	536	274	485	733	522	3019		
524	695	550	6337	494	3841	524	2207		
550	2664	568	345	506	1209	550	2901		
564	2239	666	194	509	569	568	5309		
568	888	691	1003	522	10532	691	6759		

644	1235	761	138	524	1055
666	241			536	517
691	1686			550	8800
				568	2625
				644	298
				666	429
				691	7394

D16		D17		D18		D19		D20	
m/z	Intens.	m/z	Intens.	m/z	Intens.	m/z	Intens.	m/z	Intens.
104	1006	104	268	104	647	164	201	104	154
130	199	128	176	128	176	172	1278	139	181
138	481	130	168	130	516	178	193	172	474
146	742	146	591	146	246	190	903	178	451
147	365	147	238	164	752	212	1492	190	312
164	1483	164	1322	172	3934	228	1753	212	1619
172	9905	172	6992	176	148	234	209	228	1586
178	7012	178	4239	178	12685	250	501	234	176
189	377	189	273	189	225	266	330	250	557
190	6741	190	5983	190	4055	284	4603	266	382
192	731	192	755	194	182	294	189	284	241
208	128	207	172	207	486	304	244	304	249
212	5371	212	4004	212	3109	354	367	354	218
227	336	227	223	228	2510	379	810	379	496
228	2615	228	2825	234	122	494	94.9	522	172
234	258	234	182	247	117	522	575	550	159
250	385	250	296	250	151	550	882		
256	169	256	194	256	118				
282	169	266	137	282	150				
284	1639	274	144	284	509				
294	1052	282	233	294	429				
312	2907	284	415	295	754				
335	957	294	773	320	114				
354	1961	304	169	335	489				
379	8122	335	1055	354	620				
400	143	337	114	379	4732				
401	164	354	819	400	99.6				
417	106	379	7867	401	115				
441	144	400	105	417	134				
494	113	401	135	522	87				
522	1270	417	155	691	164				
550	5053	441	168						
568	108	522	233						
691	136	550	117						
		568	167						

## ANEXO IV

### Tabelas de íons *m/z* e intensidade

#### SALDI-TOF MS (MCF + Pó Magnético)

D1		D2		D3		D4		D5	
<i>m/z</i>	Intens.	<i>m/z</i>	Intens.	<i>m/z</i>	Intens.	<i>m/z</i>	Intens.	<i>m/z</i>	Intens.
112	257	104	4400	100	1463	100	501	104	1159
113	473	106	492	104	3840	103	735	111	656
113	448	107	272	109	2466	109	718	112	452
115	235	109	961	111	3937	111	1829	113	1347
115	263	111	419	113	1361	112	815	115	596
128	681	113	6913	121	1153	113	929	115	1399
129	213	115	3475	125	2978	116	493	124	393
132	209	120	1663	125	1380	124	571	128	1024
135	164	122	382	141	3008	125	661	131	1011
138	241	123	380	146	1356	128	1328	144	368
138	171	125	2115	148	1170	154	626	161	444
141	199	128	468	153	6078	178	439	268	277
144	281	133	273	154	9761	184	1122	277	300
145	168	135	330	163	1535	211	1076	279	382
156	150	137	284	164	4014	268	1461	284	517
170	145	141	2810	176	976	293	259	293	300
211	243	146	239	178	13807	295	453	295	582
216	138	149	366	191	9623	301	423	301	214
268	160	151	407	197	1519	308	1201	317	196
277	148	155	339	208	1353	317	287	321	334
279	350	157	992	209	3850	335	425	323	254
284	688	162	304	220	784	393	1882	340	180
293	99.0	165	383	284	5662	409	1096	368	798
295	132	167	221	293	381	413	230	393	556
301	170	171	265	295	682	429	149	409	550
305	186	173	222	308	726	441	412	413	123
317	117	178	207	312	464	449	216	429	157
321	119	181	500	321	391	457	279	457	104
393	398	197	531	335	351	465	140	494	292
409	316	211	360	368	312	522	192	522	762
494	92	268	332	494	631	550	174	550	684
522	187	277	179	522	1926				
		279	272	550	1700				
		284	919						
		293	266						
		295	358						
		305	146						
		321	304						
		368	119						
		393	207						
		409	116						
		494	614						
		508	108						
		522	1871						
		536	102						
		550	1594						

D6		D7		D8		D9		D10	
<i>m/z</i>	Intens.	<i>m/z</i>	Intens.	<i>m/z</i>	Intens.	<i>m/z</i>	Intens.	<i>m/z</i>	Intens.
110	431	103	316	104	291	104	422	104	248
112	685	104	2374	111	522	113	2900	112	190
113	545	110	343	113	4503	115	1161	113	724
116	1309	111	1079	113	563	120	377	115	333
128	1521	113	3681	115	2241	128	296	124	162
137	520	115	1631	116	495	129	346	128	344
138	3440	120	960	128	637	141	247	270	138
142	419	124	314	129	429	151	313	277	155
144	419	125	413	138	570	157	292	279	250

217	588	128	410	157	291	167	251	284	162
233	260	129	392	161	372	265	117	293	174
277	225	141	730	178	253	270	121	295	230
279	310	151	373	187	397	279	397	296	181
281	207	157	284	189	334	284	1904	298	265
284	318	161	423	217	202	295	179	305	122
293	367	164	269	268	146	296	153	312	184
295	352	167	270	277	155	298	156	433	129
305	200	178	459	279	228	305	101	466	309
307	229	279	175	295	183	308	139	480	106
308	212	284	270	303	118	312	230	494	2888
309	216	295	343	305	201	321	140	508	489
313	339	321	164	319	109	336	98.5	522	8488
319	231	494	178	321	124	368	120	536	560
321	467	522	493	393	145	466	150	550	9066
329	285	550	801	429	99.4	494	1571	733	239
335	195			494	118	508	255	761	390
337	257			522	397	522	4666	789	140
352	285			550	298	536	184		
360	191					550	4537		
368	281					761	135		
388	367								
393	296								
494	127								
522	402								
550	225								

D11		D12		D13		D14		D15	
m/z	Intens.	m/z	Intens.	m/z	Intens.	m/z	Intens.	m/z	Intens.
110	315	103	614	104	820	104	632	104	2117
112	944	104	2746	104	669	110	573	111	481
113	552	109	973	111	2073	112	857	113	10960
116	520	111	812	112	686	113	2166	113	840
124	289	113	4532	113	1315	115	797	115	4863
128	1179	115	1728	116	1216	116	1228	115	1630
211	737	116	1475	124	784	124	667	120	909
268	842	120	636	128	908	128	1283	128	424
277	170	125	1938	148	552	138	490	129	600
284	197	128	483	161	1734	141	479	131	1236
293	293	141	2441	178	705	211	330	135	503
295	268	157	407	189	453	268	418	141	679
308	168	211	411	191	595	277	497	143	377
319	161	268	509	211	394	279	695	149	397
321	149	293	508	268	690	284	297	151	638
393	1751	295	731	293	413	293	617	154	355
409	1418	307	251	295	591	295	742	157	777
429	115	308	220	308	422	305	412	167	411
494	248	319	281	319	238	307	298	171	422
522	819	321	451	321	268	308	351	172	1086
550	548	354	196	323	227	309	326	188	733
		393	318	354	195	311	249	211	344
		409	148	393	741	319	224	268	434
		494	463	409	449	321	551	277	444
		522	1607	494	403	333	182	279	454
		550	1479	522	1293	337	203	284	13986
				550	1159	377	166	293	340
						393	494	295	414
						409	232	305	438
						494	506	307	175
						522	1365	321	301
						550	1378	323	158
								340	498
								368	2813
								393	978
								409	946
								429	117
								437	115
								453	101
								466	193

494	684
508	136
522	1262
536	94
550	887

D16		D17		D18		D19		D20	
m/z	Intens.	m/z	Intens.	m/z	Intens.	m/z	Intens.	m/z	Intens.
104	193	104	1990	103	654	101	229	104	1185
113	941	111	686	104	8329	104	866	106	166
113	145	113	10680	104	3700	113	8301	113	2285
115	406	113	792	111	3176	113	1415	113	437
115	159	115	5029	113	6708	115	3813	115	997
128	170	117	360	115	2602	120	575	120	329
141	131	120	898	120	1529	125	359	125	194
151	117	125	441	121	975	127	543	129	216
279	166	128	345	124	838	128	427	135	294
298	181	129	726	125	960	129	911	141	323
308	110	135	383	137	636	133	279	149	176
312	403	141	731	141	1990	135	801	151	325
522	617	151	587	146	657	141	717	157	255
550	4520	157	675	148	786	143	355	182	167
		167	642	151	645	149	336	228	162
		178	411	153	2688	151	948	265	118
		187	710	154	2892	157	881	277	171
		189	573	164	2456	165	217	279	297
		197	263	165	1317	167	553	284	173
		279	349	178	6939	172	452	293	174
		284	306	191	5008	180	277	295	342
		295	263	201	653	181	248	303	119
		303	200	202	739	187	453	304	266
		305	173	208	735	188	254	305	172
		308	430	209	2002	189	315	321	176
		310	157	267	365	197	236	326	138
		312	157	281	438	203	201	432	128
		321	211	284	4245	277	233	494	387
		467	106	293	815	279	711	522	807
		495	731	295	1518	284	12486	550	715
		509	108	312	325	293	200		
		522	2134	319	361	295	247		
		536	133	321	1133	298	247		
		550	2047	323	316	303	264		
				368	391	304	252		
				466	257	305	311		
				494	1722	307	367		
				508	312	308	166		
				522	4328	312	142		
				536	167	319	143		
				550	3192	321	168		
						323	139		
						353	233		
						381	181		
						393	119		
						468	162		
						494	1040		
						508	123		
						522	2602		
						536	148		
						550	2048		
						683	92		

## ANEXO V

### Tabelas de íons $m/z$ e intensidade

#### SALDI-TOF MS (AgNPs)

D1		D2		D3	
$m/z$	Intens.	$m/z$	Intens.	$m/z$	Intens.
100	734	100	700	100	1136
102	286	101	434	102	2274
103	858	103	462	104	10539
104	3094	104	1452	104	2517
107	26097	107	26966	107	54594
109	25014	108	1578	108	8460
111	471	109	25264	109	51437
113	8632	113	27236	111	1413
115	3282	115	11693	113	10424
116	825	116	897	115	4222
117	346	117	856	116	679
119	336	120	555	120	5248
120	557	124	6653	124	52179
121	612	126	696	126	10194
124	6648	130	3381	129	703
126	1641	132	3154	130	1053
130	957	140	5477	131	559
132	761	142	703	132	843
140	17407	146	607	140	78740
142	1925	147	353	142	10580
146	586	148	465	147	3929
147	667	149	397	149	3450
148	660	155	708	159	730
149	549	157	603	163	2376
157	267	165	2063	165	2531
163	506	167	2564	167	1366
165	640	171	1191	169	1112
171	393	173	924	171	650
172	338	181	4743	172	1115
173	346	183	6835	173	714
174	279	185	1431	174	993
181	1269	187	328	181	901
183	1601	197	341	183	1073
185	523	203	704	192	2040
208	280	214	20362	194	1902
210	394	216	39799	197	666
214	20981	218	15802	199	814
216	40867	219	402	203	4357
218	16537	223	388	208	3381
219	866	225	495	210	3337
233	463	239	1229	214	34612
240	254	241	1983	216	67391
241	299	243	710	218	27547
249	269	249	990	219	7007
251	591	251	2503	225	1300
253	423	253	1737	231	1388
255	269	255	1267	233	2990
257	280	257	1506	235	1115
284	2198	259	746	251	710
293	430	284	343	269	582
295	466	293	209	287	4620
298	222	295	283	289	3862



308	254	321	17150	293	1053
321	18417	321	270	295	1013
321	312	323	52991	321	36497
323	55797	325	48535	321	1061
325	51325	327	12608	323	105655
327	13533	345	741	325	98861
345	767	347	3001	325	631
347	2388	349	2540	327	27471
349	2051	351	575	327	473
351	431	361	250	335	410
355	267	363	443	340	586
357	220	365	282	342	565
361	334	379	202	345	434
363	612	381	189	347	1460
365	255	383	219	349	1131
387	260	387	210	351	362
389	664	389	633	361	1148
391	390	391	670	363	2791
430	297	395	177	365	1407
432	327	397	240	377	352
434	226	399	241	387	705
495	261	430	228	389	2616
517	6981	432	287	391	2516
519	6299	433	281	393	324
523	992	434	178	408	407
537	230	517	8788	424	940
539	485	519	7830	426	963
541	460	523	377	428	319
551	945	537	180	430	1046
		539	384	432	1613
		541	399	434	705
		551	333	449	248
		585	128	517	9244
		587	146	519	8412
		613	148	537	1575
		641	176	539	3508
				541	2941
				543	928
				585	178
				587	222
				601	158
				613	321
				615	288
				640	242
				642	521
				644	271
				754	209
				756	176

## ANEXO VI

### Tabelas de íons $m/z$ e intensidade

#### SALDI-TOF MS (ANPs)

D4		D5		D6	
$m/z$	Intens.	$m/z$	Intens.	$m/z$	Intens.
104	132	104	278	197	211
107	185	107	249	237	159
109	193	109	229	394	160
109	112	113	2070	591	119
113	2289	115	878	645	917
115	899	197	594	674	1392
117	99.4	224	237		
135	122	237	1211		
161	112	253	661		
197	767	284	407		
224	403	293	124		
237	1679	295	156		
253	423	394	479		
281	101	523	131		
284	545	551	110		
293	154	591	234		
295	165				
321	107				
326	230				
340	124				
368	524				
384	108				
394	639				
400	200				
421	113				
495	258				
523	846				
551	781				
591	246				