



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

ALEXANDRO MANGUEIRA LIMA DE ASSIS

**AVALIAÇÃO SOBRE DUPLA PROVA FORENSE A PARTIR DA
ANÁLISE GENÉTICA DE IMPRESSÕES DIGITAIS REVELADAS PELA
ELETRODEPOSIÇÃO DE POLIPIRROL**

Maceió
2021

ALEXANDRO MANGUEIRA LIMA DE ASSIS

**AVALIAÇÃO SOBRE DUPLA PROVA FORENSE A PARTIR DA
ANÁLISE GENÉTICA DE IMPRESSÕES DIGITAIS REVELADAS PELA
ELETRODEPOSIÇÃO DE POLIPIRROL**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas em cumprimento às exigências para obtenção do grau de Doutor em Ciências.

Orientadora: Profa. Dra. ADRIANA SANTOS RIBEIRO

Coorientador: Prof. Dr. LUIZ ANTÔNIO FERREIRA DA SILVA

Maceió
2021

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

A848a Assis, Alexandro Manguiera Lima de.
Avaliação sobre dupla prova forense a partir da análise genética de impressões digitais reveladas pela eletrodeposição de polipirrol / Alexandro Manguiera Lima de Assis. – 2021.

152 f. : il., graf., tabs. color.

Orientadora: Adriana Santos Ribeiro.

Co-orientador: Luiz Antônio Ferreira da Silva.

Tese (doutorado em ciências) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2021.

Bibliografia: f. 140-152.

1. Dermatoglia. 2. Eletroquímica. 3. Polímeros condutores. 4. DNA de toque. 5. Ciências forenses. 6. I. Título.

CDU: 577.11/.12:577.213.3+343.98

ALEXANDRO MANGUEIRA LIMA DE ASSIS

**AVALIAÇÃO SOBRE DUPLA PROVA FORENSE A PARTIR DA
ANÁLISE GENÉTICA DE IMPRESSÕES DIGITAIS REVELADAS PELA
ELETRODEPOSIÇÃO DE POLIPIRROL**

Tese aprovada em: 27 de julho de 2021.

Orientadora:

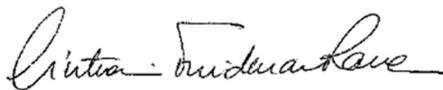

Profa. Dra. ADRIANA SANTOS RIBEIRO
Instituto de Química e Biotecnologia
Universidade Federal de Alagoas

Coorientador:


Prof. Dr. LUIZ ANTÔNIO FERREIRA DA SILVA
Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde
Universidade Federal de Alagoas

Banca Examinadora:


Prof. Dr. MARCO-AURÉLIO DE PAOLI
Instituto de Química
Universidade Estadual de Campinas


Profa. Dra. CINTIA FRIDMAN RAVE
Faculdade de Medicina - Departamento de Medicina Legal
Universidade de São Paulo


Profa. Dra. MARÍLIA OLIVEIRA FONSECA DE GOULART
Instituto de Química e Biotecnologia
Universidade Federal de Alagoas

Aos meus pais Isete e Valdemar, por tudo,
DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Adriana Santos Ribeiro pela orientação, confiança, respeito e pela insistência no convite a embarcar nesse “fazer a diferença” acadêmico tão intenso, produtivo, ético e sincero.

Ao Prof. Dr. Luiz Antônio Ferreira da Silva pela coorientação, inspiração e por acreditar em mais este trabalho, no auge dos seus 50 anos dedicados ao ensino e à pesquisa científica.

Ao Prof. A. Robert Hillman da Universidade de Leicester na Inglaterra pela colaboração científica e confiança.

Ao Prof. Dr. Josealdo Tonholo por sempre acreditar e fazer acontecer.

Ao grupo de pesquisa do Laboratório de Polímeros Condutores Eletrocromicos e Fluorescentes da Universidade Federal de Alagoas (UFAL): Prof. Dr. Fred Augusto Ribeiro Nogueira (IFAL), Profa. Dra. Juliana Donato de Almeida Cantalice (FAU/UFAL), MSc. Meclycia Shamara Alves, Jeanne Caroline da Silva Melo e todos os demais professores, pesquisadores e estudantes pela boa convivência e conquistas, em especial à MSc. Cristiane Vieira Costa pela parceria e confiança desde sempre.

À Profa. Dra. Marília Oliveira Fonseca de Goulart, em nome da qual agradeço aos demais professores e pesquisadores dos Laboratórios de Eletroquímica do Instituto de Química e Biotecnologia (IQB) da UFAL, pela acolhida, suporte tecnológico e constante apoio.

Ao Laboratório de DNA Forense da UFAL, ao Prof. Dr. Dalmo de Almeida Azevedo pelas sempre serenas e pertinentes contribuições, aos demais professores, pesquisadores e servidores.

À Universidade Federal de Alagoas e aos Programas de Pós-graduação em Química e Biotecnologia (PPGQB) e em Materiais (PPGMATERIAIS), professores e demais servidores.

Ao Instituto Federal de Alagoas (IFAL), na pessoa do Prof. Dr. Johnnatan Duarte de Freitas.

À Thermo Fisher Scientific, na pessoa de Danilo Alessio Franceschi.

À Sociedade Brasileira de Ciências Forenses (SBCF), à Academia Brasileira de Ciências Forenses (ABCF) e à Associação Nacional dos Peritos Criminais Federais (APCF).

Às agências de fomento: CNPq, CAPES e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas (FAPEAL).

À Polícia Federal pelo apoio institucional e tecnológico, em especial: à Academia Nacional de Polícia (ANP/DGP/PF), Coordenação Escola Superior de Polícia e Comitê Gestor de Capacitação (Edital 01/2020 ANP/DGP/PF); à Superintendência Regional de Polícia Federal em Alagoas (SR/PF/AL); ao Setor Técnico-Científico em Alagoas (SETEC/SR/PF/AL); ao Setor de Genética Forense, Setor de Perícias Externas, Setor de Perícias de Balística Forense e Serviço de Perícias de Laboratório do Instituto Nacional de Criminalística (INC/DITEC/PF); e às gestões 2018-2019 e 2019-2020 da Diretoria Técnico-Científica (DITEC/PF).

Aos colegas da Polícia Federal por suas inestimáveis contribuições a este trabalho, em especial: aos Peritos Criminais Federais Guilherme Oliveira Cardoso (chefe do SETEC/SR/PF/AL), Luiz Guilherme Barros Cocentino, Renata Silva Paiva, Jorge Marcelo de Freitas, Cristiano Furtado Assis do Carmo, Luciana Lobato Schmidt, Jesus Antônio Velho, Márcio Talhavini, Bruno Gomes de Andrade, Simone Cabanelas Martinez, Ana Carolina Carvalho Caetano, aos ex-diretores do INC/DITEC/PF Hélivio Pereira Peixoto e Luiz Spricigo Junior, ao ex-diretor da DITEC/PF Fábio Augusto da Silva Salvador, aos colegas Peritos Criminais Federais do SETEC/SR/PF/AL; ao Agente de Polícia Federal Paulo Elias Bedran Junior (GAT/SR/PF/AL); às Agentes Administrativas Rosiane Passos de Moraes Machado e Lidiane da Cruz Barros (T&D/SR/PF/AL); e à Técnica em Assuntos Educacionais Petra Funke (CGC/ANP/PF).

À Perícia Oficial do Estado de Alagoas (POAL) pela confiança, apoio institucional e tecnológico, especialmente à direção, ao Laboratório de Genética Forense e ao Laboratório de Microvestígios e Papioscopia Forense, na pessoa dos Peritos Criminais: Manoel Messias Moreira Melo Filho (diretor geral), Wellington Costa Melo Filho (chefe especial do Instituto de Criminalística de Alagoas), Gerard de Oliveira Deokaran, Ivan Excalibur de Araújo Pereira, Bárbara Leão da Fonseca, Thalmanny Fernandes Goulart, Carmélia Sales de Miranda e, em especial, à Rosana Coutinho Freire Silva (chefe dos Laboratórios Forenses).

Aos demais colegas Peritos Criminais Federais e Estaduais, de Alagoas e de todo o país, que contribuíram com pequenos e grandes gestos ao longo desses anos de doutoramento.

A todos aqueles que com ética e profissionalismo gentilmente dedicaram instantes de suas vidas ao meu engrandecimento profissional.

À minha família e amigos.

Aos meus pais.

À Raquel ♥

*“Sempre que a ciência for atacada,
temos que nos levantar”*

Ricardo Galvão

RESUMO

Avaliação sobre dupla prova forense a partir da análise genética de impressões digitais reveladas pela eletrodeposição de polipirrol

Impressões digitais latentes são vestígios frequentes e relevantes nas perícias de cenas de crime. Entretanto, ainda são baixas as taxas de sucesso quanto à qualidade da revelação, especialmente no caso de superfícies metálicas por meio de técnicas convencionais. Nesse contexto, a eletrodeposição espacialmente seletiva de polímeros condutores se apresenta como uma promissora estratégia para revelação de impressões digitais em superfícies metálicas. Como as impressões digitais também são potenciais fontes de DNA, o presente estudo visa revelá-las empregando a eletrodeposição de polipirrol (PPy), verificando o impacto do processo em análises genéticas subsequentes. Para tanto, 120 impressões digitais de 24 horas e 7 dias, aplicadas em superfícies de aço inoxidável e estojos de munição (latão), foram reveladas por eletrodeposição de PPy através de métodos potenciostático (PST) e galvanostático (GST) em um sistema eletroquímico com solução de pirrol $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e LiClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, com contra eletrodo de platina, eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl sat.). As impressões digitais reveladas foram fotografadas e analisadas com *softwares* e protocolos forenses, classificando-as de acordo com a qualidade das revelações. Os melhores resultados em aço inoxidável, tendo em vista o contraste entre a impressão digital e o metal, foram obtidos pelo método GST ($j = 1,25 \text{ mA cm}^{-2}$), com aproveitamento de 90%. No caso dos estojos de munição, os melhores resultados foram observados pelo método PST ($E = 0,75 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.)}$), com aproveitamento de 78%. Os filmes de PPy apresentaram estabilidade química, aderência e uniformidade na superfície metálica. As condições experimentais visaram evitar a oxidação do DNA e dos constituintes da marca. Foram investigados fenômenos relacionados ao mecanismo de eletropolimerização do PPy e à interação das ligas metálicas com o processo. A avaliação da qualidade dos resultados classificou as revelações como fortes e muito fortes, com detalhes completos das cristas papilares e impressões digitais totalmente identificáveis para fins forenses. Os métodos se mostraram reprodutíveis, baratos, rápidos, não destrutíveis e vantajosos frente a métodos convencionais, especialmente para impressões digitais mais antigas. As marcas reveladas foram submetidas à análise genética, incluindo as etapas de extração (manual e automatizada), quantificação por RT-PCR, amplificação por PCR e genotipagem por eletroforese capilar. Avaliando-se os diferentes tempos e superfícies, os resultados não apontaram diferenças significativas, sendo possível recuperar quantidades superiores a $3 \text{ pg}/\mu\text{L}$ de DNA em mais de 50% das amostras a partir dos diferentes métodos de extração. A taxa de obtenção de perfis genéticos parciais foi de 12,5%, a partir de impressões digitais recentes e antigas, reveladas pela eletrodeposição de polipirrol em diferentes métodos eletroquímicos e superfícies. Dessa forma, a avaliação conjunta dos resultados demonstrou ser possível empregar com sucesso a eletrodeposição de PPy como método de revelação sem prejuízos a exames de DNA subsequentes, com considerável potencial para duas provas forenses a partir de uma mesma impressão digital.

Palavras-chave:

Impressões digitais, Eletroquímica, Polímeros Condutores, DNA de Toque, Ciências Forenses.

ABSTRACT

Evaluation of dual forensic evidence from DNA analysis of fingerprints developed by polypyrrole electrodeposition

Latent fingerprints are frequent and relevant evidences in crime scene investigations. However, success rates are still low regarding the quality of development, especially for metallic surfaces using conventional methods. In this context, the spatially selective electrodeposition of conducting polymers is a promising strategy for developing fingerprints on metallic surfaces. As fingerprints are also potential sources of DNA, this study aims to visualize them by the electrodeposition of polypyrrole (PPy), verifying the impact of the process on subsequent DNA analysis. For this, 120 fingerprints of 24 hours and 7 days, applied on stainless steel surfaces and cartridge cases (brass), were developed by PPy electrodeposition through potentiostatic (PST) and galvanostatic (GST) methods in an electrochemical system with 0.01 mol L^{-1} pyrrole and 0.1 mol L^{-1} LiClO_4 solution, with platinum counter electrode, reference electrode Ag/AgCl (KCl sat.). The developed fingerprints were photographed and analysed by forensic softwares and protocols, classifying them according to the quality of the developments. Best results in stainless steel, given the contrast between fingerprint and metal, obtained by GST method ($j = 1.25 \text{ mA cm}^{-2}$), with 90% utilization. Regarding cartridge cases, the best results were observed by PST method ($E = 0,75 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.)}$), showing 90% use. The PPy films showed chemical stability, adhesion and uniformity on the metallic surface. The experimental conditions aimed to avoid the oxidation of DNA and trace constituents. Effects related to the PPy electropolymerization mechanism and the interaction of metallic alloys with the process were investigated. The evaluation of the quality of the results classified the developments as strong and very strong, with full details of the papillary crests and fully identifiable fingerprints for forensic purposes. The methods proved to be reproducible, cheap, fast, non-destructive and advantageous compared to conventional methods, especially for aged fingerprints. DNA analysis were performed on the developed fingerprints, including the steps of extraction (manual and automated), quantification by RT-PCR, amplification by PCR and genotyping by capillary electrophoresis. Evaluating the different times and surfaces, the results did not show significant differences, being possible to recover amounts greater than $3 \text{ pg}/\mu\text{L}$ of DNA in more than 50% of the samples from the different extraction methods. The rate of obtaining partial genetic profiles was 12.5%, from recent and aged fingerprints, developed by electrodeposition of PPy under different electrochemical methods and surfaces. Therefore, the general evaluation of the results demonstrated that it is possible to successfully apply PPy electrodeposition as a development method without harm to subsequent DNA tests, with considerable potential for two forensic tests from the same fingerprint.

Key words:

Fingerprints, Electrochemistry, Conducting Polymers, Touch DNA, Forensic Science.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - Corte histológico de pele espessa (dedo) sob microscopia óptica), corado com hematoxilina eosina, onde se encontram indicadas a derme, a epiderme e exemplos de papila dérmica e crista papilar.....21
- Figura 2** - Superfície da pele de polpa digital (com aumentos de 10x na vista panorâmica e de 30x no detalhe), mostrando as cristas e sulcos papilares, assim como os poros sudoríparos. .22
- Figura 3** – Impressão digital reveladas com exemplos de núcleo, delta e minúcias papiloscópicas.....23
- Figura 4** - Detalhes de impressões digitais com exemplos de deltas: sistemas de linhas papiloscópicas em formato triangular.24
- Figura 5** - Classificação dos tipos fundamentais de impressões digitais pelo Sistema de Vucetich.....25
- Figura 6** - Gráficos da composição orgânica majoritária e em traços da secreção sebácea de impressões digitais.....26
- Figura 7** - Esquema ilustrativo do efeito do tempo nos componentes de impressões digitais.27
- Figura 8** - Fluxo representativo da análise da impressão digital latente desde de sua identificação e coleta na cena de crime, passando pelo processo de revelação e resultando na impressão digital revelada e a identificação do criminoso.29
- Figura 9** - Faixa de condutividade elétrica típica dos polímeros condutores.36
- Figura 10** - Estrutura química do polipirrol.....37
- Figura 11** - Mecanismo de polimerização do polipirrol por Diaz *et al.* (1979)..... 39
- Figura 12** – Representação da estrutura química do polipirrol dopado..... 40
- Figura 13** - Representação dos processos nucleação e crescimentos 3D e 2D do mecanismo de síntese de polímeros condutores por eletropolimerização..... 41
- Figura 14** - Representação esquemática do método eletroquímico aplicado na revelação de impressões digitais com polímeros condutores, onde: 1) vista frontal da impressão digital latente em superfície metálica; 2) esquema de corte transversal da superfície metálica exibindo as cristas de resíduos da impressão digital latente; 3) preparação imersa na solução de monômeros; 4) reação de eletropolimerização com o filme polimérico sintetizado sobre a superfície metálica, e a impressão digital atuando como isolante; 5) resultado da revelação eletroquímica da impressão digital. 44
- Figura 15** - Corte histológico de pele espessa (dedo) sob microscopia óptica, apontando a derme a as células basais, a epiderme e as células epidérmicas (queratinócitos), além da camada de queratina..... 50
- Figura 16** - Estrutura molecular do DNA, com destaque às unidades de nucleotídeos constituídos de uma base nitrogenada, um açúcar (desoxirribose) e um grupo fosfato. 53
- Figura 17** – Fluxograma das etapas do exame de DNA em Genética Forense. 54

Figura 18 - Esquema de operação da sonda TaqMan™ na quantificação de DNA, incluindo os processos de ligação da sonda, extensão da fita, clivagem da sonda e o processo de emissão de fluorescência resultante.	57
Figura 19 - Estojos de munição calibre 7.62 x 51 mm utilizados como eletrodos de trabalho e o cartucho não deflagrado correspondente.	65
Figura 20 - Sistema eletroquímico empregado na revelação de impressões digitais através da eletrodeposição de polímeros condutores.	67
Figura 21 - Revelação de impressões digitais latentes através da eletrodeposição anódica espacialmente seletiva do polipirrol em sistema eletroquímico.	69
Figura 22 - Definição dos três níveis de características de cristas papilares de acordo com do protocolo de Champod <i>et al.</i> (2004).	71
Figura 23 - Minúcias papiloscópicas identificadas através do programa Griaule Forensic Fingerprint 2011.	72
Figura 24 - Resultados representativos obtidos por cronoamperometria de impressões digitais de 7 dias, e suas respectivas condições de potencial (E), tempo de experimento (t), carga (Q) e estimativa de massa de polímero depositado (Γ).	73
Figura 25 - Representação esquemática da influência da espessura do filme polimérico na revelação eletroquímica.	74
Figura 26 - Cronoamperograma de impressão digital de 24 horas revelada por eletrodeposição de PPy com $E = 0,75$ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.) por 130 s, onde (1), (2) e (3) representam os três estágios do mecanismo de eletropolimerização do polipirrol.	75
Figura 27 - Cronoamperograma e impressão digital de 7 dias revelada por método PST com $E = 0,85$ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.) por 100 s. Detalhe: 3 s iniciais.	77
Figura 28 - Cronoamperograma e impressão digital de 24 horas revelada por eletrodeposição de PPy com $E = 0,85$ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.) por 70 s.	78
Figura 29 - Cronoamperograma e impressão digital de 7 dias revelada por eletrodeposição de PPy com $E = 0,75$ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.) por 60 s.	78
Figura 30 - Cronopotenciograma (E vs. Ag/AgCl (KCl sat.)) e impressão digital de 24 horas revelada por eletrodeposição de PPy com $j = 1,25$ mA cm ⁻² por 60 s. Detalhe: loop de nucleação (5 s iniciais).	80
Figura 31 - Cronopotenciograma (E vs. Ag/AgCl (KCl sat.)) e impressão digital de 7 dias revelada por eletrodeposição de PPy com $j = 1,25$ mA cm ⁻² por 60 s. Detalhe: loop de nucleação (5 s iniciais).	80
Figura 32 - Cronoamperograma e impressão digital de 24 horas revelada por eletrodeposição de PPy com $E = 0,75$ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.) por 90 s. Detalhe: 5 s iniciais.	82
Figura 33 - Cronoamperograma e impressão digital de 7 dias revelada por eletrodeposição de PPy com $E = 0,75$ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.) por 90 s. Detalhe: 5 s iniciais.	82
Figura 34 - Precipitado de Cu(OH) ₂ em estojo de munição.	84
Figura 35 - Cronoamperogramas de impressões digitais de 24 horas (a) e 7 dias (b) obtidos pelo método PST ($E = 0,75$ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.)).	85
Figura 36 - Gráfico da correlação entre notas (0 - 4) e o percentual de impressões digitais reveladas em aço inoxidável segundo o método eletroquímico.	87

Figura 37 - Resultados representativos de impressões digitais reveladas após 24 horas e 7 dias em aço inoxidável e suas respectivas avaliações pela escala de Bandey.	88
Figura 38 - Gráfico da correlação entre notas (0 - 4) e o percentual de impressões digitais reveladas em estojos de munição segundo o método PST.	90
Figura 39 - Resultados representativos de impressões digitais reveladas após 24 horas e 7 dias em estojos de munição e suas respectivas avaliações pela escala de Bandey.	90
Figura 40 - Análise de datilograma de impressão digital de 24 horas revelada pelo método GST em aço inoxidável.	91
Figura 41 - Análise de datilograma de impressão digital de 7 dias revelada pelo método PST em aço inoxidável.	92
Figura 42 - Análise e comparação de impressões digitais para laudo pericial através da plataforma ABIS.	93
Figura 43 - Detalhe ampliado de impressões digitais em aço inoxidável revelada por eletrodeposição de PPy (à esquerda) e o respectivo datilograma analisado, mostrando detalhes de nível 2 e 3.	94
Figura 44 - Análise de datilograma de impressão digital de 24 horas dias revelada pelo método PST em estojo de munição.	95
Figura 45 - Análise de datilograma de impressão digital de 7 dias revelada pelo método PST em estojo de munição.	96
Figura 46 - Impressões digitais de 24 horas e 7 dias em aço inoxidável reveladas pelo método PST e analisadas sob microscopia óptica.	98
Figura 47 - Impressões digitais de 24 horas e 7 dias em aço inoxidável reveladas pelo método GST e analisadas sob microscopia óptica.	98
Figura 48 - Impressão digital de 7 dias em aço inoxidável revelada pelo método PST e analisada por MEV, onde: na imagem 48A (ampliação 82x) estão sinalizados poros (círculos amarelos) e as distâncias D1 (268,31 μm) e D2 (210,02 μm), impressão digital e PPy respectivamente; e na imagem 48B (ampliação 1130x) está sinalizada a interface (tracejado) entre o filme PPy e o resíduo da impressão digital.	99
Figura 49 - Impressão digital de 7 dias em aço inoxidável revelada pelo método GST e analisada por MEV, onde: na imagem 49A (ampliação 176x) estão sinalizadas as distâncias D3 (201,59 μm) e D4 (265,81 μm), impressão digital e PPy respectivamente; e na imagem 48B (ampliação 1290x) está sinalizada a interface (tracejado) entre o filme PPy e o resíduo da impressão digital.	99
Figura 50 - Impressões digitais de 24 horas e 7 dias em estojos de munição reveladas pelo método PST e analisadas sob microscopia óptica, com indicação de detalhes de nível 2 e 3.	100
Figura 51 - Impressão digital em estojo de munição revelada pelo método PST analisada por MEV, onde: na imagem 51A (ampliação 165x) estão sinalizadas as distâncias D5 (404,73 μm) e D6 (132,73 μm), impressão digital e PPy respectivamente; e na imagem 51B (ampliação 1020x) está sinalizada a interface (tracejado) entre o filme PPy e o resíduo da impressão digital.	101
Figura 52 - Espectros de EDS em impressão digital revelada em estojo de munição correspondentes à região da impressão digital (A) e ao filme de PPy (B). As setas vermelhas correspondem ao sinal do oxigênio.	102

Figura 53 - Composição dos conjuntos experimentais das amostras submetidas à análise genética.....	109
Figura 54 - Gráfico da correlação entre a superfície, a concentração de DNA (pg/ μ L) e o número de amostras de impressões digitais reveladas.....	119
Figura 55 - Gráfico da correlação entre o tempo, a concentração de DNA (pg/ μ L) e o número de amostras de impressões digitais reveladas.....	119
Figura 56 - Gráfico da correlação entre o método de extração, a concentração de DNA (pg/ μ L) e o número de amostras de impressões digitais reveladas.....	120
Figura 57 - Painéis de marcadores genéticos sinalizados com 6-FAM TM de amostra de impressão digital revelada extraída com DNA IQ TM (3,546 pg/ μ L de DNA) e do perfil genético do respectivo doador.....	131
Figura 58 - Painéis de marcadores genéticos sinalizados com SID TM de amostra de impressão digital revelada extraída com DNA IQ TM (3,546 pg/ μ L de DNA) e do perfil genético do respectivo doador.....	131
Figura 59 - Painéis de marcadores genéticos sinalizados com SID TM de amostra de impressão digital com efeitos estocásticos e do perfil genético do respectivo doador.....	133
Figura 60 - Curva cronopotenciométrica representativa da síntese de filme de PPy em aço inoxidável pelo método GST destinado ao teste da ação interferente do polímero no exame de DNA.	134
Figura 61 - Comparativo de painéis de eletroferogramas (6-FAM TM) de duas amostras diferentes contendo PPy e DNA.....	136
Figura 62 - Comparativo de painéis de eletroferogramas (NED TM) de duas amostras diferentes contendo PPy e DNA.....	136

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comparativo dos reveladores convencionais de impressões digitais quanto à superfície, vantagens e desvantagens.	31
Tabela 2 - Compilação das pesquisas recentes sobre revelação eletroquímica de impressões digitais pela eletrodeposição de polímeros condutores.	46
Tabela 3 - Correlação entre as superfícies testadas, os métodos eletroquímicos e seus respectivos parâmetros aplicados na revelação de impressões digitais pela eletrodeposição de PPy.....	68
Tabela 4 - Escala de Bandey para classificação de impressões digitais reveladas.....	70
Tabela 5 - Correlação entre o potencial (E), a massa estimada de polímero depositado (Γ) e a avaliação pela escala de Bandey (0 - 4) referente ao método PST em placas de aço inoxidável.	86
Tabela 6 - Correlação entre notas (0 - 4) e o número de impressões digitais reveladas em aço inoxidável segundo o método eletroquímico.....	86
Tabela 7 - Correlação entre notas (0 - 4) e o número de impressões digitais reveladas em estojos de munição pelo método PST.....	89
Tabela 8 - Preparação da curva padrão por diluição seriada para quantificação de DNA. ...	111
Tabela 9 - Comparações estatísticas em condições experimentais independentes dos resultados de quantificação de DNA de impressões digitais reveladas, considerando a superfície e o tempo.	116
Tabela 10 – Estatística dos resultados de quantificação de DNA das amostras de 24 horas extraídas com DNA IQ™: placas de aço vs. estojos de latão.	116
Tabela 11 - Estatística dos resultados de quantificação de DNA das amostras de 7 dias extraídas com DNA IQ™: placas de aço vs. estojos de latão.....	116
Tabela 12 - Estatística dos resultados de quantificação de DNA das amostras em placas de aço extraídas com DNA IQ™: 24 horas vs. 7 dias	116
Tabela 13 - Estatística dos resultados de quantificação de DNA das amostras em estojos de latão extraídas com DNA IQ™: 24 horas vs. 7 dias.	117
Tabela 14 - Estatística dos resultados de quantificação de DNA das amostras de 24 horas submetidas à extração orgânica: placas de aço vs. estojos de latão.	117
Tabela 15 - Estatística dos resultados de quantificação de DNA das amostras de 7 dias submetidas à extração orgânica: placas de aço vs. estojos de latão.	117
Tabela 16 - Estatística dos resultados de quantificação de DNA das amostras em placas de aço submetidas à extração orgânica: 24 horas vs. 7 dias.	117
Tabela 17 - Estatística dos resultados de quantificação de DNA das amostras em estojos de latão submetidas à extração orgânica: 24 horas vs. 7 dias.....	118
Tabela 18 - Estatística das amostras de impressões digitais reveladas submetidas à extração de DNA: kit DNA IQ™ vs. método orgânico.....	120

Tabela 19 - Análise comparativa dos resultados de quantificação de DNA para as amostras extraídas pelo kit DNA IQ™ e pelo método orgânico.	121
Tabela 20 – Estatística dos resultados de quantificação de DNA das amostras em placas de aço extraídas com DNA IQ™: impressões digitais reveladas vs. controles positivos.....	125
Tabela 21 - Estatística dos resultados de quantificação de DNA das amostras em estojos de latão extraídas com DNA IQ™: impressões digitais reveladas vs. controles positivos.....	125
Tabela 22 - Estatística dos resultados de quantificação de DNA das amostras em placas de aço submetidas à extração orgânica: impressões digitais reveladas vs. controles positivos.....	125
Tabela 23 - Estatística dos resultados de quantificação de DNA das amostras em estojos de latão submetidas à extração orgânica: impressões digitais reveladas vs. controles positivos.	125
Tabela 24 - Estatística dos resultados de quantificação de DNA das amostras de controles positivos submetidas à extração de DNA: DNA IQ™ vs. método orgânico.	126
Tabela 25 - Correlação entre o número de loci detectados por eletroferograma, a concentração de DNA, o método de extração, a superfície e o tempo das amostras que originaram perfis genéticos parciais.....	129
Tabela 26 - Resultados das quantificações de DNA referentes ao teste da ação interferente do PPy na PCR.	134

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

2D	-	Bidimensional
3D	-	Tridimensional
6-FAM TM	-	Fluoróforo azul
ABIS	-	Sistema automatizado de identificação biométrica
CE	-	Contra eletrodo
CMC	-	Concentração micelar crítica
CN	-	Controle negativo
CP	-	Controle positivo
Ct	-	<i>Cycle threshold</i>
DNA	-	Ácido desoxiribonucleico
dNTP	-	Desoxinucleotídeo trifosfato
DTT	-	Ditiotreitol
E	-	Potencial elétrico
e	-	Número estequiométrico de elétrons
e ⁻	-	Elétron
EDOT	-	3,4-etilenodioxítiofeno
EDS	-	Detector de Energia Dispersiva
EDTA	-	Ácido etilenodiamino tetra-acético
E _{pa}	-	Potencial de oxidação
F	-	Constante de Faraday
Ft	-	Limiar de fluorescência
GL	-	Graus de liberdade
GST	-	Galvanostático
IPC	-	Controle interno de PCR
I	-	Corrente elétrica
<i>j</i>	-	Densidade de corrente
LCN	-	<i>Low copy number</i>
LIZ600v2	-	<i>Size standard</i>
MEV	-	Microscópio Eletrônico de Varredura
MM	-	Massa molecular

MP	-	Megapixels
n	-	Número de amostras/repetições
NED™	-	Fluoróforo amarelo
NTC	-	<i>Non-template control</i>
Ox	-	Oxidação
PANI	-	polianilina
pb	-	Pares de base
PCR	-	Reação em cadeia da polimerase
PEDOT	-	Poli(3,4-etilenodioxitiofeno)
PPy	-	Polipirrol
PST	-	Potenciostático
Py	-	Pirrol
Q	-	Densidade de carga
R ²	-	Coefficiente de correlação
RE	-	Eletrodo de referência
RFU	-	Unidade de fluorescência relativa
rpm	-	Rotações por minuto
RT-PCR	-	Reação em cadeia da polimerase em tempo real
sat.	-	Saturado
SBE/TE	-	Tampão de extração
SDS	-	Dodecilsulfato de sódio
SID™	-	Fluoróforo púrpura
SLS	-	N-laurilsarcosina
STR	-	<i>Short Tandem Repeats</i>
TAZ™	-	Fluoróforo vermelho
UV	-	Ultravioleta
vs.	-	<i>Versus</i>
v/v	-	Volume por volume
VIC™	-	Fluoróforo verde
WE	-	Eletrodo de trabalho
Wt%	-	Porcentagem por peso
α	-	Nível de significância
Γ	-	Massa de polímero depositada

SUMÁRIO

Capítulo 1 Introdução	18
Capítulo 2 Referencial Teórico.....	20
2.1 Impressões digitais e Papiloscopia Forense.....	20
2.2 Composição química e efeito do tempo nas impressões digitais.....	25
2.3 Reveladores convencionais e inovadores.....	28
2.4 Eletroquímica e polímeros condutores.....	34
2.5 Revelação eletroquímica de impressões digitais	43
2.6 DNA de impressões digitais.....	49
2.7 DNA de toque e Genética Forense.....	52
2.8 Influência de reveladores no exame de DNA	60
Capítulo 3 Objetivos.....	64
3.1 Objetivo geral	64
3.2 Objetivos específicos	64
Capítulo 4 Revelação Eletroquímica de Impressões Digitais	65
4.1 Experimental.....	65
4.2 Resultados e discussão.....	73
4.2.1 Revelação eletroquímica em aço inoxidável.....	73
4.2.2 Revelação eletroquímica em estojos de munição.....	81
4.2.3 Qualidade dos datilogramas	85
4.2.4 Caracterização das superfícies reveladas	97
4.2.5 Conclusões parciais sobre a revelação eletroquímica	103
Capítulo 5 Análise Genética de Impressões Digitais	108
5.1 Experimental.....	108
5.2 Resultados e discussão.....	114
5.2.1 Verificação dos indicadores da quantificação de DNA	114
5.2.2 Avaliação do DNA de impressões digitais reveladas.....	115
5.2.3 Avaliação dos controles positivos e negativos.....	124
5.2.4 Amplificação e genotipagem.....	127
5.2.5 Teste do impacto do polipirrol no exame de DNA	133
Capítulo 6 Conclusão.....	138
Referências	140

CAPÍTULO 1 | INTRODUÇÃO

No âmbito das Ciências Forenses, denominamos de Criminalística a disciplina que organiza os conhecimentos técnicos advindos das mais diversas ciências com o propósito de responder às questões técnicas levantadas pela Justiça por meio da análise técnica de vestígios. Portanto, a Criminalística é fundamental na busca da almejada verdade dos fatos, revelando-se essencial para recompor acertadamente uma dinâmica delituosa (RABELLO, 1996; VELHO; GEISER; ESPINDULA, 2013).

Os crimes, especialmente aqueles relacionados ao patrimônio e a atentados contra a vida, ocupam sempre um lugar no espaço e no tempo. Para a Criminalística, a porção do espaço onde se consumou o fato delituoso é denominada de local de crime ou cena de crime, englobando-se ainda aqueles espaços físicos onde se desenvolveram as atividades anteriores e posteriores à ação criminosa. Nesse espaço e tempo, os acontecimentos relacionados ao crime deixam vestígios que, uma vez analisados por Peritos Oficiais, levam a produção de provas forenses que permitem esclarecer os fatos, trazendo convencimento ao julgador (APCF, 2021; DOREA, 1995; GALANTE FILHO, 1999; LEE; LADD, 2001).

A prova forense, também denominada de prova material ou prova técnica, trata-se, portanto, de uma ferramenta de grande importância em processos judiciais e investigações. No contexto em que a Justiça por vezes considera a prova testemunhal como insuficiente, não confiável ou corrupta, os vestígios coletados em locais de crime, quando tecnicamente bem analisados e interpretados, constituem-se provas técnicas capazes de robustecer o corpo probatório, podendo vincular, de forma independente e objetiva, suspeitos ou vítimas a uma cena de crime, refutar um álibi, inocentar indivíduos ou ainda desenvolver e comprovar linhas de investigação importantes ao completo esclarecimento dos fatos (APCF, 2021; DOREA, 1995; GALANTE FILHO, 1999; VELHO; GEISER; ESPINDULA, 2013).

Dentre os vestígios mais comumente pesquisados em locais de crime, as impressões digitais latentes se destacam. Várias pesquisas recentes visando aprimorar a produção de provas à partir de impressões digitais mostram diferentes abordagens, multidisciplinares por vezes, inerentes à pesquisa de novos materiais aplicados como reveladores (KANODARWALA *et al.*,

2019; LIAN *et al.*, 2020; PRABAKARAN; PILLAY, 2021; YUAN *et al.*, 2020), à análise genética de impressões digitais (AL OLEIWI *et al.*, 2017; SINELNIKOV; REICH, 2017; TOZZO *et al.*, 2014; ZAGHLOUL; SAMIR; MEGAHED, 2019), além de outras pesquisas relacionadas à detecção de drogas, cosméticos, alimentos, contaminantes em geral, metabólitos endógenos e exógenos e outras substâncias de interesse legal (CADD *et al.*, 2015; ELBARDISY *et al.*, 2019; FU *et al.*, 2013; NG *et al.*, 2009; SZYNKOWSKA *et al.*, 2009; TANG *et al.*, 2010; WEST; WENT, 2009). Tais estudos, aliados à prática pericial e aos avanços tecnológicos relacionados ao incremento na sensibilidade das técnicas, são justificativas contundentes para incentivar a pesquisa e o desenvolvimento de novas metodologias voltadas à produção de provas forenses a partir de impressões digitais.

Por intermédio da cooperação acadêmico-científica entre a Universidade Federal de Alagoas e a Polícia Federal, esta tese se fundamenta na Química Forense e na Genética Forense, que tratam da utilização dos conhecimentos e tecnologias relacionados à química e à genética na produção de provas forenses (BRUNI; VELHO; OLIVEIRA, 2019; DIAS FILHO *et al.*, 2020). Além destas, a Papioscopia Forense, uma importante área multidisciplinar das Ciências Forenses, também é abordada neste trabalho. Trata-se, portanto, de uma abordagem que abrange diferentes áreas do conhecimento, e que surge da necessidade de desenvolver novas estratégias em Ciências Forenses voltadas à identificação humana pela revelação de impressões digitais, avaliando o seu impacto na identificação pelo DNA.

Ainda é importante frisar que a coleta de impressões digitais para revelação química e posterior análise genética se constitui em uma alternativa valiosa em casos nos quais a solução de um crime dependa unicamente ou principalmente de impressões digitais coletadas em uma cena de crime. Dentro dessa perspectiva, através da análise de impressões digitais, o presente estudo tem o intuito de avaliar a identificação da autoria de um delito por meio da Papioscopia Forense e da Genética Forense, através da execução de exames periciais concatenados. Assim sendo, considera-se avaliar a possibilidade de se obter duas provas forenses a partir de um único vestígio: a impressão digital.

CAPÍTULO 2 | REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Impressões digitais e Papiloscopia Forense

A pele espessa é um tecido tipicamente encontrado na palma das mãos, sendo formada basicamente de duas camadas celulares denominadas de epiderme e derme. Constituída por células dispostas em vários estratos geralmente bem definidos, a epiderme ainda apresenta, mais externamente, um espesso estrato córneo. A derme, por sua vez, é formada por tecido conjuntivo denso não modelado (MACEO, 2012).

Adjacente à derme, a interface interna da epiderme é frequentemente irregular devido à presença de projeções da derme que se alternam com expansões da epiderme. Esses arranjos celulares favorecem a adesão entre estas duas camadas, sendo mais pronunciadas e frequentes na pele espessa sujeita a maior atrito, como é o caso das palmas das mãos, incluindo as extremidades dos dedos, e ainda as plantas dos pés. Tais estruturas anatômicas são denominadas de papilas dérmicas e originam uma infinidade de saliências visíveis a olho nu na superfície da pele, que são denominadas de cristas papilares, linhas papilares ou ainda relevos dermopapilares (CORMACK, 2001; GALANTE FILHO, 1999; JUNQUEIRA, 2005; MARIOTTI, 2020).

As papilas dérmicas e as cristas papilares fisiologicamente apresentam as seguintes funções: mecânica (relativa à pressão e sustentação de peso), sensorial (relacionada às terminações nervosas organizadas da epiderme, sobretudo as táteis), e exsudação (concernente à excreção de substâncias por meio das glândulas) (CHAMPOD *et al.*, 2004; MACEO, 2012). A Figura 1 apresenta um corte histológico de pele grossa visto sob microscopia óptica (pequeno aumento), corado com hematoxilina eosina, onde se encontram indicadas a derme (formada por uma camada de tecido conjuntivo), a epiderme (composta por tecido epitelial de revestimento estratificado pavimentoso queratinizado) e exemplos de papila dérmica e crista papilar (DIAS DA SILVA *et al.*, 2011).

Figura 1 - Corte histológico de pele espessa (dedo) sob microscopia óptica), corado com hematoxilina eosina, onde se encontram indicadas a derme, a epiderme e exemplos de papila dérmica e crista papilar.

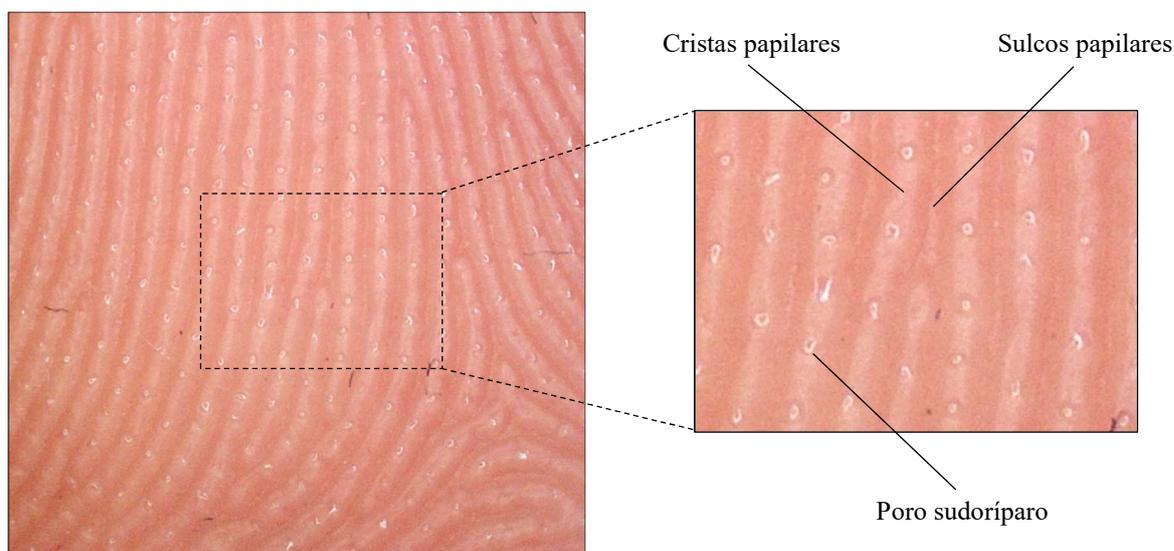


Fonte: adaptado de Dias da Silva *et al.* (2011) com permissão.

No caso de investigações criminais, as impressões digitais encontradas como vestígios em cenas de crime são geralmente resultantes da transferência de material da pele para a superfície que é tocada pelos dedos. Ou seja, quando os dedos de um indivíduo entram em contato com uma superfície, substâncias como secreções sudoríparas e materiais biológicos são depositados formando uma marca latente que reproduz o padrão presente no desenho da digital desse indivíduo (CHAMPOD *et al.*, 2004; FIGINI, 2006, 2013; FIGINI *et al.*, 2012). As impressões digitais são uma das formas mais importantes de vestígio físico encontrado em cenas de crime, sendo, portanto, uma das principais fontes de provas forenses em todo o mundo (ADEBISI, 2009; MARIOTTI, 2020).

Na superfície da pele, as cristas papilares estão dispostas em formações paralelas, ora em séries curvas, ora retilíneas, formando desenhos com padrões característicos e individuais. Apresentam, dessa forma, uma grande variedade quanto as suas dimensões, direções, desenhos, formas e quantidades pela superfície da pele. Esta diversidade de formas e situações orienta o trajeto e constituição do desenho formado pelas cristas papilares, o que explica os seus múltiplos e únicos arranjos. Entre as cristas papilares, existem intervalos ou depressões que as separam, denominados de sulcos papilares (CHAMPOD *et al.*, 2004; MACEO, 2012). Obtidas por microscopia óptica, a Figura 2 (com aumentos de 10x na vista panorâmica e de 30x no detalhe), mostra imagens da superfície da pele espessa dos dedos (polpa digital), mostrando as cristas e sulcos papilares, assim como os poros sudoríparos.

Figura 2 - Superfície da pele de polpa digital (com aumentos de 10x na vista panorâmica e de 30x no detalhe), mostrando as cristas e sulcos papilares, assim como os poros sudoríparos.



Fonte: o autor.

As linhas que formam as cristas papilares podem se apresentar bifurcadas, interrompidas (fins de linha), cruzadas, desviadas, em forma de ilhas e pontos, além dos poros de glândulas sudoríparas e sebáceas da pele, dentre outras características, que são denominadas de elementos individualizadores, pontos característicos ou minúcias papiloscópicas. Além dessas, o núcleo e o delta são dois sistemas característicos de linhas merecem atenção. O núcleo é um arranjo circular de linhas presente na região central no desenho digital, enquanto que o delta se trata de uma junção de sistemas de linhas formando uma figura triangular. É justamente nesse desenho característico oriundo da disposição e formato das cristas papiloscópicas que se ampara a teoria de que o desenho papilar é único, ou seja, é capaz de individualizar e identificar pessoas (FIGINI, 2012; GALANTE FILHO, 1999; YAMASHITA; FRENCH, 2012). A Figura 3 apresenta uma impressão digital com exemplos de núcleo, delta e minúcias papiloscópicas.

Sendo uma área das Ciências Forenses, a Papiloscopia surge mundialmente no final do século XIX com um conjunto de estudos sobre identificação humana através das impressões digitais. No Brasil, em 1903 foi criado no Rio de Janeiro, capital do país à época, o Gabinete de Identificação e Estatística por iniciativa de Félix Pacheco, considerado o introdutor da identificação dactiloscópica no Brasil (FIGINI, 2012; FIGINI *et al.*, 2012; SÉRGIO SOBRINHO, 2003).

Figura 3 – Impressão digital reveladas com exemplos de núcleo, delta e minúcias papiloscópicas.

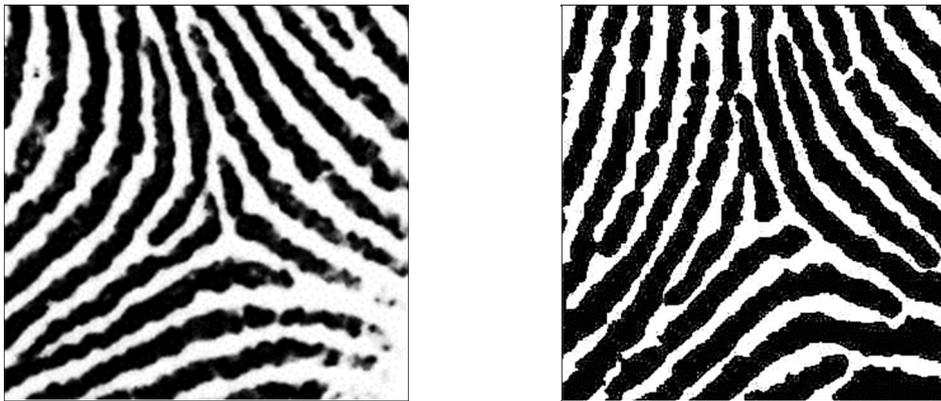
Fonte: o autor.

A utilização da Papiloscopia Forense na identificação humana é amparada nos seguintes princípios básicos sobre os desenhos das cristas papilares: perenidade, imutabilidade, variabilidade e classificabilidade. São perenes porque desde que se formam no sexto mês da vida intrauterina, permanecem invariáveis em número, situação, forma e direção até que a putrefação cadavérica destrua a pele. A imutabilidade se sustenta no fato de que as cristas papilares não sofrem modificações fisiológicas com o passar do tempo. Caso haja um traumatismo pouco profundo na pele, por exemplo, as cristas se regeneram naturalmente, preservando o desenho original. Já em lesões profundas, o processo de cicatrização pode causar marcas peculiares especificamente na parte afetada, porém geralmente não há alterações no desenho original como um todo e em todos os dedos. A variabilidade se dá porque ainda não há registros de duas impressões digitais idênticas produzidas por dedos diferentes. Os desenhos das extremidades dos dedos são sempre diferentes entre indivíduos (mesmo entre gêmeos univitelinos), assim como entre as mãos e os dedos de um mesmo indivíduo. Ou seja, as impressões digitais dos dez dedos de um mesmo indivíduo são sempre diferentes entre si. E, por fim, o princípio da classificabilidade está relacionado à capacidade de agrupamento dos desenhos digitais em arquivos que permitam buscas e consultas. Dessa forma, os princípios

básicos da Papiloscopia habilitaram a constituição de sistemas de identificação humana por impressões digitais que apresentam como principais vantagens a exatidão, fácil aplicação e sistematização dos dados em arquivos (ABBOOD; SULONG, 2014; FIGINI, 2012; HUTCHINS, 2012; MACEO, 2012; WERTHEIN, 2012).

Dentre os métodos dactiloscópicos de classificação e identificação antropométrica, merece destaque o sistema desenvolvido por Juan Vucetich na Argentina e publicado em 1893. Diante do número infinito de desenhos digitais, o Sistema Vucetich propõe um reduzido número de tipos fundamentais de impressões digitais, baseados na presença, número e localização do arranjo de linhas em formato triangular chamado de delta (Figura 4) (FIGINI, 2006, 2012; HUTCHINS, 2012).

Figura 4 - Detalhes de impressões digitais com exemplos de deltas: sistemas de linhas papiloscópicas em formato triangular.

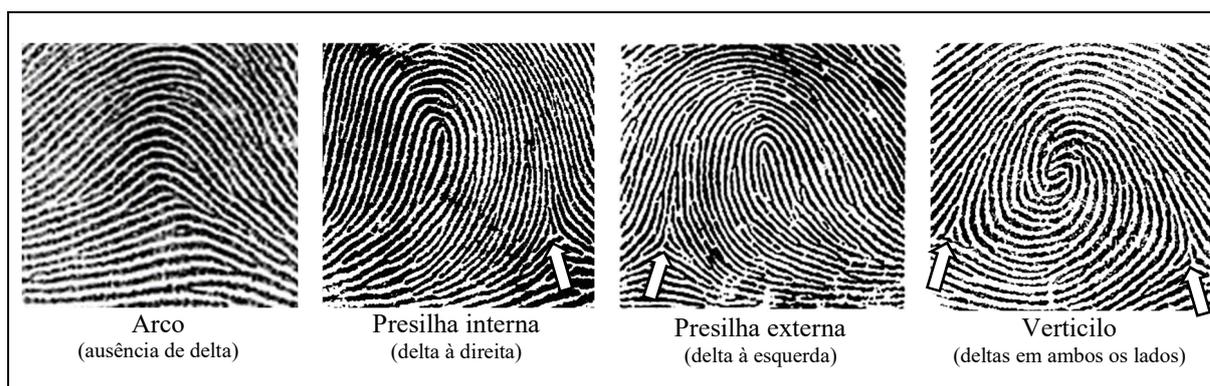


Fonte: o autor.

Conforme ilustra a Figura 5, com as setas sinalizando a existência e a posição dos deltas nas impressões digitais, tem-se que as impressões digitais podem ser classificadas em quatro tipos fundamentais, segundo o Sistema de Vucetich (FIGINI, 2012):

- Arco: não apresenta delta;
- Presilha interna: delta localizado à direita do observador;
- Presilha externa: delta situado à esquerda do observador;
- Verticilo: apresenta dois deltas, um de cada lado.

Em procedimentos de identificação humana, todo sistema de classificação de dados se propõe a ordenar os sinais individualizadores de modo a permitir consultas rápidas e diretas, diminuindo a quantidade de prontuários a serem pesquisados, agilizando a comparação entre uma impressão digital questionada (coletado em um local de crime, por exemplo) e a impressão digital de um indivíduo suspeito ou bancos de dados informatizados (FIGINI, 2012, 2013).

Figura 5 - Classificação dos tipos fundamentais de impressões digitais pelo Sistema de Vucetich.

Fonte: o autor.

O exame de confronto papiloscópico entre uma impressão digital questionada (coletada de uma cena de crime, por exemplo) e a impressão digital de um suspeito se dá inicialmente pela determinação da região da polpa digital que originou a marca e pela identificação das minúcias presentes. Em seguida, é realizada a análise das coincidências entre as características individualizadoras de cada marca, incluindo a nitidez da imagem, a presença de núcleo e/ou do delta na parte decifrável, a determinação do tipo fundamental e sua raridade, a presença de poros, a identificação da largura das cristas e dos sulcos, a direção das linhas, assim como a presença e localização das minúcias papiloscópicas (FIGINI, 2006, 2012; HUTCHINS, 2012).

As linhas papilares das polpas digitais de ambas as mãos são as marcas que mais interessam para a Papiloscopia Forense para fins de identificação humana em virtude de sua frequência em cenas de crime. Tal referência também decorre do fato de que as extremidades dos dedos, a partir da prega interfalangeana, oferecem maior funcionalidade quanto a sua forma de reprodução, tanto por entitamento na coleta de padrões quanto em relação às marcas deixadas em locais de crime (FIGINI *et al.*, 2012; HUTCHINS, 2012; OLSEN; LEE, 2001).

2.2 Composição química e efeito do tempo nas impressões digitais

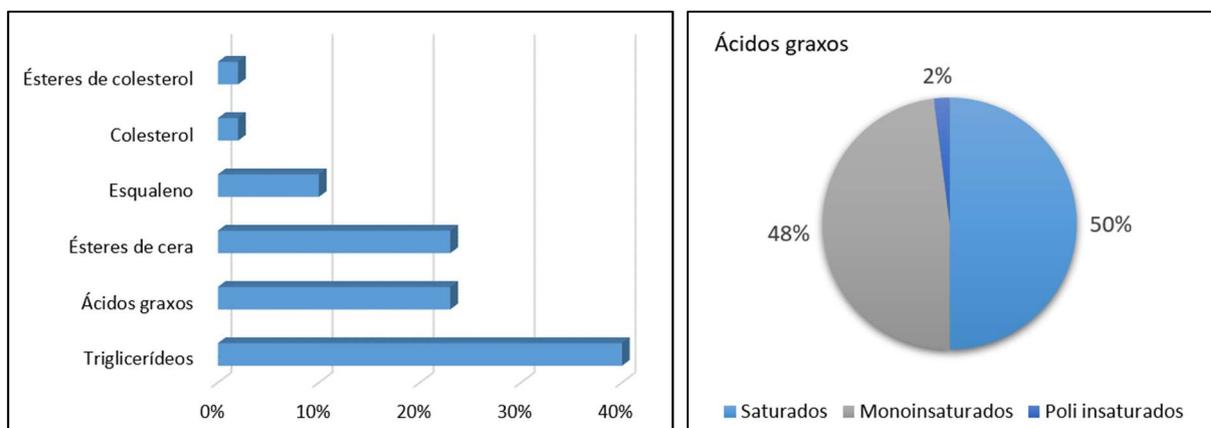
Como já visto, as impressões digitais são compostas por um complexo conjunto de substâncias transferidas da superfície da pele para um substrato quando tocado, resultando no desenho do padrão das cristas papilares presentes nas polpas digitais de cada indivíduo. Os avanços recentes quanto à pesquisa e compreensão dessas substâncias são de grande

importância para o aprimoramento de reveladores já existentes, assim como para a pesquisa e desenvolvimento de novos materiais e estratégias voltados à revelação de impressões digitais latentes coletadas em cenas de crime (CADD *et al.*, 2015; DORAKUMBURA; Buseti; Lewis, 2019; FRICK *et al.*, 2016; KEISAR *et al.*, 2019; MARIOTTI, 2020; SZABÓOVÁ *et al.*, 2017).

A composição das impressões digitais engloba componentes intrínsecos ao indivíduo, mas também componentes extrínsecos. Uma vasta e complexa mistura de substâncias originárias da epiderme, das glândulas secretoras da derme, e ainda traços de metabólitos de medicamentos e drogas ilícitas, por exemplo, são apontados como componentes intrínsecos. Os componentes ou contaminantes extrínsecos podem incluir: sangue, maquiagem, contaminantes de alimentos, cosméticos e sujeiras de um modo geral (GIROD; RAMOTOWSKI; WEYERMANN, 2012; NG *et al.*, 2009; SZYNKOWSKA *et al.*, 2009; WEST; WENT, 2009).

Dentre as glândulas presentes na pele, destacam-se as sudoríparas, responsáveis pelo componente écrino do suor, e as glândulas sebáceas que originam produtos lipídicos. Cada glândula contribui com uma mistura única de compostos químicos secretados pelos poros sudoríparas. Os produtos excretados por estas glândulas, em especial as sebáceas com seu produto gorduroso, são responsáveis pela formação das impressões papilares latentes presentes em cenas de crime (CORMACK, 2001; FIGINI, 2012; JUNQUEIRA, 2005). A Figura 6 apresenta gráficos com a composição da secreção sebácea e, mais especificamente, dos ácidos graxos.

Figura 6 - Gráficos da composição orgânica majoritária e em traços da secreção sebácea de impressões digitais.

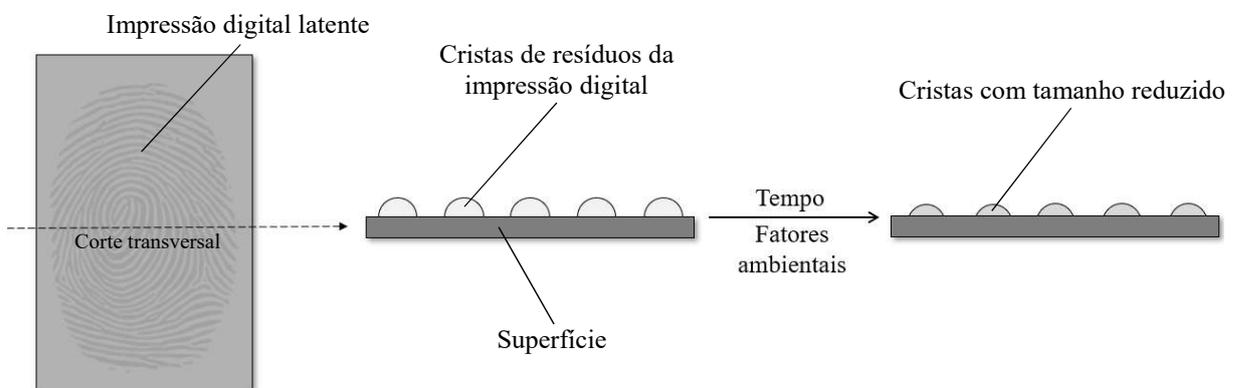


Fonte: CADD *et al.*, 2015; GIROD; RAMOTOWSKI; WEYERMANN, 2012; RAMOTOWSKI, 2001.

O componente écrino da impressão digital é formado por aproximadamente 98% de água, além de compostos orgânicos (principalmente: aminoácidos, ureia, ácido láctico, ácido úrico e proteínas), além de íons inorgânicos (cloreto, sódio, potássio, ferro, cálcio, bicarbonato, sulfato, fosfato, dentre outros presentes em níveis de traço) (GIROD *et al.*, 2016; GIROD; RAMOTOWSKI; WEYERMANN, 2012; RAMOTOWSKI, 2001). O suor sebáceo é composto de inúmeros compostos orgânicos, majoritariamente lipídios, incluindo: triglicerídeos, ácidos graxos, ésteres de ácidos graxos de cadeia longa, esqualeno, esteróis (colesterol, principalmente) e outros ésteres lipídicos (CROXTON *et al.*, 2010; MICHALSKI; SHALER; DORMAN, 2013).

Todos esses constituintes orgânicos das impressões digitais apresentam diferentes parâmetros de estabilidade e resistência à degradação química e microbiana, o que pode afetar substancialmente a composição química das impressões digitais. Com o passar do tempo, os componentes voláteis evaporam do resíduo, ocasionando consideráveis alterações na sua espessura, tornando-o mais viscoso (ARCHER *et al.*, 2005; CADD *et al.*, 2015; SODHI; KAUR, 2001, 2016). Dessa forma, a massa e o tamanho das cristas diminuem com o tempo, à medida que componentes voláteis são perdidos e reações químicas acontecem, conforme esquematiza a Figura 7, apresentando um corte transversal de uma impressão digital aplicada sobre uma superfície plana. A extensão em que isso ocorre é influenciada por vários fatores, incluindo tipo e condição da superfície, nível de exposição à luz solar direta, temperatura ambiente, umidade e fluxo de ar através da superfície, ou seja, diversos fatores ambientais relacionados a cena de crime (CROXTON *et al.*, 2010; SEARS *et al.*, 2012).

Figura 7 - Esquema ilustrativo do efeito do tempo nos componentes de impressões digitais.



Fonte: o autor.

Estudos sugerem que as cristas se tornam cada vez mais frágeis e topograficamente irregulares, tendo em vista o aumento da suscetibilidade à erosão física por atrito e correntes de ar que cruzam a superfície da impressão digital (CADD *et al.*, 2015; WARGACKI; LEWIS; DADMUN, 2008). À medida que a água é perdida, a impressão digital se torna menos receptiva a reveladores químicos, especialmente aos pós e ao cianoacrilato. Consequentemente, a mistura restante de compostos orgânicos e inorgânicos se acumula em uma matriz cerosa, diminuindo a área de superfície disponível para contato com os reagentes (MONG; PETERSEN; CLAUSS, 1999), e deixando mais exposta a superfície onde a impressão digital está aplicada, o que seria uma grande vantagem para reveladores que apresentassem afinidade com a superfície, por exemplo (BERESFORD *et al.*, 2012; BERESFORD; HILLMAN, 2010; BROWN; HILLMAN, 2012; SAPSTEAD *et al.*, 2013).

Os ácidos graxos saturados, por exemplo, permanecem nas impressões digitais por mais tempo que os ácidos insaturados, especialmente devido à falta de um grupo funcional segmentável. Os vários processos químicos de degradação e decomposição resultam na formação de produtos de oxidação com cadeias menores. A maior parte dos ácidos graxos presentes no suor se origina da hidrólise de triglicerídeos provenientes das glândulas sebáceas. Logo, o aumento na concentração de ácidos graxos com o passar do tempo pode ser atribuído à decomposição de ácidos graxos insaturados de cadeia longa, ésteres de cera e triglicerídeos (GIROD; RAMOTOWSKI; WEYERMANN, 2012; RAMOTOWSKI, 2001).

Dentro dessa perspectiva, especialistas não recomendam pesquisas para testar novas técnicas de revelação apenas com marcas de dedos recém depositadas. O programa experimental deve incluir, portanto, impressões digitais com diferentes tempos entre a sua aplicação na superfície e a implementação do processo de revelação. Sendo assim, as técnicas podem se mostrar mais eficientes perante impressões digitais recentes e/ou antigas, e esse conhecimento é valioso por si só, pois define as restrições sobre quando e onde cada técnica pode ser aplicada (ENFSI, 2015; IFRG, 2014a; SEARS *et al.*, 2012).

2.3 Reveladores convencionais e inovadores

A maioria das impressões digitais identificadas e coletadas durante exames periciais em cenas de crime, tendo em vista seu aspecto geralmente latente, são invisíveis a olho nu. Diante disso, essas marcas requerem um tratamento utilizando substâncias coloridas e/ou

fluorescentes, com o objetivo de revela-las, ou seja, tornar o seu desenho nítido e interpretável para fins de identificação forense. A execução indubitável do exame de confronto papiloscópico com impressões digitais de suspeitos somente pode ser realizada mediante uma revelação de impressões digitais latentes correta e eficaz (CHAMPOD *et al.*, 2004; YAMASHITA; FRENCH, 2012).

Nesse caso, são denominados de reveladores convencionais os produtos químicos desenvolvidos especificamente para interagirem química ou fisicamente com as substâncias que compõem as impressões digitais latentes, proporcionando o aprimoramento da sua visualização. Basicamente, o sucesso da revelação de uma impressão digital consiste na correta seleção do produto que apresente afinidade com algumas das substâncias presentes na marca, sem que ocorra interação com a superfície onde se encontra a impressão. Dessa forma, o revelador proporciona as condições de contraste e nitidez necessárias à perfeita interpretação da marca (FIGINI, 2013; YAMASHITA; FRENCH, 2012). A Figura 8 apresenta um fluxo de análise da impressão digital latente enquanto vestígio, desde de sua identificação e coleta na cena de crime, passando pelo processo de revelação e resultando na impressão digital revelada, com a possível identificação do autor do delito.

Figura 8 - Fluxo representativo da análise da impressão digital latente desde de sua identificação e coleta na cena de crime, passando pelo processo de revelação e resultando na impressão digital revelada e a identificação do criminoso.



Fonte: o autor.

Mais especificamente, os métodos convencionais de revelação se baseiam na interação do reagente escolhido com componentes solúveis em água, aminoácidos, lipídeos e outras substâncias que compõem o resíduo que dá forma à impressão digital. Há disponível no mercado uma enorme variedade de substâncias utilizadas como reveladores de impressões digitais latentes. Os reagentes e os métodos tradicionalmente empregados incluem a aplicação de pós, que podem ser coloridos, luminescentes, magnéticos ou termoplásticos, além de outros

métodos baseados na utilização de ninidrina, vapores de iodo, nitrato de prata, cianoacrilato de etila, dentre outras substâncias químicas. Atualmente, esses métodos são os mais amplamente utilizados na rotina forense devido a sua relativa simplicidade, custo, eficiência e facilidade de operação (YAMASHITA; FRENCH, 2012).

No entanto, esses reveladores convencionais apresentam certas desvantagens. Embora de visualização instantânea, algumas dessas técnicas podem acarretar um efeito destrutivo nos detalhes da imagem revelada ou não fornecer contraste e nitidez necessários aos procedimentos de identificação forense. O contraste, a sensibilidade e a seletividade da revelação também podem se mostrar baixos ou insuficientes a depender da superfície em que a impressão digital esteja aplicada, assim como das condições ambientais as quais a impressão digital questionada foi exposta na cena de crime antes dos exames periciais (SODHI; KAUR, 2016; WANG *et al.*, 2017).

No método do pó, por exemplo, a seletividade na revelação geralmente não é alta, em virtude da aderência física seletiva relativamente baixa do particulado que compõe os pós reveladores aos resíduos que constituem a impressão digital latente. Particularmente, quando estes pós são aplicados sobre os substratos úmidos, a seletividade na revelação é bastante baixa, devido à forte afinidade dos pós com a água (WANG *et al.*, 2017).

Quanto ao método de vaporização com cianoacrilato, a seletividade costuma ser mais alta quando realizado sob operação adequada, devido às reações de polimerização altamente seletivas entre os monômeros de éster de cianoacrilato e os resíduos de impressão digital, que deve ser desenvolvida em câmaras de vaporização com alta capacidade de vedação e custo elevado. Em virtude da desidratação do resíduo com o passar do tempo, as impressões digitais latentes se tornam cada vez menos suscetíveis à revelação com cianoacrilato, em virtude da menor oferta de água como base fraca (nucleófilo) à reação de polimerização. Nesses casos, a pouca umidade da amostra leva a revelações de baixa qualidade, ou seja, com contraste insuficiente entre a impressão digital e a superfície (PAINE *et al.*, 2011).

A toxicidade dos materiais também é levada em consideração. Reveladores convencionais, como os pós e o cianoacrilato, são potencialmente tóxicos, principalmente em função da sua intensa capacidade de se dissipar no meio, seja no laboratório forense ou na própria cena de crime. O método de vaporização com cianoacrilato, por exemplo, é uma técnica versátil e eficaz para revelar impressões digitais latentes em praticamente todos os substratos não porosos, especialmente superfícies rugosas, entretanto existem vários problemas de segurança à saúde associados a esse método. Os ésteres de cianoacrilato líquido e seus vapores

têm a capacidade de causar danos graves à pele, olhos e mucosas das vias aéreas do analista, especialmente se a técnica for desenvolvida com equipamentos inadequados, como câmaras de vaporização mal vedadas ou improvisadas das quais os vapores possam escapar (FUNG *et al.*, 2011; SODHI; KAUR, 2016).

A Tabela 1 mostra um comparativo entre os produtos comerciais convencionalmente empregados na revelação, apresentando as superfícies nas quais o método apresenta maior efetividade, assim como suas principais vantagens e desvantagens.

Tabela 1 - Comparativo dos reveladores convencionais de impressões digitais quanto à superfície, vantagens e desvantagens.

Método	Superfície	Vantagens	Desvantagens
Pós	Não porosa (vidro, plástico, cerâmica e materiais sintéticos).	Revelação instantânea e na própria cena do crime; Execução prática e relativamente simples. Baixo custo. Disponível em diversas cores, favorecendo o contraste na revelação.	Baixa efetividade em impressões digitais envelhecidas; Toxicidade; Efeito destrutivo dos detalhes, especialmente pelo pincel aplicador; Experiência e conhecimento técnico do perito na escolha do tipo de pó.
Vapor de iodo	Porosas (papel e madeira) e não porosas.	Não ocorre reação química; Permite o emprego subsequente de outras técnicas.	Revelação efêmera, requerendo rápido registro fotográfico. Toxicidade.
Nitrato de prata	Porosas (papel e madeira).	Boas condições de contraste e nitidez.	Revelação efêmera, requerendo rápido registro fotográfico. Toxicidade.
Ninidrina	Porosas (papel, principalmente).	Boas condições de contraste e nitidez.	Reação lenta; Requer acompanhamento constante do examinador; Toxicidade.
Cianoacrilato	Não porosa (vidro, plástico, cerâmica e materiais sintéticos).	Pode ser aplicado em uma vasta gama de superfícies, incluindo papel moeda, fitas adesivas, embalagens de drogas, etc.	Toxicidade; Baixa efetividade em impressões digitais envelhecidas ou molhadas; Efeito destrutivo dos detalhes; Requer câmaras de vaporização de alto custo; Reação lenta; Requer acompanhamento constante do examinador; Geralmente requer aplicação subsequente de corantes.

Fonte: BUMBRAH, 2017; CADD *et al.*, 2015; COSTA, 2020; FIGINI, 2012; PAINE *et al.*, 2011; SARI; QALBIAH; PUTRI, 2018; SODHI; KAUR, 2001; VON WURMB; MEISSNER; WEGENER, 2001; WARGACKI; LEWIS; DADMUN, 2008.

No caso de impressões digitais latentes encontradas em armas de fogo e elementos de munição, sejam cartuchos não deflagrados ou estojos deflagrados, os métodos mais empregados na rotina forense são o cianoacrilato com o incremento de corantes e a aplicação de pós, entretanto são registradas baixas taxas de sucesso na identificação e revelação desses vestígios (CHRISTOFIDIS; MORRISSEY; BIRKETT, 2018; MONTPETIT; O'DONNELL, 2015).

No caso do cianoacrilato, destaca-se a polimerização seguida da aplicação de corantes fluorescentes, especialmente Gun Blue, Basic Yellow 40 e Ardrex, sendo um método de execução relativamente simples e que permite revelação em superfícies de diferentes colorações. Entretanto, emprega substâncias tóxicas e câmaras de vaporização de alto custo (GIRELLI *et al.*, 2015, 2018; GIRELLI; SEGATTO, 2019). Os pós reveladores também são empregados nesses casos, com a vantagem da aplicação na própria cena do crime tendo em vista a simplicidade da técnica, porém com uma taxa de sucesso ainda menor que o cianoacrilato. Cabe salientar ainda que, como estas técnicas têm afinidade com o resíduo da impressão digital (especialmente o componente aquoso), a sua taxa de eficiência decai com o passar do tempo, mostrando-se pouco vantajosa em impressões digitais com mais de 7 dias (BLEAY; CROXTON; DE PUIT, 2018; CHRISTOFIDIS; MORRISSEY; BIRKETT, 2018; WARGACKI; LEWIS; DADMUN, 2008).

Mesmo diante da vasta gama de reveladores convencionais e comercialmente disponíveis, ainda existem situações em que é difícil ou impossível revelar impressões digitais latentes presentes em vestígios forenses. Diante desse contexto, cientistas forenses se dedicam ao desenvolvimento de novas tecnologias e à otimização de métodos existentes com o intuito de oferecer soluções às questões que os peritos criminais se deparam na rotina forense. Tal esforço inclui diversas pesquisas científicas direcionadas ao aprimoramento de fatores como sensibilidade, universalidade, conveniência e eficiência dos materiais e métodos de revelação, através do emprego de técnicas como espectroscopia, espectrometria de massa, abordagens baseadas em nanopartículas, dentre outras (CHEN *et al.*, 2017a; LIAN *et al.*, 2020; MARIOTTI, 2020; SZABÓOVÁ *et al.*, 2017; VAN HELMOND *et al.*, 2019).

O fato de uma mesma técnica de revelação não funcionar para todos os tipos de superfícies é a principal razão para o desenvolvimento de novas técnicas de revelação de impressões digitais. Os avanços nesse caso se pautam especialmente em técnicas que promovam a visualização das impressões digitais de forma rápida e não destrutiva (CHAMPOD *et al.*, 2004). Além disso, a dificuldade em recuperar impressões digitais de armas de fogo e

cartuchos de munição está relacionada especialmente pelas condições inerentes à deflagração da munição (altas temperaturas, atrito e deposição de resíduos), que reduzem substancialmente as chances de recuperação e revelação (CHRISTOFIDIS; MORRISSEY; BIRKETT, 2018).

Devido as suas propriedades ópticas e químicas singulares, como maior intensidade fluorescente, melhor estabilidade de fluorescência e diferentes possibilidades de contraste, materiais fluorescentes com aplicação forense são largamente estudados, incluindo *quantum dots* de metais pesados, nanopartículas de terras raras e de metais nobres empregados como pós reveladores para obtenção de imagens fluorescentes de impressões digitais. Entretanto, em contrapartida aos ótimos resultados reportados, são apontados como pontos negativos as dificuldades inerentes à obtenção dos seus insumos e os potenciais riscos ao meio ambiente e aos analistas. Diante disso, os pesquisadores agora se voltam ao desenvolvimento de materiais orgânicos fluorescentes utilizando diferentes estratégias de síntese química e composições de reagentes na busca de materiais de baixa toxicidade, biocompatíveis e amigáveis ao meio ambiente (BHARAT; NAGARAJU; YU, 2018; CHEN *et al.*, 2017b; COSTA B. *et al.*, 2020; GHUBISH *et al.*, 2020; GOUIAA *et al.*, 2020; KUMAR *et al.*, 2020; LI *et al.*, 2017; NIU *et al.*, 2015; PRABAKARAN; PILLAY, 2021; WANG *et al.*, 2017).

Costa B. *et al.* (2020) desenvolveram e testaram um revelador fotoluminescente de impressões digitais baseado em *quantum dots* estabilizados por ácido mercaptopropiônico, que foram incorporados a microesferas de sílica LunaTM com superfície modificada por [3-(2-aminoetilamino)propil]trimetoxissilano (SATS), originando o compósito SATS@CdTe. A luminescência foi preservada após a ancoragem do CdTe-MPA na sílica modificada quimicamente. O composto hierárquico SATS@CdTe foi aplicado com sucesso na revelação de impressões digitais latentes em diferentes superfícies não porosas, como vidro, aço e plástico, com alta sensibilidade e contraste.

Os vestígios metálicos também têm sido alvo de estudos visando o desenvolvimento de materiais e estratégias inovadoras para a revelação de impressões digitais. Algumas dessas técnicas são recentes no mercado, como é o caso da deposição de metal à vácuo, que tem capacidade comprovada para revelar impressões digitais antigas e que foram submetidas a intempéries, porém é de alto custo e requer treinamento especializado (BLEAY; CROXTON; DE PUIT, 2018; CHRISTOFIDIS; MORRISSEY; BIRKETT, 2018).

Em relação aos cartuchos e estojos fabricados em latão, considerando-se as propriedades eletroquímicas relacionadas à liga metálica, alguns métodos inovadores de revelação de impressões digitais que exploram os conceitos e técnicas eletroquímicas, com

destaque para eletrodeposição de nanopartículas metálicas, revelação eletrostática, eletrólise e deposição de sais, que são técnicas relativamente simples, mas com limitação de superfícies alvo. Destaca-se também a técnica de *Scanning Kelvin Probe*, que tem a capacidade de revelar impressões digitais mais antigas, mas apresenta alto custo (CHRISTOFIDIS; MORRISSEY; BIRKETT, 2018; NIZAN; KNAAP; STEWART, 2012; WILLIAMS; MCMURRAY, 2007; XU *et al.*, 2017). Sobre essas técnicas eletroquímicas, ainda cabe citar que a maioria delas opera sob altas tensões, o que pode provocar danos às estruturas biológicas presentes na impressão digital (SILVA *et al.*, 2012)

Outro recente exemplo de revelação eletroquímica é a aplicação inovadora de nanofibras fluorescentes para a revelação de impressões digitais latentes. Nessa linha, pesquisadores apresentaram uma estratégia eficiente e de baixo custo baseada na fabricação rápida por eletrofiação de nanofibras fluorescentes à base de dansila sobre impressões digitais em estojos de munição (MAZZINI JUNIOR *et al.*, 2020).

Como visto, a aplicação dos processos elétricos e eletroquímicos na revelação de impressões digitais latentes presentes em superfícies metálicas tem como base a condução elétrica inerente aos metais. Além dos métodos anteriormente citados, os processos de revelação eletroquímica de impressões digitais baseados na eletrodeposição de filmes de polímeros condutores têm merecido destaque na comunidade forense de todo o mundo tendo em vista os resultados promissores e o seu caráter inovador (ASSIS *et al.*, 2017; BERESFORD; HILLMAN, 2010; BERSELLINI *et al.*, 2001; LIAN *et al.*, 2020).

2.4 Eletroquímica e polímeros condutores

No ano 2000, a descoberta e o desenvolvimento dos polímeros condutores renderam o Prêmio Nobel de Química para Alan J. Heeger, Alan G. MacDiarmid e Hideki Shirakawa. A descoberta fortuita se deu em 1977, quando o acetileno foi acidentalmente submetido à polimerização com uma quantidade de catalizador muito acima do normal, produzindo um filme polimérico lustroso, prateado e isolante, mas que, quando exposto a vapores de iodo, tornou-se condutor. A reação produziu um polieno denominado de poliacetileno, formado por uma cadeia de carbono com ligações simples e duplas alternadas: $[-CH=CH-]_n$ (CHAUHAN *et al.*, 2019; FAEZ *et al.*, 2000). Naquela época, vários cientistas em todo o mundo estavam envolvidos no desenvolvimento, melhoria e aplicações de polímeros intrinsecamente

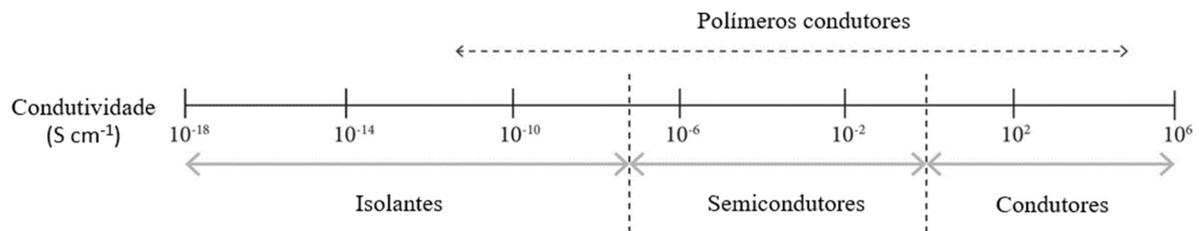
condutores, também denominados de polímeros condutores, polímeros conjugados, plásticos condutores de eletricidade, polímeros eletrônicos, metais sintéticos, condutores orgânicos e metais plásticos. No Brasil, as pesquisas com polímeros condutores foram iniciadas na década de 1980 com estudos relacionados à aplicação desses materiais e suas propriedades frente à diferentes condições de síntese e dopagem eletroquímica (DE PAOLI *et al.*, 1985; DE PAOLI; GAZOTTI, 2002; PERES; DE PAOLI; TORRESI, 1992; PERES; PERNAUT; DE PAOLI, 1989; PERNAUT *et al.*, 1989).

Anos após a sua descoberta, os polímeros condutores ainda são considerados como uma importante classe de materiais funcionais, possuindo algumas propriedades úteis dos polímeros orgânicos (resistência, plasticidade, flexibilidade e elasticidade), e também pelas suas propriedades elétricas, magnéticas e ópticas, que são peculiares a metais e semicondutores. Em relação a estrutura química, os polímeros condutores são formados por cadeias contendo duplas ligações C = C alternadas com ligações simples C – C, ou seja, duplas ligações π conjugadas, formando um sistema estendido de elétrons π que permite o fluxo de elétrons em condições específicas. Portanto, os polímeros com insaturações conjugadas possuem em sua cadeia principal segmentos feitos de unidades monoméricas contendo ligações simples (δ) e duplas (δ e π) alternadas, sendo que os elétrons que constituem as ligações π se encontram deslocalizados por toda a cadeia polimérica (BIDAN, 2010; CHAUHAN *et al.*, 2019; FAEZ *et al.*, 2000; RIBEIRO; MORTIMER, 2016; YILMAZ, 2016).

O modelo de bandas, em analogia à teoria do orbital molecular, foi o primeiro modelo usado para explicar a condutividade dos polímeros condutores assumindo que os elétrons oriundos do processo de dopagem, eram removidos da banda de valência (níveis eletrônicos vazios de mais baixa energia) e adicionados à banda de condução (níveis ocupados de mais alta energia). Estes dois níveis estão separados por uma faixa de energia proibida denominada de *gap*, que é responsável pelas propriedades elétricas intrínsecas do material. De acordo com esse modelo, a condutividade dos polímeros se dá pela movimentação de elétrons na banda de condução (dopagem do tipo “n”, ou redução do polímero) ou pela movimentação de vacâncias na banda de valência (dopagem do tipo “p”, ou oxidação do polímero). Devido à alternância de ligação dupla na estrutura do polímero condutor, as espécies carregadas formadas por dopagem são capazes de se mover ao longo da cadeia de carbono (deslocalização), permitindo o transporte de elétrons e, conseqüentemente, tornando-o um material eletronicamente condutor. Os polímeros condutores podem apresentar condutividade elétrica

desde a típica de materiais isolantes até a de metais, passando pelos semicondutores, conforme ilustra a Figura 9 (FAEZ *et al.*, 2000; RIBEIRO; MORTIMER, 2016).

Figura 9 - Faixa de condutividade elétrica típica dos polímeros condutores.



Fonte: o autor, adaptado de Nogueira (2010).

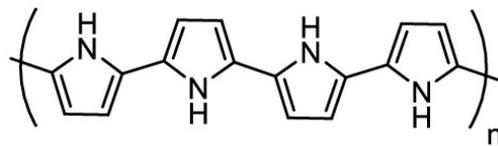
Além da condutividade, outra característica merece atenção: a possibilidade de variar de forma rápida e reversível o seu estado de oxidação e, conseqüentemente, a sua condutividade, desde níveis muito baixos (estados reduzidos) até níveis moderadamente altos (estados oxidados). O processo de oxidação/redução da cadeia polimérica é efetuado por agentes de transferência de carga, que são aceptores/doadores de elétrons, convertendo o polímero de isolante em condutor ou semicondutor (BIDAN, 2010; RIBEIRO; MORTIMER, 2016; VOROTYNTSEV; ZINOVYEVA; KONEV, 2010).

Diferentemente dos polímeros sintéticos convencionais, os polímeros condutores respondem a determinados estímulos de forma reprodutível e específica. Dessa forma, considerando seu comportamento eletroquímico e graças a suas propriedades físicas e eletroquímicas únicas, esses materiais possuem aplicações em diversas áreas como baterias e supercapacitores, dispositivos fotovoltaicos, dispositivos de memória, diodos emissores de luz, músculos artificiais (atuadores), dispositivos médicos, biossensores e proteção contra corrosão. Embora a investigação de muitos desses dispositivos ainda esteja principalmente no âmbito da academia, têm surgido nos últimos anos empresas dedicadas ao desenvolvimento de novos materiais baseados em polímeros conjugados (ARIAS-PARDILLA; OTERO, 2017; RIBEIRO; MORTIMER, 2016; WOLFART *et al.*, 2017).

O polipirrol, a polianilina e o politiofeno, juntamente com seus vários derivados, representam as três principais famílias de polímeros que são objeto de pesquisa de vários grupos ao redor do mundo (COSNIER; KARYAKIN, 2010). Entre os numerosos polímeros condutores existentes, o polipirrol (Figura 10) é de longe o mais extensivamente estudado, e as razões para tanto certamente residem no fato de que o monômero (pirrol) é facilmente oxidado, solúvel em água e disponível comercialmente a baixo custo. Portanto, o polipirrol (PPy) apresenta várias

vantagens, incluindo estabilidade ambiental, boas propriedades redox e a capacidade de atingir consideráveis níveis de condutividade elétrica. Dependendo o contra íon empregado na síntese, a sua condutividade elétrica pode variar de 10 a 1000 S cm⁻¹. A cor do PPy é resultado da oxidação, passando de amarelo para azul e finalmente para preto à medida que o grau de oxidação aumenta. A estabilidade química do PPy oxidado é muito boa à temperatura ambiente, e sua degradação ocorre apenas quando a temperatura é superior a 150 - 300 °C. O PPy eletropolimerizado pode ser bem aderido ao eletrodo quando a espessura do filme polimérico for inferior a 10 µm. No entanto, quando a espessura é maior que 10 µm, o filme pode ser facilmente retirado (CAMURLU, 2014; YI; ABIDIAN, 2016).

Figura 10 - Estrutura química do polipirrol.



Fonte: o autor.

Basicamente, os polímeros condutores podem ser sintetizados através de dois métodos, ambos partindo (evidentemente) de monômeros adequados: por meio de síntese química, seguida de dopagem; ou através de síntese eletroquímica diretamente em um estado dopado (MULLER, 2006).

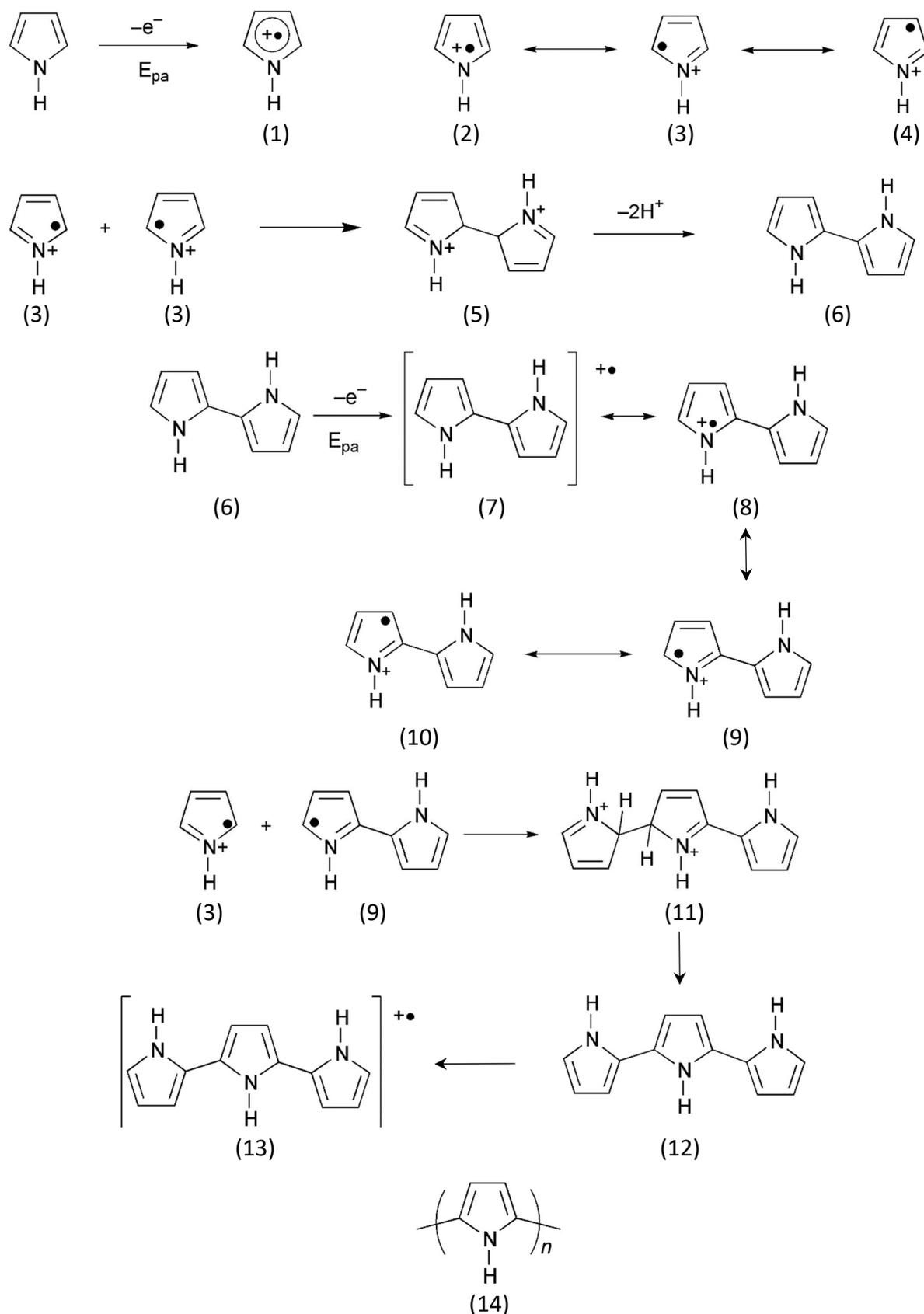
A deposição eletroquímica é uma estratégia de tratamento de superfícies com uma longa história e de tecnologia relativamente madura, destinada à obtenção de filmes de materiais funcionais sintetizados diretamente na superfície de um material. Nesses casos, os filmes de polímeros condutores são sintetizados por eletropolimerização, ou seja, são eletrodepositados na superfície de eletrodos de trabalho por oxidação anódica do monômero correspondente na presença de uma solução eletrolítica (YUAN *et al.*, 2020).

As propriedades intrínsecas do PPy, por exemplo, são altamente dependentes das condições de eletropolimerização. Portanto, compreender as diferentes etapas, ou seja, o mecanismo envolvido na eletrodeposição do polímero, é de particular importância. Com este conhecimento, um melhor controle das propriedades pode ser vislumbrado, resultando em filmes de PPy com propriedades físicas e químicas aprimoradas (SADKI *et al.*, 2000).

O mecanismo de eletropolimerização do PPy é um assunto controverso entre os cientistas, pois vários mecanismos foram propostos até o momento. Uma das principais dificuldades encontradas na determinação das diferentes etapas da reação é a rapidez da

polimerização. Além disso, a insolubilidade do PPy associada à sua natureza não cristalina torna a caracterização da estrutura e a análise das propriedades físicas extremamente difíceis. Como resultado, não houve acordo unânime entre os pesquisadores a respeito desse mecanismo (CAMURLU, 2014; SADKI *et al.*, 2000). O mecanismo proposto por Diaz *et al.* (1979), representado na Figura 11, é o mais frequentemente encontrado na literatura e confirmado por outros pesquisadores, tendo em vista que apresenta uma combinação de várias reações sucessivas (formação de cátions radicais, acoplamento radical e desprotonação).

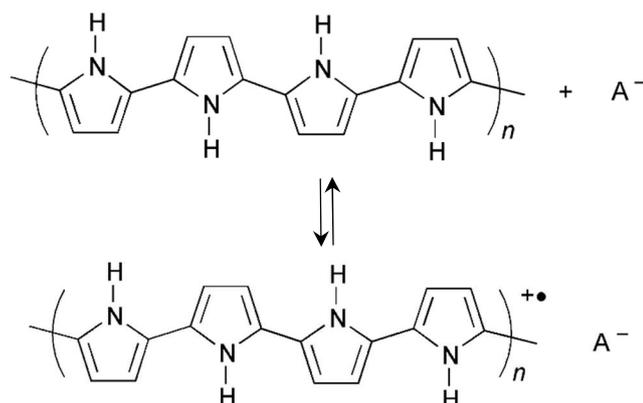
A eletropolimerização do PPy se inicia pela oxidação de um monômero de pirrol (Py) na superfície do eletrodo de trabalho, levando à formação de um intermediário cátion radical pirrol (1), sujeito à diferentes formas de ressonância (2, 3, 4). Com o potencial aplicado, os monômeros no estado oxidado encontram-se em maior concentração próximos à superfície do eletrodo de trabalho, situação que é mantida pela difusão contínua de espécies não oxidadas em direção ao ânodo. Então, os cátions radicais dimerizam através da forma de ressonância (3), em virtude de apresentar maior densidade de elétrons desemparelhados na posição α . O acoplamento entre dois cátions radicais resulta na formação de uma ligação entre suas posições α , formando um dication dihidrômero (5). A perda de dois prótons leva a etapa de estabilização com a formação do dímero aromático (6). A reação de polimerização segue com a oxidação do dímero (6) ao radical catiônico (7). Uma vez que o elétron desemparelhado agora está deslocado nos dois anéis, o potencial de oxidação da espécie (6) é menor do que o potencial de oxidação do monômero. Dessa forma, com o potencial aplicado, o dímero (6) é mais facilmente oxidado do que o monômero. As posições 5-5' são igualmente as áreas mais reativas, logo a forma de ressonância (9) é predominante em relação às outras formas (8, 10). A forma de ressonância (9) reage pela posição 5 ou 5' com um monômero cátion de radical (3), formando o trímero (11), que desprotona para dar origem ao trímero neutro (12). A eletro-oxidação de (12) forma o trímero cátion radical (13). As posições do trímero 5-5' (posição α) e 3-3' (posição β) podem sofrer reações de acoplamento com os oligômeros seguintes, mesmo se as posições β estiverem estericamente inacessíveis. O acoplamento α será predominante, no entanto, com o aumento progressivo da cadeia do oligômero (juntamente com a deslocalização do elétron desemparelhado), o acoplamento α vai deixando de ser predominante. Logo, quanto maior o comprimento da cadeia, maior será o número de ligações β formadas. A propagação da cadeia polimérica segue pela mesma sequência: oxidação, acoplamento e desprotonação até que o produto polimérico final seja obtido (14) (CAMURLU, 2014; DIAZ; KANAZAWA; GARDINI, 1979; SADKI *et al.*, 2000).

Figura 11 - Mecanismo de polimerização do polipirrol por Diaz *et al.* (1979).

Fonte: o autor, adaptado de Camurlu (2014) com permissão da *The Royal Society of Chemistry*.

Como visto, a eletropolimerização produz o PPy na sua forma condutora oxidada ou dopada. Na verdade, a cadeia final do polímero carrega uma carga positiva a cada 3 a 4 unidades de Py, que é contrabalançada por um ânion, de modo que os filmes obtidos consistem em cerca de 65% de polímero e 35% de ânion (% em peso) (SADKI *et al.*, 2000). A estrutura do polímero dopado é apresentada na Figura 12, onde A é o ânion oriundo do eletrólito.

Figura 12 – Representação da estrutura química do polipirrol dopado.



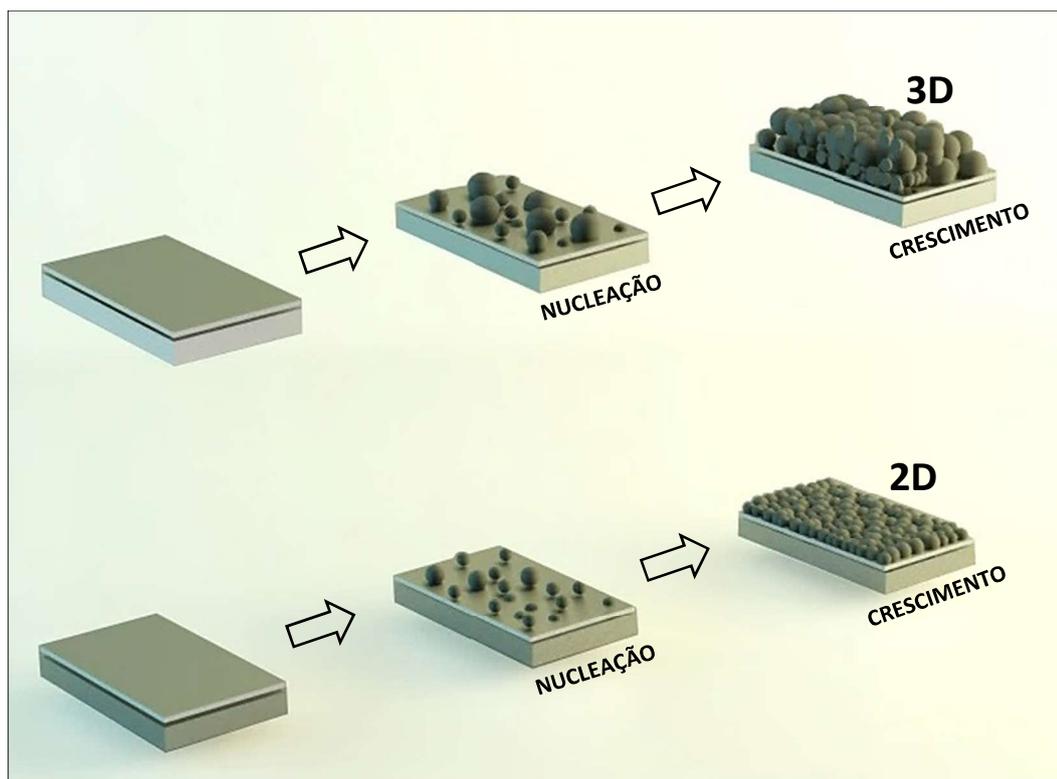
Fonte: o autor.

O mecanismo de síntese dos polímeros condutores por eletropolimerização, incluindo o PPy, é comumente dividido em três estágios: um período de incubação, seguindo de dois estágios de nucleação e crescimento (HILLMAN; MALLEEN, 1987; WANG; NORTHWOOD, 2008; ZHENG *et al.*, 2012). O primeiro estágio corresponde ao processo de oxidação dos monômeros, que se difundem em direção à interface onde ocorre a formação de oligômeros, os quais se precipitam sobre a superfície do eletrodo, iniciando o depósito do filme polimérico. O segundo estágio e o terceiro estágio correspondem aos processos de nucleação e crescimento. Porém, de forma mais detalhada, é importante considerar que mecanismo de síntese de polímeros condutores por eletropolimerização apresenta dois tipos de nucleação: instantânea e progressiva; além de duas modalidades de crescimento: bidimensional (2D) e tridimensional (3D), conforme ilustração da Figura 13 (WANG; NORTHWOOD, 2008; ZHENG *et al.*, 2012).

Na nucleação instantânea, o número de núcleos tende a ser constante e eles crescem na superfície do eletrodo a partir de suas posições iniciais, sem a formação de novos núcleos, de modo que os raios dos núcleos são maiores e a morfologia da superfície é mais irregular. Na nucleação progressiva, os núcleos não apenas crescem de suas posições iniciais, mas também a partir de novos núcleos, formando núcleos de tamanhos menores e superfícies com morfologia mais plana. No processo 3D, o crescimento dos núcleos acontece em taxas semelhantes tanto

na direção paralela, quanto na perpendicular em relação à superfície do eletrodo. Já no processo 2D, os núcleos crescem mais rapidamente na direção paralela do que na perpendicular, culminando na colisão de uns com os outros (HWANG; SANTHANAM; LIN, 2001; WANG; NORTHWOOD, 2008; ZHENG *et al.*, 2012).

Figura 13 - Representação dos processos nucleação e crescimentos 3D e 2D do mecanismo de síntese de polímeros condutores por eletropolimerização.



Fonte: o autor, com informações de Costa (2020), Wang & Northwood (2008) e Zheng *et al.* (2012) em imagem produzida e gentilmente cedida pela Profa. Dra. Juliana D. A. Cantalice (FAU/UFAL).

À depender do método eletroquímico empregado, o crescimento do PPy no processo de eletropolimerização acontece no segundo e terceiro estágios, sendo que: o segundo estágio provavelmente apresenta uma combinação de nucleação instantânea com crescimentos 2D e 3D; e o terceiro estágio apresenta uma possível combinação de nucleação instantânea com crescimento 3D, e nucleação progressiva com crescimento 3D (HILLMAN; MALLEEN, 1987; WANG; NORTHWOOD, 2008). Quanto à morfologia do filme polimérico, o mecanismo de crescimento 2D favorece um processo de deposição camada por camada e produz depósitos mais compactos, enquanto o crescimento contínuo de núcleos 3D produz filmes porosos. Estudos sobre polímeros condutores eletrodepositados pelo método PST, por exemplo, indicam que a primeira camada formada é por nucleação e crescimento 2D, com crescimento 3D favorecido em tempos de polimerização mais longos (WANG *et al.*, 2008).

Os métodos eletroquímicos podem ser empregados perfeitamente tanto para a síntese de polímeros condutores quanto na manipulação de suas propriedades. No caso de experimentos potenciostáticos, basta aplicar um potencial (E) suficiente ao processo. Em experimentos cíclicos, é necessário aplicar um ciclo com um limite anódico suficientemente alto (geralmente, deve exceder o potencial em 100-200 mV). Por fim, em experimentos galvanostáticos, basta passar uma corrente anódica através da solução de um monômero. Em todos estes casos, o filme do polímero correspondente cresce progressivamente na superfície do eletrodo de trabalho do sistema eletroquímico. Em um primeiro estágio da síntese eletroquímica temos um decaimento da corrente (período de indução) correspondente ao carregamento da dupla camada elétrica e a oxidação do monômero na interface do eletrodo (*loop* de nucleação). No estágio seguinte, temos um aumento da corrente elétrica até um valor máximo, com nucleação e crescimento do polímero. A escolha do solvente e do eletrólito é de particular importância na eletroquímica uma vez que ambos devem ser estáveis no potencial necessário à oxidação do monômero e fornecer um meio ionicamente condutor (VOROTYNTSEV; ZINOVYEVA; KONEV, 2010).

Levando em consideração que a morfologia final do material depende diretamente do método de eletrodeposição, a aplicação do filme polimérico vai sugerir qual método será escolhido para síntese. Portanto, a conveniência do método irá depender da morfologia que se quer obter e, especialmente, da finalidade do filme polimérico. Sendo assim, é de fundamental importância conhecer os métodos de síntese e suas particularidades para então traçar boas estratégias metodológicas (COSNIER; KARYAKIN, 2010; PATOIS *et al.*, 2011; WOLFART *et al.*, 2017).

A síntese eletroquímica de polímeros condutores pode ser efetuada por meio de diferentes métodos: potenciodinâmicos (varredura de potencial), potenciostático (potencial constante) e galvanostático (corrente constante). O método potenciodinâmico permite o monitoramento da formação do filme durante a eletrodeposição, pois proporciona uma síntese gradativa do filme polimérico na superfície do eletrodo. Em contrapartida, esses métodos dificultam o estabelecimento de uma descrição quantitativa do mecanismo envolvido no processo, o que não acontece com os métodos galvanostático (GST) e potenciostático (PST), nos quais as condições de trabalho são pré-estabelecidas: densidade de corrente e tempo ou potencial e tempo, respectivamente. Nos métodos potenciodinâmicos, os filmes originados em geral são homogêneos, compactos e possuem superfícies regulares, porém há uma maior

probabilidade de formar oligômeros solúveis no meio e que não se acoplarão ao filme polimérico sintetizado no eletrodo de trabalho (BIDAN, 2010; COSNIER; KARYAKIN, 2010).

Os métodos PST ou GST permitem uma descrição quantitativa mais fácil do processo e, portanto, têm sido comumente utilizadas para investigar os mecanismos de nucleação e o crescimento macroscópico do filme polimérico. Em virtude do pulso de potencial aplicado nesses métodos no início do processo, há formação de menos oligômeros solúveis, promovendo um crescimento instantâneo do filme sobre a superfície do eletrodo de trabalho. De modo geral, condições galvanostáticas produzem filmes mais condutores e homogêneos em termos de estrutura (BIDAN, 2010; COSNIER; KARYAKIN, 2010; VOROTYNTSEV; ZINOVYEVA; KONEV, 2010).

Nesse contexto, a eletropolimerização oxidativa anódica de monômeros com a formação de cátions radicais se apresenta como um método conveniente e amplamente utilizado para síntese eletroquímica de polímeros condutores. Este processo apresenta consideráveis vantagens, dentre elas: a não necessidade de catalisadores, a deposição direta do polímero dopado sobre a superfície do eletrodo, o controle da quantidade de material sintetizado na superfície do eletrodo e, conseqüentemente, da espessura do filme polimérico. Além do mais, trata-se de um método de execução prática, amplamente empregado, reprodutível, relativamente barato e bastante promissor, inclusive no contexto de materiais inovadores aplicados como reveladores de impressões digitais latentes (ASSIS; COSTA; RIBEIRO, 2020; COSTA, 2020; COSTA *et al.*, 2020a, 2020b; LIAN *et al.*, 2020).

2.5 Revelação eletroquímica de impressões digitais

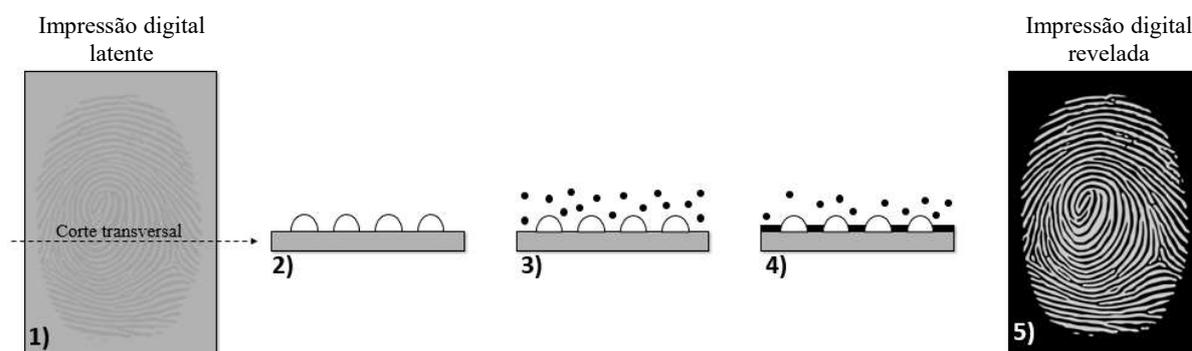
O emprego de processos elétricos e eletroquímicos na revelação de impressões digitais latentes presentes em superfícies metálicas tem como base a condução elétrica inerente aos metais. As substâncias secretadas pelas glândulas sebáceas, incluindo ácidos graxos, ésteres de cera, esteróis, ésteres de esteróis e esqualeno, são transferidas da pele para uma superfície tocada, formando o resíduo que compõe as impressões digitais. Dispostos em uma matriz complexa, esses compostos formam uma barreira isolante à passagem de corrente elétrica, ou seja, em virtude da sua natureza química, esses compostos não permitem que um fluxo de elétrons atravesse a impressão digital, sendo esse, portanto, o princípio que norteia a aplicação

da síntese eletroquímica de polímeros condutores na revelação de impressões digitais latentes em superfícies metálicas (BERESFORD; HILLMAN, 2010; BERSELLINI *et al.*, 2001).

Nesse novo conceito de revelação, a impressão digital funciona como uma máscara isolante que reduz ou impede a transferência de elétrons entre o resíduo lipídico e a interface do eletrólito, tornando difícil ou impossível que a reação eletroquímica ocorra nesta região. Dessa forma, o polímero é eletrodepositado nos sulcos entre as cristas de resíduo, onde a superfície metálica não se encontra coberta pela camada lipídica, revelando imagem da impressão digital (BERESFORD; HILLMAN, 2010; BERSELLINI *et al.*, 2001).

A Figura 14 ilustra esquematicamente o método eletroquímico aplicado na revelação de impressões digitais com polímeros condutores.

Figura 14 - Representação esquemática do método eletroquímico aplicado na revelação de impressões digitais com polímeros condutores, onde: 1) vista frontal da impressão digital latente em superfície metálica; 2) esquema de corte transversal da superfície metálica exibindo as cristas de resíduos da impressão digital latente; 3) preparação imersa na solução de monômeros; 4) reação de eletropolimerização com o filme polimérico sintetizado sobre a superfície metálica, e a impressão digital atuando como isolante; 5) resultado da revelação eletroquímica da impressão digital.



Fonte: adaptado de BROWN & HILLMAN (2012) com permissão da *PCCP Owner Societies (The Royal Society of Chemistry)*.

Em 2001, Bersellini *et al.* descreveram pela primeira vez esse conceito, através da deposição eletroquímica de PPy sobre impressões digitais presentes em superfícies de platina e de ouro. Mais recentemente, outros grupos de pesquisa vêm explorando essa estratégia de forma mais aprofundada e com resultados promissores.

Beresford & Hillman (2010) demonstraram a revelação de impressões digitais em superfície de aço inoxidável através de filmes de polianilina, porém apenas 40% das impressões digitais reveladas estavam aptas para fins forenses. Em 2012, publicaram resultados de revelação de impressões digitais com filmes de polianilina e de poli(3,4-etilenodioxitiofeno), ou PEDOT, utilizando diferentes doadores e intervalos de tempo distintos, alcançando 60% de

sucesso nas revelações em amostras com 7 dias de idade, além de um estudo comparativo entre os métodos eletroquímicos e os reveladores convencionais, demonstrando o caráter promissor dos polímeros (BERESFORD *et al.*, 2012). No mesmo ano, demonstraram a revelação de impressões digitais usando filmes de PEDOT sintetizados a partir de diferentes concentrações de monômeros, e eletrodepositados com diferentes eletrólitos (BROWN; HILLMAN, 2012). Em estudos subsequentes, o grupo de pesquisa do prof. Hillman demonstrou ainda que foi possível revelar impressões digitais latentes empregando PPy, incluindo dois derivados substituídos, e ainda copolímeros a base de Py e 3,4-etilenodioxitiofeno (EDOT) (SAPSTEAD *et al.*, 2013; SAPSTEAD; CORDEN; HILLMAN, 2015). Em todos esses estudos, foram empregados sistemas eletroquímicos de três eletrodos, e placas de aço inoxidável como eletrodos de trabalho, nas quais as impressões digitais latentes foram reveladas. Portanto, não foram investigadas outras superfícies metálicas de interesse forense, como munições por exemplo.

A Tabela 2 apresenta uma compilação das condições e parâmetros analíticos das primeiras pesquisas sobre revelação eletroquímica de impressões digitais latentes com polímeros condutores. Analisando os dados da tabela, algumas observações se mostram necessárias, tendo em vista que os métodos eletroquímicos estão condicionados a algumas condições variáveis, tais como: potencial, eletrólito, solvente, concentração do monômero, eletrodo de trabalho, eletrodo de referência e contra eletrodo (BIDAN, 2010; COSNIER; KARYAKIN, 2010).

As substâncias dodecilsulfato de sódio (SDS) e N-laurilsarcosina (SLS), pela sua natureza surfactante, foram empregadas para promover a solubilização dos monômeros na solução aquosa de trabalho (BERESFORD *et al.*, 2012; BROWN; HILLMAN, 2012; SAPSTEAD *et al.*, 2013; SAPSTEAD; CORDEN; HILLMAN, 2015). A solubilidade dos monômeros, como o Py, aumenta porque a tensão superficial da água é reduzida pela adição de surfactante. Por cronoamperometria, Rizzatti *et al.* (2009) determinaram a concentração micelar crítica (CMC) para o SDS: $0,0084 \text{ mol L}^{-1}$. Trata-se da menor concentração onde ocorre a formação de micelas de um surfactante em solução de para o SDS. Observaram também que os surfactantes iônicos possuem dois tipos de comportamento em solução aquosa. Abaixo da CMC, comportam-se como um eletrólito forte, e, acima da CMC, o surfactante adicionado contribui para a diminuição do incremento da condutividade da solução (MINATTI; ZANETTE, 1996; MORAES; REZENDE, 2004; RIZZATTI; ZANETTE; MELLO, 2009).

Tabela 2 - Compilação das pesquisas recentes sobre revelação eletroquímica de impressões digitais pela eletrodeposição de polímeros condutores.

Referência	Sistema (concentração dos monômeros)	Eletrólito	Eletrodos	Método eletroquímico (parâmetros)	Nº de doadores
Bersellini <i>et al.</i> (2001)	PPy (Py 0,3 M)	p-TsONa / Na ₂ SO ₄ / H ₂ SO ₄ - 1 M (aq)	WE: moedas de Pt, Au e Ag RE: Ag/AgCl (KCl sat.) CE: platina.	Potenciodinâmico (0,0 a 1,4 V)	1
Beresford & Hillman (2010)	PANI (anilina 0,1 M)	H ₂ SO ₄ 1 M (aq)	WE: placas de aço RE: calomelano (KCl sat.) CE: platina	Potenciostático (0,9 V) Potenciodinâmico (- 0,2 a 0,9 V)	1
Beresford <i>et al.</i> (2012)	PANI (anilina 0,1 M) PEDOT (EDOT 0,01 M)	H ₂ SO ₄ 1 M (aq) H ₂ SO ₄ 0,1 M / SDS 0,01 M (aq)	WE: placas de aço RE: Ag/AgCl (KCl sat.) CE: platina	Potenciostático (0,9 V)	5
Brown <i>et al.</i> (2012)	PEDOT (EDOT 0,01 M)	H ₂ SO ₄ 0,1 M / SDS 0,01 M / SLS 0,02 M (aq)	WE: placas de aço RE: Ag/AgCl (KCl sat.) CE: platina	Potenciostático (0,9 V) Potenciodinâmico (- 0,6 a 1,2 V)	NE
	PEDOT (EDOT 0,05 M)	LiClO ₄ 0,1 M / SDS 0,07 M (aq)			
	PEDOT (EDOT 0,01 M)	KCl 0,1 M / SDS 0,1 M (aq)			
	PEDOT (EDOT 0,01 M)	H ₂ SO ₄ 0,1 M / SDS 0,01 M (aq)			
Sapstead <i>et al.</i> (2013)	PEDOT (EDOT 0,01 M)	H ₂ SO ₄ 0,1 M / SDS 0,01 M (aq)	WE: placas de aço RE: Ag/AgCl (KCl sat.) CE: platina	Potenciostático (0,9 V) Potenciodinâmico (0,3 a 1,15 V)	NE
	PPy (Py 0,01 M)	LiClO ₄ 0,1 M (aq)			
	PPyFMOC (PyFMOC 10 mM) PPyNH ₂ (PyNH ₂ 10 mM)	TBAP (CH ₃ CN) 0,1 M. TBAP (CH ₃ CN / HClO ₄) 0,1 M (pH = 4,5)			
Sapstead <i>et al.</i> (2015)	PPy (Py 0,01 M)	LiClO ₄ 0,2 M / SDS 0,04 M (aq)	WE: placas de aço RE: Ag/AgCl (KCl sat.) CE: platina	Potenciostático (0,7 e 1,0 V)	NE
	PEDOT (EDOT 0,01 M)	H ₂ SO ₄ 0,1 M / SDS 0,01 M (aq)			
	Poli(Py-co-EDOT) (EDOT 0,04 M) (Py 0,002 M; 0,004M; 0,008 M)	LiClO ₄ 0,2 M / SDS 0,04 M (aq)			

Legenda:

PPy = polipirrol; Py = pirrol; p-TsONa = p-toluenossulfonato de sódio; PANI = polianilina; PEDOT = poli(3,4-etilenodioxitiofeno); EDOT = 3,4-etilenodioxitiofeno; SDS = dodecilsulfato de sódio; SLS = N-laurilsarcosina; PPyFMOC = *poly[(9H-Fluoren-9-yl)methyl-3-(1H-pyrrol-1-yl)propylcarbamate]*; PyFMOC = *(9H-Fluoren-9-yl)methyl-3-(1H-pyrrol-1-yl)propylcarbamate*; PPyNH₂ = poli(N-aminopropilpirrol); PyNH₂ = N-aminopropilpirrol; TBAP = perclorato de tetrabutilamônio; Poli(Py-co-EDOT) = copolímero de Py e EDOT; WE = eletrodo de trabalho; RE = eletrodo de referência; CE = contra eletrodo; NE = não especificado.

Em laboratórios de biologia molecular, o SDS é amplamente empregado em protocolos para extração e isolamento de DNA altamente purificado obtido a partir de células de amostras biológicas, atuando como um detergente aniônico forte. O SDS solubiliza lipídios que formam as membranas celulares e remove íons negativos de proteínas, destruindo sua conformação estrutural. Sendo assim, as proteínas presentes nas membranas celulares são danificadas, as células e os envelopes nucleares são lisados, expondo os cromossomos que contêm o DNA. Portanto, durante a etapa de lise celular, além de remover as barreiras das membranas celulares, o SDS desnatura as proteínas, ajudando a liberar o DNA das histonas e outras proteínas de ligação (BUTLER, 2005, 2010, 2012; GOLDENBERGER; RITZLER; ALTWEGG, 1995; NINFA; BALLOU; BENORE, 2009).

Essas informações sugerem que o emprego de concentrações de SDS acima da CMC pode acarretar uma diminuição na condutividade da solução de trabalho, assim como efeitos danosos às estruturas lipídicas que compõem a impressão digital, visto que o SDS geralmente é utilizado para extração de DNA de células eucarióticas em solução a 0,1% (EMBRAPA, 2007).

Como visto, apesar das diferenças entre os indivíduos, substâncias biogênicas secretadas pela pele humana, como suor e gordura, estão necessariamente presentes nas impressões digitais como uma mistura. A constituição química do suor compreende biomoléculas carregadas solúveis em água, como proteínas e aminoácidos, e ainda íons metálicos, enquanto o sebo é uma mistura oleosa de triglicerídeos, ésteres de cera, escaleno, colesterol e ésteres de colesterol (CHOI *et al.*, 2007a, 2007b). Portanto o uso de SDS na revelação de impressões digitais requer atenção, a fim de evitar situações em que os componentes das impressões digitais sejam digeridos ou removidos dos substratos devido ao efeito detergente dos surfactantes (YOON *et al.*, 2016).

Constata-se que o H₂SO₄ foi empregado como eletrólito em todos os estudos mencionados na Tabela 2, especialmente nas pesquisas com PEDOT (BERESFORD *et al.*, 2012; BROWN; HILLMAN, 2012; SAPSTEAD *et al.*, 2013; SAPSTEAD; CORDEN; HILLMAN, 2015). No entanto, cabe observar que os materiais biológicos que fazem parte da composição da impressão são sensíveis à presença de ácidos ou variações de pH (BUTLER, 2005, 2010, 2012).

Baseados em estudos de investigação eletroquímica da interação de agentes químicos com a molécula de DNA, especialmente fármacos e proteínas, outro ponto importante a ser considerado na revelação eletroquímica é o monitoramento dos valores de potencial (E),

dados que valores elevados de E podem levar a oxidação de estruturas biológicas, incluindo o material genético eventualmente presente nas impressões digitais e, dessa forma, prejudicar os exames genéticos subsequentes ao processo eletroquímico de revelação. A oxidação do DNA pode provocar modificações moleculares, incluindo ligações cruzadas, intercalação, clivagem da dupla fita. Também pode interferir com associações com estruturas proteicas, como as histonas, topoisomerasas, helicases e polimerases (LEE; SHIM, 2001; LOZANO *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2012; UNTIVEROS *et al.*, 2019; ZENG *et al.*, 2013).

Silva *et al.* (2012), por exemplo, utilizaram o conceito de biossensor eletroquímico com DNA hibridizado para monitorar alterações moleculares. Dessa forma, DNA imobilizado na superfície de um eletrodo foi utilizado para estudar possíveis habilidades de interação do DNA com agentes químicos, como fármacos nesse caso. Em ensaios potenciodinâmicos, os pesquisadores observaram o aparecimento de picos de oxidação compatíveis com os sinais de oxidação das bases nitrogenadas guanina ($E \approx 0,8$ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.)) e adenina ($E \approx 1,0$ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.)), o que levaria a degradação de moléculas de DNA presentes na impressão digital. Em outro estudo, pesquisadores trabalharam a determinação eletroquímica do nonilfenol usando voltametria de pulso diferencial, desenvolvida com base em um eletrodo de carbono vítreo modificado por híbrido de grafeno/DNA reduzido, utilizando voltametria com varreduras de 0,0 V a 0,8 V vs. Ag/AgCl (KCl sat.) (ZENG *et al.*, 2013).

Observa-se, portanto, a necessidade de se monitorar os valores máximos de potencial dos experimentos eletroquímicos, visando prevenir danos ao material genético durante a eletrodeposição do polimérico condutor, não comprometendo, dessa forma, o segundo passo proposto: a pesquisa de DNA no material questionado visando a identificação genética dos doadores das impressões digitais (YUAN *et al.*, 2020).

Desde 2015, o nosso grupo de pesquisa vem estudando e desenvolvendo materiais com aplicação forense, com foco em estratégias inovadoras para revelação de impressões digitais. Um sistema de bicamada aplicado na revelação de impressões digitais em aço inoxidável foi desenvolvido e patenteado. O sistema se baseia no uso de polímeros conjugados e fluorescentes, com uma primeira camada de PPy ou PEDOT eletrodepositada na superfície, seguida de uma segunda camada fluorescente de poli(2,2':5',2''-tertiofeno). Sob luz UV, esse sistema produziu imagens de impressões digitais reveladas em alta definição das impressões digitais aptas à identificação (COSTA *et al.*, 2020a).

A eficiência do método de revelação de impressões digitais latentes a partir da deposição eletroquímica do PEDOT sobre estojos de munição também foi demonstrada

recentemente pelo nosso grupo. Embora ocorra o processo de corrosão simultânea do cobre e zinco da superfície do latão, a técnica se mostrou eficiente em se tratando de revelação de impressões digitais recentes e envelhecidas, ou seja, após 7, 15 e 30 dias da aplicação. Nesse trabalho, destaca-se a simplicidade da execução, o baixo custo, e ainda o emprego de baixos valores de potencial, com o intuito de preservar os componentes da impressão digital. Os bons resultados mostram também que ainda há muito o que ser investigado em relação às diferentes composições (écrina ou sebácea) do resíduo da impressão digital, eficiência do método de revelação em estojos de cartuchos deflagrados e aplicação da metodologia proposta em casos reais de cenas de crime (COSTA *et al.*, 2020b).

A eletrodeposição de polímeros condutores se apresenta, portanto, como uma alternativa promissora para a revelação de impressões digitais em superfícies metálicas, considerando fatores relacionados à natureza do resíduo, a liga metálica que compõe a superfície questionada, as condições ambientais e também o lapso temporal entre o toque do dedo na superfície e os exames periciais. Esses aspectos compõem justificativas contundentes para incentivar pesquisas sobre novas estratégias para revelação, visto que influenciam diretamente na escolha do método de revelação mais adequado a cada situação e vestígio forense. Além disso, o emprego de alguns métodos de revelação, ou sua má execução, pode acarretar a destruição do vestígio ou a inviabilização de análises subsequentes (exames de DNA, por exemplo), impossibilitando, dessa forma, a produção de múltiplas provas forenses a partir de um único vestígio examinado. Nesse contexto, torna-se imprescindível avaliar o impacto da revelação eletroquímica na recuperação de DNA a partir de impressões digitais (LEE; GAENSSLEN, 2001; LIAN *et al.*, 2020; YAMASHITA; FRENCH, 2012; ZAGHLOUL; SAMIR; MEGAHED, 2019).

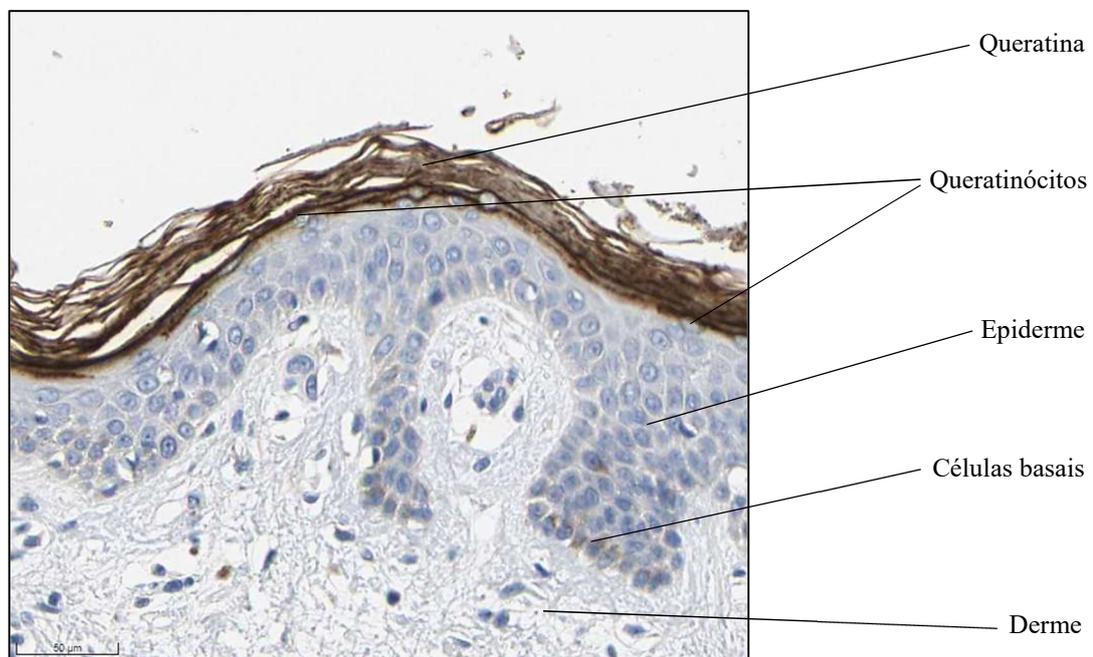
2.6 DNA de impressões digitais

As células da camada basal da epiderme são capazes de proliferar por toda a vida, originando uma camada superficial biologicamente morta, denominada de extrato córneo ou queratina. Nesta camada estão presentes células córneas anucleadas, os queratinócitos (ou corneócitos), que podem estar presentes em impressões digitais. Trata-se de células achatadas, geralmente sem carioteca, e que possuem membrana celular com resistência mais acentuada quando comparadas a células de camadas mais profundas, o que sugere um arcabouço lipídico

mais robusto de proteção às estruturas moleculares presentes no seu interior, dentre elas o DNA (BALOGH *et al.*, 2003a; MICHALANY; MICHALANY, 2002; WERTHEIN, 2012).

Um corte histológico de tecido epitelial estratificado pavimentoso queratinizado humano observado sob microscopia óptica (médio aumento) é mostrado na Figura 15, apontando as células basais, as células epidérmicas (queratinócitos) e a camada de queratina. Observa-se na figura a sequência dos estratos celulares, com contínua migração de células desde o estrato mais profundo (basal) até o estrato córneo (queratina), cujas escamas cornificadas descamam continuamente (THE HUMAN PROTEIN ATLAS, 2021).

Figura 15 - Corte histológico de pele espessa (dedo) sob microscopia óptica, apontando a derme a as células basais, a epiderme e as células epidérmicas (queratinócitos), além da camada de queratina.



Fonte: reproduzido de The Human Protein Atlas (2021) com permissão.

Nos primórdios, os vestígios adequados para exames de DNA eram apenas aqueles que possuíam células nucleadas, como amostras de sangue, saliva ou espermatozoides. Em 1997, Van Oorschot *et al.* desenvolveram estudos mostrando que o perfil genético de um indivíduo poderia ser também obtido a partir de suabes passados em objetos tocados previamente com as mãos, ampliando assim as possibilidades de exames periciais em uma cena de crime visando a identificação de criminosos (FINDLAY *et al.*, 1997; RAYMOND *et al.*, 2009a, 2009b; VAN OORSCHOT; JONES, 1997).

O DNA recuperado a partir de ínfimas quantidades de material biológico em vestígios forenses é chamado de “DNA de toque” (do inglês “*touch DNA*” ou ainda “*trace DNA*”). Trata-se de um tipo de amostra cada vez mais presente na rotina de laboratórios forenses e útil para investigações, especialmente pelo crescente aumento da sensibilidade das técnicas. Entretanto requer bastante cautela e rigor técnico na interpretação dos resultados em virtude da possibilidade de falsos positivos por contaminação (HEFETZ *et al.*, 2019; SESSA *et al.*, 2019).

O uso em tribunais de resultados de tipagem forense de DNA de itens presumivelmente tocados ou manipulados está aumentando à medida que a sensibilidade das técnicas de detecção melhora. Com isso, têm se intensificado as pesquisas que investigam o quanto de DNA pode ser recuperado de itens manipulados, incluindo diferentes cenários, graus de transferência indireta e os fatores metodológicos que podem influenciar esses resultados. Em todos esses estudos é consenso que o conteúdo celular dos materiais de toque é extremamente limitado, assim como a exata determinação da origem DNA em muitos casos reais (BURRILL; DANIEL; FRASCIONE, 2019; MEAKIN; JAMIESON, 2013).

Recentemente, intensificaram-se as pesquisas sobre recuperação de DNA em armas de fogo e elementos de munição tocados, inclusive levando-se em consideração as condições inerentes à deflagração da munição e ao tiro. Ou seja, a exemplo do que acontece com a pesquisa de impressões digitais, quanto ao DNA também se deve considerar duas situações de pesquisa de DNA: em cartuchos intactos não deflagrados encontrados isolados ou dentro de carregadores de armas de fogo, além de estojos deflagrados presentes em uma cena de crime, por exemplo (CHRISTOFIDIS; MORRISSEY; BIRKETT, 2018; DANIELSON; MCKIERNAN; MILNTHORP, 2019; DIELTJES *et al.*, 2011; HORSMAN-HALL *et al.*, 2009; MONTPETIT; O’DONNELL, 2015).

Em 2011, pesquisadores demonstraram um método com grande sensibilidade para extrair DNA a partir de elementos de munição com o *kit* comercial QIAampTM DNA da Qiagen, seguido de genotipagem com STRs autossômicos por PCR, obtendo perfis de DNA confiáveis e reproduzíveis em 163 de 616 casos criminais (26,5%), e em 283 de 4.085 vestígios (6,9%) (DIELTJES *et al.*, 2011). Montpetit & O’Donnell (2015) analisaram em seu estudo 800 amostras de cartuchos de munição e constataram que quase 80% das amostras apresentou menos de 50 pg de DNA e apenas cerca de 3,5% das amostras apresentou mais de 400 pg de DNA. Já Danielson *et al.* (2019), pesquisando DNA em cartuchos de munição com estojos de aço inoxidável, registraram uma quantidade total média de DNA recuperado de 10 pg, utilizando o método de coleta por suabe umedecido. Em outro estudo, Horsman-Hall *et al.*

(2009) demonstraram que DNA pode ser recuperado de estojos de munição deflagrados usando a técnica de esfregaço com suabe para coleta e amostragem, e extração automatizada com *kit* DNA IQ™ da Promega. Um número significativamente maior de alelos foi obtido após a amplificação com o *kit* MiniFiler™ (Applied Biosystems) em comparação com o *kit* de STRs PowerPlex 16 da Promega.

Diante desse cenário, tem-se que a obtenção de perfis genéticos confiáveis a partir de pouquíssimas células isoladas recuperadas de vestígios de cenas do crime está deixando de ser uma exceção na rotina forense. Embora os estudos apresentem considerável diversidade metodológica, o que torna as comparações entre resultados e conclusões desafiadoras, os avanços tecnológicos na área vêm trazendo segurança a pesquisadores e peritos quanto ao desenvolvimento de novos estudos e à produção de provas forenses confiáveis a partir de DNA de toque (BURRILL; DANIEL; FRASCIONE, 2019; DIELTJES *et al.*, 2011).

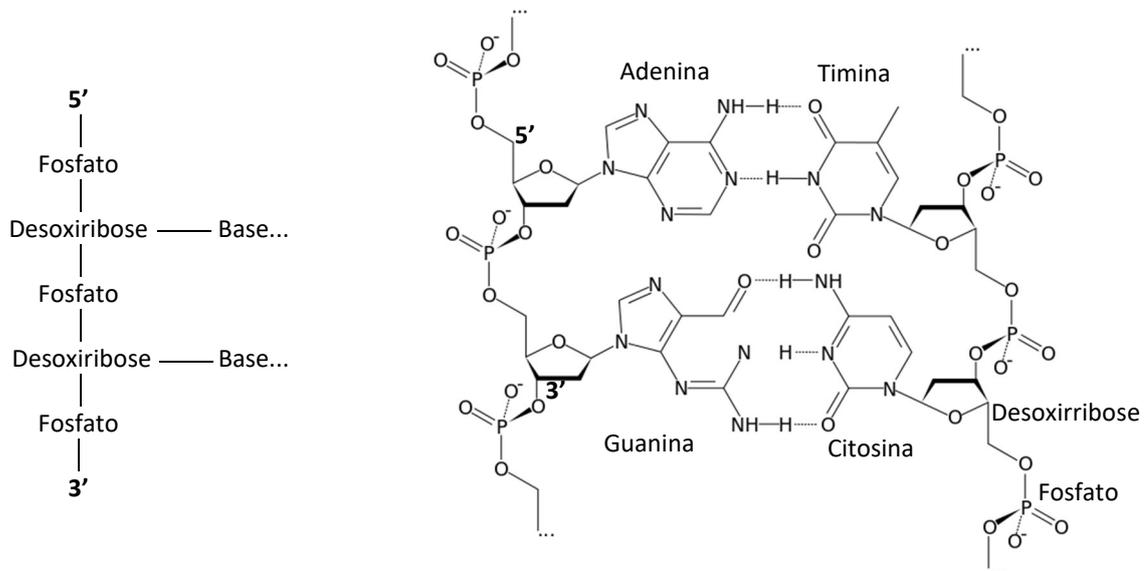
2.7 DNA de toque e Genética Forense

O ácido desoxirribonucleico ou DNA é um tipo de ácido nucleico relacionado com o armazenamento e transmissão da informação genética. Trata-se de um biopolímero composto de unidades de nucleotídeos (adenina, timina, guanina e citosina) constituídos de três partes: uma base nitrogenada, um açúcar (desoxirribose) e um grupo fosfato, que confere carga negativa à molécula (Figura 16) (BUTLER, 2010; CROCHOT, 2020). A aplicação forense do exame de DNA, a Genética Forense, constitui um dos maiores avanços na análise de vestígios biológicos das últimas décadas. Com notável sensibilidade e poder de discriminação, a análise de DNA tem sido peça chave na medicina e antropologia forense, testes de paternidade, crimes ambientais, dentre outras áreas das Ciências Forenses (DIAS FILHO *et al.*, 2020; LEE; LADD, 2001).

A ampla aceitação da tipagem de DNA na Criminalística acontece devido a sua alta sensibilidade de detecção e discriminação. A reação em cadeia de polimerase (PCR) possibilita a amplificação de DNA molde extraído em quantidades mínimas, aumentando assim a sensibilidade da técnica. O desenvolvimento do sistema de iniciadores (*primers*) para genotipar simultaneamente vários STRs (*short tandem repeats*) permitiu amplificar e separar simultaneamente vários *loci* STR em uma única análise, possibilitando, juntamente com a análise automatizada de fragmentos de DNA, a obtenção de perfis genéticos a partir de

pequenas quantidades de material biológico de origem (BUTLER, 2005; DIAS FILHO *et al.*, 2020; GOODWIN; LINACRE; HADI, 2007).

Figura 16 - Estrutura molecular do DNA, com destaque às unidades de nucleotídeos constituídos de uma base nitrogenada, um açúcar (desoxirribose) e um grupo fosfato.

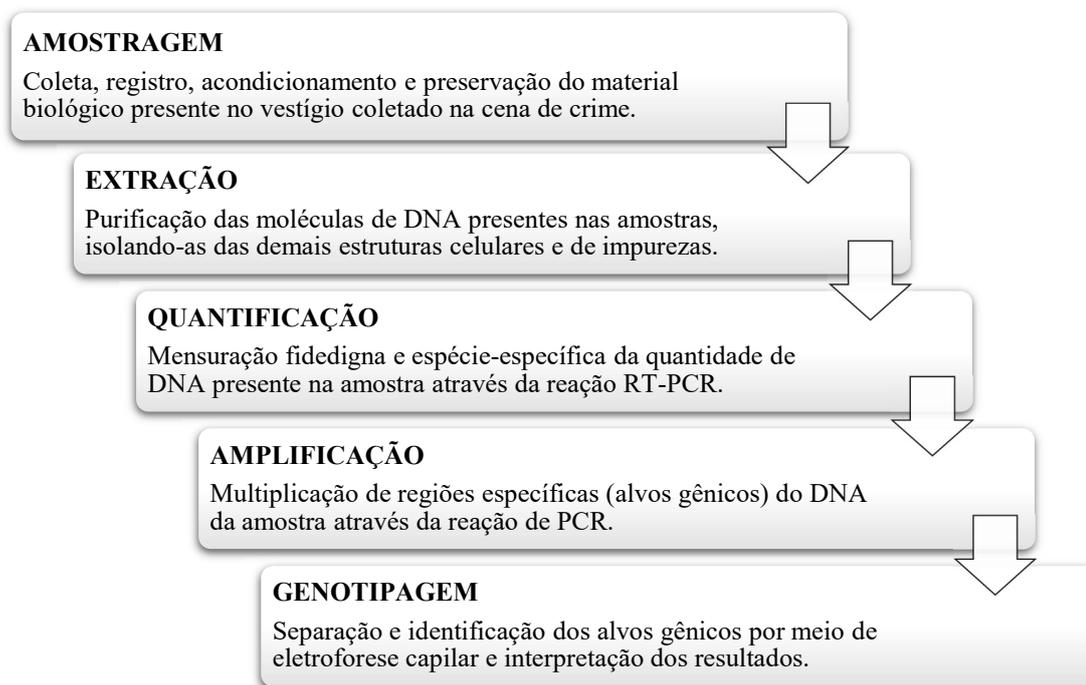


Fonte: adaptado de Crochot (2020), domínio público, via *Wikimedia Commons*.

No âmbito forense, diversos materiais biológicos coletados em cenas de crime podem ser submetidos a exames genéticos por serem potenciais fontes de DNA, dentre esses destacam-se: manchas de sangue, esperma, células vaginais, células retais, saliva, suor, pelos, tecidos celulares, vísceras, ossos e células epiteliais oriundas de objetos em geral que foram tocados pelos criminosos durante execução da ação criminosa (SILVA; PASSOS, 2006).

O exame de DNA é composto pelas seguintes etapas: amostragem, extração, quantificação, amplificação e análise genética (ou genotipagem), conforme ilustra de forma bastante concisa o fluxograma apresentado na Figura 17.

Uma vez coletados em uma cena de crime, os vestígios são encaminhados ao laboratório para amostragem, que é o primeiro passo do exame de DNA. Nesse caso, existem várias técnicas para coleta e amostragem de material biológico, desde esfregaço com suabe estéril (técnica bastante difundida pela fácil execução, eficiência e baixo custo) até o uso de instrumentos específicos, como o papéis e dispositivos específicos, sendo que a escolha do método vai depender da natureza do vestígio. Na amostragem, o analista deve procurar remover todo o material biológico presente no vestígio e encaminhá-lo para extração corretamente acondicionado, registrado e preservado (DIAS FILHO; GARRIDO; CÂNDIDO, 2020).

Figura 17 – Fluxograma das etapas do exame de DNA em Genética Forense.

Fonte: o autor, com texto adaptado de BUTLER (2005, 2010, 2012).

A escolha do protocolo de extração de DNA mais adequado para cada caso depende da natureza da amostra, da maior ou menor resistência à lise da membrana celular, e da presença de impurezas ou inibidores da reação de PCR. Nesse contexto, os métodos de extração de DNA são bastante variados, desde métodos tradicionais até ensaios moleculares manufaturados comerciais (*kits*), cada um com suas peculiaridades, vantagens e desvantagens de acordo com o tipo de amostra (BUTLER, 2005, 2010; PEREIRA; FRANCEZ; ALMEIDA, 2020).

Entre os tradicionais, a extração orgânica é um dos métodos mais utilizados na extração e purificação de DNA devido ao seu alto nível de eficiência, resultando em fragmentos de DNA com alto peso molecular ideais para a reação de PCR. O método consiste na lise celular através de SDS (dodecil sulfato de sódio), DTT (ditiotreitól) ou EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético), juntamente com proteinase K. Nesse caso, a separação do DNA se dá pelo emprego dos solventes fenol e clorofórmio, seguida de um processo de purificação por precipitação alcoólica ou através de membranas especiais, e, ao final, o DNA purificado é recuperado e hidratado com uma solução tampão ou água ultrapura. Apesar da alta eficiência, a toxicidade de alguns dos seus reagentes se apresenta como uma desvantagem e requer atenção e cuidados nesse sentido (BUTLER, 2005, 2010; PEREIRA; FRANCEZ; ALMEIDA, 2020).

Atualmente, métodos automatizados e *kits* comerciais para extração de DNA são uma realidade em muitos laboratórios forenses. Trata-se de métodos de extração de fase sólida para DNA que foram desenvolvidos nos últimos anos em formatos que permitem extrações de DNA de alto rendimento, revolucionando a rotina laboratorial, pois são capazes de processar várias amostras simultaneamente, com considerável eficiência nos resultados, e menor risco de contaminação (BUTLER, 2005, 2010).

Dentre os kits comerciais disponíveis e amplamente utilizados, o sistema DNA IQ™ (Promega Corporation), utiliza um tampão de lise próprio e esferas magnéticas revestidas de sílica para isolar o DNA purificado. Através dessa técnica, o isolamento do DNA se dá em um único tubo, simplesmente adicionando e removendo soluções. Primeiramente, as moléculas de DNA são reversivelmente ligadas às esferas magnéticas em solução. Por ação de um ímã, os grânulos magnéticos são atraídos para a parte inferior ou lateral do tubo, deixando todas as impurezas na solução, que podem ser facilmente removidas retirando o líquido do tubo. As partículas magnéticas com DNA anexado podem ser submetidas a múltiplas lavagens para limpar mais completamente o DNA. Por fim, o DNA é liberado na solução por meio de breve aquecimento. Nesse processo, a quantidade de DNA isolada é baseada no número e na capacidade das partículas magnéticas utilizadas. Uma vez que as etapas de filtração a vácuo ou centrifugação não são usadas, os procedimentos de esferas magnéticas permitem métodos simples, rápidos e automatizados. Este método de extração pode ser executado manualmente ou em plataformas automatizadas (BASTOS, 2018; BUTLER, 2005, 2010; PROMEGA, 2016).

Os avanços na amplificação quantitativa e em tempo real por reação em cadeia da polimerase (PCR em tempo real ou RT-PCR) específica para seres humanos permitiram que o processo de quantificação de DNA se tornasse altamente sensível e fornecesse informações amplas sobre amostras de material biológico testadas. As metodologias utilizadas mundialmente nas rotinas de laboratórios de Genética Forense são constituídas de sistemas (ou *kits*) desenvolvidos e comercializados por empresas conhecidas pelos seus altos investimentos em qualidade. Estes *kits* fornecem informações inerentes a quantidades de DNA humano e de DNA masculino, assim como dados sobre a presença de inibidores de PCR e de degradação da molécula de DNA (BUTLER, 2005, 2010, 2012).

Desde 2003, a Applied Biosystems (Thermo Fisher Scientific) fabrica *kits* para quantificação de DNA humano. Atualmente, destaca-se o DNA Quantifiler™ Trio, que é amplamente utilizado em laboratórios forenses, especialmente mediante os excelentes

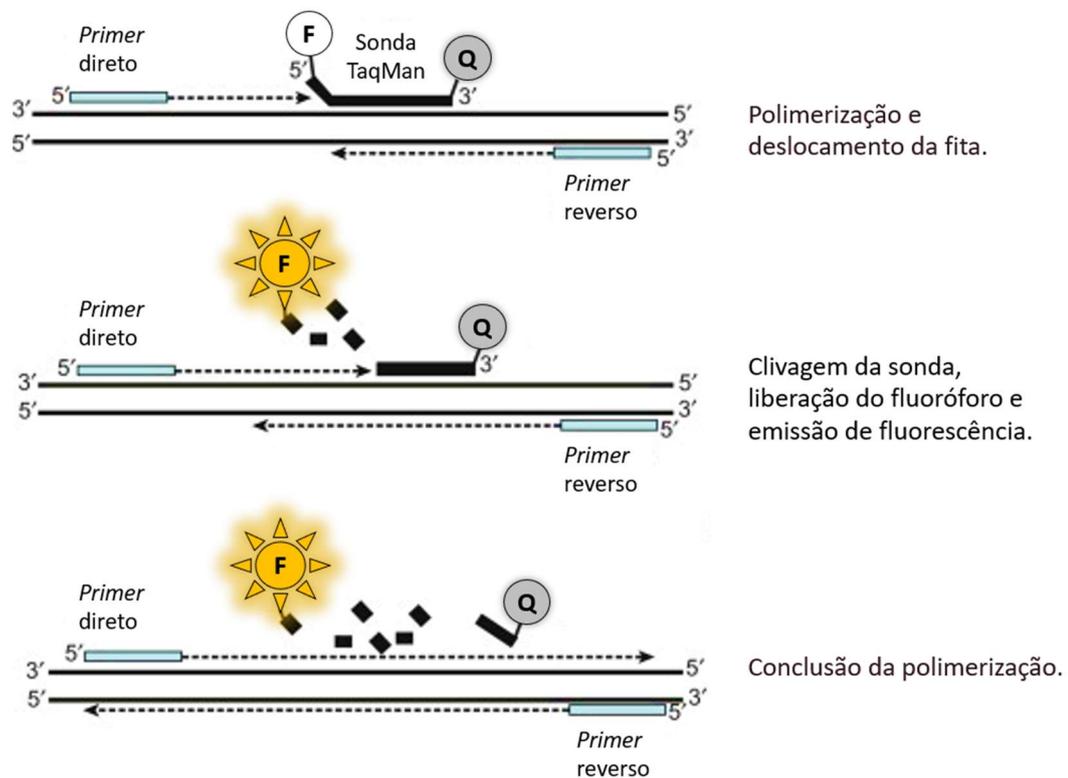
resultados frente a estudos de validação (APPLIED BIOSYSTEMS, 2017; BROOKS *et al.*, 2015; GOUVEIA *et al.*, 2015; HOLT *et al.*, 2016; VIEIRA-SILVA *et al.*, 2015).

Utilizando uma curva padrão para estimar a concentração de DNA em amostras questionadas, o *kit* DNA Quantifiler™ Trio opera com dois alvos gênicos autossômicos, sendo um alvo curto (80 pb) e um alvo longo (214 pb). O *kit* também conta com um alvo gênico para DNA humano masculino que gera um produto de PCR com 130 pb, e permite a quantificação do componente genômico humano do DNA de uma amostra, além de particularmente ser útil na avaliação de amostras de mistura de DNA genômico masculino e feminino (APPLIED BIOSYSTEMS, 2017).

O *kit* opera com a sonda TaqMan™ como meio de detectar a quantidade de *amplicons* gerados durante a reação de PCR. Essa sonda é conjugada a um fluoróforo (F) e a um *quencher* não fluorescente (Q), anelando-se a uma sequência complementar encontrada entre as sequências de *primers* direto e reverso. Quando a sonda está intacta, a proximidade do fluoróforo ao *quencher* resulta na supressão da fluorescência. Quando os *primers* se anelam ao DNA, a enzima Taq DNA™ polimerase começa a estender uma nova fita. Então, a sonda TaqMan é clivada, liberando o fluoróforo e permitindo que o sinal fluorescente seja emitido. Nesse caso, o aumento na fluorescência indica um aumento no produto amplificado, ou seja, a intensidade da fluorescência está diretamente relacionada à quantidade de DNA na amostra, o que calculado por um *software* específico. A enzima Taq DNA™ cliva apenas sondas que são hibridizadas com o alvo específico, portanto amplificações inespecíficas não são detectadas (APPLIED BIOSYSTEMS, 2017; BUTLER, 2012). A Figura 18 ilustra os processos de ligação da sonda, extensão da fita, clivagem da sonda e o processo de emissão de fluorescência resultante.

Os ensaios de quantificação absoluta de DNA se dão através da amplificação paralela de um padrão com concentração inicial do DNA molde pré-determinada, utilizado na construção de uma curva padrão a partir de uma diluição seriada (RODRIGUES & GARRIDO, 2020). Para o Quantifiler™ Trio, são 6 diluições com concentrações entre 50 e 0,005 ng/μL, que são produzidas com um DNA padrão sintético, que é uma sequência de DNA não encontrada na natureza, desenvolvida especialmente para o *kit* (APPLIED BIOSYSTEMS, 2017).

Figura 18 - Esquema de operação da sonda TaqMan™ na quantificação de DNA, incluindo os processos de ligação da sonda, extensão da fita, clivagem da sonda e o processo de emissão de fluorescência resultante.



Fonte: adaptado de BUTLER (2012) com permissão da *Elsevier Books*.

O fabricante do Quantifiler™ Trio garante quantificar de forma reprodutível até 5 pg/μL de DNA genômico humano por amostra, ou seja, quando 2,0 μL de uma amostra no nível de concentração mais baixo da curva padrão (5 pg/μL) é carregado em uma reação de PCR, o poço contém aproximadamente 1,5 equivalentes de genoma humano diploide (APPLIED BIOSYSTEMS, 2017). Lembrando que um conjunto de 23 cromossomos possui cerca de 3 bilhões de pares de base, que equivale à cerca de 3,099 pg de DNA. Logo, cada célula diploide possui cerca de 6,199 pg de DNA (INTERNATIONAL HUMAN GENOME SEQUENCING CONSORTIUM, 2001).

A curva padrão é uma regressão linear gerada a partir dos resultados de amplificação de uma diluição seriada de DNA padrão em concentrações teóricas pré-estabelecidas. Para avaliação desta curva, são considerados três indicadores: o coeficiente de correlação (R^2), a inclinação da reta (*slope*) e o *Y-intercepto* (APPLIED BIOSYSTEMS, 2017).

O coeficiente de correlação R^2 , que é uma medida do ajuste dos dados obtidos acerca da curva padrão, consiste na relação matemática entre as variáveis descritas na curva: concentração de DNA e valor de *Ct* (*cycle threshold*), que é o ciclo da reação em que o limiar

de fluorescência (Ft) foi alcançado. O *slope* é a inclinação da reta e representa a eficiência da amplificação. O indicador *Y-intercepto* equivale ao ponto onde a curva padrão cruza o eixo y, sendo definido pelo valor de Ct quando x (log da concentração) é igual a 0, de modo que o *Y-intercepto* dá o valor de Ct para a concentração de 1 ng/ μ L. Um *software* específico calcula a linha de regressão mediante o melhor ajuste com os pontos de dados padrão da quantificação, desenvolvendo uma análise automatizada de R^2 e *slope* acerca da curva padrão, sinalizado ao analista se os parâmetros estão ou não dentro da faixa esperada. Sendo assim, o valor de R^2 deve ser maior ou igual a 0,980; e o *slope* deve se apresentar dentro de uma faixa esperada, conforme recomendação do fabricante, sendo de -2,9 a -3,6 o intervalo aceitável para o Quantifiler™ Trio para o alvo autossômico curto. Para o *Y-intercepto*, avalia-se os alvos autossômicos: usualmente, o valor para o alvo longo deve ser menor do que o valor para o alvo curto (APPLIED BIOSYSTEMS, 2017).

Outro indicador a ser avaliado é o índice de degradação (*degradation index*), que é a razão entre as concentrações dos alvos autossômicos curto e longo. O seu resultado pode indicar, por exemplo, que os maiores *loci* presentes no *kit* de genotipagem de STRs podem apresentar performance reduzida quando comparados com os *loci* mais curtos. Índices de degradação maiores ou iguais a 20 indicam grande probabilidade de amplificação desigual dos maiores *loci* do kit de genotipagem utilizado, dando suporte à informação de que a amostra se encontra degradada, demandando maior cuidado pelo analista para interpretação dos perfis, principalmente em casos de perfis de mistura (APPLIED BIOSYSTEMS, 2017; BUTLER, 2012; RODRIGUES; GARRIDO, 2020a).

Dessa forma, temos que a etapa de quantificação impacta diretamente na agilidade do processo de análise de DNA. A utilização de metodologias de quantificação confiáveis para indicar com segurança sobre a presença de DNA em uma amostra ajuda a otimizar o uso das amostras, o tempo de análise e os recursos de laboratório, auxiliando na seleção da estratégia de genotipagem mais apropriada (BUTLER, 2005, 2010, 2012).

As etapas derradeiras do exame de DNA são a amplificação e a genotipagem, incluindo a interpretação dos resultados. A amplificação se dá pela reação de PCR, que é uma reação enzimática com o propósito de aumentar a concentração de determinadas regiões alvo do DNA molde, reproduzindo *in vitro* o que organismos vivos realizam naturalmente em condições fisiológicas. A reação é composta basicamente por DNA molde, enzima Taq DNA polimerase, *primers*, dNTPs (desoxinucleotídeos trifosfato), $MgCl_2$ como cofator enzimático e uma solução tampão, sendo que todos esses componentes interagem em ciclos térmicos de três

etapas: desnaturação do DNA molde, anelamento dos *primers* nas regiões alvo do DNA molde e extensão dos *primers* pela ação da polimerase, formando de uma nova fita de DNA (APPLIED BIOSYSTEMS, 2016; BUTLER, 2010; GIUSTINA; RODRIGUES; ARAUJO FILHO, 2020).

Existem disponíveis no mercado diversos ensaios comerciais para amplificação de material genético humano, e o GlobalFiler™ PCR Amplification (Applied Biosystems) é um desses. Trata-se de um dos mais modernos sistemas de marcadores genéticos (*multiplex*), permitindo amplificar e detectar simultaneamente em uma mesma injeção 24 *loci*, sendo: 21 loci de microssatélites autossômicos (D3S1358, vWA, D16S539, CSF1PO, TPOX, D8S1179, D21S11, D18S51, D2S441, D19S433, TH01, FGA, D22S1045, D5S818, D13S317, D7S820, SE33, D10S1248, D1S1656, D12S391, D2S1338); um *locus* de microssatélite do cromossomo Y (DYS391); um *locus* de inserção/deleção no cromossomo Y (Y Indel) e o marcador de gênero sexual (amelogenina). Dessa forma, o *kit* engloba os marcadores originais do sistema americano CODIS (*Combined DNA Index System*) e os marcadores do sistema Europeu ESSL (*European Standard Set of DNA Database Loci*), que são sistemas informatizados que armazenam perfis de DNA obtidos por laboratórios criminais e que permitem buscas na sua base de dados com o intuito de identificar criminosos (APPLIED BIOSYSTEMS, 2016; BUTLER, 2005, 2010; GIUSTINA; RODRIGUES; ARAUJO FILHO, 2020).

A amplificação dos alvos gênicos por PCR produz inúmeros fragmentos de DNA com tamanhos distintos, a depender da quantidade de nucleotídeos que compõe cada fragmento. Por fim, esses produtos são submetidos à genotipagem de STRs autossômicos por eletroforese capilar em um analisador genético, visando sua separação e identificação por detecção de fluorescência individual induzida por *laser*. Na eletroforese capilar são empregadas altas voltagens (cerca de 15 kV), e a migração e separação dos fragmentos se dá tendo em vista o caráter negativo da molécula de DNA. As informações geradas são apresentadas em forma de eletroferogramas, que são analisados através de um *software* específico para determinação do perfil genético relacionado ao DNA presente na amostra analisada (BUTLER, 2012; RODRIGUES; GARRIDO, 2020b).

Quando se trata de DNA de toque vários laboratórios forenses vêm demonstrando êxito na obtenção de perfis genéticos a partir de ínfimas quantidades de células com quantidades de DNA inferiores a 100 pg. A tentativa de amplificar quantidades de amostras de DNA menores do que as normalmente recomendadas, e interpretar estes resultados, é conhecida como método LCN (*Low Copy Number*), que foi definida por P. Gill (2001) como sendo a análise de

amostra de material biológico contendo menos que 100 pg de DNA, que equivale a cerca de 15 células diploides (BUDOWLE *et al.*, 2001; GILL, 2001, 2005; GILL *et al.*, 2000).

O método LCN se refere à recuperação de pequenas quantidades de DNA e, frequentemente, ao incremento no número de ciclos de amplificação na tentativa de aumentar a sensibilidade da reação de PCR. Por exemplo, se o número de ciclos for aumentado de 28 para 34, considerando 100% de eficiência da reação de PCR, 67 milhões de cópias do DNA molde são produzidas com 28 ciclos, enquanto que 4 bilhões de cópias são geradas com 34 ciclos. Dessa forma, as estratégias analíticas relacionadas ao método LCN podem ser aplicadas em amostras oriundas de impressões digitais, por exemplo, porém atentando para o fato que a quantidade de DNA recuperado nestes casos está sujeita a variações a depender de cada indivíduo e dos fatores relacionados a cena de crime (BUDOWLE *et al.*, 2001; BUTLER, 2010; GILL, 2001, 2005; GILL *et al.*, 2000).

Além do mais, ampliações LCN requerem muita cautela na interpretação dos resultados devido a efeitos estocásticos e a maior incidência de artefatos, como alelos *drop-in*, alelos *dropout*, picos *stutter*, desbalanceamento de picos, além do maior risco de contaminação da amostra. Sobre resultados de DNA obtidos de impressões digitais latentes, a precaução e o rigor na interpretação dos resultados também é imprescindível tendo em vista possíveis transmissões secundárias de DNA. Estudos já mostraram que o DNA de uma pessoa, presente em um objeto, pode ser transferido para um outro indivíduo, e que este potencial de transferência primária varia consideravelmente de pessoa para pessoa (BUTLER, 2010; LOWE *et al.*, 2003; MURRAY *et al.*, 2001; WICKENHEISER, 2002).

Diante disso, as estratégias LCN não são rotineiramente empregadas. Somente com estudos que levem a uma melhor compreensão do método LCN em relação aos rendimentos da amplificação de DNA e dos índices e mecanismos de perda, pode-se implementar melhorias no processo, com procedimentos padronizados otimizados, que acarretem a maximização segura do valor das provas forenses obtidas de pequenas quantidades de DNA (TANG *et al.*, 2020; WICKENHEISER, 2002).

2.8 Influência de reveladores no exame de DNA

Há mais de 20 anos, pesquisadores se debruçam em estudos sobre a recuperação de DNA a partir de impressões digitais latentes, assim como acerca do impacto dos métodos de revelação na obtenção de perfis genéticos a partir desses vestígios. Essas pesquisas demonstram

que perfis de DNA obtidos a partir de impressões digitais são uma ferramenta promissora no cenário forense, podendo constituir importantes provas forenses em julgamentos. Para tanto, é imprescindível que a análise dos resultados seja muito cuidadosa e adequada, a fim de minimizar fatores que afetem a qualidade e a confiabilidade desses resultados (BURRILL; DANIEL; FRASCIONE, 2019).

Por muito tempo a análise de impressões digitais para identificação papiloscópica e o exame de DNA desses vestígios foram consideradas técnicas mutuamente excludentes, pois problemas no processamento, contaminação e sensibilidade impediam o desenvolvimento concatenado e sistemático desses exames. Nesse contexto, estudos propõem uma revisão sistemática de procedimentos, técnicas e reagentes usados nesses métodos de identificação forense, a fim de desenvolver soluções simples e práticas que forneçam aos peritos imagens reveladas em alta resolução, e ainda facilitem a obtenção de perfis genéticos de qualidade a partir de impressões digitais reveladas (SINELNIKOV; REICH, 2017).

O impacto na análise genética do emprego de vários reveladores convencionais já foi amplamente investigado. Foram testados diversos reveladores químicos, incluindo o cianoacrilato, iodo e ninidrina, assim como reveladores físicos, especialmente os pós. De um modo geral, foi verificado que perfis genéticos podem sim ser obtidos de impressões digitais, mesmo após o tratamento com reveladores (BURRILL; DANIEL; FRASCIONE, 2019).

Em 1999, pesquisadores investigaram onze tipos de pós reveladores, e os resultados mostraram que a maioria deles não impactava nos exames de DNA. Entretanto, mostrou-se imprescindível a adoção de medidas para evitar contaminação cruzada entre amostras, tais como o uso de máscaras, luvas e de novos pinceis a cada revelação, para evitar contaminação cruzada entre amostras (VAN HOOFFSTAT *et al.*, 1999). Em outro estudo, não foram reportados inibidores para as análises de DNA em pós regulares (preto e branco), porém pós metálicos se apresentaram como limitantes para quantidade de DNA que poderia ser recuperada e genotipada a partir de impressões digitais latentes reveladas com os mesmos (MURRAY *et al.*, 2001). Através de um estudo sobre a recuperação de impressões digitais latentes e de DNA deixados por agressores na pele de cadáveres por meio da análise de diferentes tipos de pós, pesquisadores reportaram menores taxas de recuperação de DNA em impressões digitais reveladas com pó magnético, embora este tenha apresentado melhores datilogramas (FÄRBER *et al.*, 2010). O pó magnético é basicamente composto de pigmentos, metais e óxidos metálicos, que podem originar íons inibidores da reação de PCR (BUTLER, 2010; YAMASHITA; FRENCH, 2012).

Em 2017, tendo em vista que os pincéis usados na aplicação de reveladores podem ser vetores para a transferência de DNA entre superfícies, pesquisadores apresentaram um protocolo de descontaminação desses itens. O estudo mostrou que foi detectado DNA inclusive em pincéis novos. O protocolo se mostrou eficiente em pincéis de cerda naturais, mas inaplicável em pincéis de cerdas de fibras sintéticas (SZKUTA; OORSCHOT; BALLANTYNE, 2017).

Apesar de vários estudos atestarem que os pós comerciais não interferem na reação de PCR, o pó excedente da revelação e os instrumentos, especialmente os pinceis, podem atuar como vetores de transferência de DNA entre vestígios. Diante disso, um dos principais fabricantes de produtos e insumos destinados à revelação de impressões digitais latentes, recentemente lançou uma linha de produtos livres de DNA, incluindo pós de diferentes cores, pinceis, fitas de levantamento e *kis* com todos esses itens. Segundo o fabricante, são equipamentos de uso único e certificados como livres de DNA por meio de testes independentes (FIGINI, 2012; SIRCHIE, 2021).

Sobre o cianoacrilato, foi investigado o efeito do seu tratamento em impressões digitais deixadas com sangue em cenas de crime, reportando que o cianoacrilato, quando usado para revelar impressões digitais produzidas com sangue, não apresentava efeito danoso em subsequentes análises de DNA. O estudo também apontou que, dependendo dos métodos de extração, a presença de cianoacrilato dificultou significativamente a amplificação do DNA de pequenas manchas, ao passo que não houve praticamente nenhuma diferença comparando os resultados de amplificação do DNA extraído de manchas maiores (VON WURMB; MEISSNER; WEGENER, 2001). Em 2000, pesquisadores reportaram que o cianoacrilato não causava nenhum efeito danoso sobre o DNA recuperado de células epiteliais presentes em impressões digitais latentes, mostrando que o revelador não gerou efeito negativo na intensidade do sinal dos perfis STR (ZAMIR; SPRINGER; GLATTSTEIN, 2000).

Dois tratamentos químicos frequentemente aplicados em impressões digitais deixadas sobre papel são a ninidrina e o 1,8-diazofluorenona-9 (DFO), sendo que estes reveladores demonstraram pequenos efeitos danosos às análises de DNA de impressões em sangue. Vapores de iodo são também frequentemente aplicados para revelar impressões em papel, e ambos foram reportados como agentes degradantes de DNA em impressões digitais latentes e em sangue, respectivamente (MURRAY *et al.*, 2001; SCHULZ *et al.*, 2004; SCHULZ; REICHERT, 2002).

Até o presente momento, não há registros na literatura de pesquisas sobre o impacto da revelação eletroquímica de impressões digitais reveladas na recuperação de DNA, seja avaliando os materiais empregados (polímeros condutores, por exemplo) ou possíveis efeitos danosos relacionados aos processos eletroquímicos empregados. Tendo em vista o caráter promissor da revelação eletroquímica e os robustos avanços científicos que o tema apresenta, essa investigação é necessária e urgente, como recentemente enfatizaram Yuan *et al.* (2020) na conclusão de seu artigo de revisão sobre o progresso de pesquisas sobre revelação de impressões digitais latentes com base em métodos eletroquímicos.

CAPÍTULO 3 | OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Avaliar a produção de duas provas forenses a partir da análise genética de impressões digitais reveladas pela eletrodeposição de polipirrol.

3.2 Objetivos específicos

- Revelar impressões digitais através de métodos eletroquímicos a partir da aplicação de baixos potenciais;
- Empregar insumos não danosos a estruturas biológicas e de baixa toxicidade ao analista;
- Caracterizar a superfície e avaliar a qualidade das impressões digitais reveladas;
- Avaliar o impacto do polímero e do método eletroquímico na recuperação de DNA de impressões digitais após o processo de revelação.

CAPÍTULO 4 | REVELAÇÃO ELETROQUÍMICA DE IMPRESSÕES DIGITAIS

4.1 Experimental

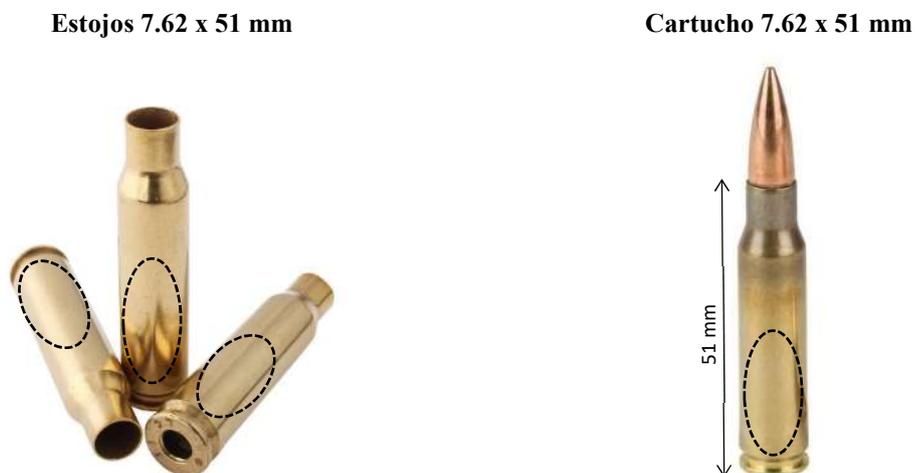
O método de revelação foi desenvolvido em um sistema eletroquímico de três eletrodos, sendo: um eletrodo de trabalho (WE), um contra eletrodo (CE) e um eletrodo de referência (RE).

Como eletrodos de trabalho foram utilizados os seguintes materiais:

- Placas de aço inoxidável em aço inoxidável ferrítico, classe 430 (UNS S43000), medindo 3,5 x 2,0 cm e 0,9 mm de espessura, produzidas por Metaloffcuts, Liverpool;
- Estojos de munição em latão calibre 7.62 x 51 mm fabricados pela CBC - Companhia Brasileira de Cartuchos, com composição química aproximada da liga metálica de 75% Cu e 25% Zn.

A Figura 19 ilustra estojos de munição e seus respectivos cartuchos, onde estão sinalizadas (tracejado) as áreas mais sujeitas ao manuseio e, conseqüentemente, com maior probabilidade de conter impressões digitais.

Figura 19 - Estojos de munição calibre 7.62 x 51 mm utilizados como eletrodos de trabalho e o cartucho não deflagrado correspondente.



Fonte: o autor.

Uma lâmina de platina, medindo 25 x 10 mm e 0,1 mm de espessura, foi usada como contra eletrodo, e um eletrodo de Ag/AgCl (KCl sat.) foi aplicado como eletrodo de referência. Os reagentes empregados foram: perclorato de lítio anidro (LiClO₄) P.A. como eletrólito (Vetec); e monômeros de Py (C₄H₅N) Sigma-Aldrich, grau de pureza mínima: 98%.

As celas de vidro, assim como toda a vidraria e utensílios usados na preparação da solução de trabalho, foram submetidas à lavagem padrão com água, detergente neutro e esponja macia, seguida de três enxágues com água destilada/deionizada, utilizando-se luvas de procedimentos. Então, a vidraria foi submetida à secagem à temperatura ambiente em local limpo e protegido.

Os eletrodos de trabalho (placas de aço inoxidável e estojos de munição em latão) também foram previamente preparados para o experimento. Usando luvas de procedimentos, os eletrodos de trabalho foram lavados com água e detergente neutro, utilizando-se uma esponja macia e/ou pano macio, e em seguida enxaguados três vezes com água destilada/deionizada. Após a lavagem, foram mergulhados em álcool isopropílico por 20 minutos e secados à temperatura ambiente sobre papéis toalha limpos. Após a secagem, uma das faces de cada eletrodo foi isolada com fita adesiva (3M™ Tartan 692), delimitando uma face com área eletroquimicamente ativa de 4,0 cm² nas placas de aço inoxidável, e 6,14 cm² nos estojos de latão, correspondente à região mais sujeita ao manuseio.

O contra eletrodo também foi lavado com água e detergente neutro, enxaguado e seco, sendo todo o manuseio com luvas de procedimentos. O eletrodo de referência também foi manuseado com luvas e submetido à rinçagem com água destilada/deionizada abundante e secagem com lenço de papel macio à temperatura ambiente.

De forma livre e esclarecida, conforme normatizações éticas, e seguindo as recomendações do *International Fingerprint Research Group* (IFRG), dois indivíduos, sendo um homem (40 anos) e uma mulher (35 anos), foram convidados a doar suas impressões digitais, produzindo cerca de 60 repetições de amostra cada um. Ao todo, 120 impressões digitais foram submetidas à revelação através da deposição eletroquímica de PPy em superfícies de aço inoxidável e latão, incluindo aquelas destinadas à análise genética (Capítulo 5) (IFRG, 2014b; SEARS *et al.*, 2012).

Antes da coleta, cada doador lavou suas mãos com detergente neutro, enxaguando com água abundante para remoção de impurezas. As mãos foram secas com papel toalha limpo e de alta qualidade, e mantidas à temperatura ambiente por 10 min, sem tocar em nenhum objeto, no próprio corpo ou em outra pessoa. Em seguinte, visando simular uma situação de

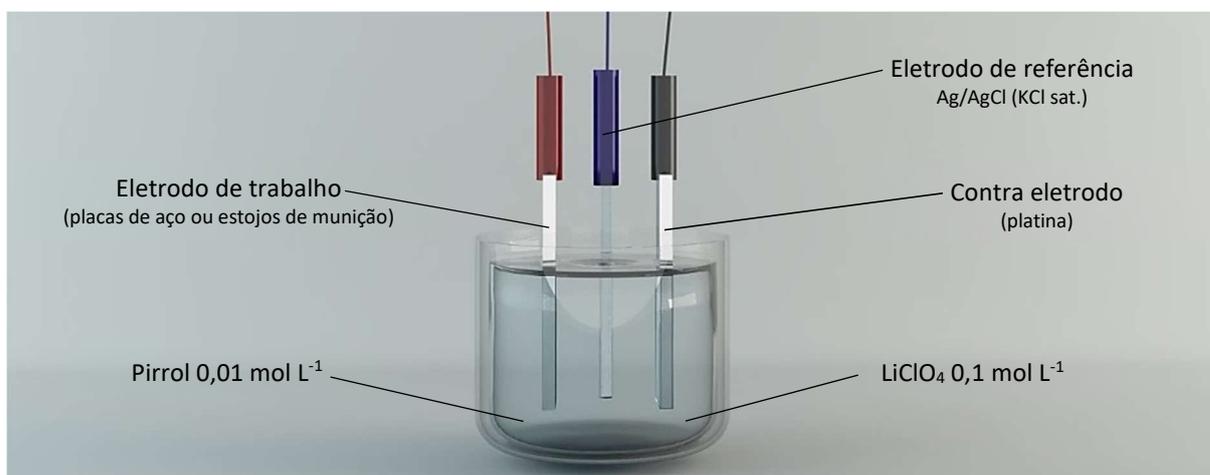
estresse (ato criminoso) e uma expansão uniforme da transpiração na pele, foi solicitado que o doador esfregasse vigorosamente uma mão na outra e os dedos uns nos outros por 10 min, visando estimular as glândulas sudoríparas e sebáceas.

Os doadores então procederam a aplicação da impressão digital na superfície do eletrodo de trabalho (placa de aço inoxidável ou estojo de munição), repousando a região da polpa dos dedos das mãos na superfície durante cerca de 2 s, exercendo uma pressão mínima (SEARS *et al.*, 2012). As impressões digitais coletadas foram armazenadas em recipiente fechado e em condições ambientais até o processo de revelação das impressões digitais.

As amostras foram divididas levando-se em consideração as seguintes variáveis qualitativas: a superfície de trabalho (placas de aço inoxidável ou estojos de latão) e o tempo decorrido da aplicação da impressão digital na superfície até a revelação eletroquímica (24 horas ou 7 dias), conforme também recomendam protocolos internacionais de pesquisa com impressões digitais (IFRG, 2014; SEARS *et al.*, 2012).

A eletrodeposição de PPy para revelação das impressões digitais latentes foi desenvolvida por métodos galvanostático (GST) e potencioestático (PST), utilizando-se uma célula eletroquímica de três eletrodos em compartimento único (cela de vidro), devidamente conectados a um potencioestato/galvanostato Autolab PGSTAT 30N (Metrohm) com o programa de aquisição de dados GPES (versão 4.9 007), de acordo com o esquema apresentado na Figura 20. Para tanto, foi utilizada uma solução aquosa de monômeros de Py $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e LiClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito, com volume final de 25 mL (PATOIS *et al.*, 2011; RIBEIRO *et al.*, 2005; SAPSTEAD *et al.*, 2013, 2015).

Figura 20 - Sistema eletroquímico empregado na revelação de impressões digitais através da eletrodeposição de polímeros condutores.



Fonte: o autor, com imagem produzida e gentilmente cedida pela Profa. Dra. Juliana D. A. Cantalice (FAU/UFAL).

Com base nos resultados de Sapstead *et al.* (2013, 2015) para o PPy, e considerando excluir do processo eletroquímico condições e insumos danosos aos constituintes do resíduo das impressões digitais, em especial às moléculas de DNA, os parâmetros dos experimentos observados na literatura foram revisados, buscando otimizá-los à proposta de revelação de impressões digitais com vistas à subsequente pesquisa de material genético para identificação humana por DNA. A Tabela 3 apresenta a correlação entre as superfícies testadas, os métodos eletroquímicos e seus respectivos parâmetros, onde:

Tabela 3 - Correlação entre as superfícies testadas, os métodos eletroquímicos e seus respectivos parâmetros aplicados na revelação de impressões digitais pela eletrodeposição de PPy.

Placas de aço inoxidável		Estojos de munição em latão	
Método PST	Método GST	Método PST	Método GST
n = 20	n = 40	n = 40	n = 20
$0,70 \leq E \leq 0,95 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.)}$	$1,25 \leq j \leq 2,00 \text{ mA cm}^{-2}$	$0,70 \leq E \leq 1,00 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.)}$	$1,25 \leq j \leq 2,00 \text{ mA cm}^{-2}$
$50 \leq t \leq 160 \text{ s}$	$40 \leq t \leq 90 \text{ s}$	$50 \leq t \leq 160 \text{ s}$	$40 \leq t \leq 90 \text{ s}$

Legenda:

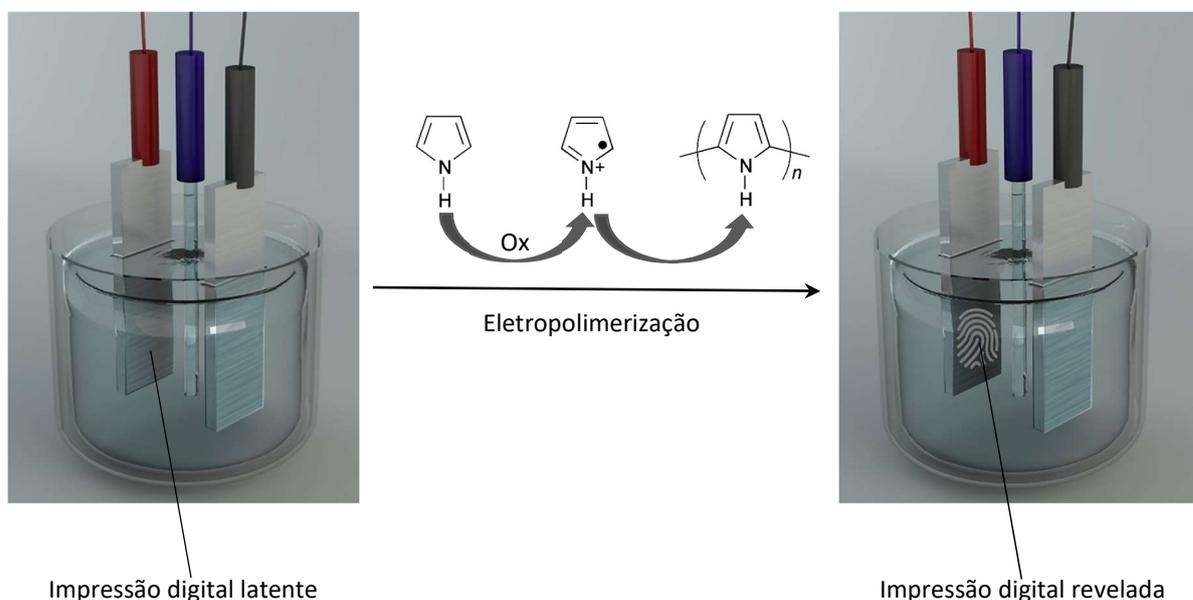
PST = potenciostático; GST = galvanostático; n = número de repetições de impressões digitais; E = potencial; j = densidade de corrente; t = tempo.

Na montagem do sistema eletroquímico, WE e CE foram dispostos paralelamente, de modo que os experimentos foram desenvolvidos com eletrodos estacionários e sem agitação na solução eletrolítica, de modo que o transporte de massas se deu apenas por difusão (BARD; FAULKNER, 2001).

De acordo com o princípio inicialmente proposto por Bersellini *et al.* (2001), o processo de revelação de impressões digitais latentes, conforme esquematizado na Figura 21, consistiu na utilização de sistema eletroquímico de três eletrodos para a eletrodeposição espacialmente seletiva do PPy na superfície metálica não encoberta pelo resíduo lipídico, que, pela sua natureza química, atua como uma barreira isolante ao fluxo de elétrons.

A análise e o tratamento dos dados foram realizados a partir de gráficos obtidos nos experimentos e tratados com o auxílio dos programas Origin 6.0 e Microsoft Excel 2019.

Figura 21 - Revelação de impressões digitais latentes através da eletrodeposição anódica espacialmente seletiva do polipirrol em sistema eletroquímico.



Fonte: o autor, com imagens produzidas e gentilmente cedidas pela Profa. Dra. Juliana D. A. Cantalice (FAU/UFAL).

A fim de estabelecer um parâmetro para análise comparativa dos resultados, e considerando que a massa de uma substância transformada ou formada por eletrólise é diretamente proporcional à quantidade de carga elétrica do sistema, usando a 1ª lei de Faraday, a massa de polímero depositada (Γ) foi estimada (g cm^{-2}) partir da carga de deposição de cada experimento de acordo com a Equação 1, onde: MM = massa molecular do monômero (g mol^{-1}); Q = densidade de carga de deposição (C cm^{-2}); F = constante de Faraday (C mol^{-1}); e = número estequiométrico de elétrons envolvidos no processo (nível máximo de dopagem durante a oxidação) (NOGUEIRA, 2010). No cálculo da densidade de carga de deposição (Q), foi considerado o valor da carga unitária de cada experimento e a área eletroquimicamente ativa no eletrodo de trabalho utilizado.

$$\Gamma = \frac{\text{MM} \cdot \text{Q}}{\text{F} \cdot \text{e}}$$

Equação 1

As imagens das impressões digitais reveladas foram capturadas em alta resolução utilizando as seguintes câmeras digitais associadas a sistemas de iluminação apropriados: Nikon D2x com lente Nikon AF-S Nikkor 18-70mm F/3,5-4,5G acoplada a uma mesa de fotografia Kaiser rePRO RSP; Samsung Galaxy S10+ com resolução 12 a 16MP em modo profissional.

As superfícies submetidas à revelação eletroquímica foram inspecionadas e fotografadas por microscopia óptica, utilizando um estéreo microscópio Leica Z6 APO e um microscópio digital portátil USB. A caracterização morfológica das superfícies metálicas e dos filmes poliméricos foi realizada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com Detector de Energia Dispersiva (EDS) acoplado, utilizando um equipamento VEGA3 TESCAN e análise das resultantes com o *software* VEGA3 versão 4.2.28.0.

Com o objetivo de avaliar o desempenho e a reprodutibilidade da eletrodeposição de PPy aplicada na revelação de impressões digitais latentes, assim como a qualidade dos datilogramas, foram aplicadas para todas as impressões digitais reveladas as seguintes metodologias forenses:

- Escala de Bandey;
- Protocolo de análise proposto por Champod *et al.* (2004);
- Dois *softwares* forenses de reconhecimento e análise de impressões digitais: o Griaule Forensic Fingerprint 2011 e um sistema automatizado de identificação biométrica (ABIS, do inglês *Automated Biometric Identification System*).

O esquema de classificação elaborado por Bandey e colaboradores é composto por uma escala de cinco notas descrita na Tabela 4 (BANDEY, 2004; BANDEY; GIBSON, 2006; SEARS *et al.*, 2012). Sendo assim, após revelação e registros fotográficos, os datilogramas foram examinados por dois analistas independentes, que lhes atribuíram notas levando-se em consideração o fluxo contínuo dos desenhos e os detalhes das cristas, assim como as características individualizadoras.

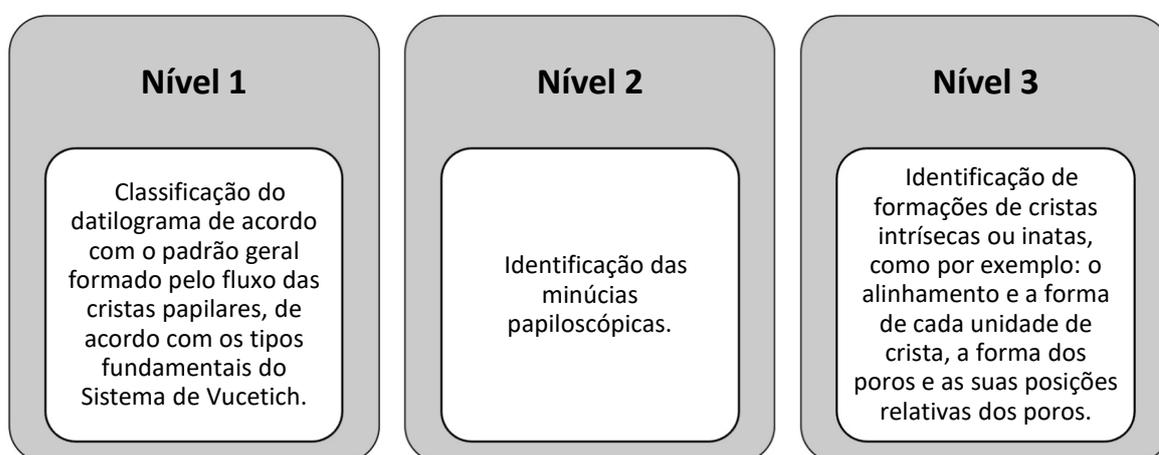
Tabela 4 - Escala de Bandey para classificação de impressões digitais reveladas.

Nota 0	Nota 1	Nota 2	Nota 3	Nota 4
Não há revelação Não há sinais de contato.	Revelação fraca Há sinais de contato, mas sem detalhes das cristas.	Revelação limitada Até 1/3 dos detalhes das cristas, com impressão digital não identificável.	Revelação forte Entre 1/3 e 2/3 dos detalhes das cristas, com impressão digital identificável.	Revelação muito forte Detalhes completos das cristas, com impressão digital identificável.

Fonte: o autor, adaptado de Bandey (2004), Bandey & Gibson (2006) e Sears *et al.* (2012).

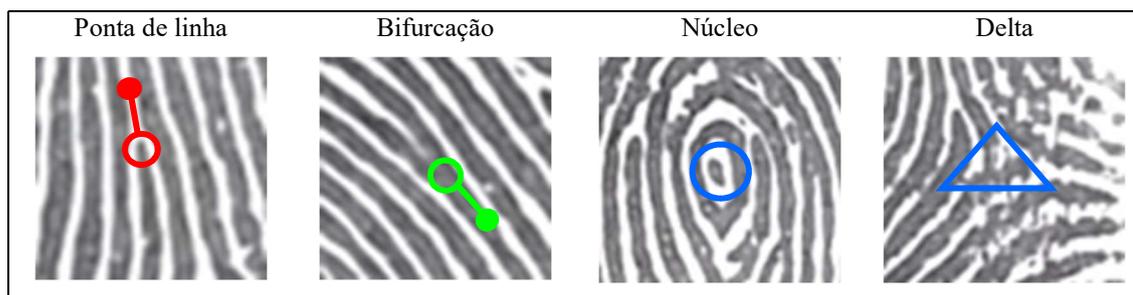
Os datilogramas também foram submetidos à análise papiloscópica por especialistas seguindo o protocolo proposto por Champod *et al.* (2004). Inicialmente, cada impressão digital revelada foi submetida à análise e avaliada quanto aos padrões dos desenhos das cristas, sua clareza, fluxo e continuidade das linhas, visando determinar quais informações se apresentam visíveis e confiáveis, tendo em conta a clareza da imagem e considerando os efeitos de pressão, distorção e da técnica de revelação. Durante a análise, três níveis distintos de informações são considerados, com o objetivo de identificar características visíveis em cada marca, sem qualquer avaliação *a priori* acerca da seletividade das mesmas. O diagrama da Figura 22 fornece uma definição para cada nível.

Figura 22 - Definição dos três níveis de características de cristas papilares de acordo com do protocolo de Champod *et al.* (2004).



Fonte: o autor, adaptado de Champod *et al.* (2004).

O *software* Griaule Forensic Fingerprint 2011, disponibilizado pelo Ministério da Justiça e Segurança Pública aos órgãos de Perícia Oficial, é uma ferramenta forense que apresenta uma série de recursos desenvolvidos especificamente para a análise de imagens datiloscópicas, dentre elas: filtro de inversão de cores, controles de equalização e nitidez, um módulo de pesquisa automatizada e manual de minúcias papiloscópicas (pontos característicos), além de uma plataforma que permite realizar confrontos entre impressões digitais para fins de perícia. Nos resultados das análises das imagens, são geradas marcações sobre as minúcias de acordo com a seguinte legenda: vermelho para pontas de linha, verde para bifurcações, círculo azul para os núcleos e triângulo azul para os deltas, conforme ilustra a Figura 23 (GRIAULE BIOMETRICS, 2010).

Figura 23 - Minúcias papiloscópicas identificadas através do programa Griaule Forensic Fingerprint 2011.**Legenda:**

Vermelho = ponta de linha; Verde = bifurcação; Círculo azul = núcleo; Triângulo azul = delta.

Fonte: o autor, adaptado de Griaule Biometrics (2010).

O sistema ABIS utilizado foi o Vsoft iDS Recognition (versão 6.10.0.0) instalado na Perícia Oficial do Estado de Alagoas. Trata-se de um sistema computadorizado capaz de identificar e analisar impressões digitais, permitindo a comparação com outras impressões digitais ou com bancos de dados. Através de recursos de busca, armazenamento digital de imagens e troca eletrônica de informações entre plataformas ou instituições, os sistemas ABIS são usados principalmente por agências de segurança pública de vários países para fins de identificação criminal, especialmente na identificação de suspeitos de crimes ou estabelecendo ligações entre suspeitos e outros crimes não resolvidos (MOSES, 2012; VSOF, 2021).

No caso da revelação eletroquímica, o processamento automatizado da impressão digital revelada consistiu das seguintes etapas: 1) a imagem da impressão digital revelada foi aberta no *software* e calibrada de acordo com a escala utilizada na fotografia; 2) como a revelação com PPy produz uma imagem em “negativo” da impressão digital, aplicou-se a função de inversão de cores, seguida de ajustes de equalização e nitidez, caso necessário; 3) as minúcias foram extraídas de forma automatizada (GRIAULE BIOMETRICS, 2010; MOSES, 2012; VSOF, 2021).

À exemplo do que acontece na rotina forense e a fim de garantir confiabilidade técnica ao processo, os resultados do processamento automatizado foram analisados e ajustados, conforme a necessidade, por especialistas independentes, seguindo o protocolo proposto até o parecer final (MOSES, 2012).

4.2 Resultados e discussão

4.2.1 Revelação eletroquímica em aço inoxidável

Através da eletrodeposição de PPy pelo método potenciostático (PST), utilizando-se a mesma solução de trabalho (Py $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e LiClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$), diferentes combinações de potencial ($0,70 \leq E \leq 0,95 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.)}$) e tempo de experimento ($50 \leq t \leq 160 \text{ s}$) foram testadas para revelação de 20 impressões digitais de 24 horas e 7 dias em aço inoxidável. A Figura 24 apresenta resultados representativos do processo de otimização dos ensaios PST em impressões digitais de 7 dias, e suas respectivas condições de potencial (E), tempo de experimento (t), carga (Q) e estimativa de massa de polímero depositado (Γ). Nos experimentos à potencial constante, o tempo foi definido com base no acompanhamento visual do processo de eletrodeposição, interrompendo-se o experimento quando o analista identificava que a espessura do filme polimérico proporcionava boas condições de revelação.

Figura 24 - Resultados representativos obtidos por cronoamperometria de impressões digitais de 7 dias, e suas respectivas condições de potencial (E), tempo de experimento (t), carga (Q) e estimativa de massa de polímero depositado (Γ).

1)	2)	3)	4)	5)
E = 0,80 V	E = 0,75 V	E = 0,85 V	E = 0,75 V	E = 0,70 V
t = 80 s	t = 60 s	t = 70 s	t = 60 s	t = 160 s
Q = 160,0 mC cm ⁻²	Q = 82,0 mC cm ⁻²	Q = 83,5 mC cm ⁻²	Q = 91,0 mC cm ⁻²	Q = 155,0 mC cm ⁻²
$\Gamma = 0,1112 \text{ mg cm}^{-2}$	$\Gamma = 0,0570 \text{ mg cm}^{-2}$	$\Gamma = 0,0580 \text{ mg cm}^{-2}$	$\Gamma = 0,0630 \text{ mg cm}^{-2}$	$\Gamma = 0,1077 \text{ mg cm}^{-2}$
				

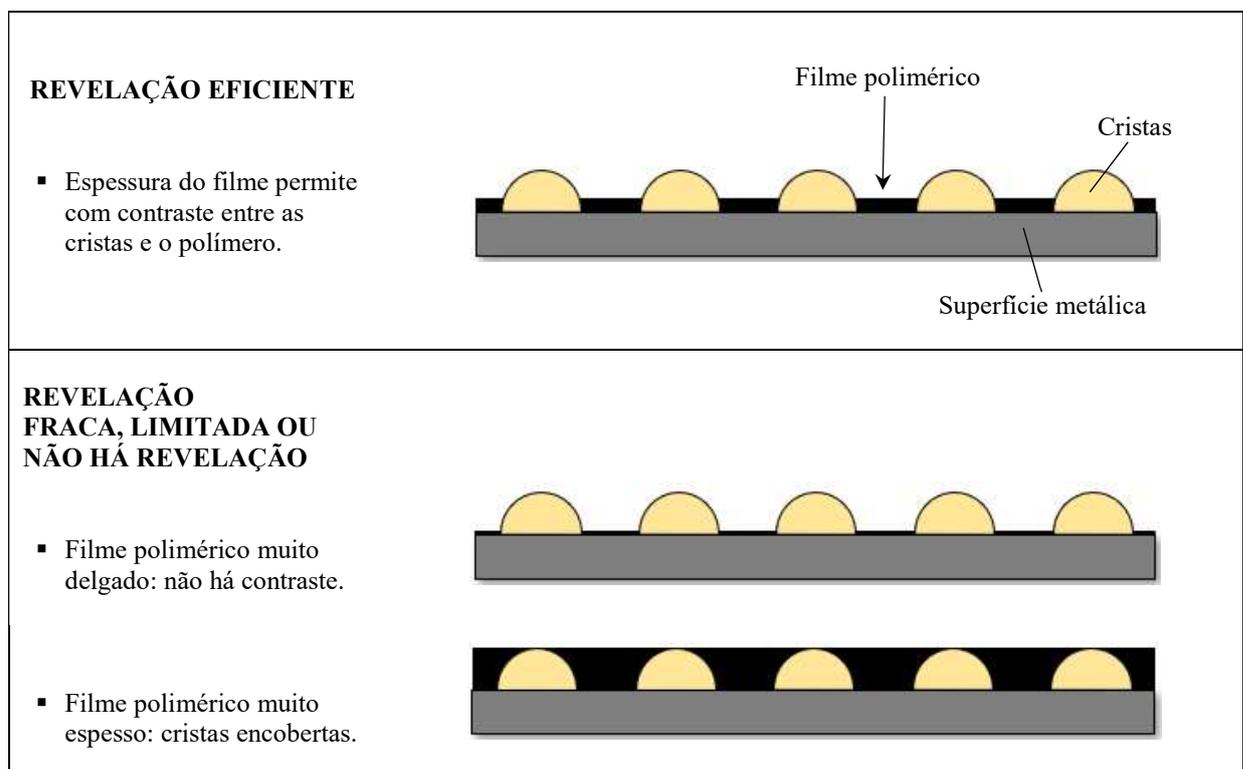
Os ensaios realizados em placas de aço inoxidável, com potencial constante dentro do intervalo de $0,70 \text{ V} \leq E \leq 0,95 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.)}$, demonstraram melhores resultados em experimentos realizados com $0,75 \text{ V} \leq E \leq 0,85 \text{ V}$ e massa estimada de polímero depositado (Γ) em torno de $0,0600 \text{ mg cm}^{-2}$. Observou-se também que valores maiores de potencial em alguns experimentos geraram maiores cargas de deposição e filmes de PPy mais espessos. O contrário foi constatado em valores de $E \leq 0,70 \text{ V}$, quando os valores de potencial foram insuficientes à eletrodeposição ou foram sintetizados filmes poliméricos muito delgados e com

falhas na nucleação, não permitindo a visualização das impressões digitais. Em relação ao tempo, os melhores resultados foram observados com 60 e 70 s, sendo que em experimentos onde $t > 100$ s os resultados apresentaram filmes muito espessos, mesmo em baixos valores de potencial, como exemplificado pela impressão digital 5 da Figura 24.

A massa de polímero depositada na superfície eletroquimicamente ativa está diretamente relacionada à espessura do filme polimérico. Os resultados iniciais apontaram que, para um processo eficiente de revelação de impressões digitais latentes, o filme polimérico não pode ser muito delgado, ao ponto de não permitir um contraste satisfatório entre as cristas da impressão digital e o polímero depositado na superfície metálica, assim como não pode ser muito espesso, encobrindo as cristas. O filme de polímero deve recobrir a superfície metálica e promover uma situação de contraste com a impressão digital, dando à imagem condições de interpretação para fins forenses, como aconteceu para as impressões digitais 2, 3 e 4 da Figura 24. Um filme polimérico muito espesso foi sintetizado sobre as impressões digitais 1 e 5 da mesma figura, encobrindo as cristas e inviabilizando o contraste necessário à revelação.

A Figura 25 apresenta uma representação esquemática de um corte transversal de superfície metálica com impressão digital, onde se pode verificar a influência da espessura do filme polimérico no processo de revelação eletroquímica.

Figura 25 - Representação esquemática da influência da espessura do filme polimérico na revelação eletroquímica.

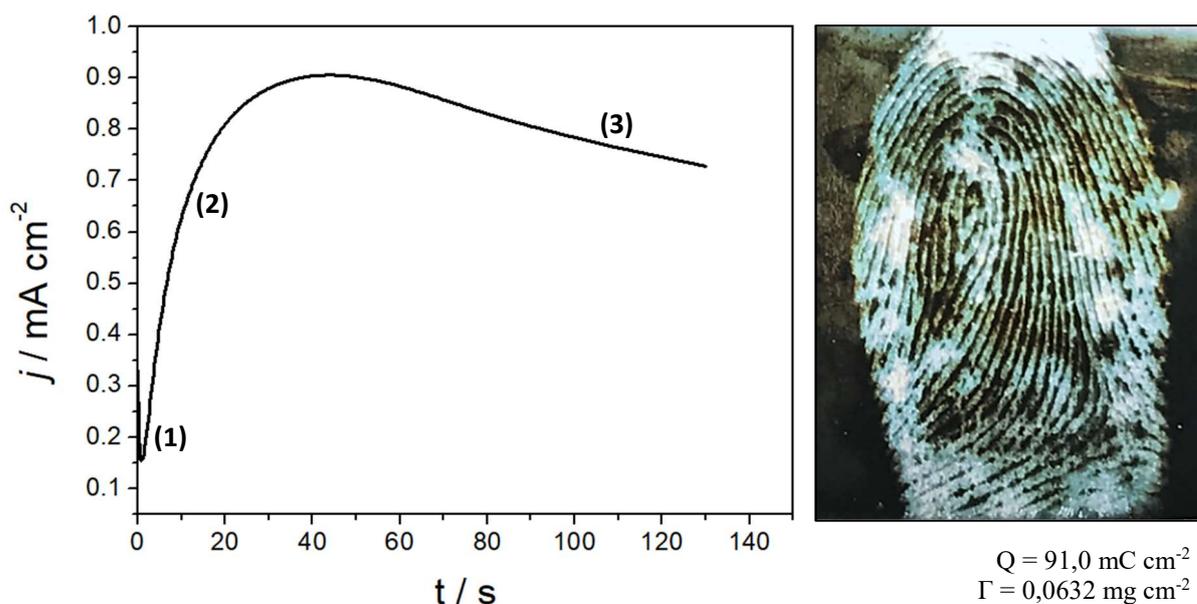


Fonte: o autor.

Durante os experimentos à potencial constante, as eletrodeposições foram visualmente acompanhadas a fim de avaliá-las quanto à nucleação e crescimento do filme de PPy. Como se sabe, o mecanismo de síntese do PPy por eletropolimerização pode ser dividido em três estágios, sendo que: o primeiro estágio corresponde à oxidação do monômero; o segundo estágio é uma combinação de nucleação instantânea com crescimento 2D e 3D; e o terceiro estágio é uma combinação de nucleação instantânea ou nucleação progressiva com crescimento predominantemente 3D (WANG; NORTHWOOD, 2008; ZHENG *et al.*, 2012).

O cronoamperograma da Figura 26 corresponde a uma impressão digital de 24 horas revelada pelo método PST ($E = 0,95 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.)}$ por 130 s), onde estão sinalizados claramente os três estágios do mecanismo de síntese do PPy.

Figura 26 - Cronoamperograma de impressão digital de 24 horas revelada por eletrodeposição de PPy com $E = 0,75 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.)}$ por 130 s, onde (1), (2) e (3) representam os três estágios do mecanismo de eletropolimerização do polipirrol.



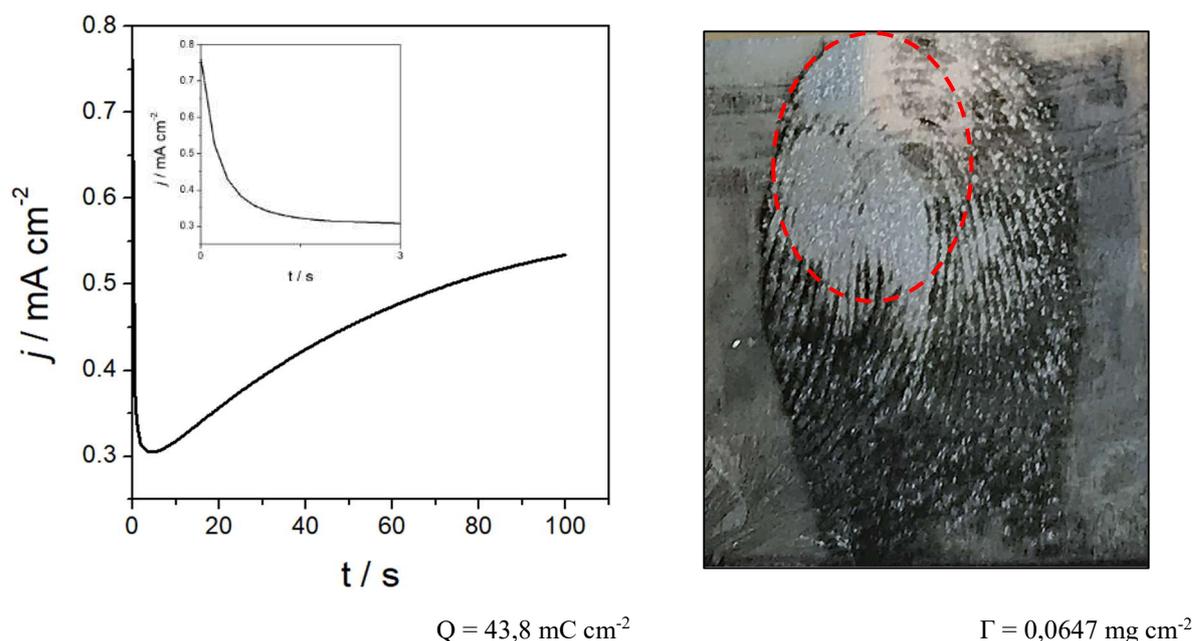
Inicialmente, a densidade de corrente (j) decresceu de 0,33 para 0,15 mA cm^{-2} em um intervalo de tempo muito curto (1), o que corresponde ao primeiro estágio. Logo após, no segundo estágio, j aumentou até atingir um valor máximo de 0,9 mA cm^{-2} (2), quando se observa uma combinação de nucleação instantânea com crescimento 2D e 3D do PPy sobre a superfície metálica. Esse aumento de j na curva é denominado de *loop* de nucleação, e equivale ao pulso de corrente necessário à nucleação e ao crescimento das cadeias poliméricas (WALLACE; TSEKOURAS; WANG, 2010). No terceiro estágio, constata-se uma redução de

j até $0,73 \text{ mA cm}^{-2}$ (3), quando o experimento foi interrompido (130 s). Nesse caso, caso o experimento seguisse, o crescimento 3D predominaria para o filme de PPy, ocasionando o encobrimento das cristas e, conseqüentemente, um processo de revelação malsucedido. Entretanto, o comportamento apresentado na curva da figura abaixo foi observado em menos de 30% das impressões digitais reveladas pelo método PST, o que reforça a variação nos parâmetros testados e a dificuldade de fixar condições experimentais mais eficazes.

No caso do PPy, a formação inicial de uma camada 2D na superfície do eletrodo ocorre devido à forte interação entre a superfície metálica e o monômero de Py, e o crescimento de cadeias poliméricas que ocorre através de ligações $\alpha - \alpha$ (ZHENG *et al.*, 2012, ROMERO *et al.*, 2012). Portanto, tendo em vista que a morfologia da superfície do polímero é influenciada diretamente pela nucleação e pelos mecanismos de crescimento da deposição, e considerando as características estruturais das cristas papilares assim como as condições de contraste necessárias à revelação, a implementação de metodologias de síntese de PPy que favoreçam o crescimento 2D do polímero de forma uniforme sobre a superfície metálica pode acarretar a formação de filmes ultrafinos e ordenados, favorecendo a aplicação das mesmas na revelação eletroquímica de impressões digitais.

Em aproximadamente 40% das revelações pelo método PST, foram constatadas falhas na nucleação e no crescimento dos filmes de PPy que levaram a formação de halos nos desenhos das cristas, especialmente em experimentos nos quais foram aplicados potenciais mais altos ($E \geq 0,85 \text{ V}$), quando o método PST tende a produzir filmes com superfícies mais heterogêneas e propriedades inferiores (PATOIS *et al.*, 2011). Aliado ao método, o efeito isolante do resíduo graxo das impressões digitais pode ter contribuído para esse fenômeno. A ausência de nucleação em algumas partes da impressão digital impediu o crescimento do filme polimérico na superfície metálica e, conseqüentemente, a revelação completa da impressão digital. A Figura 27 mostra um exemplo de revelação com irregularidades na nucleação e no crescimento do filme (área sinalizada na imagem). Na curva do cronoamperogramas a seguir, observa-se um aumento lento da densidade de corrente (j), que prejudicou o segundo estágio do mecanismo de polimerização: nucleação instantânea + crescimento 2D e 3D do PPy sobre a superfície metálica. Nas demais regiões da imagem, é possível verificar o desenho das cristas, permitindo a classificação do tipo fundamental (presilha interna) e a identificação de minúcias. No entanto, as falhas na polimerização impossibilitaram a revelação em cerca de 1/3 da impressão digital, sendo a imagem a seguir classificada com nota 3 na escala de Bandey.

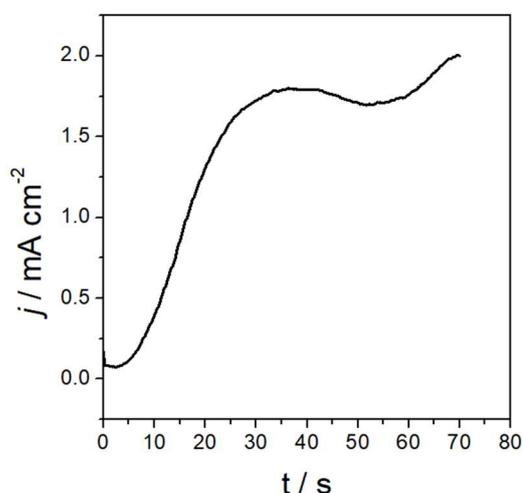
Figura 27 - Cronoamperograma e impressão digital de 7 dias revelada por método PST com $E = 0,85 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.)}$ por 100 s. Detalhe: 3 s iniciais.



As Figuras 28 e 29 apresentam resultados para impressões digitais de 24 horas e 7 dias e os cronoamperogramas obtidos durante a eletrodeposição potencioestática dos filmes de PPy sob potencial de $0,85 \text{ V}$ e $0,75 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.)}$ durante 70 e 60 s, respectivamente.

Os melhores resultados de revelação obtidos nos experimentos de cronoamperometria serviram de base para os valores de densidade de corrente (j) a serem aplicados nos experimentos de deposição galvanostática. Nos exemplos das Figuras 28 e 29 é possível constatar que o valor máximo alcançado pela corrente não foi superior a $2,0 \text{ mA cm}^{-2}$, de modo que a densidade de corrente a ser utilizada nos experimentos galvanostáticos deverá ser igual ou inferior a este valor. Em contrapartida, nos experimentos com valores finais de $j \leq 1,25 \text{ mA cm}^{-2}$ não produziram resultados satisfatórios. Em ambos os cronoamperogramas, as curvas inicialmente apresentam uma redução na densidade de corrente nos primeiros instantes da eletropolimerização, relacionada à polarização do eletrodo de trabalho, seguida de um aumento referente à combinação de nucleação instantânea com crescimento 2D e 3D do PPy sobre a superfície metálica.

Figura 28 - Cronoamperograma e impressão digital de 24 horas revelada por eletrodeposição de PPy com $E = 0,85$ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.) por 70 s.

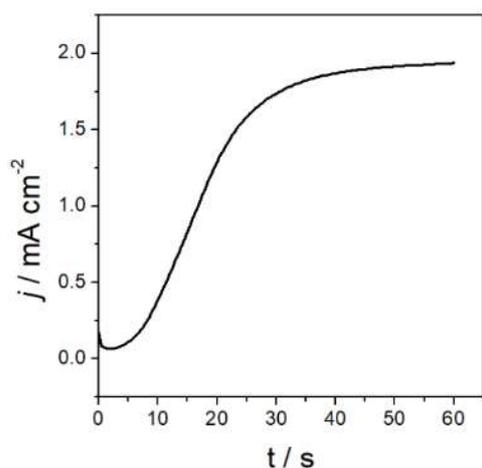


$$Q = 83,5 \text{ mC cm}^{-2}$$



$$\Gamma = 0,0580 \text{ mg cm}^{-2}$$

Figura 29 - Cronoamperograma e impressão digital de 7 dias revelada por eletrodeposição de PPy com $E = 0,75$ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.) por 60 s.



$$Q = 91,0 \text{ mC cm}^{-2}$$



$$\Gamma = 0,0630 \text{ mg cm}^{-2}$$

Considerando os resultados obtidos anteriormente pelo método PST e nos resultados reportados por Sapstead *et al.* (2013, 2015) para o PPy, utilizando-se a mesma solução de trabalho (Py $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e $\text{LiClO}_4 \text{ mol L}^{-1}$), diferentes condições de densidade de corrente ($1,25 \leq j \leq 2,00 \text{ mA cm}^{-2}$) e tempo de experimento ($40 \leq t \leq 90 \text{ s}$) foram testadas para revelação de 40 impressões digitais de 24 horas e 7 dias pela eletrodeposição de PPy sob o método galvanostático (GST).

Nesse caso, constatou-se que valores de $j > 1,25 \text{ mA cm}^{-2}$ produziram filmes de PPy muito espessos, ocasionando a sobreposição das cristas pelo filme polimérico e, conseqüentemente, uma revelação malsucedida das impressões digitais. Os melhores resultados foram observados com $j = 1,25 \text{ mA cm}^{-2}$ com duração de 60 s, $Q = 75,0 \text{ mC cm}^{-2}$ e $\Gamma = 0,0521 \text{ mg cm}^{-2}$ para todos os experimentos. A polimerização em corrente constante em aço inoxidável, portanto, se mostrou mais conveniente para controlar quantitativamente a espessura do polímero depositado, especialmente porque nesse caso se pode fixar a densidade de carga que foi calculada com base na densidade de corrente aplicada e no tempo decorrido, de acordo com a Equação 2 (WALLACE; TSEKOURAS; WANG, 2010).

$$Q = j \cdot t$$

Equação 2

Nessas condições, o método GST se mostrou eficiente e bastante reproduzível, com 40 repetições de impressões digitais reveladas com sucesso através de eletropolimerizações exitosas e em um curto período de tempo (60 s). Além disso, a estimativa de massa de polímero obtida com os experimentos com j constante ($\Gamma = 0,0521 \text{ mg cm}^{-2}$) apresentou valor muito próximo à média observada para os melhores resultados verificados nos experimentos potencioestáticos ($\Gamma \approx 0,0600 \text{ mg cm}^{-2}$). A massa final estimada dos filmes de PPy nesses casos foi suficiente para revelação de impressões digitais por deposição espacialmente seletiva, considerando a área eletroquimicamente ativa na qual a marca estava aplicada, produzindo uma situação de contraste entre o polímero e as cristas necessário à visualização e interpretação forense da impressão digital. Dessa forma, o crescimento do PPy se deu uniformemente em toda a superfície metálica disponível à reação, preenchendo todos os vales entre as cristas de resíduo das impressões digitais, e o tempo da reação foi suficiente para impedir que o filme polimérico promovesse a sobreposição da impressão digital.

As Figuras 30 e 31 apresentam resultados representativos pelo método GST, com cronopotenciogramas e suas respectivas impressões digitais de 24 horas e 7 dias reveladas por deposição galvanostática de filmes de PPy, aplicando-se uma densidade de corrente constante de $1,25 \text{ mA cm}^{-2}$ por 60 s. Observa-se que em ambas as curvas pode-se constatar um *loop* de nucleação no instante inicial do processo de polimerização, ou seja, um aumento abrupto no valor do potencial, chegando a cerca de 1,05 V, atribuído à oxidação dos monômeros de Py e formação dos cátions radicais. Em seguida, o potencial decresce rapidamente a um limiar de potencial de aproximadamente 0,75 V, ou seja, o potencial necessário para o crescimento da cadeia polimérica por meio do acoplamento dos dímeros, trímeros, etc. Constata-se também

que os experimentos foram desenvolvidos em uma única etapa de eletropolimerização de 60 s, e que as curvas exibem *loops* de nucleação instantâneos, com duração inferior a 1 s e potencial máximo não ultrapassando 1,05 V.

Figura 30 - Cronopotenciograma (E vs. Ag/AgCl (KCl sat.)) e impressão digital de 24 horas revelada por eletrodeposição de PPy com $j = 1,25 \text{ mA cm}^{-2}$ por 60 s. Detalhe: *loop* de nucleação (5 s iniciais).

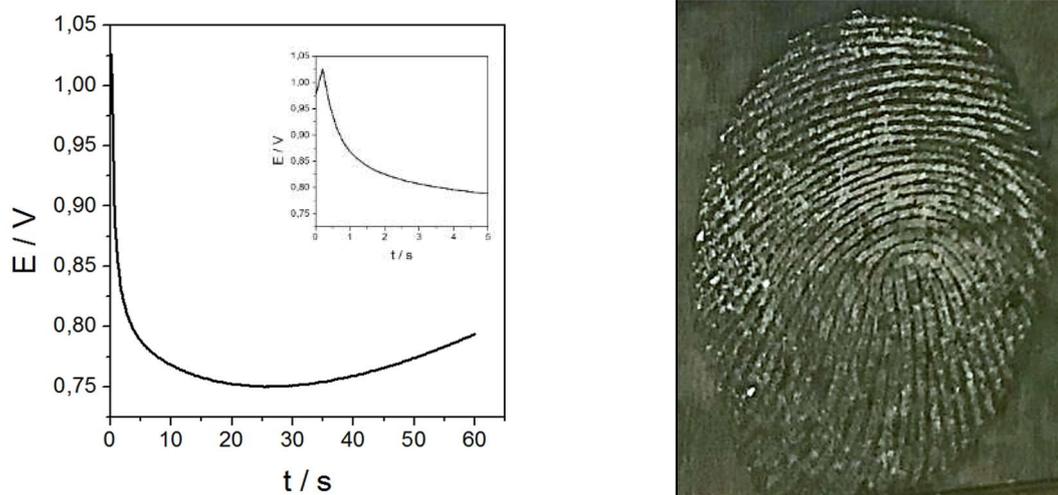
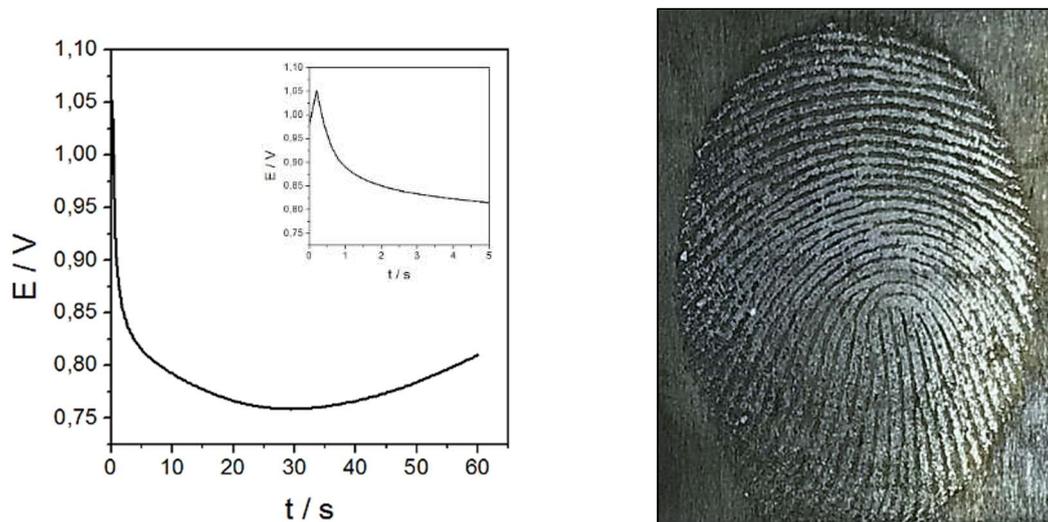


Figura 31 - Cronopotenciograma (E vs. Ag/AgCl (KCl sat.)) e impressão digital de 7 dias revelada por eletrodeposição de PPy com $j = 1,25 \text{ mA cm}^{-2}$ por 60 s. Detalhe: *loop* de nucleação (5 s iniciais).



O aspecto similar entre as curvas dos diferentes experimentos mostrados nas figuras acima foi observado em todas as impressões digitais reveladas pelo método GST com $j = 1,25 \text{ mA cm}^{-2}$ por 60 s. Dessa forma, mesmo frente às variações relacionadas à composição das impressões digitais atribuídas à diversos fatores fisiológicos e ambientais (CADD *et al.*, 2015; GIROD *et al.*, 2012), a similaridade das curvas mostra que a metodologia de revelação proposta com o método GST é reprodutível.

4.2.2 Revelação eletroquímica em estojos de munição

Baseado nos resultados obtidos em superfície de aço inoxidável e nos resultados de Sapstead *et al.* (2013, 2015) para o PPy, e atentando para condições analíticas potencialmente danosas à impressão digital e seus constituintes, diferentes parâmetros foram testados para revelação de impressões digitais em estojos de munição (latão) pela eletrodeposição de PPy.

Tendo em vista a natureza da superfície metálica do eletrodo de trabalho e os baixos potenciais de oxidação do Cu e Zn componentes da liga de latão, não foi possível executar um processo de revelação por eletrodeposição satisfatório sob densidade de corrente constante, tendo sido testadas 20 repetições de amostra. Para a superfície de latão, manter o potencial constante e foi imprescindível para que o experimento atingisse o nível de j necessários à eletropolimerização do Py, como será melhor discutido adiante.

Como visto, o potencial aplicado e o tempo de experimento podem influenciar na espessura dos filmes de PPy. Logo, através do método PST, diferentes combinações de potencial ($0,70 \leq E \leq 1,00$ V *vs.* Ag/AgCl (KCl sat.)) e tempo ($50 \leq t \leq 160$ s) foram testadas para revelação de 40 impressões digitais de 24 horas e 7 dias pela eletrodeposição de PPy, utilizando-se a mesma solução de trabalho (Py $0,01$ mol L⁻¹ e LiClO₄ mol L⁻¹).

Com $E = 0,70$ V não houve eletropolimerização o processo foi insuficiente para visualização da impressão digital, provavelmente porque a energia fornecida ao processo não foi suficiente para vencer a barreira de ativação. Acima de $0,80$ V, o potencial aplicado promoveu eletrodeposição, porém com filmes de PPy mais espessos e associados ao processo de oxidação da superfície de latão, o que tornou inviável a visualização da impressão digital por contraste. Nos experimentos à potencial constante, a duração do processo (t) foi definida com base no acompanhamento visual do processo de eletrodeposição, interrompendo-se o experimento quando o analista identificava que a espessura do filme polimérico proporcionava boas condições de revelação.

Pelo método PST, os melhores resultados em estojos de munição foram observados com $E = 0,75$ V *vs.* Ag/AgCl (KCl sat.) e $t = 90$ s. As Figuras 32 e 33 apresentam resultados de revelação de impressões digitais de 24 horas e 7 dias e os seus respectivos cronoamperogramas obtidos durante a eletrodeposição potenciostática dos filmes de PPy em estojos de munição ($E = 0,75$ V *vs.* Ag/AgCl (KCl sat.)).

Figura 32 - Cronoamperograma e impressão digital de 24 horas revelada por eletrodeposição de PPy com $E = 0,75$ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.) por 90 s. Detalhe: 5 s iniciais.

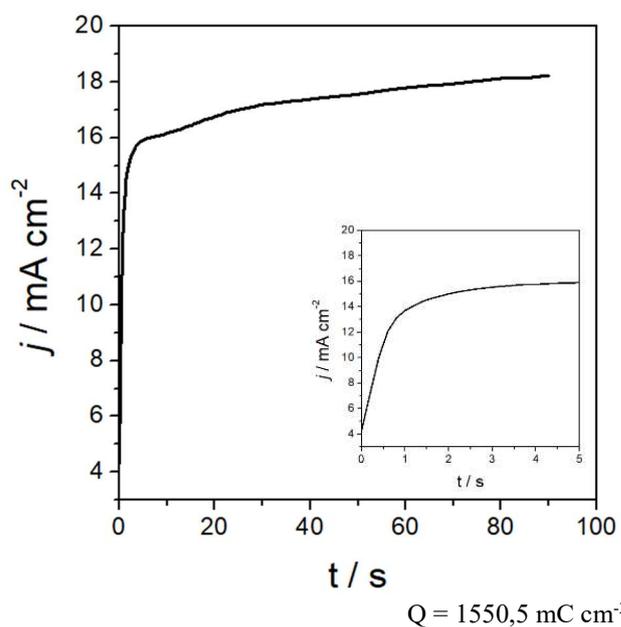
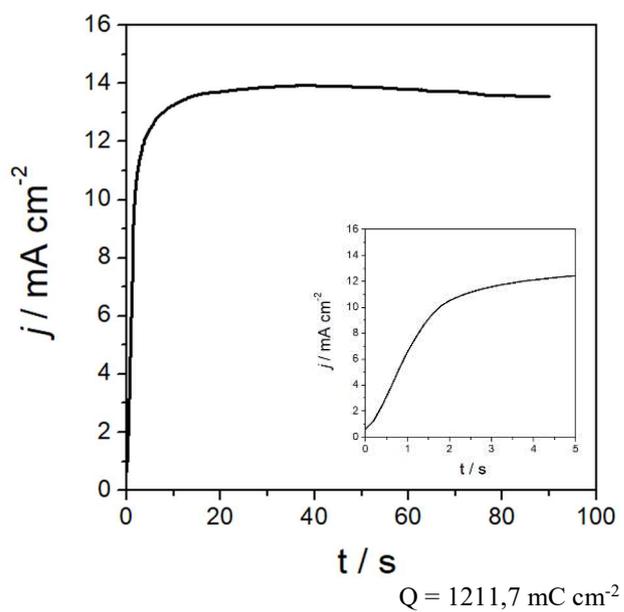


Figura 33 - Cronoamperograma e impressão digital de 7 dias revelada por eletrodeposição de PPy com $E = 0,75$ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.) por 90 s. Detalhe: 5 s iniciais.



Nos experimentos à potencial constante, foram observados que os valores máximos de densidade de corrente (j) ficaram entre 10,0 e 20,0 mA cm⁻², como apontam os exemplos das Figuras 32 e 33. Diante dos limiares de oxidação da molécula de DNA, o sucesso da revelação sob potencial constante de 0,75 V vs. Ag/AgCl (KCl sat.) mostra-se vantajoso para recuperação de material genético a partir de impressões digitais reveladas em estojos de munição. Em ambos os cronoamperogramas, as curvas apresentam um aumento abrupto da densidade de corrente logo nos primeiros instantes da eletropolimerização, seguido de um “platô”. Esse comportamento muito provavelmente está relacionado aos processos de nucleação e crescimento do filme polimérico, combinados com a participação ativa da liga de latão no processo eletroquímico, tendo em vista o seu baixo potencial de oxidação. Todas as 60 impressões digitais reveladas em estojos de munição pelo método PST nas condições de melhores resultados apresentaram curvas de aspecto bastante semelhante e o mesmo comportamento, o que remete à reprodutibilidade do método de revelação.

Em relação à carga de deposição (Q), observou-se um valor médio de 892,8 mC cm⁻² para os estojos de munição, ou seja, cerca de 10 vezes maior do que média dos valores de Q obtidos na revelação de impressões digitais em aço inoxidável pelo método PST, corroborando os resultados de Costa (2020) e Costa *et al.* (2020b) para a revelação de impressões digitais com PEDOT. No caso do aço inoxidável, toda a carga aferida corresponde à eletropolimerização, tendo em vista se tratar de uma liga metálica com comportamento inerte no processo eletroquímico proposto. Nas eletropolimerizações em latão, a carga de deposição calculada se refere à oxidação dos monômeros de Py e também à dissolução oxidativa da liga de latão (75% Cu; 25% Zn). Portanto, o valor de Q calculado para cada experimento é resultante de diferentes processos eletroquímicos associados.

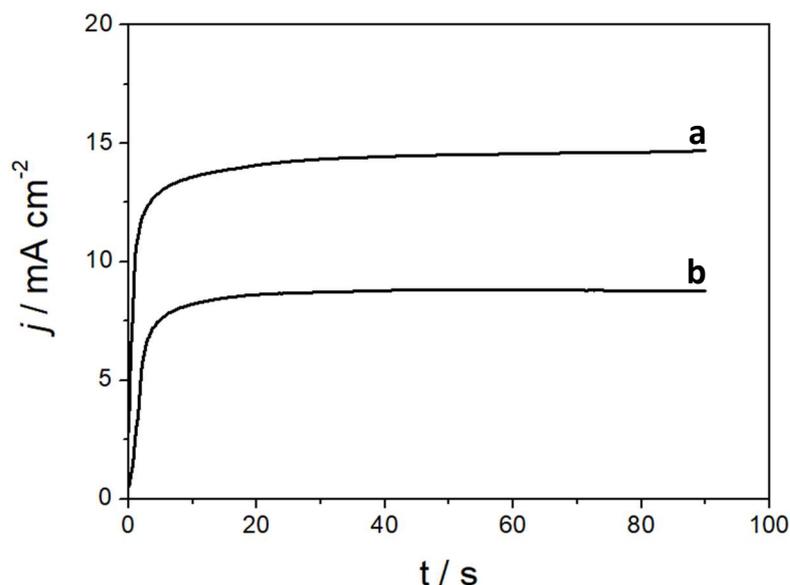
Reforçando a hipótese de que o latão participou ativamente no processo eletroquímico, principalmente pela cessão de elétrons por parte do Cu, foi verificada durante o processo eletroquímico a geração de Cu(OH)₂ na forma de um precipitado gelatinoso de coloração azul na superfície do estojo de munição e na solução de trabalho (Py 0,01 mol L⁻¹ e LiClO₄ 0,1 mol L⁻¹), conforme ilustra a Figura 34. Esse achado corrobora com os resultados de outros estudos sobre a revelação de impressões digitais pela eletrodeposição de polímeros condutores em latão que empregaram o PEDOT (COSTA, 2020; COSTA *et al.*, 2020b) e a polianilina (BERESFORD, 2013). Nesse contexto, cabe investigar o impacto do processo eletroquímico em estojos de latão na recuperação de DNA de impressões digitais reveladas.

Figura 34 - Precipitado de $\text{Cu}(\text{OH})_2$ em estojo de munição.

O controle da eletrodeposição dos filmes de PPy é realizado por meio do acompanhamento dos processos de nucleação e crescimento inerentes à deposição do polímero. Entretanto, em se tratando de eletrodos de trabalho compostos por metais facilmente oxidáveis, como é o caso dos estojos de munição em latão, o controle do processo torna-se mais difícil e complexo. Dessa forma, o entendimento dos diferentes comportamentos das ligas de aço inoxidável e de latão frente ao processo eletroquímico proposto foi fundamental para a otimização do método de revelação de impressões digitais. Nesse contexto, tendo em vista que a larga utilização de estojos de latão na fabricação de munições e diante dos resultados aqui obtidos, é imprescindível se aprofundar na investigação desse tema, visando o aprimoramento da técnica.

A Figura 35 apresenta dois cronoamperogramas representativos de impressões digitais de 24 horas (a) e 7 dias (b), com $Q = 1275,2 \text{ mC cm}^{-2}$ e $Q = 763,8 \text{ mC cm}^{-2}$ respectivamente, obtidos pelo método PST ($E = 0,75 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.)}$; $t = 90 \text{ s}$). Analisando as curvas, constatam-se valores mais elevados de j para a impressão digital de 24 horas (a) em relação à marca de 7 dias (b), o que pode ser atribuído aos processos de desidratação e degradação dos componentes químicos da impressão digital ocasionados pelo tempo, levando à formação de uma camada de resíduo mais compacta e com maior potencial isolante, reduzindo assim a superfície metálica disponível ao processo eletroquímico.

Figura 35 - Cronoamperogramas de impressões digitais de 24 horas (a) e 7 dias (b) obtidos pelo método PST ($E = 0,75$ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.)).



Mesmo diante das particularidades da liga de latão frente ao processo eletroquímico, os resultados demonstraram que houve eletrodeposição de PPy sobre a superfície metálica capaz de produzir o contraste necessário à revelação de impressões digitais latentes tanto recentes quanto envelhecidas, à exemplo dos resultados de revelação em aço inoxidável. Em ambos os casos, a revelação eletroquímica foi possível especialmente porque a capacidade isolante do resíduo da impressão digital não foi anulada em virtude do lapso temporal.

4.2.3 Qualidade dos datilogramas

A Tabela 5 apresenta uma correlação entre o potencial (E), a massa estimada de polímero depositado (Γ) e a correspondente avaliação pela escala de Bandey (nota de 0 a 4) referente às 20 impressões digitais relevadas pelo método PST em placas de aço inoxidável. Analisando os dados, inicialmente observa-se uma considerável variabilidade entre os parâmetros comparados. Das 20 impressões digitais relevadas, 8 (40%) foram avaliadas com notas 3 e 4 na escala de Bandey, ou seja, apresentaram acima de 1/3 dos detalhes das cristas e padrões identificáveis. As demais impressões digitais (60%) não foram reveladas ou apresentaram revelação com características insuficientes para identificação forense.

Tabela 5 - Correlação entre o potencial (E), a massa estimada de polímero depositado (Γ) e a avaliação pela escala de Bandey (0 - 4) referente ao método PST em placas de aço inoxidável.

Nota (0 - 4)	E (V)	Γ (mg cm ⁻²)	Nota (0 - 4)	E (V)	Γ (mg cm ⁻²)
4	0,75	0,0676	2	0,70	0,0398
4	0,85	0,0339	2	0,70	0,0575
3	0,75	0,0630	2	0,75	0,0360
3	0,75	0,0632	2	0,75	0,0634
3	0,75	0,0570	2	0,85	0,0568
3	0,85	0,0647	2	0,75	0,0558
3	0,85	0,0580	2	0,75	0,0498
3	0,75	0,0612	2	0,75	0,0520
2	0,90	0,0641	1	0,70	0,1077
2	0,75	0,0832	1	0,80	0,1112

Além dos valores de potencial, também foi verificada uma considerável variação do tempo de experimento dentre os melhores resultados ($60 \leq t \leq 130$ s). Sobre a estimativa de massa de PPy, os melhores resultados apresentaram em média $0,0586 \text{ mg cm}^{-2}$. Dessa forma, com base nos resultados apresentados, o método PST mostrou um aproveitamento de 40% tanto para impressões digitais de 24 horas (recentes) quanto para 7 dias (envelhecidas), mas não foi possível fixar uma condição experimental mais eficiente à revelação, dada a variação observada em relação aos parâmetros potencial e tempo.

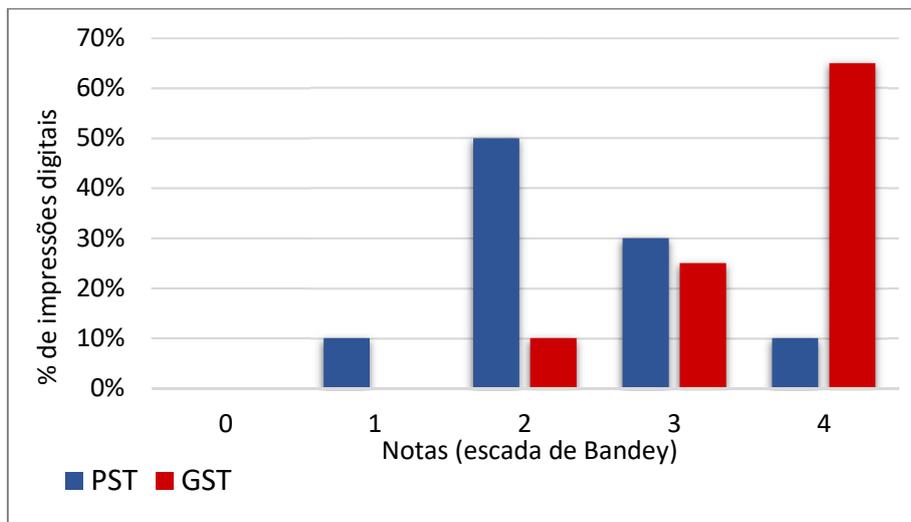
Considerando os resultados obtidos com os métodos PST e GST em superfícies de aço inoxidável, a Tabela 6 apresenta uma correlação entre as notas da avaliação pela escala de Bandey e o número de impressões digitais reveladas em aço inoxidável segundo cada método eletroquímico empregado (PST ou GST).

Tabela 6 - Correlação entre notas (0 - 4) e o número de impressões digitais reveladas em aço inoxidável segundo o método eletroquímico.

Notas (escala de Bandey)		0	1	2	3	4
Método eletroquímico	PST (n = 20)	0	2	10	6	2
	GST (n = 40)	0	0	4	10	26

Com base nos dados da tabela acima, o gráfico da Figura 36 mostra a correlação entre o percentual de impressões digitais reveladas em aço inoxidável, segundo cada método eletroquímico empregado (PST ou GST), e as respectivas notas da avaliação pela escala de Bandey (0 - 4).

Figura 36 - Gráfico da correlação entre notas (0 - 4) e o percentual de impressões digitais reveladas em aço inoxidável segundo o método eletroquímico.



Considerando os resultados das impressões digitais em placas de aço inoxidável reveladas pelo método GST, 90% apresentaram notas 3 e 4 na escala de Bandey, com revelações fortes ou muito fortes, com detalhes das cristas e impressões digitais completamente identificáveis, o que reforça a reprodutibilidade da metodologia aplicada. Em contraponto, Através do método PST, também foram obtidas revelações de boa qualidade e interpretáveis para fins forenses, porém com um aproveitamento menor (40%).

Em ambos os métodos (PST e GST) e nas condições experimentais apresentadas, todos os processos de eletrodeposição formaram filmes de PPy insolúveis na solução de trabalho, que se desenvolveram sobre a superfície metálica de forma aderente e uniforme, apresentando-se quimicamente estáveis à oxidação atmosférica. Tais características podem ser consideradas uma grande vantagem para a eletropolimerização de PPy aplicada à revelação eletroquímica de impressões digitais.

Considerando o total de impressões digitais em aço inoxidável submetidas à revelação eletroquímica ($n = 60$), apenas em dois casos não foi possível a visualização da marca (nota 1). Em nenhum caso foi atribuída nota 0 (zero) à revelação, ou seja, em todos os casos os sinais de contato foram evidenciados pelo método. Em 47 impressões digitais de um total de 60, foi possível visualizar mais de 1/3 dos detalhes das cristas (revelações classificadas como fortes ou muito fortes), o que corresponde a 78% das impressões digitais analisadas com notas 3 e 4 na escala de Bandey. Esses resultados reforçam, portanto, o caráter promissor da técnica proposta.

Em relação ao tempo de experimento, pelo método GST em apenas 60 s foi possível obter um aproveitamento de 90% na revelação de 40 impressões digitais em aço inoxidável. Portanto, a metodologia de revelação com o método GST se mostrou mais vantajosa frente ao método PST, onde $t > 60$ s para os melhores resultados, assim como em relação à pesquisa de Sapstead *et al.* (2013), que obteve sucesso com o método PST com $t = 3000$ s. Levando-se em consideração a composição química do resíduo e a possibilidade de recuperação de DNA da impressão digital após a revelação, acredita-se que quanto menor o tempo do procedimento de revelação, menores serão os danos decorrentes da exposição dos componentes da impressão digital à oxidação, especialmente em condições experimentais com patamares de E acima dos limiares de oxidação das bases nitrogenadas do DNA, por exemplo. Pesquisas mais aprofundadas acerca desse tema podem reforçar essa hipótese.

A Figura 37 apresenta resultados representativos de impressões digitais de 24 horas e 7 dias em aço inoxidável, reveladas pelo método GST ($j = 1,25 \text{ mA cm}^{-2}$; $t = 60 \text{ s}$), e suas respectivas notas de avaliação pela escala de Bandey.

Figura 37 - Resultados representativos de impressões digitais reveladas após 24 horas e 7 dias em aço inoxidável e suas respectivas avaliações pela escala de Bandey.



Os resultados da figura anterior demonstram que, a exemplo do método PST, foi possível revelar pelo método GST impressões digitais recentes (24 horas) e envelhecidas (7 dias), porém com resultados ligeiramente melhores para amostras de 7 dias, conforme avaliação pela escala de Bandey, especialmente quanto ao contraste visual entre a impressão digital e o filme polimérico. Com o passar do tempo, a matriz de componentes graxos da impressão digital se torna mais compacta, seja por desidratação ou degradação química dos seus componentes, resultando em uma camada cada vez menos susceptível à passagem de corrente elétrica e, conseqüentemente, com maior potencial isolante (CADD *et al.*, 2015; CROXTON *et al.*, 2010). Portanto, a variação da composição química do resíduo ao longo do tempo corrobora com os resultados para impressões digitais de 7 dias.

Os resultados mostrados na Figura 37 ainda comprovam que o processo de revelação pelo método GST resultou em filmes de PPy uniformes, aderentes à superfície de aço inoxidável e insolúveis no meio, que são características físicas adequadas à revelação eletroquímica. Ao contrário do que foi observado com o método PST, não foram constatadas irregularidades no processo de nucleação nas impressões digitais reveladas em aço inoxidável pelo método GST.

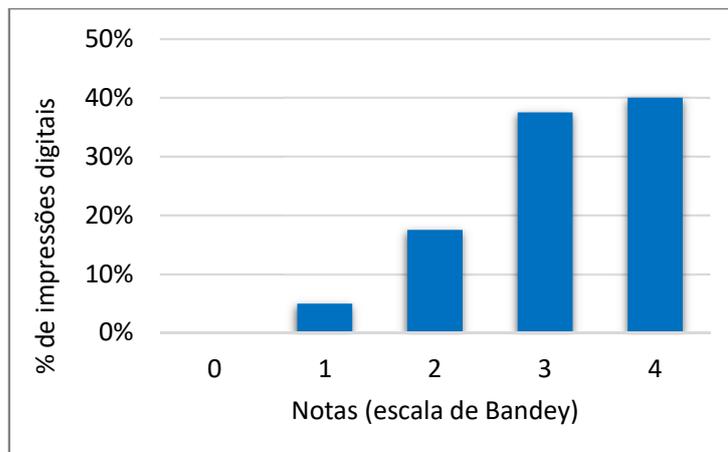
Como já apresentado, os melhores resultados em estojos de munição pelo método PST foram observados com $E = 0,75 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.)}$ e $t = 90 \text{ s}$. A Tabela 7 apresenta uma correlação entre o número de impressões digitais reveladas nessas condições e as notas referentes à avaliação pela escala de Bandey.

Tabela 7 - Correlação entre notas (0 - 4) e o número de impressões digitais reveladas em estojos de munição pelo método PST.

Notas (escala de Bandey)	0	1	2	3	4
Método eletroquímico PST (n = 40)	0	2	7	15	16

Com base nos dados da tabela acima, o gráfico da Figura 38 mostra a correlação entre o percentual de impressões digitais reveladas em estojos de munição (n = 60), segundo o método PST, e as notas da avaliação pela escala de Bandey (0 - 4). O gráfico mostra que, através do método PST, 78% das imagens reveladas em estojos de munição resultou em datilogramas com mais de 1/3 do desenho das cristas e impressões digitais aptas à identificação forense, mesmo considerando o formato cilíndrico da superfície, o que por si só já dificulta a visualização e fotografia de impressões digitais em estojos de munição.

Figura 38 - Gráfico da correlação entre notas (0 - 4) e o percentual de impressões digitais reveladas em estojos de munição segundo o método PST.



A Figura 39 apresenta resultados representativos de impressões digitais de 24 horas e 7 dias em estojos de munição, reveladas pelo método PST ($E = 0,75 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ (KCl sat.); $t = 90 \text{ s}$), e suas respectivas notas de avaliação pela escala de Bandey.

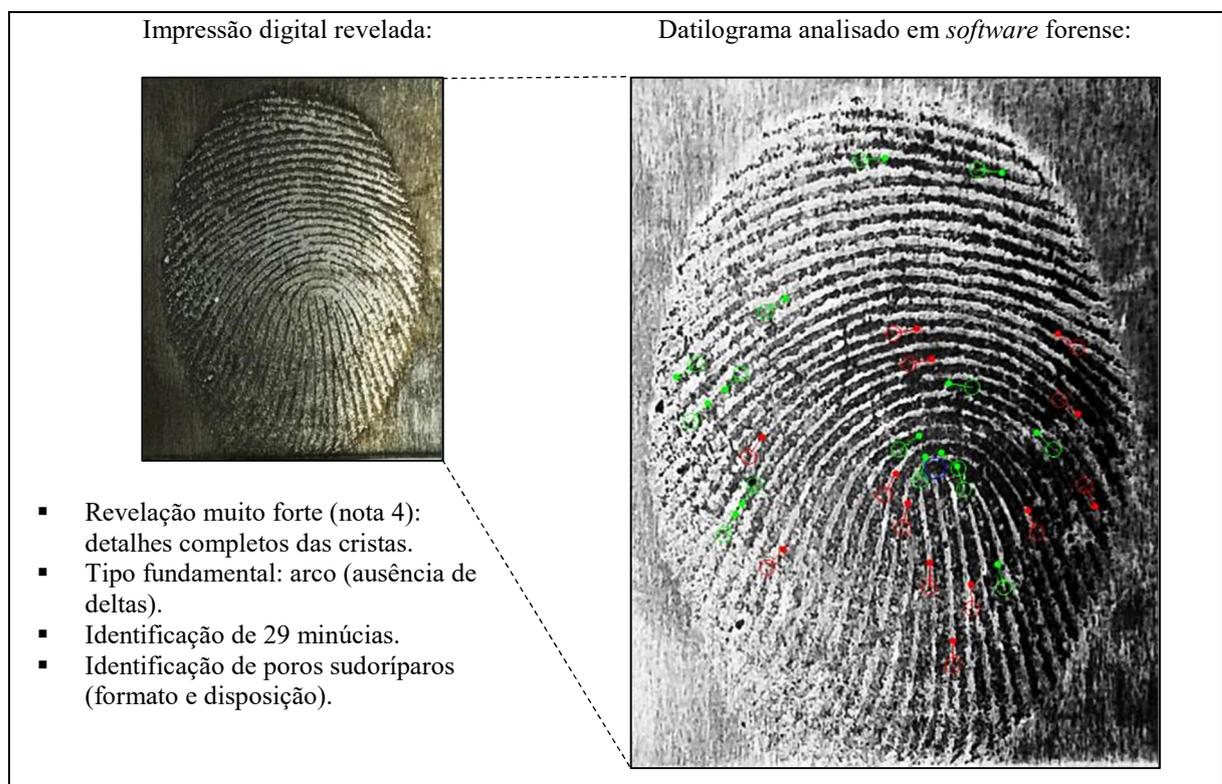
Figura 39 - Resultados representativos de impressões digitais reveladas após 24 horas e 7 dias em estojos de munição e suas respectivas avaliações pela escala de Bandey.



Os resultados da Figura 39 demonstram, a exemplo dos resultados em aço inoxidável, que foi possível revelar impressões digitais recentes (24 horas) e envelhecidas (7 dias) em estojos de munição. As revelações em estojos de munição também se deram por experimentos de etapa única, gerando imagens de boa qualidade. Como se pode observar nas imagens a seguir, o processo eletroquímico resultou em filmes de PPy uniformes, aderentes à superfície metálica (latão) e insolúveis no meio, que são características físicas adequadas à finalidade do processo de revelação.

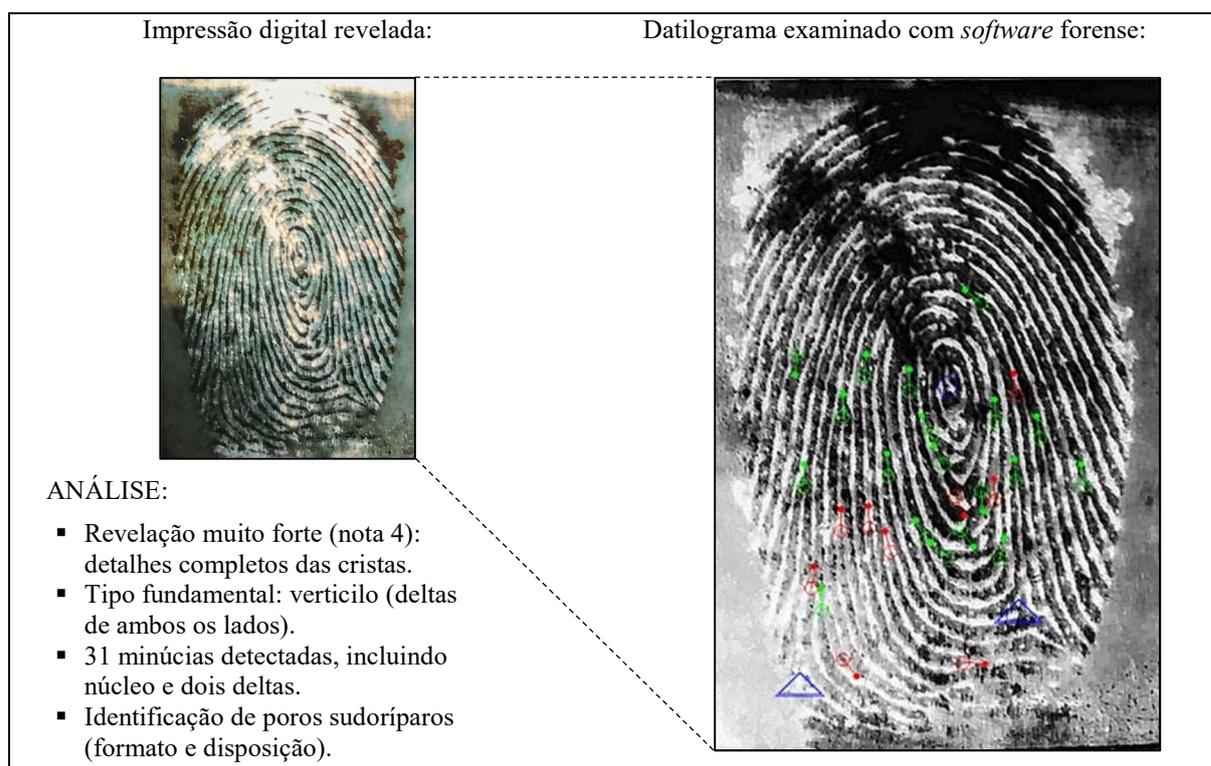
Todas as impressões digitais reveladas foram submetidas a avaliação da qualidade dos datilogramas. Resultados representativos da análise com o programa Griaule Forensic Fingerprint 2011 de impressões digitais reveladas após 24 horas e 7 dias em superfície de aço inoxidável, pelos métodos GST e PST, são mostradas nas Figuras 40 e 41. Cada figura apresenta a fotografia da impressão digital revelada com o filme de PPy, a imagem do datilograma examinado com o *software* forense seguida de avaliação especializada segundo o protocolo proposto por Champod *et al.* (2004).

Figura 40 - Análise de datilograma de impressão digital de 24 horas revelada pelo método GST em aço inoxidável.



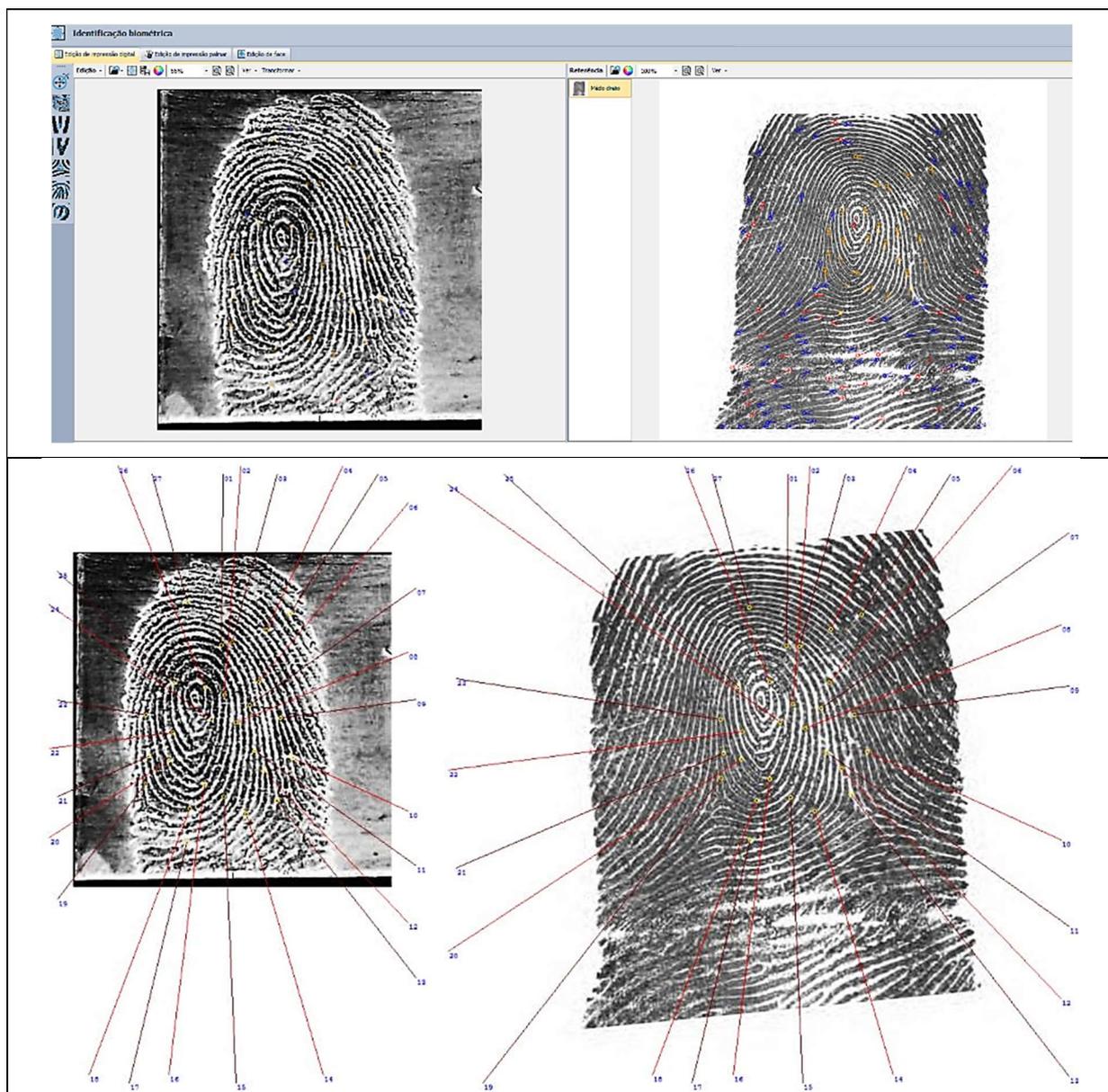
Legenda:

Vermelho = ponta de linha; Verde = bifurcação; Círculo azul = núcleo; Triângulo azul = delta.

Figura 41 - Análise de datilograma de impressão digital de 7 dias revelada pelo método PST em aço inoxidável.

Quanto aos resultados apresentados nas Figuras 40 e 41, cabe destacar que a avaliação por um especialista da busca automatizada de minúcias é fundamental e imprescindível ao processo, visto que se trata de uma ferramenta de busca de padrões em imagens, sendo influenciada diretamente pela qualidade da fotografia obtida a partir da revelação. Nesse sentido, o olhar e a expertise do analista fazem toda a diferença para a qualidade e confiabilidade dos resultados.

As etapas da análise e exame de comparação papiloscópica desenvolvidas na plataforma ABIS estão apresentadas na Figura 42. As imagens da esquerda mostram um datilograma resultante da revelação de uma impressão digital de 7 dias pelo método GST em aço inoxidável, e à direita são mostradas imagens da impressão digital correspondente após busca em base de dados. Nesse caso, foi possível evidenciar detalhes de nível 1 e 2, com a identificação do tipo fundamental (verticilo) e de 27 minúcias papiloscópicas, permitindo estabelecer uma comparação tecnicamente segura e indubitável quanto à identificação forense, como se pode constatar na imagem inferior, que exibe a comparação das impressões digital a ser utilizada no laudo pericial. Nesse caso, a análise comparativa resultou em um *match* simples, sem restar nenhuma dúvida com outros indivíduos cadastrados na base de dados.

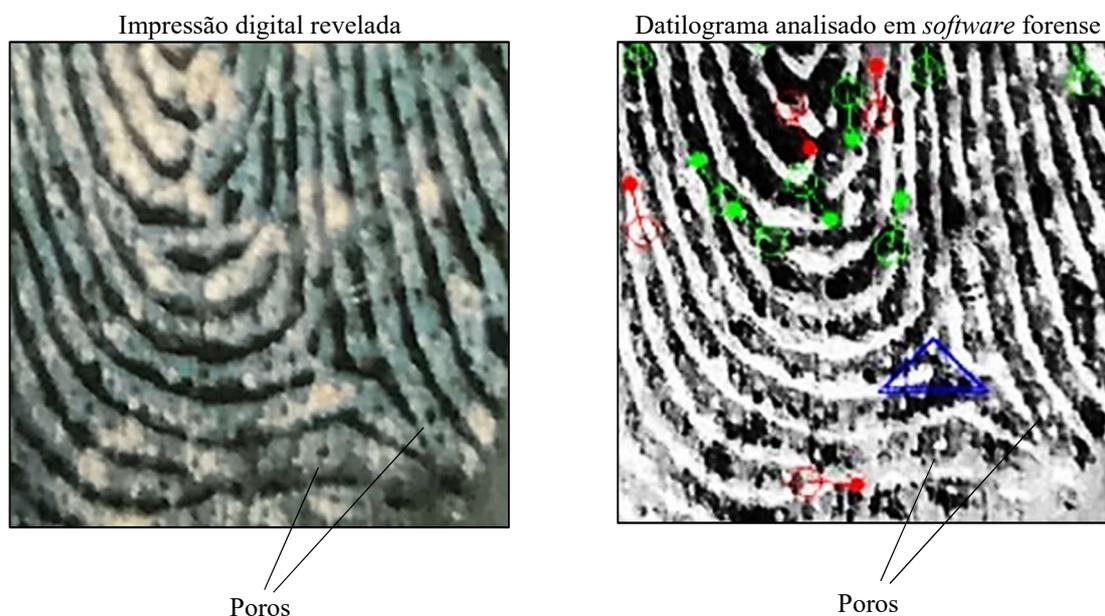
Figura 42 - Análise e comparação de impressões digitais para laudo pericial através da plataforma ABIS.

Os resultados apresentados nas Figuras 40 a 42 foram analisados através dos *softwares* forenses com subsequente avaliação de especialistas, considerando o protocolo de 3 níveis proposto por Champod *et al.* (2004). Foi possível identificar o fluxo das linhas dos datilogramas e classificar o tipo fundamental de cada impressão digital analisada (arco, presilha interna, presilha externa ou verticilo, a depender da presença e posição dos deltas). A análise também evidenciou detalhes de nível 2, ou seja, minúcias papiloscópicas em quantidade e qualidade suficientes para uma identificação forense segura e inequívoca por meio da forma e da posição relativa dos pontos característicos. Ainda foi possível identificar um grande número de poros sudoríparos, que são exemplos de detalhes de nível 3. Os poros são identificados como

pontos ao longo das cristas, onde a ausência de contato com o substrato permitiu a deposição do polímero.

No processo de identificação biométrica, a determinação de detalhes de nível 2 e 3 é um procedimento imprescindível para o reconhecimento e a classificação de impressões digitais, proporcionando a segurança técnica necessária ao procedimento. A Figura 43 apresenta em detalhe ampliado uma impressão digital em aço inoxidável revelada pelo método PST e seu respectivo datilograma analisado por *software* forense, onde estão identificados detalhes de nível 2: delta (azul), bifurcações (verde) e fins de linha (vermelho); além de diversos poros sudoríparos, que caracterizam uma riqueza de detalhes de nível 3.

Figura 43 - Detalhe ampliado de impressões digitais em aço inoxidável revelada por eletrodeposição de PPy (à esquerda) e o respectivo datilograma analisado, mostrando detalhes de nível 2 e 3.

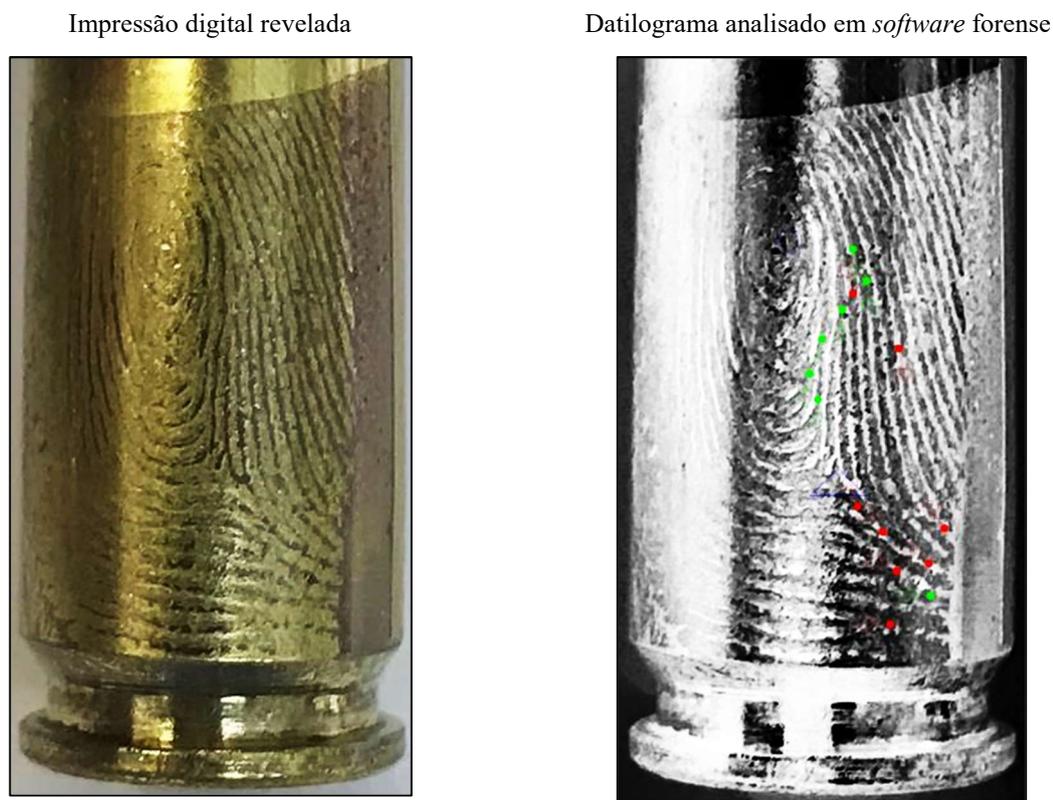


Legenda:

Vermelho = ponta de linha; Verde = bifurcação; Círculo azul = núcleo; Triângulo azul = delta.

As figuras a seguir mostram as análises de datilogramas obtidos a partir da revelação de impressões digitais de 24 horas (Figura 44) e de 7 dias (Figura 45) em estojos de munição pelo método PST. Observa-se nesses resultados, imagens reveladas de boa qualidade, apresentando detalhes de nível 1, com a determinação do tipo fundamental (verticilo), assim como características de nível 2, com a identificação de 17 minúcias papiloscópicas, conforme sinalizado na imagem da direita.

Figura 44 - Análise de datilograma de impressão digital de 24 horas dias revelada pelo método PST em estojo de munição.



Legenda:

Vermelho = ponta de linha; Verde = bifurcação; Círculo azul = núcleo; Triângulo azul = delta.

Na Figura 45, à esquerda é apresentada uma visão geral do estojo examinado, com destaque à região submetida à revelação. O datilograma analisado encontra-se ampliado à direita, com uma revelação classificada como muito forte (nota 4 na escala de Bandey), exibindo um fluxo nítido de linhas e 19 minúcias papiloscópicas (detalhes de nível 2). Não foram evidenciados deltas, o que sugere se tratar de um arco como tipo fundamental (detalhe de nível 1). Diante disso, conclui-se que a avaliação credencia a impressão digital à identificação forense.

Constata-se, portanto, que foi possível avaliar a qualidade dos resultados em impressões digitais recentes e antigas, reveladas por diferentes métodos (PST e GST) em diferentes substratos (aço e latão). É importante observar que, embora não sejam vestígios reais de cenas de crime, trata-se de um considerável conjunto de repetições de impressões digitais de diferentes doadores e apresentaram o nível de qualidade necessário à identificação forense. Esses resultados ampliam as perspectivas sobre a aplicação de polímeros condutores para a revelação de impressões digitais, além de encorajar novas pesquisas, especialmente incluindo vestígios simulados com características muito próximas àquelas coletadas em cenas de crime.

Figura 45 - Análise de datilograma de impressão digital de 7 dias revelada pelo método PST em estojo de munição.



Legenda:

Vermelho = ponta de linha; Verde = bifurcação; Círculo azul = núcleo; Triângulo azul = delta.

Os datilogramas analisados se mostram plenamente aptos ao exame de confronto papiloscópico entre uma impressão digital questionada, coletada de uma cena de crime, e a impressão digital de um suspeito, ou através de bancos de dados. O exame acontece por meio da análise das coincidências entre as características individualizadoras de cada marca, incluindo a nitidez da imagem, a presença de núcleo e/ou delta(s) na parte decifrável, a determinação do tipo fundamental e sua raridade, a presença de poros, a identificação da largura das cristas e dos sulcos, a direção das linhas, assim como a presença e localização das minúcias papiloscópicas e o valor angular das bifurcações.

Observa-se ainda que foi possível analisar com sucesso datilogramas resultantes de impressões digitais reveladas de diferentes superfícies e métodos eletroquímicos, assim como marcas recentes (24 horas) e antigas (7 dias). Portanto, as análises dos datilogramas robustecem os dados apresentados sobre a eficiência da técnica de revelação de impressões digitais latentes através da eletrodeposição de PPy, não restando dúvidas acerca do seu caráter promissor para fins forenses.

4.2.4 Caracterização das superfícies reveladas

Com o intuito de confirmar o princípio da revelação eletroquímica de impressões digitais pela eletrodeposição especialmente seletiva do PPy, as marcas reveladas em aço inoxidável e em estojos de munição que foram classificadas com nota 4 na escala de Bandey foram submetidas à caracterização por microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura (MEV) com detector de energia dispersiva de raios-X acoplado (EDS - *Energy Dispersive x-ray Spectrometer*). As imagens capturadas foram examinadas também seguindo o protocolo de Champod *et al.* (2004), constatando-se detalhes nítidos de nível 1 e 2, como núcleo, delta, bifurcações, fins de linha, e ainda características de nível 3, especialmente a identificação e posição relativa de poros sudoríparos, conforme ilustram as figuras a seguir.

As Figuras 46 e 47 mostram imagens representativas de impressões digitais de 24 horas e 7 dias, em superfícies de aço inoxidável, reveladas por eletrodeposição de PPy pelo método PST ($E = 0,75 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.)}$; $t = 60 \text{ s}$) e pelo método GST ($j = 1,25 \text{ mA cm}^{-2}$; $t = 60 \text{ s}$), inspecionadas sob microscopia óptica (30x), onde estão sinalizadas características individualizadoras de nível 2 e 3. Nas imagens, as regiões mais claras correspondem à própria impressão digital, ou seja, ao resíduo lipídico composto pela mistura complexa de substâncias secretadas pelas glândulas da pele. As regiões mais escuras correspondem ao PPy eletrodepositado na superfície metálica descoberta entre as cristas de resíduo da impressão digital.

Figura 46 - Impressões digitais de 24 horas e 7 dias em aço inoxidável reveladas pelo método PST e analisadas sob microscopia óptica.

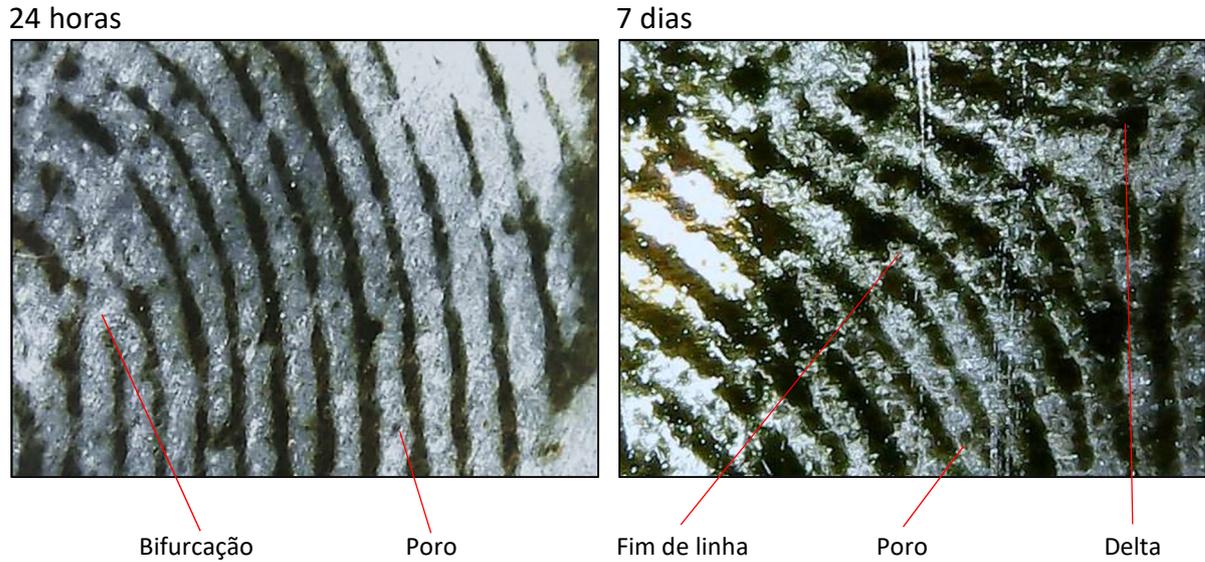
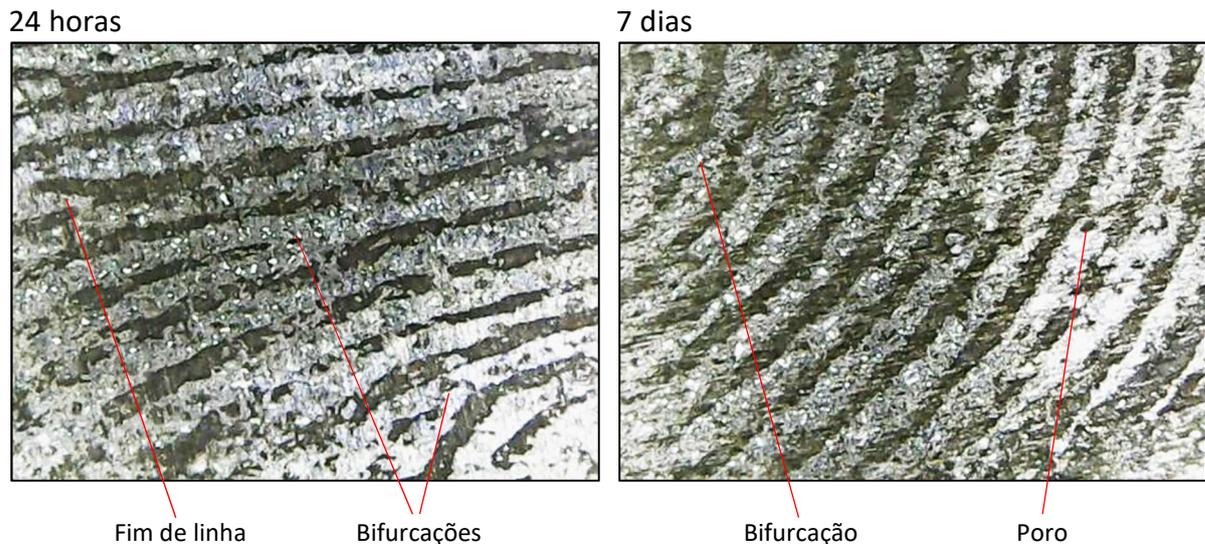


Figura 47 - Impressões digitais de 24 horas e 7 dias em aço inoxidável reveladas pelo método GST e analisadas sob microscopia óptica.



Imagens capturadas por MEV de impressões digitais reveladas pelos métodos PST e GST são mostradas nas Figuras 48 e 49, respectivamente. As imagens 48A e 49A (ampliações de 82x e 176x, respectivamente), as regiões mais escuras correspondem a superfície metálica (aço), enquanto que o filme de PPy é representado pelas áreas mais claras. As distâncias D1 e D3 sinalizadas nas imagens correspondem à largura da crista de resíduo das impressões digitais reveladas ($D1 = 268,31 \mu\text{m}$ e $D3 = 201,59 \mu\text{m}$). Já as distâncias D2 e D4 correspondem a largura do filme de PPy ($D2 = 210,02 \mu\text{m}$ e $D4 = 265,81 \mu\text{m}$). A interface entre a crista de resíduo da impressão digital e o filme de PPy apresenta-se destacada (tracejado) nas imagens 48B e 49B,

com ampliações de 1130x e 1290x, respectivamente. Na imagem 46A, pode-se observar a região central de um delta, e os círculos tracejados sinalizam alguns poros sudoríparos (características de nível 3).

Figura 48 - Impressão digital de 7 dias em aço inoxidável revelada pelo método PST e analisada por MEV, onde: na imagem 48A (ampliação 82x) estão sinalizados poros (círculos amarelos) e as distâncias D1 (268,31 μm) e D2 (210,02 μm), impressão digital e PPy respectivamente; e na imagem 48B (ampliação 1130x) está sinalizada a interface (tracejado) entre o filme PPy e o resíduo da impressão digital.

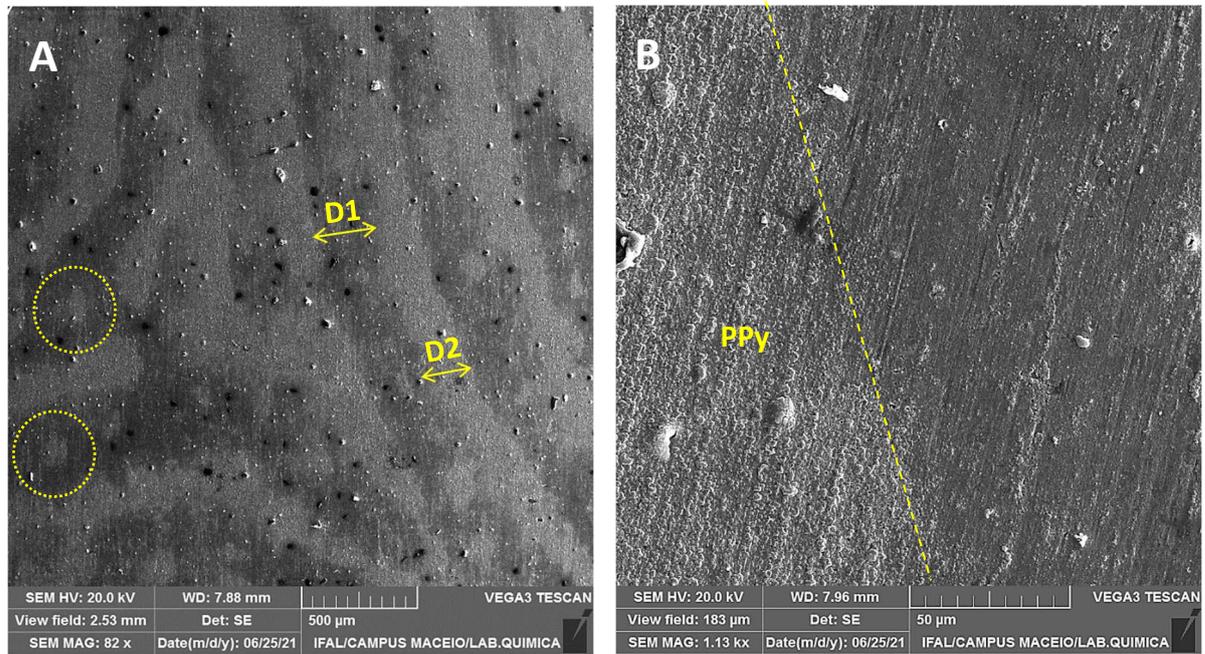
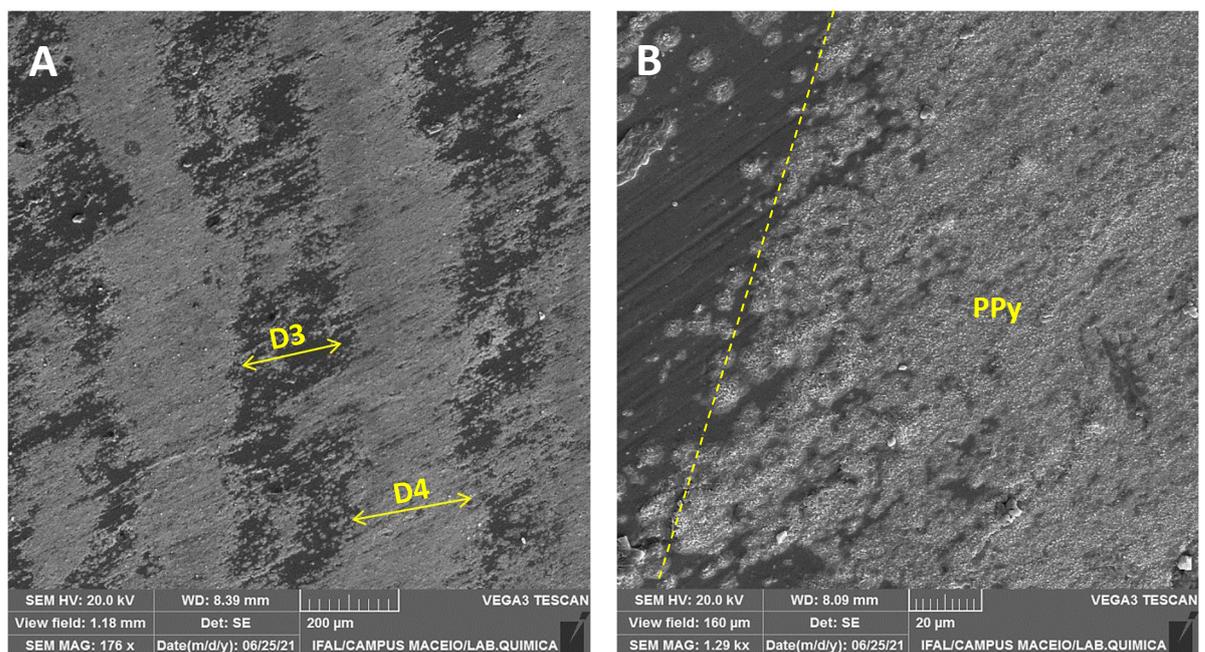
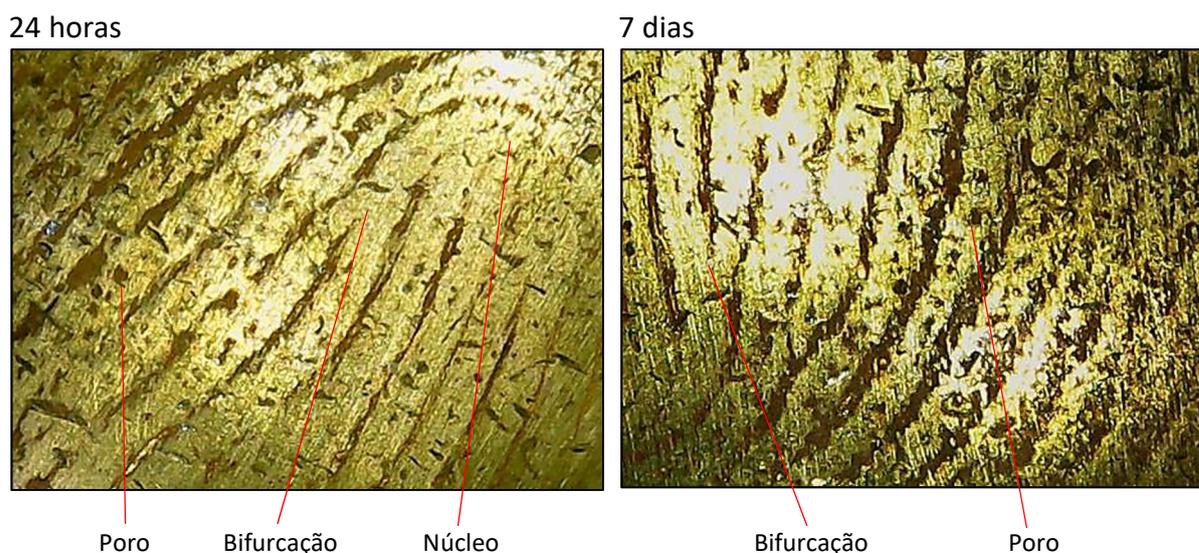


Figura 49 - Impressão digital de 7 dias em aço inoxidável revelada pelo método GST e analisada por MEV, onde: na imagem 49A (ampliação 176x) estão sinalizadas as distâncias D3 (201,59 μm) e D4 (265,81 μm), impressão digital e PPy respectivamente; e na imagem 48B (ampliação 1290x) está sinalizada a interface (tracejado) entre o filme PPy e o resíduo da impressão digital.



A Figura 50 apresenta imagens representativas de impressões digitais de 24 horas e 7 dias, em superfícies de estojos de latão, reveladas por eletrodeposição de PPy pelo método PST ($E = 0,75 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.)}$; $t = 90 \text{ s}$), capturadas por microscopia óptica (30x). Nesse caso, a impressão digital corresponde às regiões mais claras (dourado), enquanto que o PPy corresponde às regiões mais escuras. Detalhes de nível 2 e 3 seguem indicados.

Figura 50 - Impressões digitais de 24 horas e 7 dias em estojos de munição reveladas pelo método PST e analisadas sob microscopia óptica, com indicação de detalhes de nível 2 e 3.

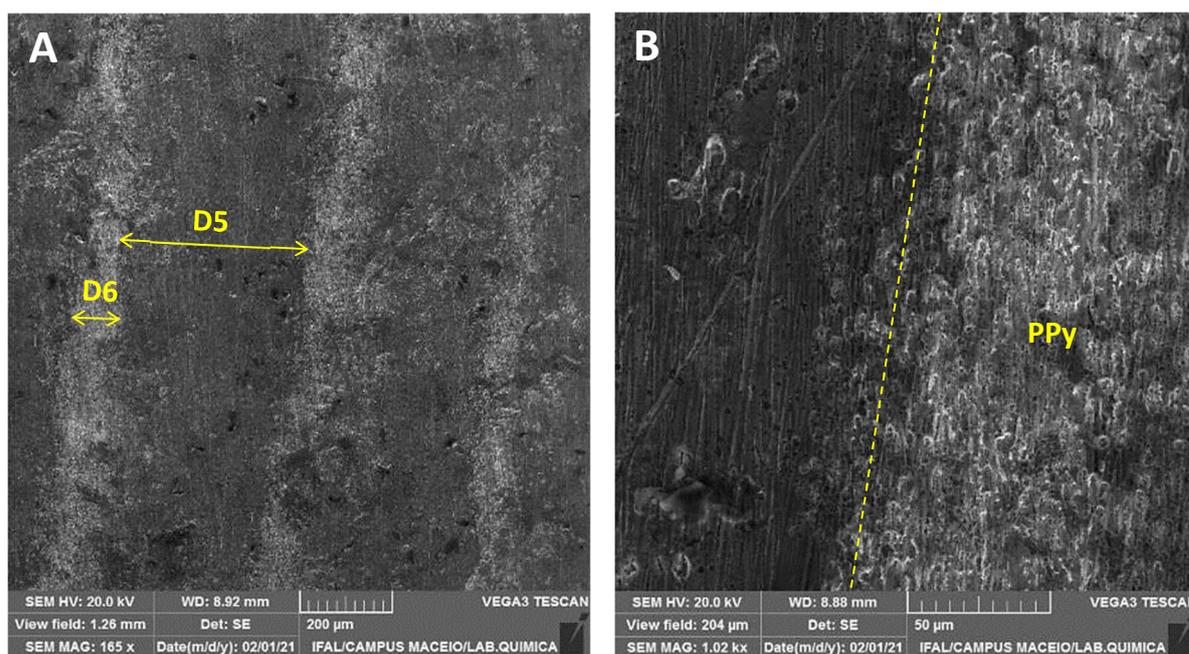


A Figura 51 traz imagens capturadas por MEV de impressões digitais reveladas pelo método PST em superfície de estojos de munição. Na imagem 51A (ampliação: 165 x), as regiões mais escuras correspondem à superfície metálica (latão), enquanto que o filme de PPy é representado pelas áreas mais claras. As distâncias D5 e D6 correspondem, respectivamente, à largura da crista de resíduo da impressão digital ($D5 = 404,73 \mu\text{m}$) e a largura do filme de PPy ($D6 = 132,73 \mu\text{m}$). Na imagem 51B (ampliação: 1020 x), apresenta-se destacada a interface (tracejado) entre a crista de resíduo da impressão digital e o filme de PPy.

Os filmes de PPy eletrodepositados apresentaram superfícies com morfologia granular uniforme típica, porém na superfície de latão as formas se confundem à oxidação da liga, o que reforça a necessidade de estudos adicionais específicos nessa linha. No caso do aço inoxidável, os filmes sintetizados pelo método GST se mostraram mais compactos e com espessura aparentemente regular em toda a superfície, enquanto que aqueles depositados pelo método PST apresentaram superfície ligeiramente mais irregular, provavelmente devido à maior incidência de crescimento 3D. As análises microscópicas não evidenciaram defeitos

microestruturais significativos nos filmes de PPy, o que remete a boas propriedades mecânicas e elétricas dos mesmos (CHOUGULE *et al.*, 2011; PATOIS *et al.*, 2011; ZHENG *et al.*, 2012).

Figura 51 - Impressão digital em estojo de munição revelada pelo método PST analisada por MEV, onde: na imagem 51A (ampliação 165x) estão sinalizadas as distâncias D5 (404,73 μm) e D6 (132,73 μm), impressão digital e PPy respectivamente; e na imagem 51B (ampliação 1020x) está sinalizada a interface (tracejada) entre o filme PPy e o resíduo da impressão digital.



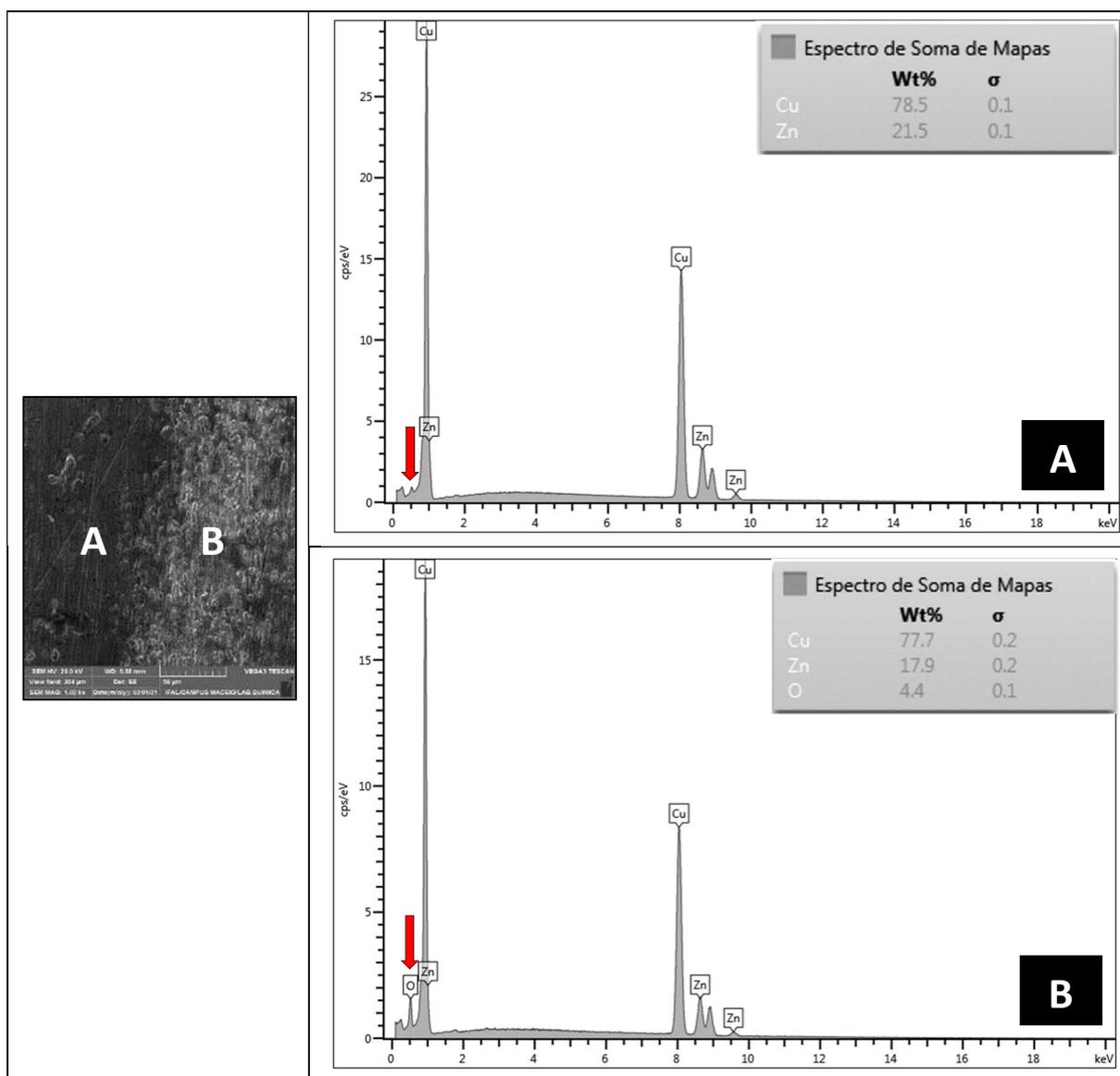
Tendo em vista que o eletrólito influencia na morfologia do filme polimérico, foi possível observar que os filmes de PPy preparados usando LiClO_4 como eletrólito em meio aquoso se mostraram apropriados para a revelação eletroquímica de impressões digitais, mesmo diante das diferenças evidenciadas entre os diferentes métodos e superfícies.

No caso dos filmes eletrodepositados em estojos de munição em latão, associado ao típico aspecto do PPy, foi possível observar sinais de deterioração da liga metálica por oxidação ocasionados pelo processo eletroquímico, o que comprova os achados experimentais constatados durante o processo de eletrodeposição, como a precipitação de $\text{Cu}(\text{OH})_2$ na superfície do estojo.

A Figura 52 apresenta análises de EDS realizadas em estojo de munição com impressão digital revelada pelo método PST. O espectro A correspondente à região do resíduo da impressão digital, e o espectro B ao filme de PPy, conforme sinalizado na imagem de MEV à direita (ampliação de 1020x). O sinal mais expressivo de oxigênio (seta) no espectro B, correspondente à região do filme polimérico, sugere um processo de oxidação mais intenso

nessa região da superfície, possivelmente ocasionado pela participação ativa da liga de latão no processo eletroquímico. Esse resultado corrobora com os achados de Costa (2020), que observou a formação de uma camada de coloração castanha provavelmente referente a óxidos de cobre depositados simultaneamente com o filme PEDOT aplicado na revelação eletroquímica de impressões digitais.

Figura 52 - Espectros de EDS em impressão digital revelada em estojo de munição correspondentes à região da impressão digital (A) e ao filme de PPy (B). As setas vermelhas correspondem ao sinal do oxigênio.



As análises de EDS são utilizadas para microanálise qualitativa de elementos químicos presentes na amostra, através do deslocamento e ionização de elétrons das camadas mais internas dos átomos, que emitem raios X característicos ao voltarem para o estado fundamental. Os raios X, nesse caso, não estão necessariamente relacionados à quantidade, e

sim a energia correspondente à cada elemento (TESCAN, 2014). Dessa forma, os resultados de análises pontuais em determinadas regiões da superfície podem fornecer informações valiosas para subsidiar análises mais detalhadas por meio de técnicas qualitativas e quantitativas confirmatórias. Esses achados seguem sendo investigados pelo nosso grupo de pesquisa.

Os resultados das análises com microscopia óptica e MEV-EDS corroboraram os achados de pesquisas anteriores que tratam da revelação de impressões digitais pela eletrodeposição de polímeros condutores, especialmente os trabalhos de Beresford & Hillman (2010) para a polianilina, Sapstead *et al.* (2013, 2015) para o PPy, e Costa *et al.* (2020b) para o PEDOT. De acordo com o conceito inicialmente previsto, o polímero foi eletrodepositado apenas nas regiões onde a superfície metálica estava exposta, ou seja, onde o metal não estava encoberto pelo resíduo graxo isolante da impressão digital. As imagens também confirmaram que os processos de eletrodeposição com formação de filmes de PPy insolúveis na solução de trabalho, que se desenvolveram sobre a superfície metálica de forma aderente e uniforme.

Dessa forma, constatou-se que o resíduo isolante de apenas alguns nanômetros de espessura (BERESFORD; HILLMAN, 2010) que compõe as cristas da impressão digital foi suficiente para bloquear a transferência de elétrons na superfície metálica sob o mesmo. Sendo assim, o filme de PPy foi eletrodepositado nas regiões da superfície metálica livres do resíduo graxo em todas as impressões digitais reveladas, promovendo o contraste necessário à revelação da impressão digital recentes e antigas, considerando as diferentes superfícies testadas e métodos eletroquímicos.

4.2.5 Conclusões parciais sobre a revelação eletroquímica

Os resultados demonstraram que foi possível empregar a eletrodeposição de PPy na revelação de impressões digitais recentes (24 horas) e envelhecidas (7 dias), tanto em superfícies de aço inoxidável quanto em estojos de munição com superfície em latão.

Através dos métodos PST e GST, sob baixos valores de potencial (E) e com consideráveis taxas de aproveitamento, o emprego das metodologias de eletrodeposição propostas mostrou ser possível sintetizar filmes de PPy de forma aderente e uniforme sobre a superfície metálica. Tais características são consideradas uma vantagem para a eletropolimerização de PPy aplicada à revelação eletroquímica de impressões digitais.

A estabilidade química dos filmes de PPy frente à oxidação atmosférica foi outro ponto positivo para a revelação com polímeros condutores. Impressões digitais reveladas por eletrodeposição no início deste estudo permaneceram custodiadas por mais de 3 anos em condições ambiente, mantendo preservadas as mesmas características físicas (visuais) apresentadas inicialmente. Dessa forma, mesmo com o passar do tempo, as impressões digitais reveladas com PPy puderam ser utilizadas para fins de identificação forense.

Através da caracterização morfológica das impressões digitais reveladas eletroquimicamente, foi possível verificar que o resíduo isolante que compõe a impressão digital foi suficiente para bloquear a transferência de elétrons na superfície metálica adjacente ao mesmo. Dessa forma, considerando as diferentes variáveis testadas, a metodologia apresentada cumpriu o objetivo de visualizar por contraste duas regiões espacialmente segregadas na impressão digital revelada: as cristas (resíduo isolante) e os espaços intermediários (superfície metálica exposta à eletrodeposição e encoberta pelo filme de PPy).

Levando-se em conta a prática pericial, embora a revelação de impressões digitais em superfícies porosas úmidas seja rotineiramente realizada sem grandes dificuldades, relativamente poucas técnicas convencionais podem ser aplicadas em superfícies não porosas úmidas (CUCÈ *et al.*, 2004; ZHANG; GIRAUULT, 2009). Tendo em vista que a eletrodeposição de PPy depende de um meio aquoso no presente método, trabalhar com amostras úmidas ou molhadas não seria um problema, considerando as intempéries às quais uma cena de crime pode estar sujeita. O emprego do meio aquoso ainda contribui para a baixa toxicidade do método proposto.

A curta duração da revelação eletroquímica (60 a 90 s) também se apresenta como vantagem da eletropolimerização de PPy, uma vez que outras técnicas eletroquímicas requerem mais tempo de revelação (1 h a 5 dias), a até mesmo em relação às técnicas convencionais como o cianoacrilato, com tempo de revelação não inferior à 30 min (CHRISTOFIDIS; MORRISSEY; BIRKETT, 2018; YAMASHITA; FRENCH, 2012). O reduzido tempo de reação acarreta menor exposição da impressão digital e seus componentes às condições experimentais que possam levar a sua degradação, tanto do ponto de vista das substâncias que compõem o depósito impressão digital, como também quanto ao eventual material biológico que será alvo de exames genéticos.

Pelos métodos PST e GST em superfícies de aço inoxidável e latão, foi possível revelar impressões digitais em uma única etapa, ou seja, em uma única reação de eletropolimerização por um curto período de tempo. Trata-se de uma vantagem frente a métodos

comerciais, como o cianoacrilato, por exemplo, que na maioria das vezes depende do emprego de uma série de corantes (como Ardrex P133D, Rodamina 6G, Safranin O, dentre outros), que são adicionados em etapas subsequentes à polimerização, prologando o tempo necessário à revelação e expondo a impressão digital a mais agentes químicos que podem levar a sua degradação (WARGACKI; LEWIS; DADMUN, 2008; YAMASHITA; FRENCH, 2012).

A eletrodeposição de PPy se mostrou mais vantajosa frente aos métodos convencionais de revelação, especialmente em relação aos pós convencionais a base de grafite e ao cianoacrilato, pelo fato de se apresentar eficiente na revelação de impressões digitais mais antigas 7 dias após a sua aplicação na superfície (BLEAY; CROXTON; DE PUIT, 2018; CHRISTOFIDIS; MORRISSEY; BIRKETT, 2018; WARGACKI; LEWIS; DADMUN, 2008). A desidratação da impressão digital, associada à degradação dos seus componentes químicos, tornam os métodos comerciais menos eficientes, visto a sua afinidade à água ou à componentes em solução. Em contrapartida, estes fenômenos acarretados pelo avançar do tempo nas impressões digitais mostraram-se vantajosos à eletrodeposição de PPy, pois tornaram a matriz de componentes da impressão digital mais compacta, aumentando sua capacidade isolante à corrente elétrica.

Seguindo as recomendações do ENFSI (2015) e do IFRG (2014), o programa experimental desse estudo incluiu impressões digitais com diferentes tempos entre a sua aplicação na superfície e a implementação do processo de revelação, mostrando-se eficiente perante impressões digitais recentes e antigas. Trata-se de um resultado vantajoso diante das restrições das técnicas convencionais sobre quando e onde cada método pode ser aplicado.

A metodologia proposta também emprega insumos de baixo custo. Sabe-se que, dentre os reveladores mais utilizados, os pós são os mais baratos, possuindo um ótimo custo benefício dadas suas funcionalidades. Entretanto, apresenta baixa eficiência em superfícies metálicas, com nitidez e contraste insuficientes à análise da imagem (BENTSEN *et al.*, 1996; MALDONADO, 2012; PRATT, 2012). O cianoacrilato, quando executado seguindo as recomendações técnicas, requer o emprego de câmaras de vaporização profissionais, cujo custo ultrapassa os 10 mil dólares.

Os pós reveladores e o cianoacrilato são potencialmente tóxicos, principalmente em função da sua intensa capacidade de se dissipar no meio. Por exemplo, vapores de cianoacrilato podem causar severos danos às vias aéreas do analista caso escapem de uma câmara mal vedada ou improvisada, o que infelizmente é a realidade em vários locais (FUNG *et al.*, 2011; LI *et al.*, 2013; SODHI & KAUR, 2001). A utilização do PPy na revelação de impressões digitais não

acarreta tais problemas, uma vez que o experimento é desenvolvido em um sistema eletroquímico de pequenas proporções, em meio aquoso e sem desprendimento de vapores. Estudos também mostram que o PPy apresenta baixa toxicidade, como, por exemplo, a pesquisa de WANG *et al.* (2004) sobre a avaliação *in vitro* e *in vivo* da biocompatibilidade do PPy com tecido nervoso, assim como a pesquisa de FERRAZ *et al.* (2012) que avalia a capacidade de novos compósitos de nanocelulose e o PPy como candidatos potenciais para membranas de extração de íons ativos em hemodiálise controlada eletroquimicamente.

Entretanto, algumas questões necessitam de mais investigações. O fato das dificuldades operacionais no que concerne à aplicação do método eletroquímico em grandes superfícies metálicas, como armas longas por exemplo, ou objetos metálicos fixos que não possam ser inseridos dentro do sistema eletroquímico proposto. Diante disso, nosso grupo de pesquisa, em parceria com outros pesquisadores, tem se debruçado em alternativas metodológicas para esta questão, que vão desde o aprimoramento dos sistemas eletroquímicos, incluindo a adaptação de eletrodos e outros instrumentos ao desenvolvimento de alternativas e materiais que tornem a aplicação do método mais abrangente.

Com base em resultados de estudos anteriores sobre a revelação de impressões digitais presentes em munições (CHRISTOFIDIS; MORRISSEY; BIRKETT, 2018; DOMINICK; LAING, 2011; GIRELLI *et al.*, 2015; POLLITT *et al.*, 2020; SULLIVAN, 2014), e através da avaliação dos resultados do presente estudo utilizando modelos controlados de impressões digitais aplicadas em diferentes superfícies metálicas, verifica-se a potencial possibilidade da aplicação da eletrodeposição de PPy para revelação de impressões digitais presentes em munições deflagradas e, principalmente, não deflagradas. Na prática pericial, seria o correspondente a examinar estojos de munições deflagradas coletados em uma cena de crime, ou analisar munições não deflagradas encontradas isoladamente, no interior do tambor de um revólver ou dentro de um carregador de pistola, metralhadora ou fuzil, por exemplo. Porém, é premente a necessidade de estudos adicionais com o intuito de validar a metodologia apresentada, efetuando os ajustes experimentais porventura necessários, para que a revelação eletroquímica possa ser incorporada na rotina forense com a todo o rigor técnico-científico que a produção de provas forenses requer.

Os percentuais de aproveitamento obtidos na revelação de impressões digitais pelo método GST em aço inoxidável (90%) e pelo método PST em estojos de munição (78%), mostraram-se compatíveis com a eficiência de revelação pela eletrodeposição de PEDOT em aço inoxidável e em estojos de munição proposta por Costa *et al.* (2020a, 2020b), e com os

resultados obtidos por Girelli *et al.* (2015) para revelação de impressões digitais em munições não deflagradas através de técnicas convencionais, especialmente quando se consideram as impressões digitais envelhecidas (7 dias), para as quais o método eletroquímico se mostrou mais vantajoso. Esta abordagem, portanto, permitiu a visualização de impressões digitais latentes recentes e antigas em diferentes substratos e com alta definição de detalhes, mostrando-se consistente e segura para a identificação forense de um indivíduo. Em muitos casos, foi possível constatar detalhes de nível 3, como a forma e a posição relativa dos poros.

Os bons resultados para revelação de impressões digitais através do emprego de métodos eletroquímicos com baixos valores de potencial, além de condições e insumos não danosos às estruturas biológicas, reforçam a necessidade de se avaliar os impactos do material (PPy) e do processo eletroquímico na recuperação de DNA de toque, com o objetivo de verificar a possibilidade de produzir duas provas forenses a partir de uma mesma marca.

Embora o mecanismo de eletropolimerização anódica de polímeros condutores, como o PPy, tenha sido amplamente bem investigado, ainda restam pontos não muito bem esclarecidos, especialmente no que diz respeito à relação entre as diferentes morfologias e as condições de eletropolimerização (solvente, eletrólito, potencial, densidade de corrente, etc.) (BIDAN, 2010). Sendo assim, embora os resultados desse estudo tenham se mostrado exitosos nas condições apresentadas, a eletropolimerização de PPy e de outros polímeros condutores aplicada na revelação de impressões digitais certamente segue como um campo ativo e promissor de pesquisas.

CAPÍTULO 5 | ANÁLISE GENÉTICA DE IMPRESSÕES DIGITAIS

5.1 Experimental

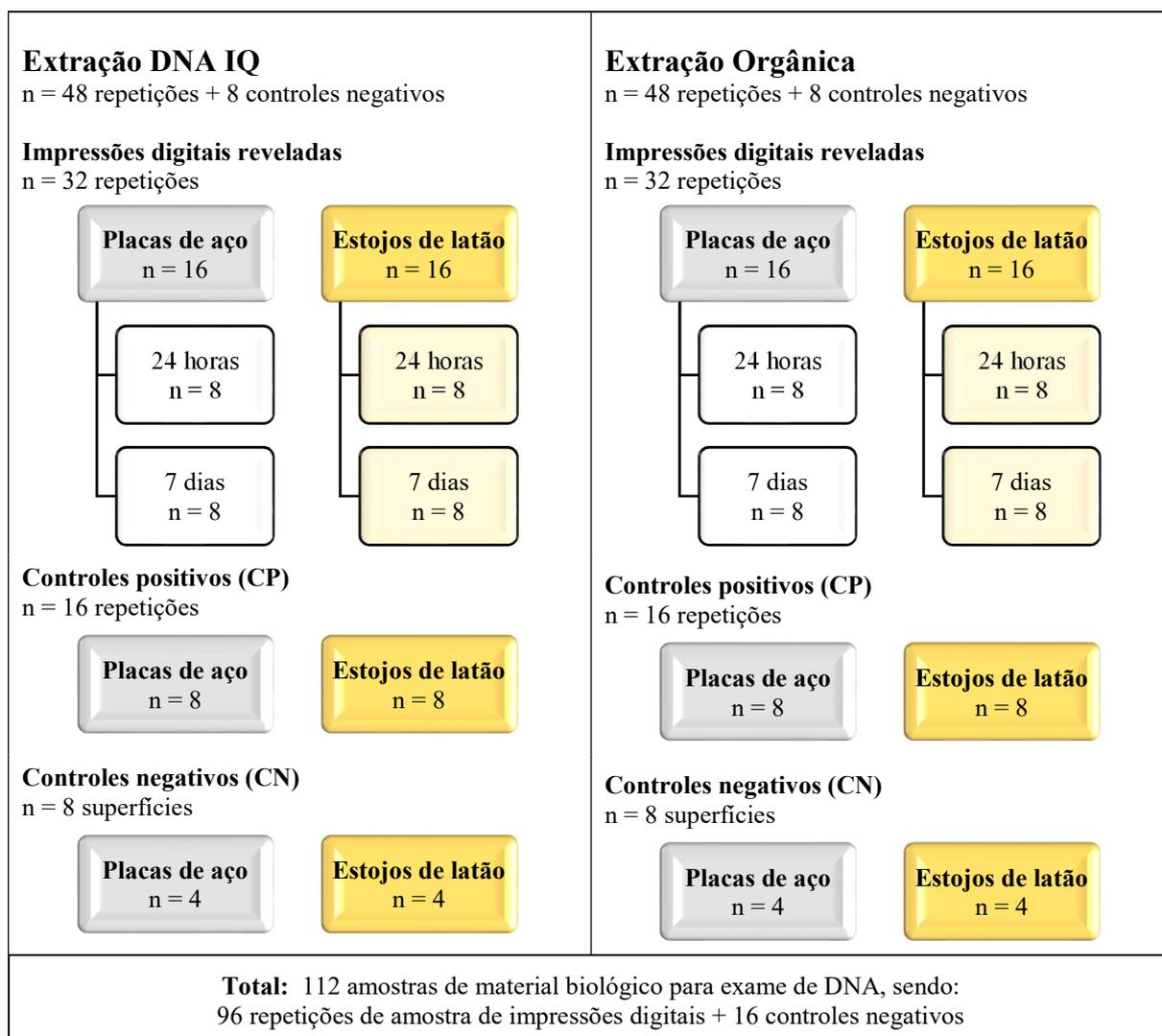
No total, 112 amostras foram submetidas a exames de DNA, originadas de 96 repetições de amostras de impressões digitais de dois doadores, e mais 16 controles negativos.

As amostras para exames genéticos foram divididas em dois conjuntos experimentais, com 56 amostras cada, conforme o método de extração, sendo consideradas as seguintes variáveis qualitativas: superfície (placas de aço inoxidável ou estojos de latão) e tempo (24 horas ou 7 dias). Dessa forma, cada conjunto experimental apresentou a seguinte composição:

- 32 impressões digitais reveladas por eletrodeposição de PPy levando-se em consideração a superfície e o tempo, sendo que nas placas de aço inoxidável a revelação foi realizada pelo método GST ($j = 1,25 \text{ mA cm}^{-2}$; $t = 60 \text{ s}$), e nos estojos de munição através do método PST ($E = 0,75 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.)}$; $t = 90 \text{ s}$);
- 16 controles positivos (CP): impressões digitais aplicadas em placas de aço e estojos de munição, porém não submetidas à revelação eletroquímica;
- 8 controles negativos (CN): superfícies sem impressão digital.

A Figura 53 apresenta os diagramas representativos dos dois conjuntos experimentais, agrupados conforme o método de extração, a superfície, o tempo e os controles.

A coleta do material biológico foi realizada em até 1 semana após a revelação e da mesma forma nas impressões digitais reveladas e nos controles (positivo e negativo), sendo utilizado em cada caso um suabe estéril umedecido com 30 μL de água ultrapura, esfregando-o cuidadosamente na superfície metálica, em movimentos contínuos e giratórios, de modo a varrer toda a área correspondente à marca, coletando todo o material biológico porventura presente na superfície (PANG; CHEUNG, 2007). Em seguida, cada suabe foi dissecado com o auxílio de um bisturi estéril e o algodão impregnado com o material coletado foi transferido para um tubo de extração devidamente identificado.

Figura 53 - Composição dos conjuntos experimentais das amostras submetidas à análise genética.

Um dos conjuntos experimentais foi submetido à extração de DNA com o *kit* DNA IQ™ System (Promega Corporation) por meio de uma plataforma automatizada Biomek NXP Beckman Coulter, seguindo o protocolo definido pelo fabricante (GREENSPOON; BAN, 2002; PROMEGA, 2016). Inicialmente, a cada tudo de extração com o suabe dissecado, foram adicionados 400 µL de solução de lise e 4 µL DTT, mergulhando todo o material na solução. A preparação foi incubada por 30 min sob agitação contínua (750 rpm) à 70 °C. Ao final os resíduos sólidos foram eliminados por centrifugação, e o líquido foi reservado e transferido para uma placa de extração de 96 poços, que foi encaixada na plataforma automatizada, seguindo-se com os registros no *software* que opera a mesma e a provisão dos insumos necessários à extração.

Para o outro conjunto experimental, foi empregada a extração de DNA pelo método orgânico, seguido de purificação com membrana concentradora Microcon™ 10, de acordo com o seguinte protocolo adaptado de Butler *et al.* (2005, 2010):

- 1) Ao tubo de extração contendo a amostra, adicionar a solução de extração: 500 μ L de SEB/TE + 20 μ L de DTT + 15 μ L de proteinase K, seguido de agitação *vortex* por 10 s;
- 2) Incubar a preparação em banho-maria a 56 °C por 2 h;
- 3) Retirar o algodão do tubo de extração e, através de uma cesta separadora, e remover todo o líquido impregnado centrifugando por 1 min a 13.000 rpm, retornando o líquido recuperado para o tubo de extração.
- 4) Adicionar 500 μ L de solução clorofane (fenol:clorofórmio:álcool isoamílico), na proporção 25:24:1 (v/v), seguido de agitação *vortex* por 10 s;
- 5) Centrifugar a preparação por 5 min a 12.000 rpm;
- 6) Repetir os passos 4 e 5, no caso da amostra não se apresentar visualmente límpida, colocando-se o sobrenadante em um novo tubo identificado;
- 7) Transferir cuidadosamente a fase aquosa (sobrenadante) para um tubo Microcon™, umedecendo -se previamente a membrana com 50 μ L de água ultrapura ou TE;
- 8) Centrifugar por 9 min a 12.000 rpm;
- 9) Repetir a centrifugação até que todo o líquido passe para o tubo coletor;
- 10) Descartar o líquido filtrado, adicionando-se 500 μ L de água ultrapura ao tubo Microcon™, centrifugando por 9 min a 12.000 rpm;
- 11) Repetir duas vezes a lavagem do passo 10;
- 12) Adicionar 30 μ L de água ultrapura para lavagem da membrana concentradora para ressuspensão do DNA;
- 13) Inverter o tudo Microcon™, centrifugando por 7 min a 7000 rpm para recuperação do DNA extraído e purificado.

Após a extração, todas as amostras foram submetidas à quantificação de DNA por PCR em tempo real (RT-PCR), utilizando-se o *kit* Quantifiler™ Trio da Applied Biosystems (Thermo Fisher Scientific) em equipamento ABI 7500 HID (Applied Biosystems), seguindo o protocolo estabelecido pelo fabricante (APPLIED BIOSYSTEMS, 2017), inclusive quanto ao preparo das curvas padrão por diluição seriada. O *kit* é composto por: Quantifiler™ THP *mix*

da reação de PCR, Quantifiler™ Trio *mix* de *primers*, Quantifiler™ THP tampão de diluição de DNA e Quantifiler™ THP DNA padrão. A Tabela 8 mostra os procedimentos de diluição referentes à preparação da curva padrão por diluição seriada para o *kit*.

Tabela 8 - Preparação da curva padrão por diluição seriada para quantificação de DNA.

Tubo	Concentração (ng/μL)	Diluições	Fator de diluição
1	50	10 μL (DNA padrão 100 ng/μL) + 10 μL tampão	2x
2	5	10 μL (tubo 1) + 90 μL tampão	10x
3	0,5	10 μL (tubo 2) + 90 μL tampão	10x
4	0,05	10 μL (tubo 3) + 90 μL tampão	10x
5	0,005	10 μL (tubo 4) + 90 μL tampão	10x

Fonte: APPLIED BIOSYSTEMS, 2017.

Foram utilizadas placas Applied Biosystems MicroAmp *Optical 96-well Reaction Plate*, com 96 poços de reação. Conforme boas práticas e as recomendações do fabricante, em cada placa foi utilizado pelo menos 1 reação de controle positivo de quantificação (usando DNA controle com concentração de 0,1 ng/μL) e 1 reação de controle negativo (denominada de *non-template control* ou NTC).

O preparo de cada reação se deu da seguinte forma: 10 μL de Quantifiler™ THP *mix* da reação de PCR, 8 μL de Quantifiler™ Trio *mix* de *primers* e 2 μL de cada amostra extraída, totalizando um volume de 20 μL por reação.

Para a análise dos resultados, foi utilizado o programa 7500 System SDS (versão 1.3.1) da Applied Biosystems. Foram observados os parâmetros analíticos conforme os requisitos do fabricante quanto ao perfeito funcionamento do ensaio. A qualidade da reação foi avaliada pelo coeficiente de correlação R^2 , pelo controle negativo (NTC) e pelo controle positivo de quantificação. O funcionamento dos componentes da reação e a presença de inibidores foram avaliados pelo ICP (controle interno de PCR) e pelo índice de degradação. O parâmetro da curva padrão *slope* também foi verificado como indicativo adicionais do funcionamento da reação de amplificação. Para o Quantifiler™ Trio, os parâmetros utilizados foram: $R^2 > 0,98$ e *slope* com intervalo aceitável de -2,9 a -3,3. Foram considerados como resultados da quantificação os valores obtidos para o alvo autossômico curto (APPLIED BIOSYSTEMS, 2017).

Os cálculos estatísticos dos resultados da quantificação foram realizados utilizando os programas Microsoft Excel 2019 e BioEstat versão 5.3* na aplicação do Teste t de Student para observações independentes, comparando médias de duas condições experimentais distintas, sendo considerado o nível de significância (α) de 5% ao teste, ou seja, estabelecendo um nível de confiança de 95% para os resultados. Em cada comparação, foi aplicado o teste F para verificar a hipótese de igualdade das variâncias referentes às duas condições experimentais (VIEIRA, 2018).

As amostras foram submetidas à amplificação por PCR utilizando o *kit* GlobalFiler™ PCR Amplification (Applied Biosystems), e termocicladores GeneAmp PCR System 9700 da Life Technologies, conforme o guia do usuário disponibilizado pelo fabricante. O preparo das reações de PCR para a amplificação foi realizado da seguinte forma: 7,5 μ L de GlobalFiler™ *Master Mix* + 2,5 μ L de GlobalFiler™ *Primer Set* + 15 μ L de amostra de DNA, totalizando um volume de reação de 25 μ L. Foram utilizadas placas Applied Biosystems *MicroAmp Optical 96-well Reaction Plate*, com 96 poços de reação (APPLIED BIOSYSTEMS, 2016).

A fim de certificar o funcionamento da reação, para cada placa de amplificação foram incluídas 2 reações de controle positivo (com DNA padrão em concentração de 0,1 ng/ μ L), e uma reação controle negativo (apenas com o diluente, ou seja, sem DNA), seguindo as recomendações do fabricante.

No termociclador, foram empregadas as seguintes condições de PCR para amplificação: incubação inicial de 96 °C por 1 min; 94 °C por 10 s (desnaturação) e 59 °C por 90 s (anelamento e extensão) em 29 ciclos; 60 °C por 10 min (extensão final); e 4 °C até a remoção dos tubos do aparelho.

Os produtos de amplificação foram submetidos à genotipagem de STRs autossômicos por eletroforese capilar em um analisador genético ABI 3500 (Applied Biosystems - Thermo Fisher Scientific), seguindo os seguintes parâmetros para a preparação das injeções: 9,6 μ L de formamida + 0,4 μ L de LIZ600v2 + 1,0 μ L de produto da PCR, com volume final da reação de 11 μ L, conforme manual do fabricante. Em todos os conjuntos de injeções foi utilizada pelo menos uma injeção da escada alélica GlobalFiler™ *Allelic Ladder* (APPLIED BIOSYSTEMS, 2016).

* Disponível em <https://www.mamiraua.org.br/downloads/programas/> (acesso em 12/05/2021).

Os eletroferogramas resultantes foram analisados através do programa GeneMapper ID-X (Applied Biosystems - Thermo Fisher), conforme parâmetros de análise apontados pela fabricante (APPLIED BIOSYSTEMS, 2009).

Com o objetivo de constatar uma possível ação interferente do PPy nos exames de DNA, foram sintetizadas 4 amostras de filmes de PPy na superfície de placas de aço inoxidável, medindo 3,5 x 2,0 cm e 0,9 mm de espessura. Os filmes foram eletrodepositados pelo método GST ($j = 1,25 \text{ mA cm}^{-2}$; $t = 60 \text{ s}$; $Q = 75,0 \text{ mC cm}^{-2}$), considerando a área eletroquimicamente ativa de 4 cm^2 , para cada filme. Dessa forma, com base na Equação 1, cada filme polimérico apresentou uma massa estimada de $\Gamma = 0,0521 \text{ mg cm}^{-2}$, ou seja, 0,2084 mg de PPy.

Os filmes poliméricos foram coletados por esfregação com suabe estéril umedecido, removendo todo o PPy até que a superfície da placa ficasse visualmente limpa. Cada suabe foi dissecado com bisturi estéril e transferido para um tubo de extração devidamente codificado, juntamente com um controle positivo de extração validado (10 μL de sangue humano). Como parâmetro comparativo e para garantir segurança aos resultados, o teste contou com quatro amostras controle, sendo: 2 controles positivos (amostras contendo apenas o controle positivo de extração), e 2 controles negativos (amostras sem DNA).

As amostras com PPy e os respectivos controles foram submetidos à extração automatizada com o *kit* DNA IQ™ System (Promega Corporation) em uma plataforma Biomek NXP Beckman Coulter, seguindo o protocolo definido pelo fabricante (PROMEGA, 2016). Em seguida, os produtos de extração foram quantificados por RT-PCR com o *kit* Quantifiler™ Trio, amplificação por PCR (29 ciclos) com o *kit* GlobalFiler™ PCR Amplification (Applied Biosystems), genotipagem por eletroforese capilar e análise dos eletroferogramas com o *software* GeneMapper™ ID-X (Applied Biosystems). Todas as etapas seguiram os manuais dos parâmetros de análise apontados pela fabricante (APPLIED BIOSYSTEMS, 2009, 2016, 2017).

Para fins de análise comparativa dos eletroferogramas, foram utilizados os perfis genéticos dos doadores das impressões digitais, mediante termo de consentimento livre e esclarecido, em conformidade com os padrões éticos e a legislação vigente.

5.2 Resultados e discussão

5.2.1 Verificação dos indicadores da quantificação de DNA

Como primeiro procedimento, foram verificados os indicadores analíticos para todos os ensaios de quantificação com o *kit* Quantifiler™ Trio, de acordo com os requisitos do fabricante, a fim de assegurar a confiabilidade dos resultados.

Através do *software* HID Real-Time PCR para o sistema de PCR 7500 Real-Time, os resultados de quantificação foram analisados e os parâmetros coeficiente de correlação (R^2) e *slope* para a curva padrão foram verificados de forma automatizada, gerando avisos aos analistas (APPLIED BIOSYSTEMS, 2016). Todos os ensaios atenderam aos requisitos do fabricante quanto às curvas padrão geradas, apresentando valores entre 0,995 e 0,999 para R^2 , que consiste na relação matemática entre as variáveis descritas na curva: concentração de DNA e valor de Ct (*cycle threshold*), que é o ciclo da reação em que o limiar de fluorescência (Ft) foi alcançado. Um valor R^2 igual a 1,0 indica a melhor proximidade do ajuste entre a linha de regressão da curva padrão e os pontos de dados individuais da CT. Em relação à inclinação (*slope*), todos os valores se apresentaram dentro do intervalo aceitável do alvo autossômico curto para Quantifiler™ Trio (-3.0 a -3.6), indicando 100% de eficiência de amplificação por PCR. O indicador *Y-intercepto* também se apresentou dentro do esperado, com os valores do alvo autossômico longo menores do que os valores para o alvo curto (APPLIED BIOSYSTEMS, 2016).

A qualidade das reações também foi avaliada através dos controles de quantificação presentes em todas as placas de amostras. As reações de controle positivo de quantificação (com DNA controle a 0,1 ng/ μ L) apresentaram resultados dentro da faixa esperada: 0,02 a 0,2 ng/ μ L, e as reações de controle negativo (NTC) apresentaram resultados nulos (APPLIED BIOSYSTEMS, 2017; RODRIGUES; GARRIDO, 2020a).

Os resultados referentes aos parâmetros R^2 , *slope* e as reações de controle positivo de quantificação e de controle negativo NTC indicam, portanto, que todas as reações de quantificação transcorreram dentro do esperado, com perfeito funcionamento de todos os componentes e com 100% de eficiência de amplificação. A avaliação desses parâmetros referentes a todas as amostras é de fundamental importância, pois valores fora das faixas estabelecidas impedem o prosseguimento dos exames.

Avaliando o IPC (controle interno de PCR), constatou-se que os componentes do teste funcionaram conforme o esperado em todas as amostras submetidas à quantificação. Foram observados os valores de Ct (*cycle threshold*) no alvo IPC para o último ponto da curva padrão e também para cada uma das amostras. Os valores não ultrapassaram o valor obtido para o último ponto da curva em 2 ou mais ciclos, o que indica a ausência de inibidores nas amostras. Portanto, pode-se afirmar que não havia inibidores de PCR em nenhuma das amostras submetidas à quantificação. O perfeito funcionamento do IPC também validou os resultados negativos de quantificação, ou seja, indica que são confiáveis os resultados que apontaram a ausência de DNA.

O índice de degradação (*degradation index*) também foi verificado para todos os resultados. Observando a razão entre as concentrações dos alvos autossômicos curto e longo, constatou-se que em nenhuma amostra foram detectados valores superiores ou iguais a 20, indicando que o DNA presente nas amostras não se encontrava degradado.

Os resultados do IPC e do índice de degradação sugerem fortemente que nem o polímero utilizado na revelação das impressões digitais, e nem o processo eletroquímico em si ocasionaram danos ao DNA presente e recuperado das amostras.

Sabe-se que a molécula de DNA é bastante suscetível à degradação por agentes ambientais (calor, radiação UV e umidade), e também por substâncias químicas que promovam variação no pH do meio (BUTLER, 2010). Como as amostras deste estudo foram produzidas de forma controlada, visando a ausência de DNA contaminante, espera-se que a ausência de DNA degradado e de inibidores nas amostras esteja relacionada unicamente ao PPy e/ou ao processo eletroquímico. Ou seja, caso esses dois fatores acarretassem danos ao DNA presente nas amostras, a avaliação desses indicadores teria sinalizado essa situação.

5.2.2 Avaliação do DNA de impressões digitais reveladas

Após análise dos indicadores analíticos do *kit* Quantifiler™ Trio para todas as amostras, procedeu-se a verificação e análise estatística dos resultados de quantificação para cada conjunto experimental de acordo com o método de extração empregado (*kit* DNA IQ™ ou método orgânico), sendo consideradas para cada conjunto as seguintes variáveis qualitativas: superfície (placas de aço inoxidável ou estojos de latão) e tempo (24 horas ou 7 dias).

Para análise estatística pela aplicação do Teste t de Student para observações independentes, considerando cada método de extração empregado, foram comparadas as médias de duas condições experimentais distintas, conforme demonstra a tabela a seguir.

Tabela 9 - Comparações estatísticas em condições experimentais independentes dos resultados de quantificação de DNA de impressões digitais reveladas, considerando a superfície e o tempo.

Variável	Condições experimentais independentes
Superfície	Placa aço (24 horas) vs. Estojo latão (24 horas)
	Placa aço (7 dias) vs. Estojo latão (7 dias)
Tempo	24 horas (aço) vs. 7 dias (aço)
	24 horas (latão) vs. 7 dias (latão)

Sobre o conjunto experimental de amostras extraídas pelo método DNA IQ™ na plataforma automatizada, as tabelas a seguir apresentam os cálculos estatísticos referentes à comparação das médias de duas condições experimentais independentes. Os valores de t foram analisados com base no número de graus de liberdade (GL) calculado para cada teste.

Tabela 10 – Estatística dos resultados de quantificação de DNA das amostras de 24 horas extraídas com DNA IQ™: placas de aço vs. estojos de latão.

Condição experimental Extração DNA IQ™ 24 horas	Média (pg/μL)	Desvio padrão (pg/μL)	Cálculos estatísticos Teste t
Placa aço (n = 8)	0,777	1,209	t = 1,45
Estojo latão (n = 8)	0,144	0,266	GL = 7,7

Tabela 11 - Estatística dos resultados de quantificação de DNA das amostras de 7 dias extraídas com DNA IQ™: placas de aço vs. estojos de latão.

Condição experimental Extração DNA IQ™ 7 dias	Média (pg/μL)	Desvio padrão (pg/μL)	Cálculos estatísticos Teste t
Placa aço (n = 8)	0,434	0,657	t = 1,29
Estojo latão (n = 8)	0,122	0,187	GL = 8,1

Tabela 12 - Estatística dos resultados de quantificação de DNA das amostras em placas de aço extraídas com DNA IQ™: 24 horas vs. 7 dias

Condição experimental Extração DNA IQ™ Placas de aço	Média (pg/μL)	Desvio padrão (pg/μL)	Cálculos estatísticos Teste t
24 horas (n = 8)	0,777	1,131	t = 0,71
7 dias (n = 8)	0,434	0,614	GL = 14,0

Tabela 13 - Estatística dos resultados de quantificação de DNA das amostras em estojos de latão extraídas com DNA IQ™: 24 horas vs. 7 dias.

Condição experimental Extração DNA IQ™ Estojos de latão	Média (pg/μL)	Desvio padrão (pg/μL)	Cálculos estatísticos Teste t
24 horas (n = 8)	0,144	0,249	t = 0,19
7 dias (n = 8)	0,122	0,175	GL = 14,0

Para a extração com DNA IQ™, os cálculos estatísticos apresentados nas tabelas acima mostraram que a comparação das médias dos pares de condições experimentais distintas (observações independentes) não apresentou diferença estatisticamente significativa em nenhum caso. Ou seja, pode-se afirmar, para cada comparação, que as médias são iguais ao nível de significância estabelecido ($\alpha = 5\%$).

A mesma análise estatística foi aplicada para as amostras extraídas pelo método orgânico, como mostram as tabelas a seguir.

Tabela 14 - Estatística dos resultados de quantificação de DNA das amostras de 24 horas submetidas à extração orgânica: placas de aço vs. estojos de latão.

Condição experimental Extração Orgânica 24 horas	Média (pg/μL)	Desvio padrão (pg/μL)	Cálculos estatísticos Teste t
Placa aço (n = 8)	5,836	3,594	t = 0,34
Estorjo latão (n = 8)	4,551	10,037	GL = 8,8

Tabela 15 - Estatística dos resultados de quantificação de DNA das amostras de 7 dias submetidas à extração orgânica: placas de aço vs. estojos de latão.

Condição experimental Extração Orgânica 7 dias	Média (pg/μL)	Desvio padrão (pg/μL)	Cálculos estatísticos Teste t
Placa aço (n = 8)	2,922	2,578	t = - 0,87
Estorjo latão (n = 8)	4,208	3,320	GL = 14,0

Tabela 16 - Estatística dos resultados de quantificação de DNA das amostras em placas de aço submetidas à extração orgânica: 24 horas vs. 7 dias.

Condição experimental Extração Orgânica Placas de aço	Média (pg/μL)	Desvio padrão (pg/μL)	Cálculos estatísticos Teste t
24 horas (n = 8)	5,836	3,362	t = 1,86
7 dias (n = 8)	2,922	2,412	GL = 14,0

Tabela 17 - Estatística dos resultados de quantificação de DNA das amostras em estojos de latão submetidas à extração orgânica: 24 horas vs. 7 dias.

Condição experimental Extração Orgânica Estojo de latão	Média (pg/ μ L)	Desvio padrão (pg/ μ L)	Cálculos estatísticos Teste t
24 horas (n = 8)	4,551	9,388	t = 0,09
7 dias (n = 8)	4,208	3,106	GL = 8,5

Os cálculos realizados para a comparação das médias dos pares de condições experimentais distintas (observações independentes) das amostras submetidas à extração pelo método orgânico também não constataram diferenças estatisticamente significativas em nenhum caso. Sendo assim, pode-se afirmar que tanto para a extração com DNA IQTM quanto para o método orgânico, as médias analisadas foram iguais para cada comparação ao nível de significância estabelecido ($\alpha = 5\%$).

Não havendo diferenças estatisticamente significativas entre as médias dos conjuntos experimentais analisados e com a finalidade de facilitar a visualização, os resultados de quantificação foram agrupados levando-se em consideração as variáveis relacionadas à superfície e ao tempo, como demonstram os gráficos apresentados nas Figuras 54 e 55, respectivamente.

Sobre o efeito do tempo nas impressões digitais reveladas com métodos convencionais, pesquisadores demonstraram que a análise genética depende do intervalo de tempo entre a revelação e a extração de DNA, sendo que alguns estudos provaram que não há recuperação de DNA após seis dias da revelação (AZOURY *et al.*, 2002; KUMAR *et al.*, 2015). Lowe *et al.* (2003), por exemplo, obtiveram melhores resultados em amostras nas quais o tempo entre a revelação da impressão digital e a genotipagem foi inferior a 7 dias. Nessa mesma linha, o impacto de diferentes superfícies na recuperação de DNA de impressões digitais reveladas convencionalmente também vem sendo estudado, demonstrando que há diferenças relevantes entre as quantidades de DNA recuperadas em diferentes superfícies, como vidro, madeira, ligas metálicas e materiais plásticos (ALESSANDRINI *et al.*, 2003; BALOGH *et al.*, 2003b; SHALHOUB *et al.*, 2008; SUBHANI; DANIEL; FRASCIONE, 2019).

Com base na estatística e analisando os gráficos mostrados nas Figuras 54 e 55, pode-se constatar que foi possível recuperar DNA de impressões digitais reveladas tanto em superfícies de aço inoxidável quanto de estojos de munição, o que também acontece com amostras reveladas após 24 horas e 7 dias da aplicação da impressão digital na superfície. Diante disso, os resultados sugerem que a recuperação de DNA das impressões digitais não foi

impactada pelas variáveis relacionadas à superfície e ao tempo, o que se apresenta como uma vantagem para o método eletroquímico frente aos métodos convencionais.

Figura 54 - Gráfico da correlação entre a superfície, a concentração de DNA (pg/ μ L) e o número de amostras de impressões digitais reveladas.

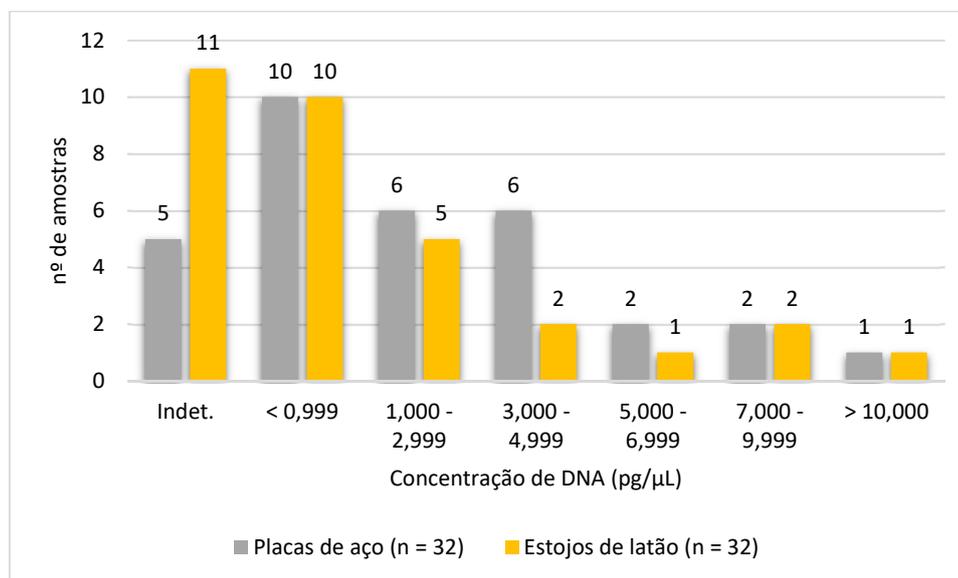
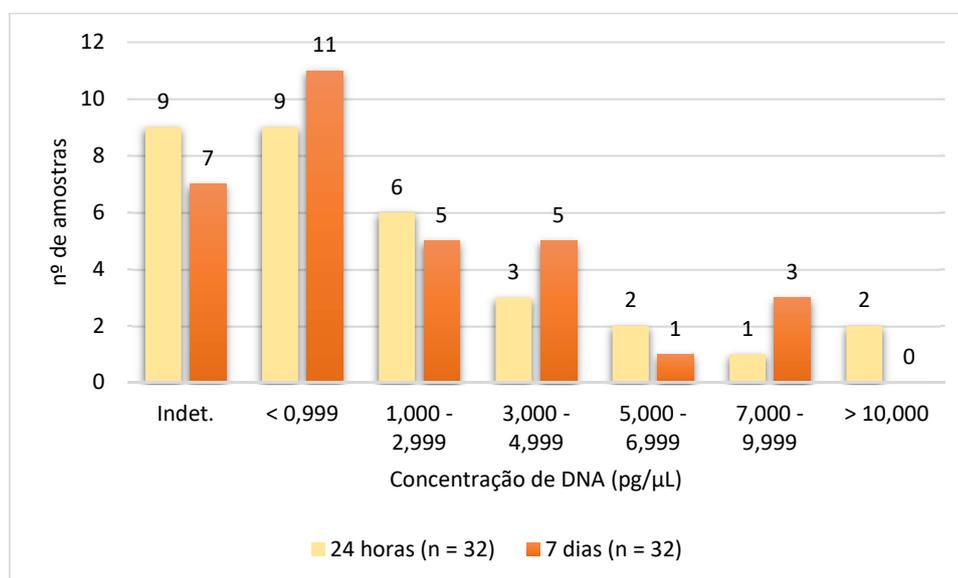


Figura 55 - Gráfico da correlação entre o tempo, a concentração de DNA (pg/ μ L) e o número de amostras de impressões digitais reveladas.



A constatação sobre a superfície não impactar na recuperação de DNA é importante também em virtude de se tratarem de duas ligas metálicas com comportamentos químicos distintos. O aço inoxidável é eletroquimicamente inerte, enquanto que o latão tem participação ativa no processo eletroquímico, estando sujeito à corrosão galvânica durante da revelação das

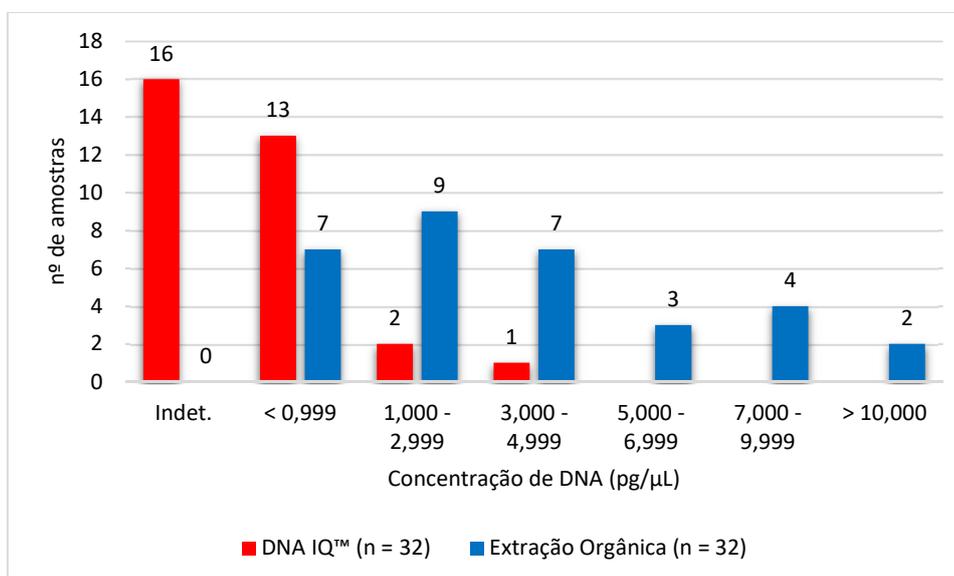
impressões digitais, devido aos baixos potenciais de oxidação do Cu^{+2} e do Zn^{+2} (respectivamente: + 0,34 e - 0,76). Logo, mesmo sujeitos à oxidação durante a revelação eletroquímica, foi possível recuperar DNA a partir de estojos de munição. No entanto, como observado por Alessandrini *et al.* (2003) e por Cadd *et al.* (2015), é importante atentar ao fato de que a quantidade de DNA recuperada de impressões digitais provavelmente depende muito mais das condições do doador e de fatores ambientais aleatórios relacionados à cena de crime, do que de regras científicas.

Frente às constatações estatísticas independentes para cada variável, também foi possível estabelecer uma análise comparativa entre os métodos de extração, agrupando-se as amostras de impressões digitais reveladas extraídas com DNA IQ™ e com o método orgânico. Dessa forma, a análise estatística segue na Tabela 18, e a Figura 56 exibe o gráfico da correlação entre o método de extração, a concentração de DNA ($\text{pg}/\mu\text{L}$) e o número de amostras de impressões digitais reveladas.

Tabela 18 - Estatística das amostras de impressões digitais reveladas submetidas à extração de DNA: *kit* DNA IQ™ vs. método orgânico.

Condição experimental	Média ($\text{pg}/\mu\text{L}$)	Desvio padrão ($\text{pg}/\mu\text{L}$)	Cálculos estatísticos Teste t
Extração DNA IQ™ (n = 32)	0,369	0,724	t = - 4,06
Extração Orgânica (n = 32)	4,379	5,546	GL = 32,1

Figura 56 - Gráfico da correlação entre o método de extração, a concentração de DNA ($\text{pg}/\mu\text{L}$) e o número de amostras de impressões digitais reveladas.



Conforme demonstrando na Tabela 18, a aplicação do Teste t mostrou que a comparação das médias das condições experimentais distintas (observações independentes) apresentou diferença estatisticamente significativa entre as amostras extraídas com o *kit* DNA IQ™ e aquelas submetidas à extração orgânica. Nesse caso, pode-se afirmar que as médias são diferentes ao nível de significância estabelecido ($\alpha = 5\%$). Diante disso, estabelecendo uma razão entre as médias, constatou-se que, para análise genética de impressões digitais reveladas pela eletrodeposição de filmes de PPy e considerando a metodologia apresentada, o método orgânico mostrou um aproveitamento cerca de 12 vezes maior do que a extração automatizada com o *kit* DNA IQ™, levando-se em consideração os resultados da quantificação. Porém, para a avaliação da qualidade do DNA recuperado, é necessário considerar também os resultados de amplificação e genotipagem.

A Tabela 19 apresenta uma análise numérica comparativa dos resultados de quantificação para as amostras extraídas com as duas metodologias, baseada no gráfico da Figura 56. As concentrações de DNA foram agrupadas em: indeterminadas (ausência de DNA autossômico detectável), menores do que 0,999 pg/ μ L, entre 1,000 e 2,999 pg/ μ L, e maiores que $> 3,000$ pg/ μ L, que corresponde a 6 pg de DNA*, ou seja, a quantidade aproximada de DNA presente em uma célula diploide (INTERNATIONAL HUMAN GENOME SEQUENCING CONSORTIUM, 2001).

Tabela 19 - Análise comparativa dos resultados de quantificação de DNA para as amostras extraídas pelo *kit* DNA IQ™ e pelo método orgânico.

Concentração de DNA	DNA IQ™ % de amostras	Método Orgânico % de amostras
Indeterminada	50 %	0%
< 0,999 pg/ μ L	41 %	22%
1,000 - 2,999 pg/ μ L	6 %	28%
> 3,000 pg/ μ L ^(a)	3 %	50%
Maiores resultados obtidos:	3,545 pg/ μ L	29,343 pg/ μ L ^(b)

^(a) Correspondente a quantidade de DNA presente em uma célula diploide (~ 6 pg).

^(b) Equivalente a cerca de 10 células diploides presentes na amostra.

Para o método orgânico, observa-se que nenhuma amostra apresentou concentração indeterminada de DNA. Constatou-se também que em 50% das amostras extraídas foi possível a recuperação de DNA em quantidade igual ou superior a uma célula diploide, e que a

* Considerando que a cada reação de quantificação foi adicionado um volume de 2 μ L de amostra extraída.

concentração máxima de DNA recuperado em uma amostra foi superior cerca de 8 vezes à maior concentração obtida pela extração automatizada com o *kit* DNA IQ™. Esses resultados reforçam o melhor aproveitamento constatado para o método orgânico nesse caso.

Entretanto, há de se considerar que o *kit* DNA IQ™ é amplamente empregado na rotina forense de muitos laboratórios no mundo inteiro, e sua eficácia e vantagens frente a outras metodologias são solidamente confirmadas por diversas pesquisas científicas e estudos de validação (ALESSANDRINI *et al.*, 2019; CALACAL *et al.*, 2021; FRÉGEAU; LETT; FOURNEY, 2010; PROMEGA, 2006). Como exemplo, estudando amostras de crimes sexuais, pesquisadores demonstraram que o sistema DNA IQ™ foi mais eficiente que a técnica diferencial orgânica, proporcionando a eliminação de solventes tóxicos, garantindo maior segurança ao analista forense, maior rapidez de execução da extração, além de quantidade e qualidade favorável de DNA recuperado (BASTOS, 2018). Trata-se, portanto, de um método rápido, com baixos índices de contaminação, especialmente quando executado de forma automatizada, além de não empregar insumos tóxicos e de possuir alta capacidade de purificação de DNA.

Os resultados do presente estudo foram obtidos utilizando-se uma metodologia de rotina, sugerindo que a implementação de ajustes para amostras de DNA de toque, especialmente quanto ao uso da extração automatizada, pode aumentar o aproveitamento do DNA IQ™ frente a amostras críticas com ínfimas quantidades de DNA, como é o caso das impressões digitais. Algumas medidas podem acarretar melhor rendimento da extração e, conseqüentemente, maiores concentrações de DNA nas amostras submetidas à quantificação, tais como: ajustes nos volumes de pipetagem a depender na natureza e da metodologia de coleta das amostras, ajustes no *input* de DNA na reação, e a redução no volume final de ressuspensão do DNA extraído, dentre outras estratégias.

A extração orgânica é utilizada com sucesso há mais de duas décadas. Trata-se de um método barato e acessível, porém apresenta algumas desvantagens que dificultam a sua execução em laboratórios forenses de rotina intensa. É uma metodologia que demanda muito trabalho e tempo de execução, com duas etapas de lise envolvidas no processo e múltiplos passos de centrifugação e purificação de DNA. Além disso emprega insumos de alta toxicidade ao analista (BUTLER, 2005, 2010, 2012).

O Quantifiler™ Trio se mostrou confiável e sensível, registrando resultados de quantificação com baixas quantidades de DNA e detectando quantidades abaixo de 0,0025 ng, ou seja, abaixo da faixa de detecção da curva padrão, corroborando estudos de validação sobre

o ensaio (BROOKS *et al.*, 2015; GOUVEIA *et al.*, 2015; HOLT *et al.*, 2016; VIEIRA-SILVA *et al.*, 2015), assim como o manual do fabricante (APPLIED BIOSYSTEMS, 2017).

Há na literatura diversos estudos que reportam quantidades ínfimas de DNA recuperadas a partir de objetos tocados e impressões digitais, com baixas taxas de perfis genéticos obtidos com os requisitos mínimos necessários à identificação de indivíduos (BURRILL *et al.*, 2019; KUMAR *et al.*, 2015). Alessandrini *et al.* (2003), por exemplo, reportaram que a partir de mãos lavadas, em uma alta porcentagem de experimentos, variando de 48 a 84%, a depender da superfície, a quantidade de DNA recuperada de impressões digitais foi de menos de 40 pg.

Danielson *et al.* (2019), pesquisando DNA em estojos de latão de munições não deflagradas, registraram uma quantidade total média de DNA recuperado de cerca de 10 pg, utilizando kits comerciais de extração, e de cerca de 50 pg para método orgânico. Entretanto, os autores não deixam claro na publicação qual a metodologia de quantificação foi empregada a fim de que possamos converter os resultados para unidades de concentração (DANIELSON; MCKIERNAN; MILNTHORP, 2019). Em outro estudo, pesquisadores analisaram 400 amostras de cartuchos de munição não deflagrados, constatando que 65% das amostras apresentou menos 50 pg de DNA, e que de apenas 7% das amostras foi possível recuperar mais de 400 pg de DNA, sendo que nesse estudo os autores estabeleceram a correlação de $50 \text{ pg} = 1,3 \text{ pg}/\mu\text{L}$ (MONTPETIT; O'DONNELL, 2015).

Na grande maioria dos estudos, a diversidade de técnicas empregadas pelos pesquisadores, especialmente no que concerne à extração e quantificação, e a pouca clareza da descrição das metodologias empregadas dificulta ou impossibilita uma correlação adequada e confiável entre resultados de diferentes estudos. Mesmo assim, observa-se que as concentrações de DNA aqui registradas estão condizentes com os resultados de outros estudos relacionados a amostras de impressões digitais, especialmente por se tratarem de amostras críticas enquanto fontes de DNA.

Considerando que as impressões digitais aplicadas em placas de aço inoxidável foram reveladas por método GST com $j = 1,25 \text{ mA cm}^{-2}$ e limiar máximo de $E = 1,05 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.)}$, e em estojos de latão por método PST com $E = 0,75 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.)}$, observou-se que foi possível recuperar DNA a partir de impressões digitais reveladas com ambos os métodos.

Como visto, valores elevados de potencial podem levar à oxidação do DNA, provocando modificações moleculares, incluindo ligações cruzadas, intercalação, clivagem da

dupla fita (SILVA *et al.*, 2012). Essa relação reforça o argumento de que, no caso das impressões digitais, o material genético se encontra geralmente no interior de estruturas celulares, e estas, por conseguinte, encontram-se imersas na matriz composta pelos produtos de secreção das glândulas sebáceas e sudoríparas (CADD *et al.*, 2015; MACEO, 2012). Trata-se, portanto, de uma complexa mistura de água, sais, proteínas, lipídeos em geral e células (intactas ou fragmentadas), sendo que todas estas estruturas podem ser alvos em potencial de uma reação de oxidação induzida, como é o caso da revelação eletroquímica proposta. Portanto, a molécula de DNA não é a única estrutura química presente no resíduo de impressões digitais que está sujeita à oxidação, e nem o alvo prioritário dos processos de degradação.

Em 2007, pesquisadores avaliaram o efeito da imersão de impressões digitais em água na revelação de impressões digitais seguida de exames de DNA. Em superfícies de vidro, os experimentos foram conduzidos com água em diferentes condições, incluindo variações de temperatura, e os reveladores empregados foram: pó de alumínio, pó magnético e cianoacrilato. Ao final, foi possível revelar as impressões digitais, porém nenhum perfil genético foi obtido (SOLTYSZEWSKI *et al.*, 2007). No presente estudo, foi utilizado um meio aquoso para revelação eletroquímica, especialmente pela insolubilidade dos componentes lipídicos das impressões digitais nesse meio. No sistema eletroquímico empregado na revelação, a oxidação ocorre no eletrodo de trabalho (ânodo), portanto espécies químicas de carga negativa são atraídas ao mesmo durante o processo. Partindo-se do pressuposto de que a molécula de DNA tem carga negativa (grupos fosfato), acredita-se que as moléculas de DNA presentes no resíduo não se dissipem no meio aquoso, ficando aderidas ao ânodo até o final da revelação (de 60 a 90 segundos), uma vez que a reação é iniciada logo após a imersão da impressão digital na solução de trabalho. Entretanto, essa hipótese depende da forma na qual essas moléculas de DNA se encontram, se condensadas ou enoveladas em histonas, por exemplo.

5.2.3 Avaliação dos controles positivos e negativos

A fim de se verificar o impacto do polímero e do processo eletroquímico na recuperação de DNA, foram comparadas também as médias das amostras de impressões digitais reveladas e dos respectivos controles positivos (impressões digitais não reveladas), considerando como variáveis qualitativas a superfície (aço ou latão) e o método de extração (DNA IQ™ ou extração orgânica), conforme demonstram as tabelas a seguir.

Tabela 20 – Estatística dos resultados de quantificação de DNA das amostras em placas de aço extraídas com DNA IQ™: impressões digitais reveladas vs. controles positivos.

Condição experimental Extração DNA IQ™ Placas de aço	Média (pg/μL)	Desvio padrão (pg/μL)	Cálculos estatísticos Teste t
Impressões digitais reveladas (n = 16)	0,605	0,956	t = 0,29 GL = 21,9
Impressões digitais controles positivos (n = 8)	0,523	0,435	

Tabela 21 - Estatística dos resultados de quantificação de DNA das amostras em estojos de latão extraídas com DNA IQ™: impressões digitais reveladas vs. controles positivos.

Condição experimental Extração DNA IQ™ Estojos de latão	Média (pg/μL)	Desvio padrão (pg/μL)	Cálculos estatísticos Teste t
Impressões digitais reveladas (n = 16)	0,133	0,222	t = - 1,31 GL = 7,2
Impressões digitais controles positivos (n = 8)	0,813	1,461	

Tabela 22 - Estatística dos resultados de quantificação de DNA das amostras em placas de aço submetidas à extração orgânica: impressões digitais reveladas vs. controles positivos.

Condição experimental Extração Orgânica Placas de aço	Média (pg/μL)	Desvio padrão (pg/μL)	Cálculos estatísticos Teste t
Impressões digitais reveladas (n = 16)	4,379	3,376	t = - 0,80 GL = 8,0
Impressões digitais controles positivos (n = 8)	7,075	9,221	

Tabela 23 - Estatística dos resultados de quantificação de DNA das amostras em estojos de latão submetidas à extração orgânica: impressões digitais reveladas vs. controles positivos.

Condição experimental Extração Orgânica Estorjo de latão	Média (pg/μL)	Desvio padrão (pg/μL)	Cálculos estatísticos Teste t
Impressões digitais reveladas (n = 16)	4,380	7,224	t = - 0,24 GL = 22,0
Impressões digitais controles positivos (n = 8)	5,068	5,132	

Conforme os resultados apresentados nas Tabelas 20 a 23, e à exemplo do que aconteceu quando comparadas entre si as amostras de impressões digitais reveladas, também não houve diferença estatisticamente significativa ($\alpha = 5\%$) em nenhum caso de comparação entre as médias das amostras de controle positivo (impressões digitais não reveladas) e das amostras de impressões digitais reveladas, tanto aquelas submetidas à extração pelo *kit* DNA IQ™ quanto pelo método orgânico.

Com base na análise dos indicadores de quantificação para todas as amostras, constatou-se que o IPC e o índice de degradação do *kit* Quantifiler™ Trio sinalizaram a ausência de inibidores de PCR e de DNA degradado nas amostras. Aliados à capacidade demonstrada de recuperação de DNA a partir de amostra reveladas e aos resultados obtidos com as amostras de controles positivos, esses achados indicam que a revelação eletroquímica não impactou na recuperação de DNA das impressões digitais independentemente da superfície (aço inoxidável ou latão). Ou seja, a reação eletropolimerização (incluindo o meio reacional e o eletrólito) e PPy sintetizado aparentemente não estão ocasionando danos às moléculas de DNA e não estão comprometendo a sua recuperação por extração.

Com a finalidade de verificar se houve algum impacto do polímero ou do processo relacionado à extração, os resultados de quantificação dos controles positivos foram agrupados conforme o método de extração, e submetidos à análise estatística para comparação das médias de duas condições experimentais, que segue apresentada na Tabela 24.

Tabela 24 - Estatística dos resultados de quantificação de DNA das amostras de controles positivos submetidas à extração de DNA: DNA IQ™ vs. método orgânico.

Condição experimental	Média (pg/μL)	Desvio padrão (pg/μL)	Cálculos estatísticos Teste t
Extração DNA IQ™ (n = 16)	0,668	1,019	t = - 2,94 GL = 15,6
Extração Orgânica (n = 16)	6,071	7,052	

De acordo com os resultados da Tabela 24, a aplicação do Teste t demonstrou que a comparação das médias das condições experimentais distintas (observações independentes) apresentou diferença estatisticamente significativa entre as amostras de controle positivo extraídas com DNA IQ™ e aquelas submetidas à extração orgânica, podendo-se afirmar, portanto, que as médias são diferentes ao nível de significância estabelecido ($\alpha = 5\%$). Dessa forma, estabelecendo uma razão entre as médias, constatou-se que, à exemplo do que aconteceu com as impressões digitais reveladas, o método orgânico apresentou melhor aproveitamento em relação a extração automatizada com o *kit* DNA IQ™ (cerca de 9 vezes maior), levando-se em consideração a metodologia empregada. Portanto, esses resultados sugerem que os dois métodos de extração empregados no presente estudo não foram impactados significativamente pelo material ou pelo processo eletroquímico.

O caráter multidisciplinar que marca esta pesquisa exigiu a adoção de medidas diferenciadas quando da realização dos experimentos eletroquímicos. Com atenção aos exames de DNA, todos os procedimentos foram executados de modo que todos os instrumentos estivessem livres de qualquer DNA humano estranho àquele porventura presente nas impressões digitais, e que pudesse ser detectado nas análises genéticas. Em se tratando de uma nova proposta metodológica, a adoção de tais medidas foi necessária e indispensável à fidedignidade e idoneidade dos resultados das análises genéticas.

Segundo o fabricante (APPLIED BIOSYSTEMS, 2017), o Quantifiler™ Trio passa por rigoroso controle de qualidade para garantir que os seus reagentes estejam livres de DNA estranho. No entanto, devido à extrema sensibilidade do teste, DNA de fundo (contaminante) pode ser detectado em raras ocasiões, caso não sejam adotadas rigorosas medidas que minimizem contaminações. Dessa forma, conforme demonstrado na seção 7.1, para cada método de extração foram utilizados 8 controles negativos, sendo 4 em placas de aço inoxidável e 4 em estojos de latão. Esses controles negativos eram superfícies metálicas submetidas à preparação e limpeza descrita na seção 4.1, porém não tocadas, ou seja, eram superfícies sem impressões digitais.

Para essas amostras, os resultados de quantificação apresentaram-se nulos ou indeterminados, ou seja, não havia quantidade de DNA autossômico detectável pela metodologia utilizada. Pode-se afirmar, portanto, que as superfícies de aço inoxidável e de latão empregadas neste estudo estavam livres de DNA de fundo ou contaminante, de modo que qualquer DNA porventura recuperado na extração e detectado nas reações de quantificação seria necessariamente oriundo dos indivíduos doadores participantes da pesquisa.

5.2.4 Amplificação e genotipagem

Após a quantificação, todas as amostras foram então amplificadas por PCR utilizando o kit GlobalFiler™, e os produtos de amplificação foram genotipados por eletroforese capilar em analisador genético, seguindo os parâmetros analíticos recomendados. Visando o perfeito funcionamento do ensaio e a análise dos resultados, cada projeto contou com, no mínimo, um controle negativo, um controle positivo e uma escada alélica. O controle positivo apresentou todos os picos nomeados corretamente como alelos, obedecendo o padrão

de genotipagem previsto. Além disso, os alelos apresentaram altura igual ou superior ao dobro do limiar estocástico estabelecido para o kit (APPLIED BIOSYSTEMS, 2017).

Foram verificados que os indicadores de qualidade de amplificação para o *kit* Globalfiler™ estavam dentro do esperado, conforme recomendação do fabricante: genotipagem dos alelos dos controles positivos 100% concordantes, ausência de picos detectados nos controles negativos, altura mínima para todos os alelos do DNA controle de 754 RFUs, e tamanho do alelo 9.3 do marcador TH01 dentro da faixa de 201,5 a 202,45 bases (APPLIED BIOSYSTEMS, 2016).

Os eletroferogramas foram analisados com o programa GeneMapper ID-X de forma automatizada, inclusive quanto à confirmação do *status* dos controles e da escada alélica. O programa elimina automaticamente grande parte dos artefatos, como *off-ladder*, *stutter*, *pull-up* e adenilação incompleta. Ainda assim, todos os eletroferogramas foram verificados individualmente por analistas, visando certificar os procedimentos e a completa interpretação dos resultados, como é de praxe nos laboratórios forenses.

Foi considerado o limiar analítico mínimo de 30 RFU para todos os fluoróforos (6-FAM™ azul, VIC™ verde, NED™ amarelo, TAZ™ vermelho e SID™ púrpura), e o limiar estocástico de 300 RFU, definidos com base nos limites empregados por laboratórios forenses e em estudos de validação (APPLIED BIOSYSTEMS, 2016; ELWICK; MAYES; HUGHES-STAMM, 2018; FLORES *et al.*, 2014; MARTÍN *et al.*, 2014; SAUNDERS *et al.*, 2013). Não foi definido um limiar estocástico para a quantidade de DNA nas amostras, dada na natureza das amostras deste estudo. A taxa de *stutter* foi verificada especificamente por loco, de acordo com os parâmetros estabelecidos pelo fabricante do *kit*.

De um total de 96 impressões digitais submetidas à amplificação genética, sendo 64 reveladas e 32 controles positivos (não revelados), foram obtidos 10 perfis genéticos parciais: 8 (12,5%) de impressões digitais reveladas e 2 (6,3%) de controles positivos. Analisando os eletroferogramas obtidos, constatou-se que:

- Todos os picos se apresentaram abaixo do limite estocástico (300 RFU);
- De um modo geral, os picos acima do limiar analítico apresentaram alinhamento satisfatório com os *bins* dos painéis, e foram evidenciados poucos sinais de desbalanço*;
- Em cerca de 70% dos eletroferogramas não foram observadas alterações na linha de base que resultaram na marcação de picos pelo programa.

* Considerando uma diferença limite de 25% entre os tamanhos dos picos.

Os perfis genéticos obtidos foram considerados parciais porque não foi observado genótipo para pelo menos um marcador analisado, sendo esse tipo de resultado bastante comum em amostra com pouca quantidade de DNA. Normalmente, os *loci* STR maiores em uma reação multiplex são os primeiros a falhar nesses casos, e a probabilidade de uma correspondência diminui pelo pequeno número de *loci* para comparação. Diante disso, o uso de sistemas STR *miniplex*, com tamanhos de produto de PCR menores do que aqueles usados em *kits* STR comerciais, ou outros sistemas genéticos (como polimorfismos de nucleotídeo único), poderiam ser alternativas para recuperar informações perdidas em *loci* maiores (BUTLER *et al.*, 2005, 2010).

A tabela a seguir apresenta uma correlação entre o número de *loci* detectados por eletroferogramas e as características da respectiva amostra, onde se nota dois perfis genéticos parciais com 17 *loci* detectados, número suficiente para identificação genética. Além disso, observa-se perfis genéticos para diferentes superfícies e tempos, corroborando a hipótese de que essas variáveis não impactaram na recuperação de DNA das impressões digitais.

Tabela 25 - Correlação entre o número de *loci* detectados por eletroferograma, a concentração de DNA, o método de extração, a superfície e o tempo das amostras que originaram perfis genéticos parciais.

Amostra	Nº de <i>loci</i> STR detectados	Concentração DNA (pg/ μ L)	Extração	Superfície	Tempo
Impressões digitais reveladas	17	9,011	Orgânica	latão	7 dias
	17	3,546	DNA IQ™	aço	24 horas
	6	3,995	Orgânica	latão	7 dias
	4	1,999	DNA IQ™	aço	7 dias
	4	6,099	Orgânica	latão	7 dias
	3	13,119	Orgânica	aço	24 horas
	1	8,415	Orgânica	aço	24 horas
	1	29,343	Orgânica	latão	24 horas
Impressões digitais controle positivo (não reveladas)	5	4,343	DNA IQ™	latão	---
	1	16,372	Orgânica	latão	---

Com base na tabela acima, considerando o número total de impressões digitais reveladas submetidas à análise genética, observa-se que a taxa de obtenção de perfis genéticos parciais foi de 12,5 %, que corresponde a 8 perfis de um total de 64 amostras. Tendo como base o método de extração, constatou-se que: para as amostras extraídas pelo *kit* DNA IQ™ (n = 32), foram obtidos 2 perfis (6,3 %); e para o método orgânico foram obtidos 6 perfis (18,8 %).

Mesmo diante do melhor aproveitamento do método orgânico nesse estudo, com base nos resultados de quantificação, a tabela acima mostra que foi possível obter perfis genéticos parciais também de amostras extraídas com DNA IQ™, com destaque para a amostra com 3,546 pg/ μ L, da qual foi obtido um perfil com 17 *loci* detectados e um eletroferograma de boa qualidade. Esse resultado corrobora a alta capacidade de purificação do DNA extraído pela metodologia, levando a obtenção de perfis genéticos de qualidade mesmo a partir de pequenas quantidades de DNA.

Para as amostras controle positivo, 2 perfis genéticos foram obtidos de um universo de 32 impressões digitais não reveladas, concordando com a análise estatística que indicou não haver diferenças significativas entre as impressões digitais reveladas e os controles positivos, indicando que o processo eletroquímico não danificou o DNA.

Esses resultados mostram a viabilidade de se identificar geneticamente indivíduos por meio de amostras críticas com pouca quantidade de DNA, porém com baixas taxas de obtenção de perfis genéticos comparando com outros tipos de vestígios de cena de crime, como manchas de sangue e outros fluidos biológicos. Entretanto, esses resultados são compatíveis com pesquisas sobre o tema (DANIELSON; MCKIERNAN; MILNTHORP, 2019; LOWE *et al.*, 2003; MONTPETIT; O'DONNELL, 2015; PESARESI *et al.*, 2003; YU; WALLACE, 2007), e reforçam a necessidade de mais estudos sobre alternativas analíticas para amostras de DNA de toque, visto que há muito a ser explorado nesse campo, especialmente em virtude do crescente aumento na sensibilidade das metodologias em Genética.

Obviamente, obter alelos correspondentes entre um suspeito de perfil genético completo e uma amostra de vestígio com perfil genético parcial não é tão contundente do que uma correspondência entre perfis completos. Porém, em Ciências Forenses qualquer dado obtido é melhor do que nenhum, desde de que seguido o rigor técnico-científico necessário. Diante disso, um perfil parcial obtido de um vestígio coletado em cena crime, quando comparado diretamente com o perfil completo de um indivíduo, pode promover, por exemplo, a sua inclusão ou exclusão da lista de suspeitos desse delito, contribuindo dessa forma para a resolução do caso.

As figuras a seguir apresentam painéis de eletroferogramas representativos de amostras que constam na Tabela 25.

Figura 57 - Painéis de marcadores genéticos sinalizados com 6-FAM™ de amostra de impressão digital revelada extraída com DNA IQ™ (3,546 pg/μL de DNA) e do perfil genético do respectivo doador.

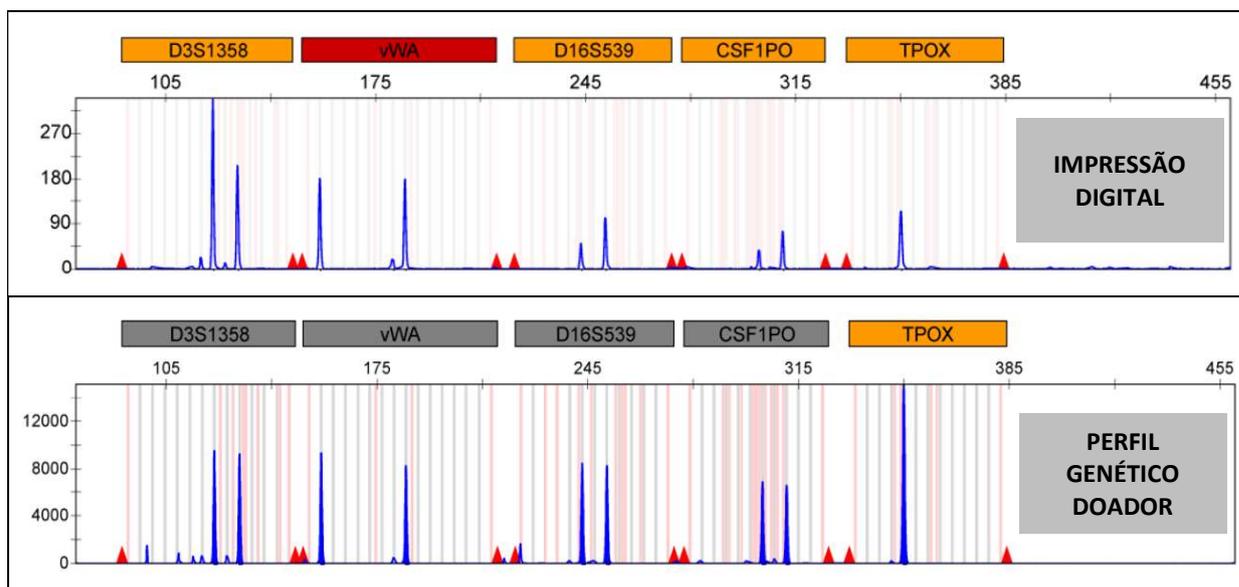
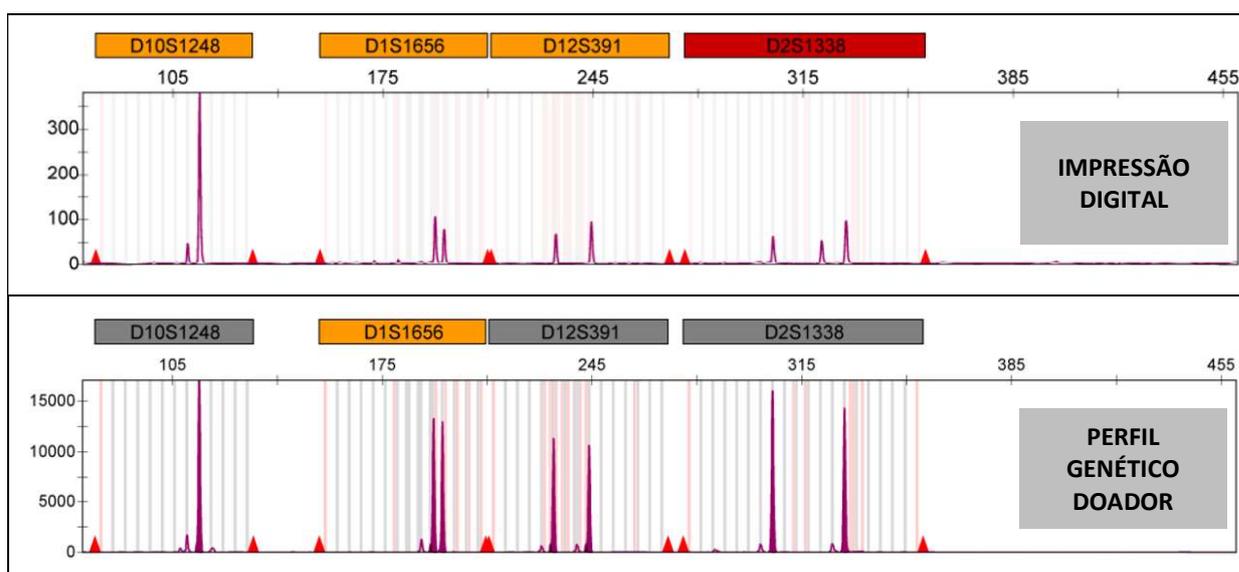


Figura 58 - Painéis de marcadores genéticos sinalizados com SID™ de amostra de impressão digital revelada extraída com DNA IQ™ (3,546 pg/μL de DNA) e do perfil genético do respectivo doador.



Os eletroferogramas de todas as demais amostras (86) demonstraram não haver quantidade de DNA suficiente para genotipagem ou simplesmente não havia DNA na amostra. Portanto, os resultados deste estudo indicam que, para o kit Quantifiler™ Trio, um resultado de 0,000 ng/μL realmente significa que não há DNA utilizável presente na amostra, e que o processo de análise de DNA pode ser interrompido na quantificação para amostras de impressões digitais.

Sabe-se que, à medida que os peritos em DNA forense tentam analisar informações a partir de pequenas quantidades de DNA presentes em vestígios, depararam-se com efeitos estocásticos ou aleatórios que ocorrem nos primeiros ciclos de amplificação. Em reações com um número limitado de moléculas de DNA alvo, quando os *primers* de PCR não encontram a sua região específica, podem ocorrer hibridizações com outras regiões do DNA presente na reação de amplificação. Nesses casos, a variação estocástica é uma lei fundamental do processo de amplificação por PCR quando se examina pequenas quantidades de DNA, relacionadas a princípios da estatística e da probabilidade, e os seus efeitos não podem ser evitados nesses casos (BUTLER; HILL, 2010).

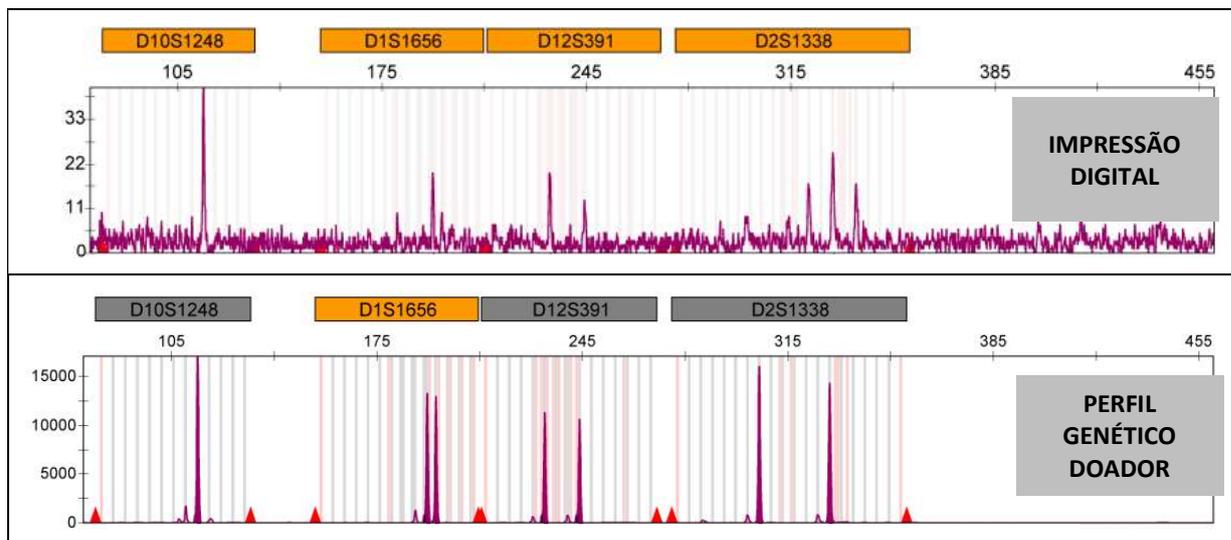
Quando a amplificação é feita com pouca quantidade de DNA, os efeitos estocásticos também podem fazer com que alguns alelos não sejam devidamente amplificados, um fenômeno denominado de alelos *dropout*, podendo originar nesses casos uma falsa homozigose no *locus*. Esse fenômeno, por exemplo, pode resultar na falha na detecção de um ou ambos os alelos de um *locus* heterozigoto (GILL *et al.*, 2000).

Estratégias LCN são apresentadas por pesquisadores como uma alternativa para análise de amostras desse tipo, embora estejam longe de ser um consenso na comunidade forense. O incremento no número de ciclos de PCR tem sido amplamente estudado e também poderia ser uma alternativa para amostras de impressões digitais. Entretanto, essa medida pode levar a efeitos estocásticos mais pronunciados e ao aumento no risco de detecção de alelos *drop-in*, assim como à amplificação desequilibrada dos alelos, que pode levar a identificação equivocada de indivíduos (HARREL; GANGITANO; HUGHES-STAMM, 2019; WATKINS *et al.*, 2021).

O próprio fabricante do *kit* Globalfiler™, em estudo de validação, afirma que um ciclo de PCR adicional seria uma opção viável para melhorar o desempenho de amostras críticas, melhorando a recuperação de alelos com efeitos colaterais mínimos, especialmente em amostras contendo baixas concentrações de DNA (APPLIED BIOSYSTEMS, 2016). Como os efeitos estocásticos se manifestam como uma flutuação de resultados entre análises replicadas, outra alternativa para amostras de impressões digitais seria realizar mais de uma amplificação para cada amostra, podendo resultar na detecção de alelos diferentes em um mesmo *locus* (BUTLER; HILL, 2010).

Como visto, todos os perfis genéticos resultantes das amostras de impressões digitais apresentaram-se abaixo do limite estocástico estabelecido (300 RFU), e estão sujeitos, portanto, a efeitos estocásticos, como está representado na Figura 59.

Figura 59 - Painéis de marcadores genéticos sinalizados com SID™ de amostra de impressão digital com efeitos estocásticos e do perfil genético do respectivo doador.

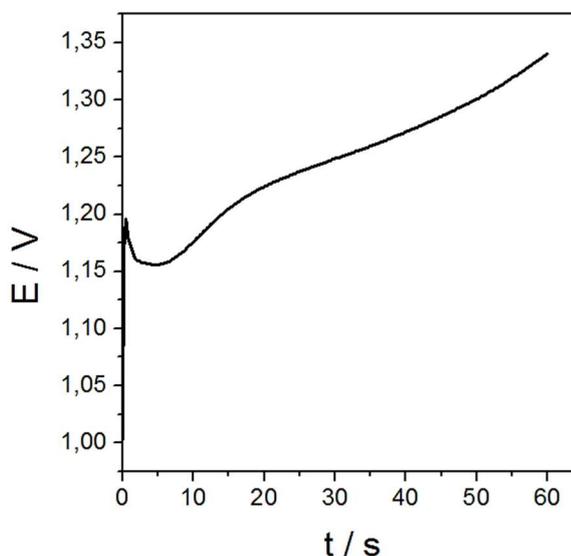


Tendo em vista o caráter inovador da presente pesquisa, optou-se por uma metodologia de rotina sem o incremento de ciclos de PCR, a fim de verificar o comportamento dos resultados sem a implementação de alternativas LCN. Com base nos resultados obtidos, estudos futuros podem ser desenvolvidos a fim de verificar a efetividade e confiabilidade de incrementos metodológicos.

5.2.5 Teste do impacto do polipirrol no exame de DNA

Foram desenvolvidos, por fim, ensaios genéticos específicos com o objetivo de verificar se a presença do PPy ocasionava uma possível redução no rendimento do exame de DNA ou um impacto perceptível na qualidade do perfil genético obtido. Para tanto, filmes de PPy foram eletrodepositados pelo método GST ($j = 1,25 \text{ mA cm}^{-2}$; $t = 60 \text{ s}$; $Q = 75,0 \text{ mC cm}^{-2}$) em quatro placas de aço inoxidável livres de marcas de toque ou impurezas, sendo a massa de polímero depositado estimada em $\Gamma = 0,2084 \text{ mg}$ por superfície eletroquimicamente ativa (4 cm^2). Uma curva cronopotenciométrica representativa desses experimentos segue apresentada na figura a seguir.

Figura 60 - Curva cronopotenciométrica representativa da síntese de filme de PPy em aço inoxidável pelo método GST destinado ao teste da ação interferente do polímero no exame de DNA.



A eletrodeposição dos filmes nas quatro placas apresentou comportamento bastante semelhante: o experimento inicia com $E \approx 1,0 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.)}$, com *loop* de nucleação acontecendo por volta de 0,5 s ($E \approx 1,20 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.)}$) e finalizando a polimerização em 60 s com $E \approx 1,35 \text{ V vs. Ag/AgCl (KCl sat.)}$. Comparando estes ensaios de eletrodeposição com aqueles desenvolvidos nas placas com impressões digitais (ver Capítulo 4), observa-se aqui valores de potencial mais elevados em função da ausência da camada lipídica isolante da impressão digital na superfície metálica.

Após extração das amostras contendo PPy e DNA, além dos controles positivos (amostras contendo apenas DNA) e dos controles negativos (amostras sem DNA), todos os produtos de extração foram submetidos à quantificação com Quantifiler™ Trio, cujos resultados são apresentados na Tabela 26.

Tabela 26 - Resultados das quantificações de DNA referentes ao teste da ação interferente do PPy na PCR.

Amostra	Componentes da reação	DNA autossômico (ng/ μL)
1	PPy + DNA	2,657
2	PPy + DNA	2,935
3	PPy + DNA	2,704
4	PPy + DNA	3,089
Controle positivo 1	DNA	2,740
Controle positivo 2	DNA	3,278
Controle negativo 1	---	0,000
Controle negativo 2	---	0,000

Os indicadores analíticos de quantificação foram verificados e indicaram o perfeito funcionamento de todas as reações de quantificação nesta etapa. Quanto às curvas padrão, o coeficiente de correlação R^2 e o *slope* indicaram 100% de eficiência de amplificação por PCR em todas as reações. Os resultados do IPC foram compatíveis com o perfeito funcionamento de todos os componentes da reação, assim como não evidenciaram sinais de inibição da PCR nas amostras de impressão digital reveladas com PPy e nem nos controles.

Foi avaliado também o índice de qualidade das reações, que se refere a uma avaliação conjunta do índice de degradação e do desempenho do IPC. O índice de degradação é calculado automaticamente pelo programa e se refere diretamente a uma diminuição na quantidade medida para fragmentos longos de DNA em comparação com a quantidade de fragmentos curtos de DNA. Neste teste, tivemos o IPC com perfeito funcionamento e um índice de degradação abaixo do limiar estipulado pelo fabricante, indicando não haver DNA degradado na amostra e muito menos inibição da reação de PCR.

Comparando entre si os resultados dos controles positivos e das amostras com polímero e DNA, observa-se que as diferenças dos resultados de quantificação entre os mesmos se apresentaram dentro do padrão de flutuação natural apontado pelo fabricante do *kit* (APPLIED BIOSYSTEMS, 2017), assim como em relação à validação realizada para o referido controle positivo de extração ($3,21 \text{ ng}/\mu\text{L} \pm 0,76$) pelo laboratório forense onde os testes foram desenvolvidos.

Para análise dos perfis genéticos, os produtos de extração das amostras com PPy foram amplificados e genotipados com Globalfiler™, resultando em eletroferogramas de boa qualidade, sem alterações substanciais, inclusive quando comparados entre si. A qualidade dos perfis foi avaliada com base no número e intensidade dos sinais dos alelos detectados, verificando possíveis efeitos estocásticos. Para fins de comparação dos resultados, painéis representativos dos eletroferogramas de amostras distintas estão mostrados nas Figuras 61 e 62.

Diante disso, constata-se que o PPy presente nas amostras submetida à extração juntamente com uma fonte conhecida de DNA, não interferiu nas reações de PCR inerentes aos processos de quantificação e de amplificação de DNA. Tal resultado vem reforçar a hipótese de que o método eletroquímico, incluindo a reação em si, os seus constituintes (monômeros de Py e eletrólito em solução aquosa) e o material resultante da reação (PPy) não interferem nos processos que levam a genotipagem de DNA a partir de amostras de impressões digitais reveladas com o referido polímero condutor.

Figura 61 - Comparativo de painéis de eletroferogramas (6-FAM™) de duas amostras diferentes contendo PPy e DNA.

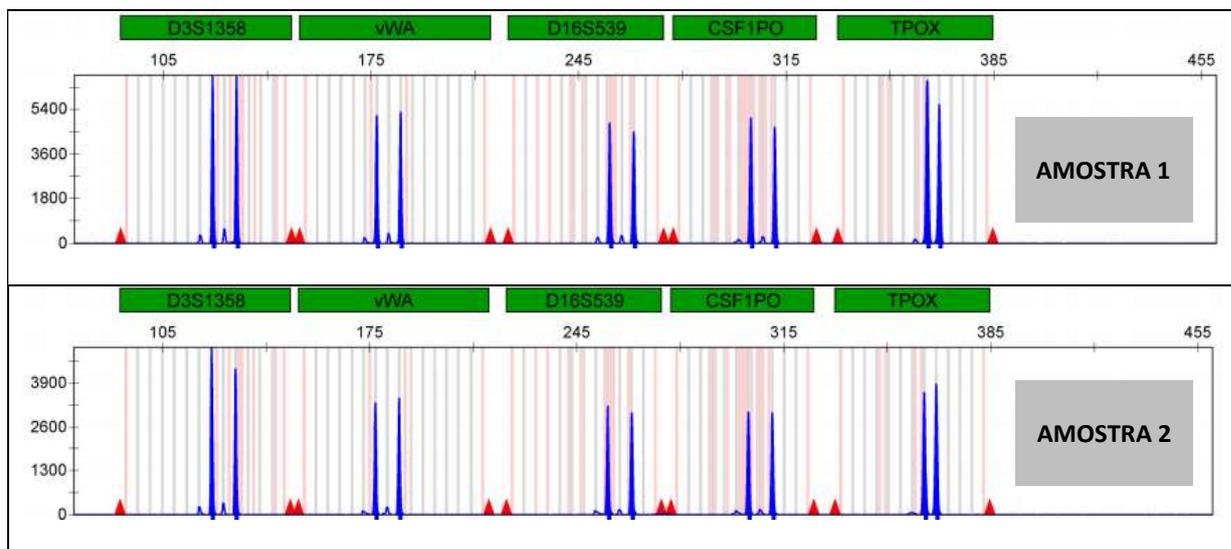
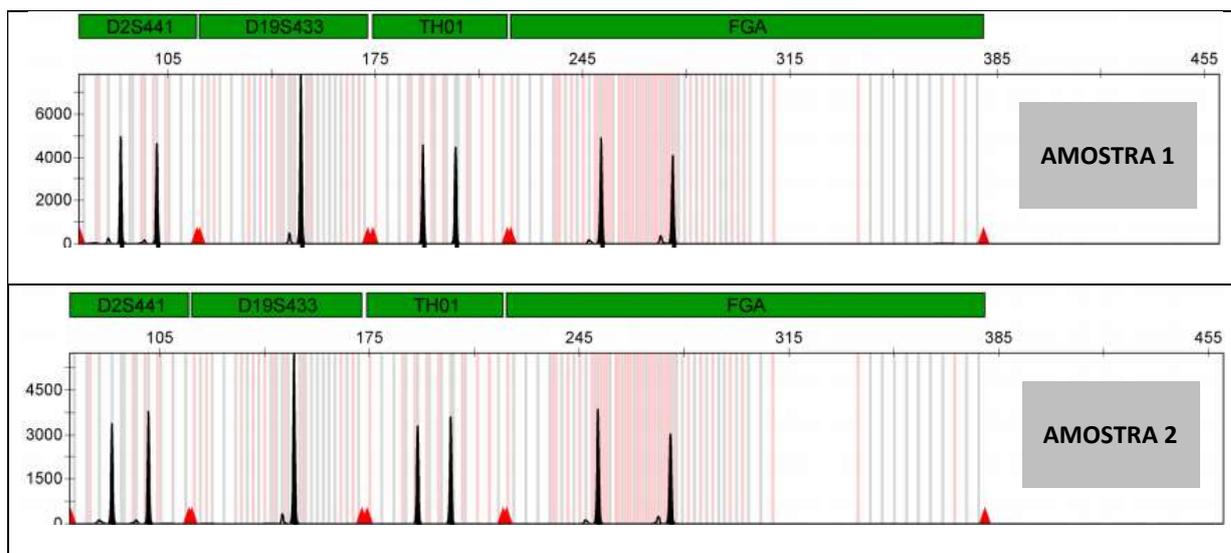


Figura 62 - Comparativo de painéis de eletroferogramas (NED™) de duas amostras diferentes contendo PPy e DNA.



Segundo Kumar *et al.* (2015), a maioria dos métodos convencionais de revelação de impressões digitais pode ser empregada sem prejuízo a exames de DNA subsequentes nesses vestígios. Nesses casos, os perfis de DNA oriundos de impressões digitais são considerados ferramentas promissoras no cenário forense, podendo originar provas contundentes. Entretanto, os analistas devem adotar várias precauções técnicas que garantam uma análise muito cuidadosa, adequada e fidedigna, visando neutralizar os fatores que possam prejudicar os resultados e levar a identificações incorretas de indivíduos.

A deposição eletroquímica de PPy aplicada na revelação de impressões digitais mostrou não ocasionar danos aos exames de DNA subsequentes, pois os resultados apresentados nesse capítulo sugerem que as reações eletroquímicas e o material revelador não impactaram na recuperação de DNA e nas reações de amplificação por PCR. Foi também demonstrado que o método pode ser facilmente executado livre de DNA contaminante, de modo que todo DNA recuperado tem como origem a própria amostra, o que mitiga consideravelmente eventuais os erros de identificação.

Sendo assim, conforme os resultados de estudos anteriores relacionados à recuperação de DNA de elementos de munição antes e após a deflagração (DANIELSON; MCKIERNAN; MILNTHORP, 2019; HORSMAN-HALL *et al.*, 2009; MONTPETIT; O'DONNELL, 2015; NUNN, 2013; POLLEY *et al.*, 2006) e tendo em vista a avaliação dos resultados do presente estudo, constata-se a potencial possibilidade de recuperação de DNA após a revelação de impressões digitais pela eletrodeposição de PPy a partir de munições, especialmente aquelas não deflagradas, nas quais o material genético não foi exposto às condições extremas pós disparo. Os resultados aqui apresentados reforçam a necessidade de mais investigações acerca dessas potencialidades.

CAPÍTULO 6 | CONCLUSÃO

Os resultados demonstraram que foi possível revelar impressões digitais latentes recentes (24 horas) e antigas (7 dias), presentes em superfícies de aço inoxidável e em estojos de munição, através da eletrodeposição de polipirrol utilizando diferentes métodos eletroquímicos (potenciostático e galvanostático). Todos os processos de eletrodeposição formaram filmes de polipirrol insolúveis na solução de trabalho e que se desenvolveram sobre a superfície metálica de forma aderente, uniforme e quimicamente estáveis.

As impressões digitais reveladas apresentaram imagens de excelente qualidade quanto ao contraste e a nitidez, de acordo com a classificação e o protocolo de análise propostos. A análise informatizada, seguida da avaliação por especialistas, provou que as imagens resultantes da revelação são plenamente passíveis de serem usadas em procedimentos forenses de identificação humana.

O método eletroquímico se mostrou reproduzível, barato, rápido, não destrutivo e eficaz na revelação de impressões digitais presentes em diferentes substratos metálicos, com destaque para as impressões digitais mais antigas, para as quais os métodos convencionais apresentam baixa eficiência. Além disso, trata-se de um método de baixa toxicidade ao analista, assim como aos componentes da impressão digital e ao material genético porventura presente nas amostras, visto que a os filmes poliméricos foram sintetizados em condições eletroquímicas minimamente danosas a estruturas biológicas.

A caracterização morfológica das superfícies confirmou o princípio da técnica, provando que a revelação das impressões digitais se deu por deposição espacialmente seletiva do filme polimérico, ou seja, o polipirrol foi eletrodepositado apenas nas regiões onde a superfície metálica não estava encoberta pelo resíduo lipídico isolante da impressão digital. Dessa forma, o processo de revelação produziu imagens com o contraste necessário à visualização e interpretação forense da impressão digital.

Embora o presente estudo não tenha sido desenvolvido com vestígios reais de cenas de crime, trata-se de um considerável conjunto de repetições de impressões digitais de diferentes doadores, em diferentes condições experimentais e geraram imagens reveladas de qualidade. Esses resultados ampliam as perspectivas sobre a aplicação de polímeros condutores na revelação de impressões digitais, além de encorajar novas pesquisas, especialmente incluindo vestígios simulados com características muito próximas àqueles coletadas em cenas de crime. Alguns fenômenos, como o processo de oxidação observado nos estojos de latão e as dificuldades operacionais quanto à execução do método, também requerem investigações mais aprofundadas e seguem sendo investigadas no nosso grupo de pesquisa.

Dessa forma, a aplicação prática do processo de eletrodeposição de polímeros condutores na revelação de impressões digitais latentes é um conceito emergente em Química Forense e ainda não disponível no mercado. Logo, os recentes avanços nessa área sugerem fortemente que ainda há muito a ser explorado.

Os resultados das análises genéticas demonstraram que foi possível recuperar DNA a partir de diferentes métodos de extração e obter perfis genéticos parciais a partir de impressões digitais recentes e antigas, reveladas pela eletrodeposição de polipirrol em diferentes métodos eletroquímicos e superfícies. Ou seja, pode-se afirmar que o material revelador (polipirrol) e o processo eletroquímico não impactaram significativamente nos exames genéticos subsequentes, levando-se em consideração a natureza crítica desse tipo de amostra que apresenta baixíssimas quantidades DNA.

Sendo assim, a avaliação conjunta dos resultados demonstrou ser possível empregar com sucesso a eletrodeposição de polipirrol como método de revelação sem prejuízos à análise genética subsequente, com considerável potencial para se obter duas provas forenses a partir de uma mesma impressão digital.

REFERÊNCIAS

- ABBOOD, A. A.; SULONG, G. Fingerprint Classification Techniques: A Review. **IJCSI International Journal of Computer Science Issues**, v. 11, n. 1, p. 111–122, 2014.
- ADEBISI, S. S. Fingerprint Studies - The Recent Challenges and Advancements: A Literary View. **The Internet Journal of Biological Anthropology**, v. 2, n. 2, 2009.
- ALESSANDRINI, F. *et al.* Fingerprints as Evidence for a Genetic Profile: Morphological Study on Fingerprints and Analysis of Exogenous and Individual Factors Affecting DNA Typing. **Journal of Forensic Sciences**, v. 48, n. 3, p. 2002260, 2003.
- ALESSANDRINI, F. *et al.* Validation of a universal DNA extraction method for human and microbiAL DNA analysis. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, v. 7, n. 1, p. 256–258, dez. 2019.
- AL OLEIWI, A. *et al.* DNA recovery from latent fingermarks treated with an infrared fluorescent fingerprint powder. **Forensic Science International**, v. 277, p. e39–e43, 2017.
- APCF. **Associação Nacional dos Peritos Criminais Federais - O que é a Perícia Criminal?** Disponível em: <<https://apcf.org.br/pericia-criminal/o-que-e-a-pericia-criminal/>>. Acesso em: 13 abr. 2021.
- APPLIED BIOSYSTEMS. **GlobalFiler PCR Amplification Kit User Guide**. USA: Applied Biosystems, 2016. v. 4476135
- APPLIED BIOSYSTEMS. **Quantifiler™ HP and Trio DNA Quantification Kits - User Guide**. USA: Applied Biosystems, 2017.
- ARCHER, N. E. *et al.* Changes in the lipid composition of latent fingerprint residue with time after deposition on a surface. **Forensic Science International**, v. 154, p. 224–239, 2005.
- ARIAS-PARDILLA, J.; OTERO, T. Biomimetic sensing-actuators based on conducting polymers. **Aspects on Fundamentals and Applications of Conducting Polymers**, p. 88–112, 2017.
- ASSIS, A. M. L.; COSTA, C. V.; RIBEIRO, A. S. Eletroquímica Forense aplicada na revelação de impressões digitais latentes. **Revista Brasileira de Ciências Policiais**, v. 11, n. 3, p. 49–67, 2020.
- AZOURY, M. *et al.* The Effect of 1,2-Indanedione, a Latent Fingerprint Reagent on Subsequent DNA Profiling. **Journal of Forensic Sciences**, v. 47, n. 3, 2002.
- BALOGH, M. K. *et al.* Fingerprints from fingerprints. **International Congress Series**, v. 1239, n. C, p. 953–957, 2003a.
- BALOGH, M. K. *et al.* STR genotyping and mtDNA sequencing of latent fingerprint on paper. **Forensic Science International**, v. 137, n. 2–3, p. 188–195, 2003b.
- BANDEY, H. L. Fingerprint Development and Imaging Newsletter: Special Edition. **HOSDB Investigation, Enforcement and Protection Sector**, v. 54/04, p. 1–12, 2004.
- BANDEY, H. L.; GIBSON, A. P. Fingerprint Development and Imaging Newsletter : Special Edition. **HOSDB Investigation, Enforcement and Protection Sector**, v. 08/06, p. 1–16, 2006.

- BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. Mass Transfer by Migration and Diffusion. In: **Electrochemical methods: fundamentals and applications**. 2. ed. New York: John Wiley & Sons, 2001.
- BASTOS, G. V. **Utilização do kit DNA IQ™ system na extração de dna por lise diferencial em amostras coletadas de vítimas de crime sexual**. Dissertação: Departamento de Biologia Celular e Molecular- Universidade Federal da Paraíba, 2018.
- BERESFORD, A. L. *et al.* Comparative Study of Electrochromic Enhancement of Latent Fingerprints with Existing Development Techniques*. **Journal of Forensic Sciences**, v. 57, n. 1, p. 93–102, jan. 2012.
- BERESFORD, A. L. **The electrochromic enhancement of latent fingerprints on metal surfaces**. Tese: Department of Chemistry - University of Leicester, 2013.
- BERESFORD, A. L.; HILLMAN, A. R. Electrochromic Enhancement of Latent Fingerprints on Stainless Steel Surfaces. **Analytical Chemistry**, v. 82, n. 2, p. 483–486, 15 jan. 2010.
- BERSELLINI, C. *et al.* Development of Latent Fingerprints on Metallic Surfaces Using Electropolymerization Processes. **Journal of Forensic Sciences**, v. 46, n. 4, p. 15060J, 1 jul. 2001.
- BHARAT, L. K.; NAGARAJU, G.; YU, J. S. Hexadentate ligand-assisted wet-chemical approach to rare-earth free self-luminescent cocoon-shaped barium orthovanadate nanoparticles for latent fingerprint visualization. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 271, p. 164–173, out. 2018.
- BIDAN, G. Electropolymerized Films of π -Conjugated Polymers. A Tool for Surface Functionalization: a Brief Historical Evolution and Recent Trends. In: **Electropolymerization - Concepts, Materials and Applications**. 1. ed. Weinheim: WILEY-VCH, 2010. p. 1–26.
- BLEAY, S. M.; CROXTON, R. S.; DE PUIT, M. **Fingerprint Development Techniques**. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2018.
- BROOKS, T. *et al.* **The Internal Validation of Life Technologies® Quantifiler® Trio and Qiagen® Investigator® Quantiplex HYres DNA Quantification Kits, and a Comparative Analysis to Life Technologies® Quantifiler® Duo**. Disponível em: <<http://www.marshall.edu/forensics/files/Brooks-Taylor-Research-Paper-8.7.15.pdf>>.
- BROWN, R. M.; HILLMAN, A. R. Electrochromic enhancement of latent fingerprints by poly(3,4-ethylenedioxythiophene). **Phys. Chem.**, v. 14, n. 24, p. 8653–8661, 2012.
- BRUNI, A. T.; VELHO, J. A.; OLIVEIRA, M. F. **Fundamentos de Química Forense - Uma Análise Prática da Química que Soluciona Crimes**. 2. ed. Campinas: Millennium, 2019.
- BUDOWLE, B. *et al.* Low copy number - consideration and caution. **Proceedings of the 12th international symposium on human identification**, p. 9–12, 2001.
- BUMBRAH, G. S. Cyanoacrylate fuming method for detection of latent fingermarks: a review. **Egyptian Journal of Forensic Sciences**, v. 7, n. 1, 2017.
- BURRILL, J.; DANIEL, B.; FRASCIONE, N. A review of trace “Touch DNA” deposits: Variability factors and an exploration of cellular composition. **Forensic Science International: Genetics**, v. 39, n. May 2018, p. 8–18, 2019.
- BUTLER, J. M. **Forensic DNA Typing**. 2. ed. USA: Elsevier, 2005.
- BUTLER, J. M. **Fundamentals of Forensic DNA Typing**. 1. ed. USA: Academic Press Elsevier, 2010.

- BUTLER, J. M. **Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology**. 1. ed. USA: Elsevier, 2012.
- BUTLER, J. M.; HILL, C. R. **Scientific Issues with Analysis of Low Amounts of DNA**. Disponível em: <<https://www.promega.com.br/resources/profiles-in-dna/2010/scientific-issues-with-analysis-of-low-amounts-of-dna/>>. Acesso em: 18 maio. 2021.
- CADD, S. *et al.* Fingerprint composition and aging: A literature review. **Science & Justice**, 2015.
- CALACAL, G. C. *et al.* Improved autosomal STR typing of degraded femur samples extracted using a custom demineralization buffer and DNA IQTM. **Forensic Science International: Synergy**, v. 3, p. 100131, 2021.
- CAMURLU, P. Polypyrrole derivatives for electrochromic applications. **RSC Adv.**, v. 4, n. 99, p. 55832–55845, 2014.
- CHAMPOD, C. *et al.* **Fingerprints and Other Ridge Skin Impressions**. 1. ed. USA: CRC Press LLC, 2004.
- CHAUHAN, M. *et al.* Conducting Polymers and Metal-Organic Frameworks as Advanced Materials for Development of Nanosensors. In: **Advances in Nanosensors for Biological and Environmental Analysis**. UK: Elsevier Inc., 2019. p. 43–62.
- CHEN, H. *et al.* Fluorescence Development of Latent Fingerprint with Conjugated Polymer Nanoparticles in Aqueous Colloidal Solution. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 9, n. 5, p. 4908–4915, 2017a.
- CHEN, H. *et al.* Fluorescence Development of Latent Fingerprint with Conjugated Polymer Nanoparticles in Aqueous Colloidal Solution. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 9, n. 5, p. 4908–4915, 2017b.
- CHOI, M. J. *et al.* Study of Sweat Content Analysis and Latent Fingerprint Developing. **Anal. Sci. Technol**, v. 20, p. 147–159, 2007a.
- CHOI, M. J. *et al.* Study on Individual Characterization of Sweat Components. **Anal. Sci. Technol**, v. 20, p. 434–441, 2007b.
- CHOUGULE, M. A. *et al.* Synthesis and Characterization of Polypyrrole (PPy) Thin Films. **Soft Nanoscience Letters**, v. 01, n. 01, p. 6–10, 2011.
- CHRISTOFIDIS, G.; MORRISSEY, J.; BIRKETT, J. W. Detection of Fingermarks - Applicability to Metallic Surfaces: A Literature Review. **Journal of Forensic Sciences**, v. 63, n. 6, p. 1616–1627, 2018.
- CORMACK, D. H. **Essential Histology**. 2. ed. USA: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
- COSNIER, S.; KARYAKIN, A. **Electropolymerization - Concepts, Materials and Applications**. 1. ed. Weinheim: WILEY-VCH, 2010.
- COSTA B., M. F. *et al.* SATS@CdTe hierarchical structures emitting green to red colors developed for latent fingerprint applications. **Dyes and Pigments**, v. 180, n. January, p. 108483, set. 2020.
- COSTA, C. V. **Inovação em Biometria Forense: Polímeros Condutores Aplicados a Revelação de Impressões Digitais Latentes**. Dissertação: Instituto de Química e Biotecnologia - Universidade Federal de Alagoas, 2020.

COSTA, C. V. *et al.* Bilayer systems based on conjugated polymers for fluorescence development of latent fingerprints on stainless steel. **Synthetic Metals**, v. 262, 2020a.

COSTA, C. V. *et al.* A low-potential electrochemical method for fast development of latent fingerprints on brass cartridge cases by electrodeposition of poly(3,4-ethylenedioxythiophene). **Nano Select**, v. 1, n. 4, p. 405–412, 31 out. 2020b.

CROCHOT, W. **DNA structure**. Disponível em:

<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:DNA_structure_formula_numbered.svg>. Acesso em: 26 abr. 2021.

CROXTON, R. S. *et al.* Variation in amino acid and lipid composition of latent fingerprints. **Forensic Science International**, v. 199, n. 1–3, p. 93–102, 2010.

CUCÈ, P. *et al.* Small particle reagents technique can help to point out wet latent fingerprints. **Forensic Science International**, v. 146, p. S7–S8, dez. 2004.

DANIELSON, P.; MCKIERNAN, H.; MILNTHORP, H. Evaluation and Optimization of DNA Recovery and Amplification from Bullet Cartridge Cases. **NCJRS National Criminal Justice Reference Service**, n. 254337, p. 1–47, 2019.

DE PAOLI, M.-A. *et al.* An electrically conductive plastic composite derived from polypyrrole and poly(vinyl chloride). **Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition**, v. 23, n. 6, p. 1687–1698, jun. 1985.

DE PAOLI, M.-A.; GAZOTTI, W. A. Conductive polymer blends: preparation, properties and applications. **Macromolecular Symposia**, v. 189, n. 1, p. 83–104, nov. 2002.

DIAS DA SILVA, M. A. *et al.* **Estude Histologia**. Disponível em:

<<https://sites.google.com/site/estudehistologia/>>. Acesso em: 25 abr. 2021.

DIAS FILHO, C. R. *et al.* **Introdução à Genética Forense**. 1. ed. Campinas: Millennium, 2020.

DIAS FILHO, C. R.; GARRIDO, R. G.; CÂNDIDO, I. M. Cadeia de custódia, coleta e acondicionamento de amostras forenses para fins de exames de DNA. In: **Introdução à Genética Forense**. 1. ed. Campinas: Millennium, 2020. p. 41–65.

DIAZ, A. F.; KANAZAWA, K. K.; GARDINI, G. P. Electrochemical polymerization of pyrrole. **J. Chem. Soc. Chem. Commun**, p. 635–636, 1979.

DIELTJES, P. *et al.* A sensitive method to extract DNA from biological traces present on ammunition for the purpose of genetic profiling. **International Journal of Legal Medicine**, v. 125, n. 4, p. 597–602, 2011.

DOMINICK, A. J.; LAING, K. A comparison of six fingerprint enhancement techniques for the recovery of latent fingerprints from unfired cartridge cases. **Journal of Forensic Identification**, v. 61, n. 2, p. 155–165, 2011.

DORAKUMBURA, B. N.; BUSETTI, F.; LEWIS, S. W. Investigations into sampling approaches for chemical analysis of latent fingerprint residue. **Forensic Chemistry**, v. 14, n. April, p. 100166, 2019.

DOREA, L. E. **Local de Crime**. 2. ed. Porto Alegre: Sagra-Luzzatto, 1995.

ELBARDISY, H. M. *et al.* Forensic Electrochemistry: The Electroanalytical Sensing of Mephedrone Metabolites. **ACS Omega**, v. 4, n. 1, p. 1947–1954, 2019.

- ELWICK, K.; MAYES, C.; HUGHES-STAMM, S. Comparative sensitivity and inhibitor tolerance of GlobalFiler® PCR Amplification and Investigator® 24plex QS kits for challenging samples. **Legal Medicine**, v. 32, p. 31–36, 2018.
- EMBRAPA. **Fundamentos teórico-práticos e protocolos de extração e de amplificação de DNA por meio da técnica de reação em cadeia da polimerase**. 1. ed. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2007.
- ENFSI. Best Practice Manual for Fingerprint Examination ENFSI-BPM-FIN-01. **European Network of Forensic Science Institutes**, v. 01, n. November, p. 1–60, 2015.
- FAEZ, R. *et al.* Polímeros Condutores. **Química Nova na Escola**, v. 11, 2000.
- FÄRBER, D. *et al.* Recovery of Latent Fingerprints and DNA on Human Skin*. **Journal of Forensic Sciences**, v. 55, n. 6, p. 1457–1461, nov. 2010.
- FIGINI, A. R. L. **Identificação Humana**. 2. ed. Campinas: Millennium, 2006.
- FIGINI, A. R. L. *et al.* A identificação humana por meio das impressões digitais e o confronto datiloscópico. In: **Datilosopia e Revelação de Impressões Digitais**. 1. ed. Campinas: Millennium, 2012. p. 67–97.
- FIGINI, A. R. L. **Datilosopia e revelação de impressões digitais**. 1. ed. Campinas: Millennium, 2012.
- FIGINI, A. R. L. Papilosopia e Revelação de Impressões Papilares. In: **Ciências Forenses: uma introdução às principais áreas da Criminalística Moderna**. 2. ed. Campinas: Millennium, 2013.
- FINDLAY, I. *et al.* DNA fingerprinting from single cells [10]. **Nature**, v. 389, n. 6651, p. 555–556, 1997.
- FLORES, S. *et al.* Internal validation of the GlobalFiler™ Express PCR Amplification Kit for the direct amplification of reference DNA samples on a high-throughput automated workflow. **Forensic Science International: Genetics**, v. 10, p. 33–39, maio 2014.
- FRÉGEAU, C. J.; LETT, C. M.; FOURNEY, R. M. Validation of a DNA IQ™-based extraction method for TECAN robotic liquid handling workstations for processing casework. **Forensic Science International: Genetics**, v. 4, n. 5, p. 292–304, out. 2010.
- FRICK, A. A. *et al.* Monitoring compositional changes of the lipid fraction of fingermark residues deposited on paper during storage. **Forensic Chemistry**, v. 2, p. 29–36, 2016.
- FUNG, T. C. *et al.* Investigation of hydrogen cyanide generation from the cyanoacrylate fuming process used for latent fingermark detection. **Forensic Science International**, v. 212, n. 1–3, p. 143–149, 2011.
- FU, Y. *et al.* Fluorene–thiophene-based thin-film fluorescent chemosensor for methamphetamine vapor by thiophene–amine interaction. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 180, p. 2–7, abr. 2013.
- GALANTE FILHO, H. **Identificação Humana**. Porto Alegre: Sagra-Luzzatto, 1999.
- GHUBISH, Z. *et al.* Novel red photoluminescence sensor based on Europium ion doped calcium hydroxy stannate CaSn(OH)6:Eu³⁺ for latent fingerprint detection. **Journal of Molecular Structure**, v. 1207, p. 127840, maio 2020.
- GILL, P. *et al.* An investigation of the rigor of interpretation rules for STRs derived from less than 100 pg of DNA. **Forensic Science International**, v. 112, n. 1, p. 17–40, 2000.

- GILL, P. Application of low copy number DNA profiling. **Croatian Medical Journal**, v. 42, n. 3, p. 229–232, 2001.
- GILL, P. Improving the sensitivity of DNA profiling tests. **Forensic Science**, p. 38, 2005.
- GIRELLI, C. M. A. *et al.* Comparison of practical techniques to develop latent fingerprints on fired and unfired cartridge cases. **Forensic Science International**, v. 250, p. 17–26, 2015.
- GIRELLI, C. M. A. *et al.* Recovery of latent fingerprints from brass cartridge cases: Evaluation of developers, analysis of surfaces and internal ballistic effects. **Forensic Science International**, v. 290, p. 258–278, 2018.
- GIRELLI, C. M. A.; SEGATTO, B. R. Identification of a Suspect in a Murder Case through Recovery of Fingerprints from a Fired Cartridge Case. **Journal of Forensic Sciences**, v. 64, n. 5, p. 1520–1522, 22 set. 2019.
- GIROD, A. *et al.* Aging of target lipid parameters in fingerprint residue using GC/MS: Effects of influence factors and perspectives for dating purposes. **Science and Justice**, v. 56, n. 3, p. 165–180, 2016.
- GIROD, A.; RAMOTOWSKI, R.; WEYERMANN, C. Composition of fingerprint residue: A qualitative and quantitative review. **Forensic Science International**, v. 223, n. 1–3, p. 10–24, 2012.
- GIUSTINA, A. C. B. D.; RODRIGUES, E. L.; ARAUJO FILHO, V. S. A. Reação em cadeia da polimerase. In: **Introdução à Genética Forense**. 1. ed. Campinas: Millennium, 2020.
- GOLDENBERGER, D.; RITZLER, M.; ALTWEGG, M. A Simple " Universal " DNA Extraction Procedure Using SDS and Proteinase K Is Compatible with Direct PCR Amplification. **Cold Spring Harbor Laboratory Press**, v. 1, p. 368–371, 1995.
- GOODWIN, W.; LINACRE, A.; HADI, S. **An Introduction to Forensic Genetics**. 1. ed. UK: John Wiley & Sons, 2007.
- GOUJAA, M. *et al.* Spectroscopic characterization of Er,Yb:Y₂Ti₂O₇ phosphor for latent fingerprint detection. **Physica B: Condensed Matter**, v. 582, p. 412009, abr. 2020.
- GOUVEIA, N. *et al.* Validation of Quantifiler® Trio DNA Quantification kit in forensic samples. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, v. 5, p. e24–e25, 2015.
- GREENSPOON, S. A.; BAN, J. **Robotic extraction of mock sexual assault samples using the Biomek® 2000 and the DNA IQ™ System**. Disponível em: <<https://www.promega.com.br/resources/profiles-in-dna/2002/robotic-extraction-of-mock-sexual-assault-samples-using-the-biomek-2000-and-the-dna-iq-system/>>. Acesso em: 19 maio. 2021.
- GRIJALE BIOMETRICS. **Griuale Forensic Fingerprint 2010 - Manual**. Disponível em: <<https://www.griualebiometrics.com/>>.
- HARREL, M.; GANGITANO, D.; HUGHES-STAMM, S. The effects of extra PCR cycles when amplifying skeletal samples with the GlobalFiler® PCR Amplification Kit. **International Journal of Legal Medicine**, v. 133, n. 3, p. 745–750, 29 maio 2019.
- HEFETZ, I. *et al.* Touch DNA: The effect of the deposition pressure on the quality of latent fingerprints and STR profiles. **Forensic Science International: Genetics**, v. 38, p. 105–112, 2019.

- HILLMAN, A. R.; MALLIN, E. F. Nucleation and growth of polythiophene films on gold electrodes. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, v. 220, n. 2, p. 351–367, abr. 1987.
- HOLT, A. *et al.* Developmental validation of the Quantifiler® HP and Trio Kits for human DNA quantification in forensic samples. **Forensic Science International: Genetics**, v. 21, p. 145–157, 2016.
- HORSMAN-HALL, K. M. *et al.* Development of STR profiles from firearms and fired cartridge cases. **Forensic Science International: Genetics**, v. 3, n. 4, p. 242–250, 2009.
- HUTCHINS, L. A. Systems of Friction Ridge Classification. In: **The Fingerprint Sourcebook**. 1. ed. USA: National Institute of Justice, 2012.
- HWANG, B. J.; SANTHANAM, R.; LIN, Y. L. Nucleation and growth mechanism of electroformation of polypyrrole on a heat-treated gold/highly oriented pyrolytic graphite. **Electrochimica Acta**, v. 46, n. 18, p. 2843–2853, maio 2001.
- IFRG. Guidelines for the assessment of fingermark detection techniques. **International Fingerprint Research Group**, v. 1, n. January, p. 1–19, 2014a.
- IFRG. International Fingerprint Research Group - Guidelines for the Assessment of Fingermark Detection Techniques. **Journal of Forensic Identification**, v. 64, n. 2, p. 174–200, 2014b.
- INTERNATIONAL HUMAN GENOME SEQUENCING CONSORTIUM. Initial sequencing and analysis of the human genome. **Nature**, v. 409, n. 6822, p. 860–921, 15 fev. 2001.
- JUNQUEIRA, L. C. **Basic Histology**. 11. ed. USA: McGraw Hill, 2005.
- KANODARWALA, F. K. *et al.* Nanoparticles used for fingermark detection - A comprehensive review. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Forensic Science**, v. 1, n. 5, p. 1–41, 2019.
- KEISAR, O. *et al.* Measuring the water content in freshly-deposited fingermarks. **Forensic Science International**, v. 294, p. 204–210, 2019.
- KUMAR, K. N. *et al.* Bright red-luminescence of Eu³⁺-ion-activated La₁₀W₂O₈₁ microphosphors for noncytotoxic latent fingerprint imaging. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 840, p. 155589, nov. 2020.
- KUMAR, P. *et al.* Effects of latent fingerprint development reagents on subsequent forensic DNA typing: A review. **Journal of Forensic and Legal Medicine**, v. 32, p. 64–69, 2015.
- LEE, H. C.; LADD, C. Preservation and Collection of Biological Evidence. **Croatian Medical Journal**, v. 42, n. 3, p. 225–228, 2001.
- LEE, T.; SHIM, Y. Direct DNA Hybridization Detection Based on the Oligonucleotide-Functionalized Conductive. v. 73, n. 22, p. 5629–5632, 2001.
- LIAN, J. *et al.* Recent Trends in Fluorescent Organic Materials for Latent Fingerprint Imaging. **Frontiers in Chemistry**, v. 8, 9 nov. 2020.
- LI, Y. *et al.* Simultaneous extraction of level 2 and level 3 characteristics from latent fingerprints imaged with quantum dots for improved fingerprint analysis. **Chinese Chemical Letters**, v. 28, n. 10, p. 1961–1964, out. 2017.
- LOWE, A. *et al.* Use of low copy number DNA in forensic inference. **International Congress Series**, v. 1239, n. C, p. 799–801, 2003.

- LOZANO, K. *et al.* Electrochemical and associated techniques for the study of the inclusion complexes of thymol and β - cyclodextrin and its interaction with DNA. **J Solid State Electrochem**, v. 22, n. 5, p. 1483–1493, 2018.
- MACEO, A. V. Anatomy and Physiology of Adult Friction Ridge Skin. In: **The Fingerprint Sourcebook**. 1. ed. Washington DC: National Institute of Justice, 2012. p. 25–50.
- MARIOTTI, K. C. Perícia Papiloscópica: Métodos Espectrométricos e Espectroscópicos Aplicados à Análise Química de Impressões Digitais. **Brazilian Journal of Forensic Sciences, Medical Law and Bioethics**, v. 9, n. 2, p. 210–228, 2020.
- MARTÍN, P. *et al.* Improving DNA data exchange: Validation studies on a single 6 dye STR kit with 24 loci. **Forensic Science International: Genetics**, v. 13, p. 68–78, 2014.
- MAZZINI JUNIOR, E. G. *et al.* Fluorescent polymer nanofibers based on polycaprolactone and dansyl derivatives for development of latent fingerprints. **J Appl Polym Sci**, n. e49804, 2020.
- MEAKIN, G.; JAMIESON, A. DNA transfer: Review and implications for casework. **Forensic Science International: Genetics**, v. 7, n. 4, p. 434–443, jul. 2013.
- MICHALANY, N. S.; MICHALANY, J. **Anatomia e Histologia da Pele**. 1. ed. São Paulo: Lemos, 2002.
- MICHALSKI, S.; SHALER, R.; DORMAN, F. L. The Evaluation of Fatty Acid Ratios in Latent Fingermarks by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS) Analysis. **Journal of Forensic Sciences**, v. 58, n. SUPPL. 1, 2013.
- MINATTI, E.; ZANETTE, D. Salt effects on the interaction of poly(ethylene oxide) and sodium dodecyl sulfate measured by conductivity. **Colloids and Surfaces**, v. 113, n. 3, p. 237–246, 1996.
- MONG, G. M.; PETERSEN, C. E.; CLAUSS, T. R. W. Advanced fingerprint analysis project fingerprint constituents. **Pacific Northwest National Laboratory**, v. Technical, p. 1–48, 1999.
- MONTPETIT, S.; O'DONNELL, P. An optimized procedure for obtaining DNA from fired and unfired ammunition. **Forensic Science International: Genetics**, v. 17, p. 70–74, 2015.
- MORAES, S. L.; REZENDE, M. O. O. Determination of the critical micelle concentration of humic acids by spectroscopy and conductimetric measurements. **Quím. Nova**, v. 27, n. 5, p. 701–705, 2004.
- MOSES, K. R. Automated Fingerprint Identification System (AFIS). In: **The Fingerprint Sourcebook**. 1. ed. Washington DC: U. S. National Institute of Justice, 2012. p. 6-1-6–23.
- MULLER, K. Conductive Polymers. In: **Fundamentals of Electrochemistry**. 2. ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2006. p. 449–466.
- MURRAY, C. *et al.* Use of Low Copy Number (Lcn) Dna in Forensic Inference. **Promega Proceedings**, p. 2–7, 2001.
- NG, P. H. R. *et al.* Detection of illicit substances in fingerprints by infrared spectral imaging. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 394, n. 8, p. 2039–2048, 2009.
- NINFA, A.; BALLOU, D.; BENOIRE, M. **Fundamental Laboratory Approaches for Biochemistry and Biotechnology**. 1. ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2009.
- NIU, P. *et al.* CdTe@SiO₂/Ag nanocomposites as antibacterial fluorescent markers for enhanced latent fingerprint detection. **Dyes and Pigments**, v. 119, p. 1–11, ago. 2015.

- NIZAN, F.; KNAAP, W.; STEWART, J. D. Development of Fingerprints using Electrolysis: A Technical Report into the Development of Fingerprints on Fired Brass Cartridge Cases. **Journal of Forensic Identification**, v. 62, n. 2, p. 129–142, 2012.
- NOGUEIRA, F. A. R. **Síntese e caracterização de derivados de polipirrol para aplicação em dispositivos eletrônicos**. Dissertação: Instituto de Química e Biotecnologia - Universidade Federal de Alagoas, 2010.
- NUNN, S. Touch DNA Collection Versus Firearm Fingerprinting: Comparing Evidence Production and Identification Outcomes. **Journal of Forensic Sciences**, v. 58, n. 3, p. 601–608, 2013.
- PAINE, M. *et al.* The effect of relative humidity on the effectiveness of the cyanoacrylate fuming process for fingermark development and on the microstructure of the developed marks. **Forensic Science International**, v. 212, n. 1–3, p. 130–142, 2011.
- PANG, B. C. M.; CHEUNG, B. K. K. Double swab technique for collecting touched evidence. **Legal Medicine**, v. 9, n. 4, p. 181–184, jul. 2007.
- PATOIS, T. *et al.* Characterization of the surface properties of polypyrrole films: influence of electrodeposition parameters. **Synthetic Metals**, v. 161, n. 21–22, p. 2498–2505, 2011.
- PEREIRA, P. M.; FRANCEZ, P. A. C.; ALMEIDA, R. M. Extração de DNA. In: **Introdução à Genética Forense**. 1. ed. Campinas: Millennium, 2020. p. 123–138.
- PERES, R. C. D.; DE PAOLI, M.-A.; TORRESI, R. M. The role of ion exchange in the redox processes of polypyrrole/dodecyl sulfate films as studied by electrogravimetry using a quartz crystal microbalance. **Synthetic Metals**, v. 48, n. 3, p. 259–270, jul. 1992.
- PERES, R. C. D.; PERNAUT, J. M.; DE PAOLI, M.-A. Properties of poly(pyrrole) films electrochemically synthesized in the presence of surfactants. **Synthetic Metals**, v. 28, n. 1–2, p. 59–64, jan. 1989.
- PERNAUT, J. M. *et al.* Electrochemical study of polypyrrole/dodecyl sulphate. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, v. 274, n. 1–2, p. 225–233, dez. 1989.
- PESARESI, M. *et al.* Qualitative and quantitative analysis of DNA recovered from fingerprints. **International Congress Series**, v. 1239, n. C, p. 947–951, 2003.
- POLLEY, D. *et al.* An investigation of dna recovery from firearms and cartridge cases. **Journal of the Canadian Society of Forensic Science**, v. 39, n. 4, p. 217–228, 2006.
- POLLITT, J. N. *et al.* Vacuum metal deposition enhancement of friction ridge detail on ballistic materials. **Forensic Science International**, v. 316, p. 110551, nov. 2020.
- PRABAKARAN, E.; PILLAY, K. Nanomaterials for Latent Fingerprint Detection-A Review. **Journal of Materials Research and Technology**, v. 12, n. May-June, p. 1856–1885, abr. 2021.
- PROMEGA. **Validation Guide for the DNA IQ™ Reference Sample Kit for Maxwell™ 16**. Disponível em: <<https://www.promega.com.br/resources/pubhub/applications-notes/validation-guide-for-the-dna-iq-reference-sample-kit-for-maxwell-16/>>.
- PROMEGA. **DNA IQ™ System - Database Protocol**. Madison: Promega, 2016.
- RABELLO, E. **Curso de Criminalística: sugestão de programa para as faculdades de Direito**. 1. ed. Porto Alegre: Sagra D C Luzzato, 1996.

- RAMOTOWSKI, R. S. Composition of Latent Print Residue. In: **Advances in Fingerprint Technology**. 2. ed. London: CRC Press LLC, 2001. p. 76–117.
- RAYMOND, J. J. *et al.* Trace DNA success rates relating to volume crime offences. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, v. 2, n. 1, p. 136–137, 2009a.
- RAYMOND, J. J. *et al.* Trace DNA and street robbery: A criminalistic approach to DNA evidence. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, v. 2, n. 1, p. 544–546, 2009b.
- RIBEIRO, A. S.; MORTIMER, R. J. Conjugated conducting polymers with electrochromic and fluorescent properties. In: **Electrochemistry**. 13. ed. UK: The Royal Society of Chemistry, 2016. p. 21–49.
- RIZZATTI, I. M.; ZANETTE, D. R.; MELLO, L. C. Determinação potenciométrica da concentração micelar crítica de surfactantes: uma nova aplicação metodológica no ensino de Química. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 518–521, 2009.
- RODRIGUES, E. L.; GARRIDO, R. G. Quantificação de DNA =. In: **Introdução à Genética Forense**. 1. ed. Campinas: Millennium, 2020a. p. 141–162.
- RODRIGUES, E. L.; GARRIDO, R. G. Eletroforese capilar. In: **Introdução à Genética Forense**. 1. ed. Campinas: Millennium, 2020b.
- SADKI, S. *et al.* The mechanisms of pyrrole electropolymerization. **Chemical Society Reviews**, v. 29, n. 5, p. 283–293, 2000.
- SAPSTEAD, R. M. *et al.* Nanoscale control of interfacial processes for latent fingerprint enhancement. **Faraday Discussions**, v. 164, p. 391, 2013.
- SAPSTEAD, R. M.; CORDEN, N.; HILLMAN, A. R. Latent fingerprint enhancement via conducting electrochromic copolymer films of pyrrole and 3,4-ethylenedioxythiophene on stainless steel. **Electrochimica Acta**, v. 162, p. 119–128, abr. 2015.
- SARI, S. A.; QALBIAH, U.; PUTRI, I. C. Comparison between latent fingerprint identification using black powder and cyanoacrylate glue. **Asian Journal of Chemistry**, v. 30, n. 12, p. 2615–2620, 2018.
- SAUNDERS, S. *et al.* **Internal Validation of the Applied Biosystems® GlobalFiler™ Express PCR Amplification Kit**. Disponível em: <<https://www.marshall.edu/forensics/files/SAUNDERSHANNA-FINAL-Poster-3-31-14.pdf>>. Acesso em: 20 maio. 2021.
- SCHULZ, M. M. *et al.* Ninhydrin-dyed latent fingerprints as a DNA source in a murder case. **Journal of Clinical Forensic Medicine**, v. 11, n. 4, p. 202–204, 2004.
- SCHULZ, M. M.; REICHERT, W. Archived or directly swabbed latent fingerprints as a DNA source for STR typing. **Forensic Science International**, v. 127, n. 1–2, p. 128–130, 2002.
- SEARS, V. G. *et al.* A methodology for finger mark research. **Science & Justice**, v. 52, n. 3, p. 145–160, 2012.
- SÉRGIO SOBRINHO, M. **A Identificação Criminal**. 1. ed. São Paulo: Revista dos Tribunais, 2003.
- SESSA, F. *et al.* Touch DNA: impact of handling time on touch deposit and evaluation of different recovery techniques: An experimental study. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 9542, 2 dez. 2019.

- SHALHOUB, R. *et al.* The recovery of latent fingerprints and DNA using a silicone-based casting material. **Forensic Science International**, v. 178, n. 2–3, p. 199–203, jul. 2008.
- SILVA, L. A. F.; PASSOS, N. S. **DNA Forense - Coleta de Amostras Biológicas Em Locais de Crime Para Estudo do DNA**. 1. ed. Maceió: Editora UFAL, 2006.
- SILVA, L. L. *et al.* Electrochemical and calorimetric investigation of interaction of novel biscationic anticancer agents with DNA. **Quim. Nova**, v. 35, n. 7, p. 1318–1324, 2012.
- SINELNIKOV, A.; REICH, K. Materials and methods that allow fingerprint analysis and DNA profiling from the same latent evidence. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, v. 6, n. September, p. e40–e42, 2017.
- SIRCHIE. **DNA-Free Latent Print Processing**. Disponível em: <<https://www.sirchie.com/forensics/latent-print-development/dna-free-latent-print-processing.html>>. Acesso em: 3 maio. 2021.
- SODHI, G. S.; KAUR, J. Powder method for detecting latent fingerprints: A review. **Forensic Science International**, v. 120, n. 3, p. 172–176, 2001.
- SODHI, G. S.; KAUR, J. Physical developer method for detection of latent fingerprints: A review. **Egyptian Journal of Forensic Sciences**, v. 6, n. 2, p. 44–47, 2016.
- SOLTYSZEWSKI, I. *et al.* Fingerprint detection and DNA typing on objects recovered from water. **Journal of Forensic Identification**, v. 57, n. 5, p. 681–687, 2007.
- SUBHANI, Z.; DANIEL, B.; FRASCIONE, N. DNA Profiles from Fingerprint Lifts—Enhancing the Evidential Value of Fingermarks Through Successful DNA Typing. **Journal of Forensic Sciences**, v. 64, n. 1, p. 201–206, 2019.
- SULLIVAN, K. J. Optimized Development of Latent Fingerprints on Unfired and Fired Brass Cartridge Casings. **Marshall University Forensic Science**, p. 1–20, 2014.
- SZABÓOVÁ, Ž. *et al.* GC–MS/MS method for age determination of fingerprints. **Monatshefte für Chemie**, v. 148, n. 9, p. 1673–1678, 2017.
- SZKUTA, B.; OORSCHOT, R. A. H. VAN; BALLANTYNE, K. N. DNA decontamination of fingerprint brushes. **Forensic Science International**, v. 277, p. 41–50, ago. 2017.
- SZYKOWSKA, M. I. *et al.* ToF-SIMS application in the visualization and analysis of fingerprints after contact with amphetamine drugs. **Forensic Science International**, v. 184, n. 1–3, p. 2008–2010, 2009.
- TANG, H.-W. *et al.* Gold Nanoparticles and Imaging Mass Spectrometry: Double Imaging of Latent Fingerprints. **Analytical Chemistry**, v. 82, n. 5, p. 1589–1593, mar. 2010.
- TANG, J. *et al.* Touch DNA in forensic science: The use of laboratory-created eccrine fingerprints to quantify DNA loss. **Forensic Science International: Synergy**, v. 2, p. 1–16, 2020.
- TESCAN. **Tescan Vega3 Manual**. Disponível em: <https://www.csuchico.edu/sem/_assets/documents/vega-manual-2014.pdf>. Acesso em: 7 jun. 2021.
- THE HUMAN PROTEIN ATLAS. **The Human Protein Atlas**. Disponível em: <<https://www.proteinatlas.org/ENSG00000167754-KLK5/tissue/skin#img>>. Acesso em: 16 abr. 2021.

- TOZZO, P. *et al.* Effect of dactyloscopic powders on DNA profiling from enhanced fingerprints: Results from an experimental study. **American Journal of Forensic Medicine and Pathology**, v. 35, n. 1, p. 68–72, 2014.
- UNTIVEROS, K. L. *et al.* An Electrochemical biosensor based on Hairpin-DNA modified Gold electrode for detection of DNA damage by a Hybrid Cancer Drug Intercalation. **Biosensors and Bioelectronic**, v. 19, n. 30229–5, p. 0956–5663, 2019.
- VAN HELMOND, W. *et al.* Chemical profiling of fingerprints using mass spectrometry. **Forensic Chemistry**, v. 16, n. August, p. 100183, 2019.
- VAN HOOFFSTAT, D. E. O. *et al.* DNA typing of fingerprints using capillary electrophoresis: Effect of dactyloscopic powders. **Electrophoresis**, v. 20, n. 14, p. 2870–2876, 1999.
- VAN OORSCHOT, R. A. H.; JONES, M. K. DNA fingerprints from fingerprints. **Nature**, v. 387, n. 6635, p. 767, 1997.
- VELHO, J. A.; GEISER, G. C.; ESPINDULA, A. **Ciências Forenses: uma introdução às principais áreas da criminalística moderna**. 2. ed. Campinas: Millennium, 2013.
- VIEIRA, S. **Bioestatística - Tópicos Avançados**. 4. ed. Rio de Janeiro: GEN Guanabara Koogan, 2018.
- VIEIRA-SILVA, C. *et al.* Quantifiler® Trio DNA validation and usefulness in casework samples. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, v. 5, p. e246–e247, 2015.
- VON WURMB, N.; MEISSNER, D.; WEGENER, R. Influence of cyanoacrylate on the efficiency of forensic PCRs. **Forensic Science International**, v. 124, n. 1, p. 11–16, 2001.
- VOROTYNTSEV, M. A.; ZINOVYEVA, V. A.; KONEV, D. V. Mechanisms of Electropolymerization and Redox Activity: Fundamental Aspects. In: **Electropolymerization - Concepts, Materials and Applications**. 1. ed. Weinheim: WILEY-VCH, 2010. p. 27–50.
- VSOFT. **Vsoft ABIS**. Disponível em: <<https://www.vsoft.com.br/solucoes/abis>>. Acesso em: 12 maio. 2021.
- WALLACE, G. G.; TSEKOURAS, G.; WANG, C. Inherently Conducting Polymers via Electropolymerization for Energy Conversion and Storage. In: **Electropolymerization - Concepts, Materials and Applications**. 1. ed. Weinheim, Germany: WILEY-VCH Verlag & Co, 2010. p. 215–240.
- WANG, M. *et al.* Fluorescent Nanomaterials for the Development of Latent Fingerprints in Forensic Sciences. **Adv. Funct. Mater.**, v. 27, n. 1606243, 2017.
- WANG, Y.; NORTHWOOD, D. O. An investigation into the nucleation and growth of an electropolymerized polypyrrole coating on a 316L stainless steel surface. **Thin Solid Films**, v. 516, n. 21, p. 7427–7432, set. 2008.
- WARGACKI, S. P.; LEWIS, L. A.; DADMUN, M. D. Enhancing the quality of aged latent fingerprints developed by superglue fuming: Loss and replenishment of initiator. **Journal of Forensic Sciences**, v. 53, n. 5, p. 1138–1144, 2008.
- WATKINS, D. R. L. *et al.* Revisiting single cell analysis in forensic science. **Nature Scientific Reports**, v. 11, n. 1, 2021.
- WERTHEIN, K. Embryology and Morphology of Friction Ridge Skin. In: **The Fingerprint Sourcebook**. 1. ed. Washington DC: National Institute of Justice, 2012.

- WEST, M. J.; WENT, M. J. The spectroscopic detection of drugs of abuse in fingerprints after development with powders and recovery with adhesive lifters. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 71, n. 5, p. 1984–1988, 2009.
- WICKENHEISER, R. Trace DNA: A Review, Discussion of Theory, and Application of the Transfer of Trace Quantities of DNA Through Skin Contact. **Journal of Forensic Sciences**, v. 47, n. 3, 1 maio 2002.
- WILLIAMS, G.; MCMURRAY, N. Latent fingermark visualisation using a scanning Kelvin probe. **Forensic Science International**, v. 167, n. 2–3, p. 102–109, abr. 2007.
- WOLFART, F. *et al.* Conducting polymers revisited: applications in energy, electrochromism and molecular recognition. **J Solid State Electrochem**, v. 21, n. 9, p. 2489–2515, 2017.
- XU, J. *et al.* A Modified Electrostatic Adsorption Apparatus for Latent Fingerprint Development on Unfired Cartridge Cases. **Journal of Forensic Sciences**, v. 62, n. 3, p. 776–781, maio 2017.
- YAMASHITA, B.; FRENCH, M. Latent Print Development. In: **The Fingerprint Sourcebook**. 1. ed. Washington DC: National Institute of Justice, 2012. p. 155–222.
- YILMAZ, F. **Conducting Polymers**. 1. ed. Rijeka, Croatia: InTechOpen, 2016.
- YI, N.; ABIDIAN, M. R. Conducting polymers and their biomedical applications. In: **Biosynthetic Polymers for Medical Applications**. 1. ed. UK: Elsevier, 2016. p. 243–276.
- YOON, J.-H. *et al.* Visualization of Sweat Fingerprints on Various Surfaces Using a Conjugated Polyelectrolyte. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 8, n. 36, p. 24025–24029, 14 set. 2016.
- YUAN, C. *et al.* Research progress in the latent fingerprint development based on electrochemical methods. **SCIENTIA SINICA Chimica**, v. 50, n. 3, p. 324–336, 1 mar. 2020.
- YU, P. H.; WALLACE, M. M. Effect of 1,2-indanedione on PCR-STR typing of fingerprints deposited on thermal and carbonless paper. **Forensic Science International**, v. 168, n. 2–3, p. 112–118, 2007.
- ZAGHLOUL, N. M.; SAMIR, T.; MEGAHED, H. M. Recovery of DNA from Fingerprints on Enhanced Different Paper Types. **Journal of Forensic Science & Criminology**, v. 7, n. 2, 2019.
- ZAMIR, A.; SPRINGER, E.; GLATTSTEIN, B. Fingerprints and DNA: STR typing of DNA extracted from adhesive tape after processing for fingerprints. **Journal of Forensic Sciences**, v. 45, n. 3, p. 687–699, 2000.
- ZENG, L. *et al.* Electrochemical determination of nonylphenol using differential pulse voltammetry based on a graphene – DNA-modified glassy carbon electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 703, p. 153–157, 2013.
- ZHANG, M.; GIRAULT, H. H. SECM for imaging and detection of latent fingerprints. **The Analyst**, v. 134, n. 1, p. 25–30, 2009.
- ZHENG, W. *et al.* The Role of Unbound Oligomers in the Nucleation and Growth of Electrodeposited Polypyrrole and Method for Preparing High Strength, High Conductivity Films. **Langmuir**, v. 28, n. 29, p. 10891–10897, 24 jul. 2012.