

ESTUDO DE IMPRESSÕES DIGITAIS LATENTES E NOVOS REVELADORES POR PAPER SPRAY MASS SPECTROMETRY (PS-MS)**Francisco M. Gomes^a, Claudio M. P. de Pereira^{b,c}, Kristiane C. Mariotti^{c,d}, Thieres M. Pereira^a, Nayara A. dos Santos^{a,c}, Hildegarde S. França^e e Wanderson Romão^{a,c,e,*}**^aLaboratório de Petrolômica e Química Forense, Departamento de Química, Universidade Federal do Espírito Santo, 29075-910 Vitória – ES, Brasil^bInstituto de Química e Geociências, Universidade Federal de Pelotas, 96010-900 Pelotas – RS, Brasil^cInstituto Nacional de Ciência e Tecnologia Forense, 90040-410 Porto Alegre – RS, Brasil^dDepartamento de Polícia Federal, Superintendência Regional, 90040-410 Porto Alegre – RS, Brasil^eInstituto Federal do Espírito Santo, 29106-010 Vila Velha – ES, Brasil

Recebido em 15/02/2023; aceito em 30/05/2023; publicado na web 02/08/2023

STUDY OF LATENT FINGERPRINTS AND NEW DEVELOPERS BY PAPER SPRAY MASS SPECTROMETRY (PS-MS). In the criminal sphere, it is extremely important to identify perpetrators of crimes based on latent fingerprints (invisible to the naked eye) revealed at crime scenes and their corresponding objects. The present work aimed to evaluate four synthetic analogues of curcumin as possible IDL developers, and to compare their results with those of carbon black developer, as well as to reach the most adequate parameters in the use of the LTQ and FT-ICR mass spectrometers with the paper spray ionization (PS) source to study the chemical composition of the endogenous substances contained in the IDL. For this, a 2⁴ factorial design was developed, where it was verified that the distance and voltage factors were the most influential for the increase in the response of signals, in the analysis of latent fingerprints by PS. Among the detected substances we can mention around 20 fatty acids, and squalene. Finally, four potential developers, synthetic analogues of curcumin, were compared with carbon black developer. The revelation of latent fingerprints occurred efficiently, allowing the visualization of minutiae, such as bifurcation and end of line, making it possible to classify them, according to the Vucetich Fingerprint Classification System.

Keywords: forensic chemistry; forensics expert; mass spectrometry; curcumin derivatives.

INTRODUÇÃO

A identificação humana por meio de impressões digitais é uma das mais relevantes linhas de apuração criminal em razão das propriedades de unicidade, que consiste no fato da impressão ser única para cada pessoa, e de imutabilidade, que se refere ao fato de não ocorrerem mudanças significativas ao longo da vida.¹⁻³ Tais propriedades são amplamente utilizadas no contexto forense e contribuem para elucidação de crimes.^{3,4}

As impressões digitais latentes (IDL) são marcas invisíveis a olho nu, compostas substancialmente de secreções naturais provenientes da pele humana. Tais impressões necessitam de tratamento para se tornarem visíveis, denominado de “revelação de impressão digital latente”, que utiliza processos químicos ou físicos de interação com a amostra a fim de torná-la visível.⁴

Dentre os principais agentes utilizados no desenvolvimento de IDL estão os pós reveladores. Nas impressões digitais recentes, a água caracteriza-se como o principal composto responsável pela aderência das partículas do pó revelador. Com o passar do tempo, os compostos com características oleosas, gordurosas ou sebáceas são os mais relevantes. As interações moleculares que tipicamente estão presentes na interação entre o pó e os compostos das impressões digitais são ligações de hidrogênio e forças de van der Waals.⁵ Nesse sentido, considera-se de suma importância o conhecimento sobre a constituição das impressões digitais para a escolha da metodologia adequada de revelação das IDL.⁴

Em geral, as impressões digitais são compostas por uma mistura de substâncias provenientes da epiderme e de glândulas secretoras da

derme. Podem estar presentes, substâncias endógenas, semi-exógenas, exógenas, como, por exemplo, metabólitos, traços de medicamentos, drogas, contaminantes extrínsecos como sangue, sujidades, graxa, maquiagem, resíduos provenientes de alimentos, hidratantes e produtos capilares.^{6,7} Vale ressaltar que os componentes intrínsecos e extrínsecos podem variar significativamente entre indivíduos (intervariabilidade), e no mesmo indivíduo (intravariabilidade), de um dia para o outro e também em momentos diferentes ao longo de mesmo dia.⁸

A identificação, a quantificação e a microdistribuição dos constituintes químicos sebáceos (lipofílicos) e écrinos (hidrofílicos) integrantes das impressões digitais são fundamentais para as investigações forenses, contribuindo de forma essencial para descoberta de novas técnicas de revelação de impressões digitais como também para aperfeiçoar os métodos já existentes. A temática tem se destacado na literatura científica, visto a quantidade significativa de artigos publicados utilizando, especialmente, os métodos espectroscópicos e espectrométricos na análise química da IDL.⁸⁻¹⁰ Entre os componentes abundantes das impressões digitais estão os ácidos graxos, amplamente avaliados e caracterizados pela técnica de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, do inglês *gas chromatography mass spectrometry* (GC-MS), com destaque para os compostos: ácido octanóico, ácido decanóico, ácido dodecanóico, ácido 9,12-octadecadienóico e ácido tetraicosanóico.^{8,11,12}

A MS é uma técnica analítica que consiste na ionização das moléculas de interesse e separação dos íons com base em suas diferentes razões massa/carga (*m/z*).¹³ Entre as fontes de ionização, destaca-se a *paper spray* (PS), uma fonte de ionização ambiente, descrita por Wang e colaboradores¹⁴ como uma técnica simples e de análise direta em MS. Seu funcionamento possui características semelhantes a fonte *electrospray ionization* (ESI), e consiste na

*e-mail: wandersonromao@gmail.com

adição de uma pequena quantidade de amostra e um solvente orgânico (metanol/água ou acetonitrila) à um papel de formato triangular, posicionado a frente da entrada do espectrômetro de massas, que recebe uma voltagem (3-5 kV) aplicada na base do papel, e forma um *spray* contendo os íons dos analitos, os quais migram para ponta do papel, e depois são atraídos ao interior do equipamento.¹⁵ Um esquema representativo da fonte PS-MS é mostrado na Figura 1.

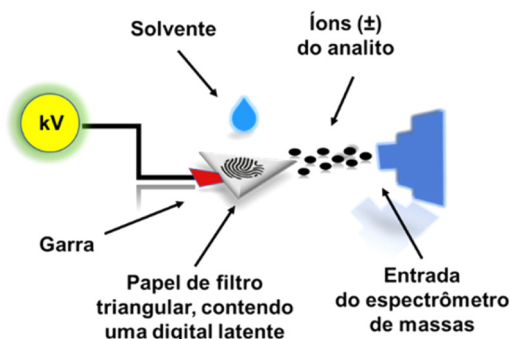


Figura 1. Esquema representativo do processo de ionização PS-MS (fonte: adaptado de Deng et al.)¹⁶

A ionização por PS se apresenta como uma técnica rápida,¹³ e extremamente vantajosa, uma vez que não se faz necessário o uso de gases inertes, e devido ao uso de uma pequena quantidade de amostra e solventes durante o experimento. Assim, PS-MS tem inúmeras aplicações, tais como: em análises de tecidos biológicos, identificação de drogas ilícitas e farmacêuticas em matrizes biológicas, determinação de contaminantes e aditivos em comidas bebidas, entre outros.^{15,17,18}

Assim como as fontes de ionização, os analisadores de massas são componentes importantes para eficiência das análises por MS. Entre os diversos tipos de analisadores existentes destacam-se os analisadores de massas de alta resolução. Um deles é o de ressonância ciclônica de íons com transformada de Fourier (*Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometer* (FT-ICR MS)), que apresenta altíssima resolução e exatidão de massas (poder de resolução, $m/\Delta m_{50\%} > 100.000$ até 10.000.000, e erros de massas abaixo de 2 ppm).¹⁶ Além desses, analisadores de massas de baixa resolução são bastante populares e utilizados em diversos laboratórios analíticos e forenses. Entre eles destacamos o *linear ion trap* (LTQ), que apesar de apresentar baixa resolução, ele fornece a possibilidade de realizar experimentos de varredura completa (m/z 150 a 3000) e experimentos de fragmentação multi-estágio como MSⁿ, onde $n = 1$ a 10; além da troca rápida dos modos de ionização positivo/negativo a partir de uma única introdução de amostra.¹⁹

Atualmente, uma série de pesquisas vem sendo desenvolvidas visando a descoberta e aplicação de substâncias de origem natural como reveladores de impressão digital. Em geral, os objetivos destes estudos perfazem a obtenção de produtos que demonstrem melhores relações de custo-benefício, tornando-os mais acessíveis, com menores taxas de toxicidade e sustentabilidade socioambiental.^{5,20}

Nesse sentido, a curcumina possui um grande destaque pois além de ser um corante natural, também é conhecida pelas suas atividades farmacológicas, em especial, as propriedades antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas e anti-inflamatórias, e possui aplicação no campo da pesquisa forense, onde relaciona-se ao seu potencial de múltiplas formas de aplicação e por revelar as impressões digitais latentes em cor dourada, de fácil visualização.²⁰

No presente trabalho, foram avaliadas as melhores condições de análise por MS usando o espectrômetro LTQ XL e a fonte de ionização PS para estudo da composição química das substâncias endógenas encontradas nas IDL simuladas de cena de crime, bem como

comparadas as respostas obtidas com as análises da amostra de suor por meio do espectrômetro de massas FT-ICR MS. Também foram testados e avaliados quatro análogos sintéticos da curcumina como possíveis reveladores de IDL, e seus resultados foram comparados ao do revelador negro de fumo, comumente utilizado em locais de crimes pelos peritos da Perícia da Polícia Civil do Estado do Espírito Santo (PC-ES).

PARTE EXPERIMENTAL

Materiais e reagentes

Para as análises de PS-MS, papéis de filtro, utilizados como substrato do PS, foram cortados em formato triangular (Whatman Grade 1, GE Healthcare, EUA). Os solventes utilizados foram metanol e acetonitrila, com grau de pureza analítica superior a 99,5% (Vetec[®] Química Fina Ltda, Brasil). Além disso, foram usados: cinco pincéis de fibra de vidro, específicos para revelação de IDL (Sirchie[®]) sob o código 122L, câmera digital semiprofissional Canon[®] EOS Rebel T7 (Canon Indústria de Manaus Ltda, Brasil), para obtenção de imagens óticas, e suporte de vidro e plástico para deposição das IDL.

Seleção de amostras

Amostra de suor

O suor foi coletado na região da testa de um único doador (sexo masculino, sem uso de cosméticos). Para obter um volume de 2 mL, o doador foi estimulado fisicamente, por meio de corrida, para acelerar o processo de transpiração. O vial contendo o suor foi agitado por 1 min no agitador Vortex. Após, 10 μ L dessa solução foram diluídos em 990 μ L de metanol, antes de ser submetido à análise por espectrometria de massas.

Reveladores de impressão digital latente

Para realização deste estudo foram selecionados quatro análogos sintéticos da curcumina, produzidos no Brasil (fornecidos pela Universidade Federal de Pelotas), (2*E*,5*E*)-2,5-dibenzilidenociclopentan-1-ona, denominado M₁; (2*E*,6*E*)-2,6-dibenzilidenociclohexan-1-ona, M₂; (2*E*,7*E*)-2,7-dibenzilidenocicloheptan-1-ona, M₃; e (2*E*,6*E*)-2,6-bis [(4-metilfenil) metilideno] ciclohexan-1-ona, M₄, respectivamente, e o quinto foi o negro de fumo (isolado), produto cedido para essa pesquisa e utilizado pela Perícia da PC-ES como revelador de IDL em locais de cena de crime. A síntese dos quatro análogos sintéticos da curcumina utilizadas neste estudo são descritas na pesquisa realizada por da Silva et al.²¹

Para a etapa de análise dos derivados da curcumina, foi dissolvido 1 mg do revelador em 1 mL de metanol, posteriormente, 10 μ L dessa solução foram diluídos em 990 μ L de metanol, esse procedimento foi repetido para cada um dos quatro reveladores (M₁ a M₄), antes de serem submetidos à análise por ESI(+)^{MS}.

Preparação, coleta e análise das amostras de IDL sebáceas por PS(+)^{MS}

A Figura 2 ilustra o fluxograma das etapas do processo de coleta e análise de IDL sebáceas. As amostras foram coletadas de um doador do sexo masculino, seguindo o procedimento detalhado a seguir.

O doador foi orientado a lavar as mãos com sabão neutro e secar de forma natural. Após 30 min, foi solicitado ao doador que esfregasse as pontas dos dedos suavemente nas áreas do nariz e da testa por 5 s. Para coletar as IDL sebáceas, o doador colocou uma ponta do dedo de cada vez no suporte (papel de filtro), com pressão constante, a mesma que usariam para segurar um objeto, por um período de 3 s.

Foram realizadas três amostragens, com um intervalo de 30 min entre elas, obtendo um total de 18 amostras com base 5 mm do substrato, e 18 amostras com 10 mm do substrato.

Após essas etapas, as amostras foram analisadas, seguindo o procedimento detalhado a seguir:

- A base do papel de filtro foi segurada por um clipe, do tipo jacaré para terminais elétricos;
- O clipe foi montado em suporte universal, de modo que a ponta do triângulo ficasse apontada para o *inlet* do espectrômetro de massas;
- A distância entre a ponta do triângulo e a entrada do MS, foi de 5 ou 10 mm;
- O solvente adicionado no meio do suporte foi metanol ou acetone nitrila;
- Através do clipe foi adicionada uma voltagem de 2 ou 5 V.

Planejamento fatorial dos parâmetros da fonte de ionização ambiente PS

Com intuito de investigar os parâmetros mais influentes na resposta às análises das IDL por PS(+) MS, foi desenvolvido um planejamento fatorial 2^{4-1} avaliando: (i) a voltagem aplicada à fonte: 2 e 5 V; (ii) distância do amostrador e do *inlet* do espectrômetro de massas: 5 e 10 mm; (iii) tamanho do papel de filtro cortado de forma triangular: com altura de 10 mm e largura de base 5 e 10 mm; e (iv) solvente: metanol e acetone nitrila. Os resultados obtidos foram processados utilizando o *software* MiniTab®.

PS e ESI(+) LTQ MS

Neste estudo, o espectrômetro de massas LTQ XL™ - *linear ion trap mass spectrometer* (Thermo Fisher Scientific, EUA), equipado com a fonte de ionização PS *homemade*, foi utilizado nas análises das substâncias endógenas da IDL, e com a fonte ESI para as análises das amostras de cada análogo sintético de curcumina, injetada diretamente na fonte de ionização. Os espectros de massas foram adquiridos no modo de ionização positivo, ESI(+), na faixa de massa m/z 200-1000. A calibração do equipamento foi realizada usando uma solução de CalMix LTQ, modo positivo, com faixa de massas de m/z 154-2000, tempo de acumulação de íons de 0,005 s e voltagem do capilar de 4,0 kV. Todos os espectros de massa obtidos foram adquiridos e processados usando o programa Xcalibur, versão 2.2 (Thermo Scientific).

ESI(±) FT-ICR MS

O espectrômetro FT-ICR MS (modelo 9.4 T Solarix, Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) foi utilizado para as análises das amostras de suor, modo de ionização negativo, e para as análises das amostras dos quatro análogos sintéticos da curcumina (M_1 a M_4), modo positivo, ambos em uma faixa de massa m/z 150-1200. As condições

da fonte de ESI foram: pressão de gás nebulizador de 2,0 bar, voltagem capilar de 3,8 kV, e a temperatura de transferência capilar de 250 °C. O tempo de acumulação dos íons foi de 0,010-0,030 s. Cada espectro foi adquirido pela acumulação de 16 *scans*, em 2 M (mega-point). Todos os espectros de massa foram calibrados externamente usando arginina (m/z de 150-1500). Os espectros de massas adquiridos foram processados usando o *software* DataAnalysis® (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha).

A exatidão de massas foi calculada por meio do *software*, a partir da Equação 1.

$$\text{Erro (ppm)} = \left(\frac{m/z_{\text{medido}} - m/z_{\text{teórico}}}{m/z_{\text{teórico}}} \right) \times 10^6 \quad (1)$$

Os valores de *double bond* equivalente (DBE) foram obtidos de acordo com a Equação 2:

$$\text{DBE} = -[\text{IV}] - [\text{I}]/2 + [\text{III}]/2 + 1 \quad (2)$$

Onde I representa átomos monovalentes (hidrogênio, cloro, bromo e iodo), III representa átomos trivalentes (nitrogênio e flúor) e IV representa átomos tetravalentes, como o carbono.

Revelações das digitais latentes

Para avaliação visual dos potenciais reveladores M_1 a M_4 , e comparação da adesão destes e a do revelador tradicional negro de fumo, foram escolhidas duas superfícies (plástico e vidro) para a deposição das IDL e posterior revelação.

Neste estudo, as IDL foram doadas por cinco pessoas (três do sexo masculino e duas do sexo feminino), os doadores foram instruídos a não usarem nenhum tipo de cosméticos nas mãos ou no rosto, por um período mínimo de 24 h antes da coleta. As amostras foram coletadas ao mesmo tempo.

Após essas coletas, aguardou-se 2 h, 4 h e 24 h para realizar a revelação das impressões digitais pelo método do empouamento com pincéis específicos e os cinco reveladores do estudo. Posteriormente, foi feita a captura das imagens das impressões digitais reveladas.

A avaliação da qualidade das impressões digitais reveladas foi feita por dois peritos independentes, usando uma escala proposta por Sears *et al.*,²² Tabela 1.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Planejamento fatorial dos parâmetros da fonte de ionização ambiente PS(+) MS no estudo de IDL

Inicialmente, as aquisições dos espectros foram realizadas no modo positivo de ionização, com o espectrômetro de massa LTQ XL e fonte PS(+). O planejamento experimental fatorial de quatro variáveis (2^{4-1}) foi aplicado a fim de buscar as melhores condições para obtenção

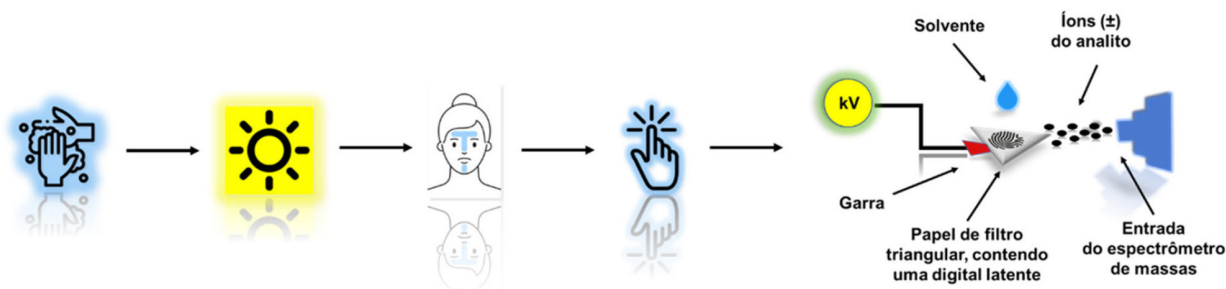


Figura 2. Esquema representativo do processo de coleta e análise das amostras (fonte: adaptado de Deng *et al.*)⁶

Tabela 1. Esquema de classificação de esboço usado para avaliação de marcas desenvolvidas²²

Pontuação	Nível de detalhe
0	Sem evidência de marca
1	Desenvolvimento fraco; evidência de contato, mas sem detalhes do cume
2	Desenvolvimento limitado; cerca de 1/3 dos detalhes da crista estão presentes, mas provavelmente não podem ser usados para fins de identificação
3	Forte desenvolvimento; entre 1/3 e 2/3 de detalhes de cumeeira; marca de dedo identificável
4	Desenvolvimento muito forte; detalhes completos do cume; marca de dedo identificável

de espectros com maior número de sinais possíveis da composição química da impressão digital coletada.

A literatura destaca, para análise direta de misturas complexas, quatro variáveis importantes da fonte PS-MS: o tamanho do papel (suporte da amostra), a sua distância da entrada do MS, o uso de um solvente orgânico (metanol/água ou acetonitrila), e aplicação de uma alta voltagem na base do papel. Assim, com o intuito de estabelecer de que forma as diferentes configurações afetam as respostas, foi utilizado o *software* MiniTab® para otimização do processo.

Na Tabela 2 estão elencados os resultados obtidos de cada um dos 24 experimentos realizados em sequência aleatória. Nesta etapa, os fatores avaliados foram: voltagem, distância entre substrato e o *inlet*, tamanho do papel e solvente.

A função de desejabilidade tem como objetivo transformar um problema de múltiplas respostas em um de uma única resposta

por meio de cálculos matemáticos. A técnica é fundamentada na transformação de uma função de desejabilidade para cada variável de resposta, com valores descritos no intervalo [0,1], onde o valor 0 é indesejado e 1 o valor desejável (ótimo alcançado).²³

Além disso, o campo elétrico, oriundo da aplicação de alta voltagem no papel, induz a formação de um *spray*, que contém gotículas carregadas – na forma similar ao cone de Taylor – que irá gerar íons (positivos ou negativos, dependendo do modo de ionização) após a dessolvatação em fase gasosa.^{15,24} Desta forma, a interação da amostra na superfície (porosa) do papel, é o principal processo responsável pelo movimento dos analitos que serão dessolvados durante a formação do *spray*, próximo à entrada do espectrômetro de massas, e a partir deste processo, tem-se a dessorção do analito em sua forma iônica a partir do papel.²⁵

Neste trabalho, de acordo com o gráfico de pareto dos efeitos padronizados para cada parâmetro do modelo (A, B, C e D), Figura 3(a) do planejamento fatorial (2^{4-1}), os fatores que ultrapassam a linha de referência, que é de 2,086, são estatisticamente significativos. Ao se observar os experimentos é perceptível que a aquisição dos espectros demonstrou que a voltagem aplicada, a distância do *inlet*, e a largura da base do papel foram parâmetros com influência significativa ($p_{\text{valor}} < 0,05$), na qualidade dos espectros adquiridos utilizando a fonte PS(+) LTQ XL MS. No entanto, o tipo de solvente (metanol e acetonitrila) encontra-se abaixo da linha de corte, não sendo significativa para a variável resposta número de sinais.

O gráfico de efeitos principais para desejabilidade (D), Figura 3(b), mostra que quanto maior for a inclinação da linha, maior será a magnitude do efeito principal avaliado. Sendo assim, é possível verificar que as variações do tamanho do suporte possuem

Tabela 2. Dados obtidos da aquisição dos espectros durante o planejamento (2^{4-1}) avaliando os parâmetros voltagem, distância entre substrato e o *inlet*, tamanho do papel e solvente; e os seus respectivos valores de números de sinais e desejabilidade (D)

Ordem Padrão	Ordem Ensaio	Tamanho	Voltagem	Solvente	Distância	Sinais totais	Y1	Y2	D
14	1	10	2	ACN	5	0	0	0,21	0
6	8	10	2	ACN	5	13	0,04	0,22	0,09
22	11	10	2	ACN	5	21	0,05	0,21	0,1
11	2	5	5	MeOH	10	5274	0,74	0,56	0,64
19	10	5	5	MeOH	10	9539	1	0,73	0,85
3	18	5	5	MeOH	10	2709	0,53	0,37	0,45
5	3	5	2	ACN	10	6	0,03	0,23	0,08
13	12	5	2	ACN	10	20	0,05	0,22	0,1
21	15	5	2	ACN	10	12	0,04	0,19	0,08
23	4	5	5	ACN	5	9388	0,99	1	0,99
7	21	5	5	ACN	5	9485	0,99	0,88	0,94
15	22	5	5	ACN	5	7660	0,89	0,74	0,81
12	5	10	5	MeOH	5	9584	1	0,86	0,93
4	7	10	5	MeOH	5	9428	0,99	0,77	0,87
20	9	10	5	MeOH	5	9430	0,99	0,76	0,87
2	6	10	2	MeOH	10	0	0	0	0
10	14	10	2	MeOH	10	0	0	0	0
18	16	10	2	MeOH	10	14	0,04	0	0
9	13	5	2	MeOH	5	98	0,1	0,26	0,16
17	17	5	2	MeOH	5	70	0,09	0,37	0,18
1	19	5	2	MeOH	5	49	0,07	0,24	0,13
16	20	10	5	ACN	10	2451	0,51	0,39	0,44
8	23	10	5	ACN	10	0	0	0,23	0
24	24	10	5	ACN	10	28	0,05	0,26	0,12

Y1: desejabilidade dos sinais totais. Y2: desejabilidade ln(contagem). D: desejabilidade do sistema. Fonte: elaborado pelos autores.

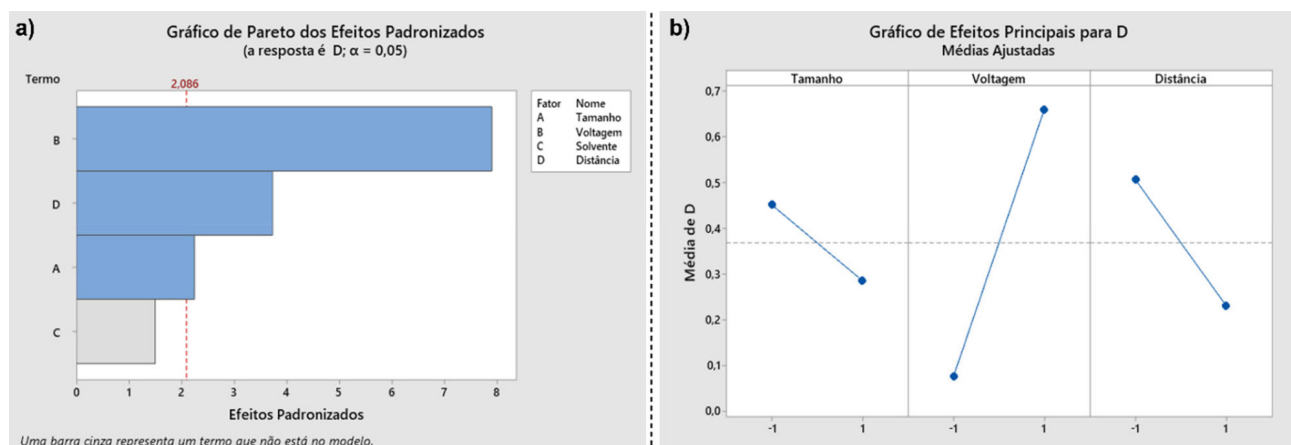


Figura 3. (a) Gráfico de pareto dos efeitos do planejamento 2^{4-1} e (b) gráfico de pareto dos efeitos principais do planejamento 2^{4-1} (fonte: elaborado pelos autores)

baixa contribuição sobre os efeitos, se comparado aos demais fatores, em contrapartida verifica-se, através do gráfico, que quanto maior for a voltagem e menor for a distância da fonte PS, ocorrerá o aumento significativo do número de sinais.

Além disso, na Figura 4 através dos gráficos de contorno foi possível verificar como os valores de resposta ajustados se relacionam, indicando as melhores condições de funcionamento desejáveis. Na Figura 4(a) pode ser observado, no canto superior esquerdo do gráfico, que a aplicação de maior voltagem na fonte PS, e menores distâncias entre a amostra e o *inlet* contribuem para o aumento da intensidade e do número de sinais no espectro de massas adquirido. Na Figura 4(b) é possível observar, no canto superior esquerdo do gráfico, que a aplicação de maior voltagem na

fonte PS, e menor tamanho da base do papel também contribuem para o aumento da intensidade e do número de sinais, assim como na Figura 4(c) onde as melhores respostas estão no canto inferior esquerdo, ou seja, quanto menor for a distância e menor for a base do papel, melhor será a resposta ao aumento do número de sinais. Os resultados apontados pelos gráficos de contorno, corroboram com o observado no gráfico de pareto.

Assim, os espectros de massas das impressões digitais, com a melhor condição avaliada, apresentam uma quantidade significativa de sinais, e entre os compostos detectados, estão as seguintes moléculas: esqualeno, ácido palmitoléico, ácido esteárico, ácido heptadecanóico, ácido nonadecanóico, ácido eicosanóico, ácido linoleico, que são moléculas endógenas comumente encontrados em IDL.^{8,10}

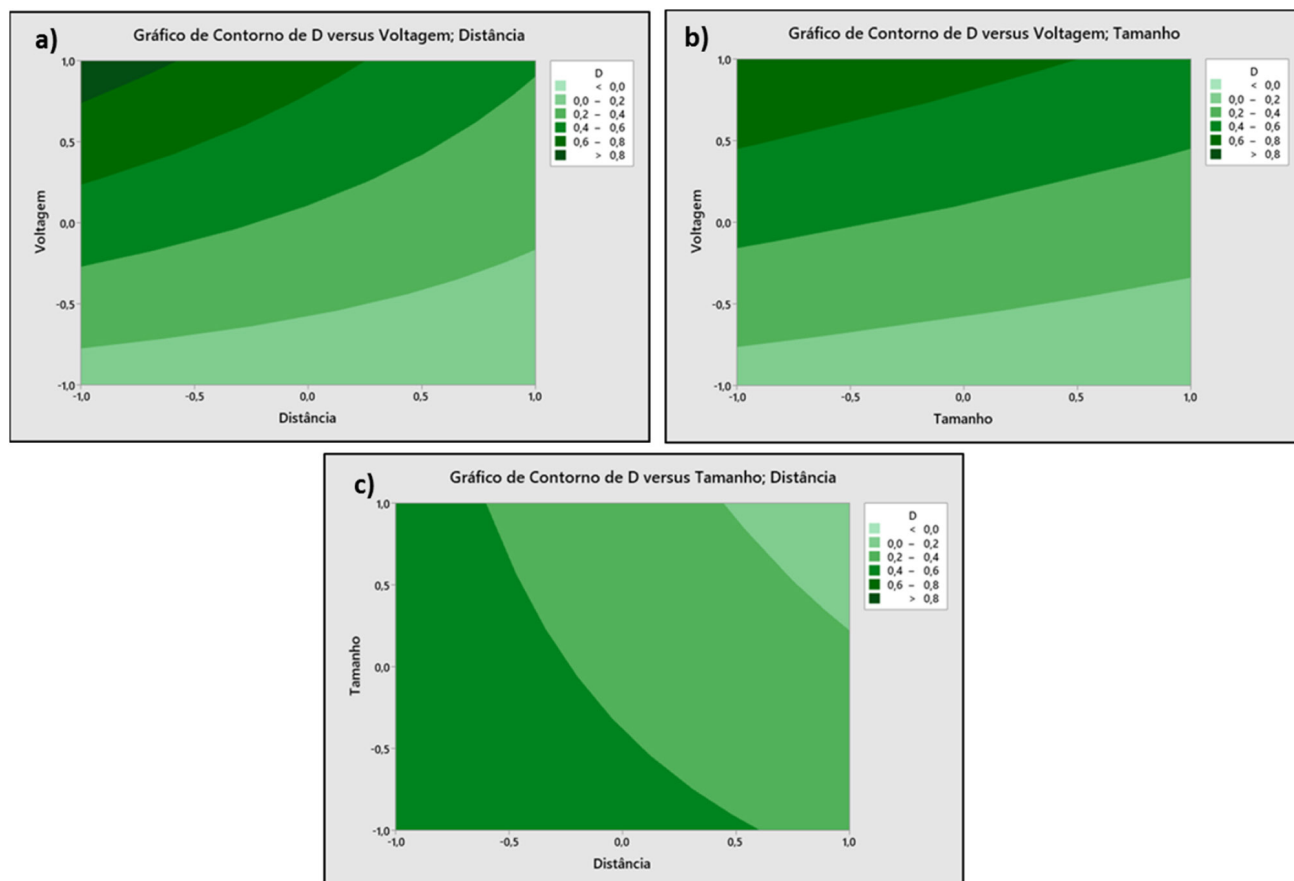


Figura 4. Gráfico de contorno de desejabilidade do planejamento fatorial 2^{4-1} : (a) desejabilidade versus voltagem e distância; (b) desejabilidade versus voltagem e tamanho; (c) desejabilidade versus tamanho e distância (fonte: elaborado pelos autores)

Análises das substâncias endógenas contidas na IDL, amostra de suor e dos quatro derivados da curcumina (M_1 , M_2 , M_3 e M_4) por PS(+) LTQ MS e ESI(-) FT-ICR MS

Análises das substâncias endógenas encontradas na IDL por PS(+) LTQ MS

Após etapa de planejamento 2^{4+1} , foi dado prosseguimento as análises de IDL por PS(+) MS seguindo os parâmetros estabelecidos. Para isso, IDL foi coletada de um único doador do sexo masculino, e a partir do espectro de massas adquirido da impressão digital, Figura 5, foi possível detectar 21 compostos endógenos, sendo 21 detectados na forma de íons protonados, $[M + H]^+$, e 20 detectados também na forma de aduto sodiado, $[M + Na]^+$, elencados na Tabela 3.

Os resultados vão ao encontro da pesquisa realizada por Girod *et al.*⁸ que utilizaram diferentes técnicas analíticas na identificação de ácidos graxos livres como grupo de maior abundância entre os compostos lipídicos encontrados em IDL.

Análises das substâncias endógenas encontradas na amostra de suor por ESI(-) FT-ICR MS

Sequencialmente, foi realizada análise da amostra de suor de um único doador, do sexo masculino, utilizando um espectrômetro de alta resolução, ESI(-) FT-ICR MS, com objetivo principal de detectar os compostos endógenos com exatidão de massa proporcionada pelo equipamento, além de relacioná-los com os dados obtidos na etapa anterior. Para isso, após coleta da amostra, o suor foi analisado e a partir do espectro de massas obtido, Figura 6, foi possível detectar 16 compostos endógenos, na forma de moléculas desprotonadas $[M - H]^-$, e com erros de massas inferiores a 2 ppm. Os resultados

da análise estão expostos na Tabela 3, e as fórmulas estruturais dos compostos identificados estão representadas na Figura 1S do material suplementar.

Em geral, a análise das secreções endógenas da IDL por PS(+) LTQ MS, possibilitou a detecção do esqualeno e de 20 ácidos graxos, incluindo moléculas saturadas e insaturadas contendo de 12 a 24 átomos de carbono. Em contrapartida, na análise da amostra de suor por ESI(-) FT-ICR MS foram detectados 16 ácidos graxos, incluindo moléculas saturadas e insaturadas, contendo de 14 a 24 átomos de carbono.²⁵

Vale destacar que os constituintes químicos da IDL podem variar significativamente não apenas entre indivíduos, mas no mesmo indivíduo, e de um dia para o outro e em momentos diferentes ao longo de mesmo dia,⁸ o que contribui para a diferença observada entre resultados obtidos. Além disso, os ácidos graxos detectados são originários da epiderme e das glândulas sebáceas, entretanto, estes podem ser contaminantes extrínsecos devido a sua disponibilidade em composições de cosméticos, por exemplo.²⁶

Além dos compostos endógenos, também são observados compostos semi-exógenos, isto é, que não são encontrados de forma natural no organismo humano, mas que são de diferentes formas, inseridos e excretados (biotransformados ou intactos) por meio do suor, como as drogas lícitas e ilícitas.⁹

Análises dos potenciais reveladores M_1 , M_2 , M_3 e M_4 por ESI(+) LTQ MS

Após análise e identificação dos principais componentes endógenos da IDL e da amostra de suor do mesmo doador, foi realizada análise por espectrometria de massas, ESI(+) LTQ MS, dos quatro análogos sintéticos da curcumina, potenciais reveladores

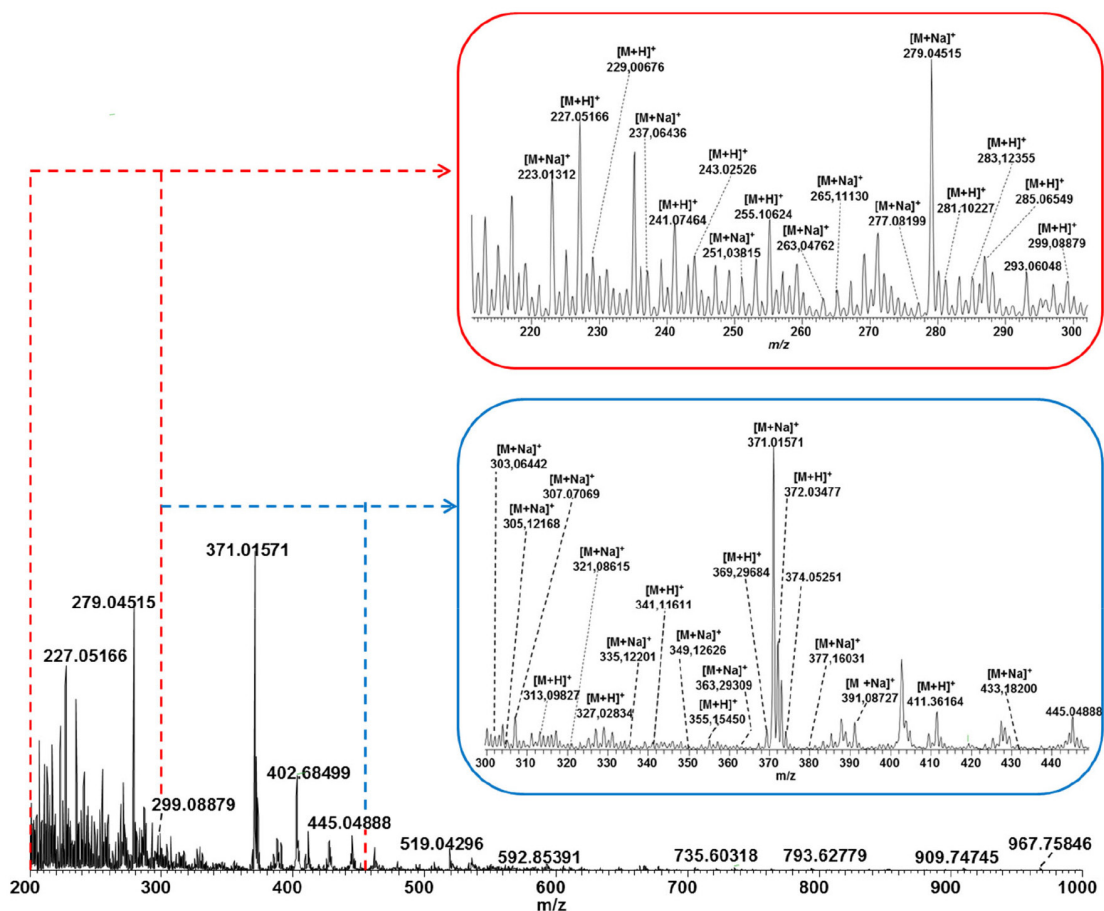


Figura 5. Expansão espectral na faixa de m/z 200-1000 do espectro de massas de IDL obtido por PS(+) MS, usando as condições de maior voltagem (5 V) e menor distância do inlet (5 mm) (fonte: elaborado pelos autores)

Tabela 3. Resultados das análises das secreções endógenas da IDL por PS(+) LTQ MS e ESI(-) FT-ICR MS

Nome	Fórmulas Moleculares	Equipamento	Íon	<i>m/z</i> medido	DBE	<i>m/z</i> teórico
Ácido dodecanóico	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	LTQ XL MS	[M + Na] ⁺	223,01312	1	223,16740
Ácido tridecanóico	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	LTQ XL MS	[M + Na] ⁺	237,06436	1	237,18305
Ácido miristoleico	C ₁₄ H ₂₆ O ₂	LTQ XL MS	[M + H] ⁺	227,05166	2	227,20111
			[M + Na] ⁺	249,05677	2	249,18305
Ácido mirístico	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	LTQ XL MS	[M + H] ⁺	229,00676	1	229,21676
		FT-ICR MS	[M + Na] ⁺	251,03815	1	251,19870
Ácido pentadecenóico	C ₁₅ H ₂₈ O ₂	FT-ICR MS	[M - H] ⁻	227,20186	1	227,20165
		LTQ XL MS	[M + H] ⁺	241,07464	2	241,21676
Ácido pentadecenóico	C ₁₅ H ₂₈ O ₂	FT-ICR MS	[M + Na] ⁺	263,04762	2	263,19870
			[M - H] ⁻	239,20191	2	239,20165
Ácido pentadecanóico	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	LTQ XL MS	[M + H] ⁺	243,02526	1	243,23241
		FT-ICR MS	[M + Na] ⁺	265,11130	1	265,21435
Ácido palmitoleico	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	FT-ICR MS	[M - H] ⁻	241,21756	1	241,21730
		LTQ XL MS	[M + H] ⁺	255,10624	2	255,23241
Ácido palmitoleico	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	FT-ICR MS	[M + Na] ⁺	277,08199	2	277,21435
			[M - H] ⁻	253,21757	2	253,21730
Ácido 9-hexadecenóico	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	LTQ XL MS	[M + H] ⁺	255,10624	2	255,23241
		FT-ICR MS	[M + Na] ⁺	277,08199	2	277,21435
Ácido palmítico	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	FT-ICR MS	[M - H] ⁻	253,21757	2	253,21730
		LTQ XL MS	[M + H] ⁺	257,05136	1	257,24806
Ácido palmítico	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	FT-ICR MS	[M + Na] ⁺	279,04515	1	279,23000
			[M - H] ⁻	255,23323	1	255,23295
Ácido heptadecenóico	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	LTQ XL MS	[M + H] ⁺	269,11631	2	269,24806
		FT-ICR MS	[M - H] ⁻	267,23328	2	267,23295
Ácido heptadecanóico	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	LTQ XL MS	[M + H] ⁺	271,02804	1	271,26371
		FT-ICR MS	[M + Na] ⁺	293,06048	1	293,24565
Ácido linoleico	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	FT-ICR MS	[M - H] ⁻	269,24890	1	269,24860
		LTQ XL MS	[M + H] ⁺	281,10227	3	281,24806
Ácido oleico	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	FT-ICR MS	[M + Na] ⁺	303,06442	3	303,23000
			[M - H] ⁻	279,23326	3	279,23295
Ácido esteárico	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	LTQ XL MS	[M + H] ⁺	283,12355	2	283,26371
		FT-ICR MS	[M + Na] ⁺	305,12168	2	305,24565
Ácido esteárico	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	FT-ICR MS	[M - H] ⁻	281,24891	2	281,24860
		LTQ XL MS	[M + H] ⁺	285,06549	1	285,27936
Ácido nonadecanóico	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	FT-ICR MS	[M + Na] ⁺	307,07069	1	307,26130
			[M - H] ⁻	283,26459	1	283,26425
Ácido nonadecanóico	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	LTQ XL MS	[M + H] ⁺	299,08879	1	299,29501
		FT-ICR MS	[M + Na] ⁺	321,08615	1	321,27695
Ácido eicosanóico	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	FT-ICR MS	[M - H] ⁻	297,28021	1	297,27990
		LTQ XL MS	[M + H] ⁺	313,09827	1	313,31066
Ácido heneicosanóico	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	FT-ICR MS	[M + Na] ⁺	335,12201	1	335,29260
			[M - H] ⁻	311,29596	1	311,29555
Ácido heneicosanóico	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	LTQ XL MS	[M + H] ⁺	327,02834	1	327,32631
		FT-ICR MS	[M + Na] ⁺	349,12626	1	349,30825
Ácido docosanóico	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	FT-ICR MS	[M - H] ⁻	341,11611	1	341,34196
		LTQ XL MS	[M + H] ⁺	363,29309	1	363,32390
Ácido docosanóico	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	FT-ICR MS	[M + Na] ⁺	363,29309	1	363,32390
			[M - H] ⁻	339,32731	1	339,32685
Ácidotricosanóico	C ₂₃ H ₄₆ O ₂	LTQ XL MS	[M + H] ⁺	355,15450	1	355,35761
		FT-ICR MS	[M + Na] ⁺	377,16031	1	377,47524
Ácidotricosanóico	C ₂₃ H ₄₆ O ₂	FT-ICR MS	[M - H] ⁻	353,34318	1	353,34250
		LTQ XL MS	[M + H] ⁺	369,29684	1	369,37326
Ácido tetracosanóico	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	FT-ICR MS	[M + Na] ⁺	391,08727	1	391,35520
			[M - H] ⁻	367,35869	1	367,35815
Esqualeno	C ₃₀ H ₅₀	LTQ XL MS	[M + H] ⁺	411,36164	6	411,39908
			[M + Na] ⁺	433,18200	6	433,18200

Fonte: elaborado pelos autores.

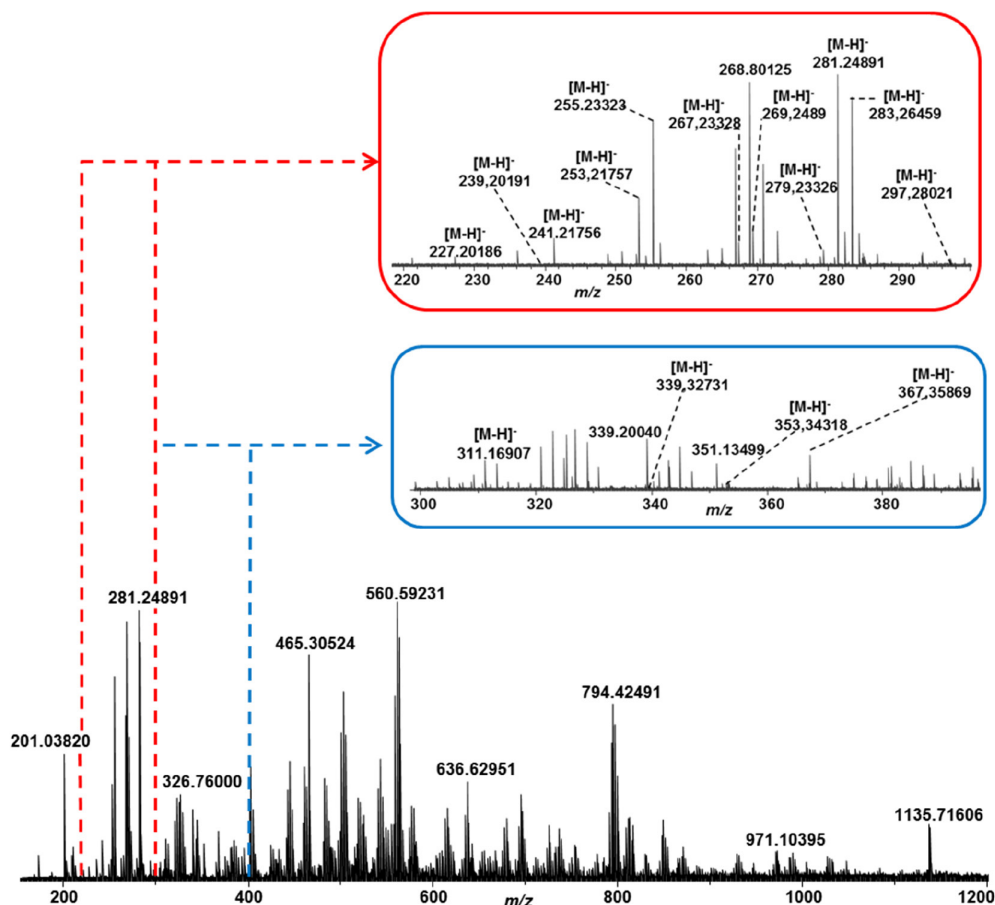


Figura 6. Expansão espectral na faixa de m/z 150-1200, do espectro de massas da amostra de suor, por ESI(-)-FT-ICR MS (fonte: elaborado pelos autores)

de IDL; M_1 , Figura 7(a), M_2 , Figura 7(b), M_3 , Figura 7(c) e M_4 , Figura 7(d). Os espectros obtidos e apresentados na Figura 7(a-d) mostram o perfil espectral de cada revelador, onde são destacados os sinais das moléculas individuais protonadas, na forma de dímeros protonados, com aduto sodiado, e na forma de trímeros sodiados: M_1 a M_4 ; e na forma de trímeros protonados: M_1 , M_2 e M_3 . Os resultados obtidos da análise estão detalhados na Tabela 4.

Análises dos potenciais reveladores M_1 , M_2 , M_3 e M_4 por ESI(+)-FT-ICR MS

Na sequência, foram realizadas análises dos quatro análogos sintéticos da curcumina, potenciais reveladores M_1 a M_4 , por ESI(+)-FT-ICR MS, Figura 2S (material suplementar). A partir dos espectros adquiridos foi possível detectar as moléculas protonadas, dos reveladores M_2 a M_4 ; e na forma de aduto sodiado, de dímero sodiado e na forma de trímero sodiado os reveladores M_1 a M_4 ; na forma de aduto com potássio o M_2 e M_4 . Os resultados obtidos da análise estão expostos na Tabela 4.

Revelações das digitais latentes utilizando M_1 , M_2 , M_3 , M_4 e negro de fumo

Por fim, os potenciais reveladores derivados sintéticos da curcumina, M_1 a M_4 , foram comparados com a capacidade do revelador negro de fumo em detalhar as cristas papilares sobre as superfícies de vidro e plástico, com intervalos de duas, quatro e vinte e quatro horas após a coleta. Vale ressaltar que, assim como a curcumina, os derivados sintéticos usados nesse estudo possuem a cor dourada, e para efeito comparativo com negro de fumo, todas as imagens foram padronizadas em preto e branco. Na Figura 8 são

mostradas as imagens óticas adquiridas das IDL reveladas no vidro: (a) após duas horas, (b) após quatro horas, (c) após vinte e quatro horas, e na Figura 3S (material suplementar) as imagens óticas adquiridas das IDL reveladas no plástico: (a) após duas horas, (b) após quatro horas, (c) após vinte e quatro horas.

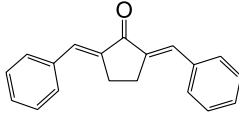
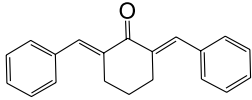
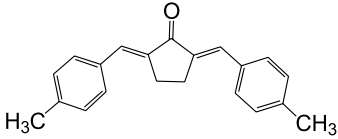
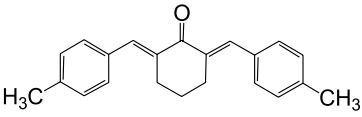
Como mostrado nas Figuras 8 e 3S, as IDL foram reveladas de forma satisfatória pelos derivados sintéticos da curcumina. Foi possível a visualização de minúcias, como bifurcação e fim de linha possibilitando a classificação destas, de acordo Sistema Vucetich de Classificação de Impressões Digitais, asseverando a eficiência de aplicação dos potenciais reveladores testados. Todas as IDL apresentaram nível de detalhamento 4 (pontuação máxima) de acordo com a escala empregada.

Garg *et al.*²⁷ foram os primeiros a estudarem a curcumina como potenciais reveladores de IDL sebáceas em superfícies porosas e não porosas, demonstrando resultados promissores para todas as superfícies testadas. De acordo com os autores, a aderência do pó às IDL sebáceas pode ser relacionada à formação de pontes de hidrogênio entre os ácidos graxos e o grupo carbonila e hidroxila da curcumina.

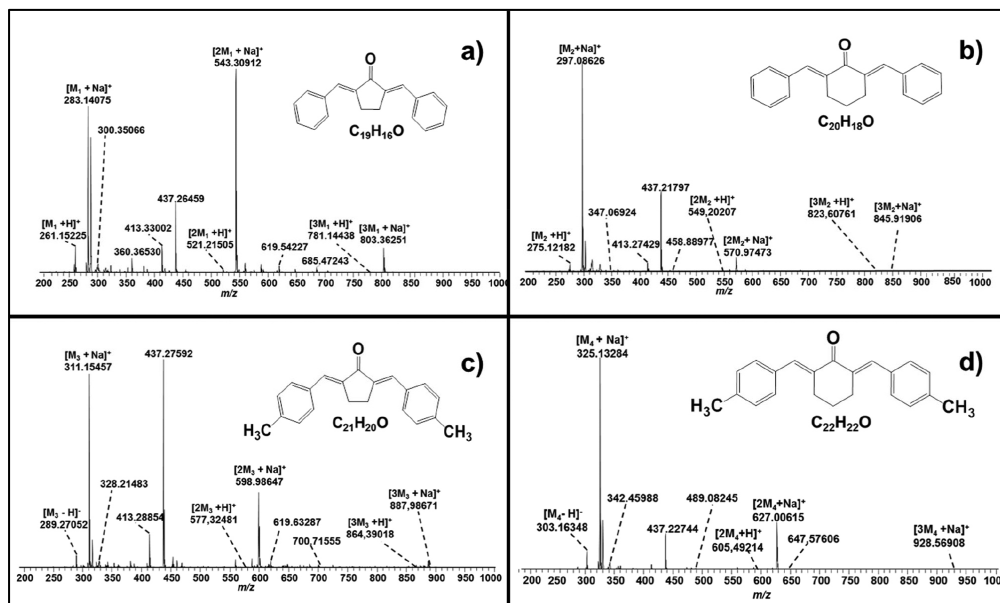
Em geral, os pós reveladores possuem afinidade a umidade presente na IDL, ou seja, nas impressões digitais recentes a água possui um papel importante na adesão do revelador.^{3,5} Por se tratarem de derivados análogos a curcumina, novas pesquisas são necessárias para investigar o mecanismo de reação envolvido na revelação.

Vale ressaltar que o presente estudo se trata de uma investigação preliminar, e deve ser continuado aumentando o número de doadores, quantidade de dias de deposição, além de comparar revelações de IDL naturais e sebáceas, para validar adequadamente o desempenho de um novo revelador de IDL.

Tabela 4. Resultados das análises dos potenciais reveladores M_1 , M_2 , M_3 e M_4 por PS(+) LTQ MS e ESI(+) FT-ICR MS

Nome, fórmula molecular (M) e estrutura	Equipamento	Íon	m/z medido	DBE	m/z teórico
(2E,5E)-2,5-dibenzilidenociclopentan-1-ona $C_{19}H_{16}O$ 	LTQ XL MS	$[M_1 + H]^+$	261,15225	12	261,12739
		$[M_1 + Na]^+$	283,14075	12	283,10934
		$[2M_1 + H]^+$	521,21505	23	521,25751
		$[2M_1 + Na]^+$	543,30912	23	543,22945
		$[3M_1 + H]^+$	781,14438	34	781,36762
	FT-ICR MS	$[3M_1 + Na]^+$	803,36251	34	803,34957
		$[M_1 + Na]^+$	283,10931	12	283,10934
		$[2M_1 + Na]^+$	543,22930	23	543,22945
		$[3M_1 + Na]^+$	803,34946	34	803,34957
		(2E,6E)-2,6-dibenzilidenociclohexan-1-ona $C_{20}H_{18}O$ 	LTQ XL MS	$[M_2 + H]^+$	275,12182
$[M_2 + Na]^+$	297,08626			12	297,12499
$[2M_2 + H]^+$	549,20207			23	549,27881
$[2M_2 + Na]^+$	570,97468			23	571,26075
$[3M_2 + H]^+$	823,60761			34	823,41457
FT-ICR MS	$[3M_2 + Na]^+$		845,91906	34	845,39652
	$[M_2 + H]^+$		275,14302	12	275,14304
	$[M_2 + Na]^+$		297,12493	12	297,12499
	$[M_2 + K]^+$		313,09884	12	313,09892
	$[2M_2 + Na]^+$		571,26062	23	571,26075
(2E,7E)-2,7-dibenzilidenocicloheptan-1-ona $C_{21}H_{20}O$ 	LTQ XL MS	$[M_3 - H]^-$	289,27052	12	289,15869
		$[M_3 + Na]^+$	311,15457	12	311,14064
		$[2M_3 + H]^+$	577,32481	23	577,31011
		$[2M_3 + Na]^+$	598,99376	23	599,29205
		$[3M_3 + H]^+$	864,39018	34	864,45370
	FT-ICR MS	$[3M_3 + Na]^+$	887,98671	34	887,44347
		$[M_3 + H]^+$	289,15863	12	289,15869
		$[M_3 + Na]^+$	311,14059	12	311,14064
		$[2M_3 + Na]^+$	599,29196	23	599,29205
		$[3M_3 + Na]^+$	887,44356	34	887,44347
(2E,6E)-2,6-bis [(4-metilfenil) metilideno] ciclohexan-1-ona $C_{22}H_{22}O$ 	LTQ XL MS	$[M_4 - H]^-$	303,16348	12	303,17434
		$[M_4 + Na]^+$	325,13284	12	325,15629
		$[2M_4 + H]^+$	605,49214	23	605,34141
		$[2M_4 + Na]^+$	627,00615	23	627,32335
		$[3M_4 + Na]^+$	928,56908	34	928,48259
	FT-ICR MS	$[M_4 + H]^+$	303,17433	12	303,17434
		$[M_4 + Na]^+$	325,15625	12	325,15629
		$[M_4 + K]^+$	341,13020	12	341,13022
		$[2M_4 + Na]^+$	627,32321	23	627,32335
		$[3M_4 + Na]^+$	929,49045	34	929,49042

Fonte: elaborado pelos autores.

**Figura 7.** Expansão espectral na faixa de massa m/z 200-1000 dos espectros de ESI(+) LTQ MS dos potenciais reveladores: (a) M_1 , (b) M_2 , (c) M_3 e (d) M_4 (fonte: elaborado pelos autores)

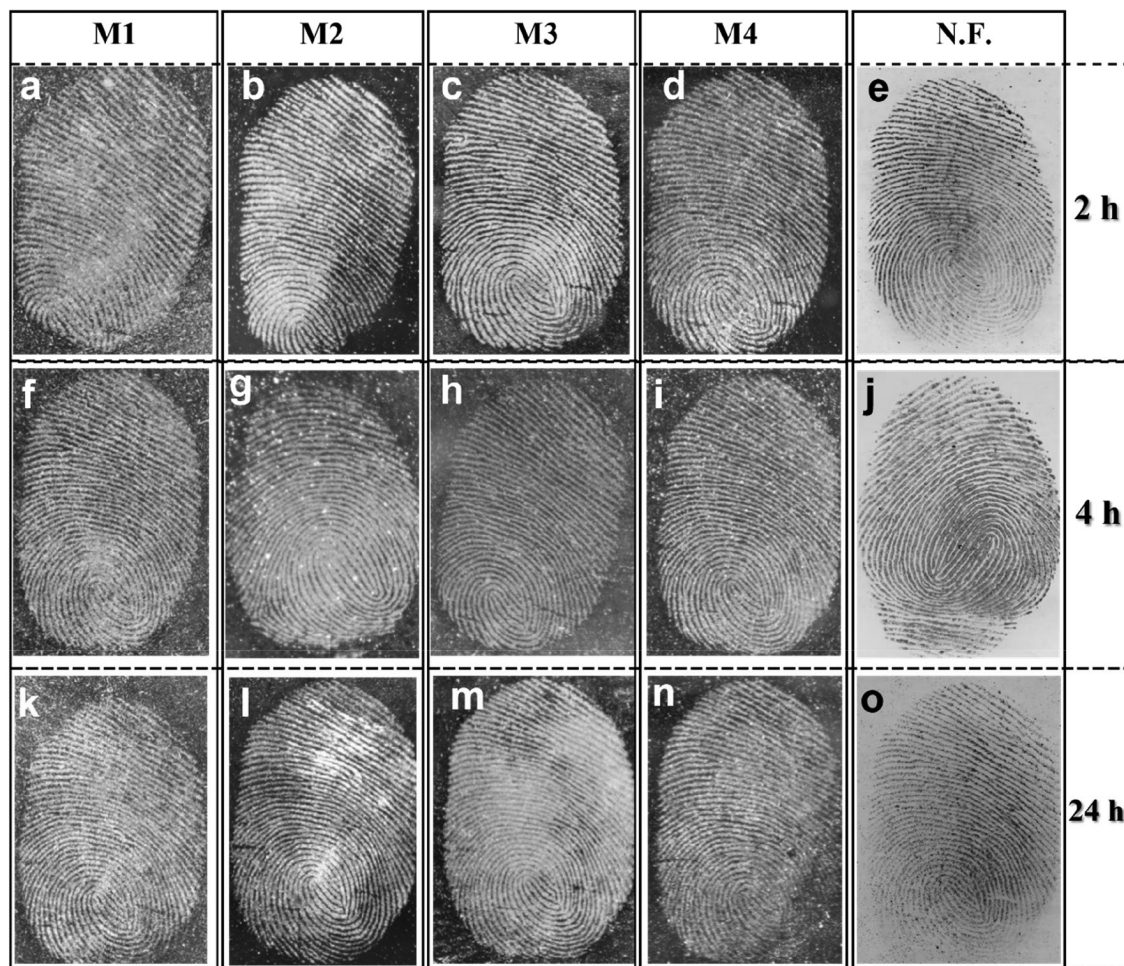


Figura 8. Da esquerda para direita, reveladores M_1 , M_2 , M_3 , M_4 e negro de fumo na superfície de vidro; (a-e) após duas horas, (f-j) após quatro horas, (k-o) após vinte e quatro horas (fonte: elaborado pelos autores)

CONCLUSÃO

O presente estudo buscou desenvolver um planejamento fatorial 2^{4+1} para investigar as principais condições que influenciam as respostas das análises das substâncias endógenas de IDL por PS(+) MS. Observou-se que entre os quatro fatores avaliados, a voltagem (5 V) e a distância (5 mm) foram os mais relevantes para o aumento da intensidade e número de sinais no espectro de massas adquiridos nas análises. Além disso, nas análises de IDL foram detectadas a molécula de esqualeno, e mais 20 ácidos graxos. Por outro lado, na amostra de suor, foram detectados 16 ácidos graxos, com erros de massas inferiores a 2 ppm. Por fim, os reveladores análogos da curcumina apresentaram eficiência na revelação de IDL comparada a um pó tradicional negro de fumo. Sequencialmente a esse estudo, serão realizadas análises de possíveis interações químicas dos reveladores, inovadores, com as substâncias endógenas encontradas no suor e nas IDL, possibilitando assim, compreender o mecanismo de revelação, dos quatro análogos sintéticos da curcumina.

MATERIAL SUPLEMENTAR

O material suplementar relacionado a este artigo apresenta figuras das estruturas químicas das moléculas detectadas neste estudo, e imagens óticas das IDL reveladas no plástico, que estão disponíveis em <http://quimicanova.sbj.org.br>, em formato PDF, com acesso livre.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES (código financeiro 1), FAPES (Edital CNPq/FAPES nº 23/2018 – PRONEM (596/2018)), e ao CNPq (310057/2020-5, INCT Forense 465450/2014-8, e 422555/2018-5) pelo suporte financeiro; à Polícia Civil do estado do Espírito Santo (PC-ES) pelo apoio técnico da área de perícia; à Universidade Federal de Pelotas (UFPel) pela parceria durante esta pesquisa; ao Núcleo de Competências em Química do Petróleo (NCQP), ao Laboratório Multiusuário de Petroleômica e Forense/ LabPetro e a UFES pela infraestrutura para a realização das análises e condições de trabalho.

REFERÊNCIAS

- Girelli, C. M. A.: *Recuperação de Impressões Digitais em Cartuchos de Munição: Boas Práticas de Revelação e Fotografia, Análise de Superfície e Efeitos de Balística Interna*; Tese de Doutorado, Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, Brasil, 2018. [Link] acessado em julho 2023
- Fígini, A. R.; *Datilosopia e Revelação de Impressões Digitais*, 1ª ed.; Millennium: Campinas, 2012.
- Sebastiany, A. P.; Pizzato, M. C.; Del Pino, J. C.; Salgado, T. D. M.; *Educ. Quim.* **2013**, *24*, 49. [Link] acessado em junho 2023
- Balsan, J.; Rosa, B.; Pereira, C.; Santos, C.; *Quim. Nova* **2019**, *42*, 845. [Crossref]
- Nicolodi, C.; Rosa, B.; Silva, C.; Berneira, L.; Pacheco, B.; Poletti,

- T.; Venzke, D.; Mariotti, K.; Pereira, C.; *Quim. Nova* **2019**, *42*, 962. [Crossref]
6. Harker, M.; Coulson, H.; Fairweather, I.; Taylor, D.; Daykin, C. A.; *Metabolomics* **2006**, *2*, 105. [Crossref]
7. Ifa, D. R.; Manicke, N. E.; Dill, A. L.; Cooks, R. G.; *Science* **2008**, *321*, 805. [Crossref]
8. Girod, A.; Ramotowski, R.; Weyermann, C.; *Forensic Sci. Int.* **2012**, *223*, 10. [Crossref]
9. Mariotti, K. C.; *Brazilian Journal of Forensic Sciences, Medical Law and Bioethics* **2020**, *9*, 210. [Crossref]
10. Dorakumbura, B. N.; Busetti, F.; Lewis, S. W.; *Forensic Chem.* **2020**, *17*, 100193. [Crossref]
11. Weyermann, C.; Roux, C.; Champod, C.; *J. Forensic Sci.* **2011**, *56*, 102. [Crossref]
12. Frick, A. A.; Chidlow, G.; Lewis, S. W.; van Bronswijk, W.; *Forensic Sci. Int.* **2015**, *254*, 133. [Crossref]
13. Silverstein, R. M.; Webster, F. X.; Kiemle, D. J.; Bryce, D. L.; *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*, 8ª ed.; LTC: Rio de Janeiro, 2018.
14. Jin, X.; Xin, R.; Wang, S.; Yin, W.; Xu, T.; Jiang, Y.; Ji, X.; Chen, L.; Liu, J.; *Sens. Actuators, B* **2017**, *244*, 777. [Crossref]
15. Wang, H.; Liu, J.; Cooks, R. G.; Ouyang, Z.; *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 889. [Crossref]
16. Deng, J.; Wang, W.; Yang, Y.; Wang, X.; Chen, B.; Yao, Z. P.; Luan, T.; *Anal. Chim. Acta* **2016**, *940*, 143. [Crossref]
17. Su, Y.; Ma, X.; Ouyang, Z.; *Int. J. Mass Spectrom.* **2018**, *434*, 233. [Crossref]
18. de Paula, C. C. A.; Lordeiro, R. A.; Piccin, E.; Augusti, R.; *Anal. Methods* **2015**, *7*, 9145. [Crossref]
19. Jagerdeo, E.; Clark, J. A.; Leibowitz, J. N.; Reda, L. J.; *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2015**, *29*, 205. [Crossref]
20. Leitzke, A.; Berneira, L.; Rosa, B.; Moreira, B.; Mariotti, K.; Venzke, D.; Pereira, C.; *Quim. Nova* **2021**, *45*, 424. [Crossref]
21. da Silva, C. C.; Pacheco, B. S.; das Neves, R. N.; Alves, M. S. D.; Sena-Lopes, A.; Moura, S.; Borsuk, S.; de Pereira, C. M. P.; *Biomed. Pharmacother.* **2019**, *111*, 367. [Crossref]
22. Sears, V. G.; Bleay, S. M.; Bandey, H. L.; Bowman, V. J.; *Sci. Justice* **2012**, *52*, 145. [Crossref]
23. Barros Neto, B.; Scarminio, I. S.; Bruns, R. E.; *Como Fazer Experimentos: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria*, 4ª ed.; Bookman: Porto Alegre, 2010.
24. Liu, J.; Wang, H.; Manicke, N. E.; Lin, J. M.; Cooks, R. G.; Ouyang, Z.; *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 2463. [Crossref]
25. Girod, A.; Weyermann, C.; *Forensic Sci. Int.* **2014**, *238*, 68. [Crossref]
26. Yang, Q.; Wang, H.; Maas, J. D.; Chappell, W. J.; Manicke, N. E.; Cooks, R. G.; Ouyang, Z.; *Int. J. Mass Spectrom.* **2012**, *312*, 201. [Crossref]
27. Garg, R. K.; Kumari, H.; Kaur, R.; *Egyptian Journal of Forensic Sciences* **2011**, *1*, 53. [Crossref]