



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA

**Estudo do envelhecimento da composição química de resíduos de impressão
digital latente por espectroscopia Raman**

JOÃO PAULO SANTOS DE CARVALHO

BRASÍLIA – DF

2022



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Estudo do envelhecimento da composição química de resíduos de impressão digital latente por espectroscopia Raman

JOÃO PAULO SANTOS DE CARVALHO

Orientador: Prof. Dr. Sebastião William da Silva

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

BRASÍLIA – DF

2022

Dedico esta dissertação aos meus pais Teresinha e Benedito, aos meus irmãos, sobrinhos e à minha tia Francisca Noletto, por me ajudarem a perceber o quão a vida é bela.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por abençoar meus passos e objetivos, dando-me a força necessária para enfrentar e concretizar meus sonhos.

Agradeço à minha família, meus pais (Teresinha e Benedito), meus irmãos (Benilson, Denilson, Genildo, Veronica e Marisa) e meus tios, em especial (Francisca Noletto e Victor Noletto), por sempre estarem ao meu lado e apoiando cada detalhe importante na minha vida pessoal e acadêmica. Vocês são a razão de tudo isso, obrigado.

Ao meu magnífico orientador Prof.º Dr. Sebastião William da Silva por todo o apoio, orientação, compreensão e principalmente o companheirismo que serviu como diferencial nesta jornada.

Às minhas amigas Tainá Sousa, Tatiane Teixeira e Eliete Alvin pelo apoio, compreensão e amizade. Ao Felipe Alves pelo apoio emocional e companheirismo.

À minha ex-orientadora Prof.ª Dra. Anielle Christine pelos ensinamentos e parceria.

Aos meus amigos de trabalho Alexandre, Emanuel, Gil Marcos e Karla Paz pela parceria do dia a dia.

À agência CAPES pelo apoio financeiro.

À UnB pela oportunidade de ser aluno do PPG-Fis.

“Prepare o seu coração pras coisas que eu vou contar. Eu venho lá do sertão, eu venho lá do sertão. Eu venho lá do sertão e posso não lhe agradar” ...Jair Rodrigues.

RESUMO

Cientistas forenses usam impressões digitais em investigações criminais como meio de identificação há séculos. Na ciência forense as impressões digitais encontradas em cena de crime são fundamentais para a resolução do delito. A análise desses vestígios não só pode contribuir de forma significativa para a identificação do indivíduo, mas também pode permitir que o agente policial descreva o que ocorreu, como ocorreu e quem cometeu o crime. Atualmente, não existe uma metodologia confiável de datação das impressões digitais para aplicações forenses em cenas de crime. Assim, a possibilidade de datar de forma não destrutiva impressões digitais encontradas em cena de crime seria obviamente benéfica para o aprimoramento das ciências forenses. Neste trabalho a espectroscopia Raman é usada para estudar a composição química de resíduos de impressões digitais latentes no momento em que foi depositada e as alterações químicas que ocorrem ao longo de 90 dias após deposição. Impressões digitais de 3 doadores do sexo masculino foram coletadas e envelhecidas sob condições controladas. Os espectros Raman identificaram a presença de vários marcadores químicos os quais apresentaram diferentes cinéticas de degradação. Observou-se uma contínua degradação destes marcadores a partir do progressivo desaparecimento das bandas Raman a eles associados. Foi encontrado que a taxa de degradação dos carotenoides, a qual segue uma cinética de primeira ordem e varia de doador para doador, é muito superior às dos lipídios. Os resultados mostraram que devido às suas características insaturadas, tanto os carotenoides quanto os lipídios estão sujeitos a alterações moleculares, as quais se iniciam com a isomerização das ligações duplas *trans* para *cis*, para o caso dos carotenoides, e *cis* para *trans* para o caso dos lipídios. Essas alterações levam a processo de oxidação e clivagens com a geração de subprodutos. Constatou-se que o número de ligações insaturadas nos lipídios decresce levemente nos primeiros 40 dias e então cai abruptamente. Adicionalmente, os dados Raman indicaram que os lipídios estão sendo continuamente hidrolisados ao longo do tempo de envelhecimento.

Palavras-chave: impressão digital, ciências forenses, envelhecimento, espectroscopia Raman.

ABSTRACT

Forensic scientists have used fingerprints in criminal investigations as a means of identification for centuries. In forensic science, fingerprints found at a crime scene are fundamental to solving the crime. The analysis of these traces can not only contribute significantly to the identification of the individual, but can also allow the police officer to describe what happened, how it happened and who committed the crime. Currently, there is no reliable fingerprint dating methodology for forensic applications at crime scenes. Thus, the possibility of non-destructively dating fingerprints found at a crime scene would obviously be beneficial for the improvement of forensic sciences. In this study, Raman spectroscopy is used to study the chemical composition of latent fingerprint residues at the time it was deposited and the chemical changes that occur over 90 days after deposition. Fingerprints from 3 male donors were collected and aged under controlled conditions. Raman spectra identified the presence of several chemical markers, which showed different degradation kinetics. A continuous degradation of these markers was observed from the progressive disappearance of the Raman bands associated with them. It was found that the rate of degradation of carotenoids, which follows first-order kinetics and varies from donor to donor, is much higher than that of lipids. The results showed that due to their unsaturated characteristics, both carotenoids and lipids are subject to molecular changes, which begin with the isomerization of the double bonds trans to cis, in the case of carotenoids, and cis to trans in the case of lipids. These changes lead to oxidation processes and cleavages with the generation of by-products. It was found that the number of unsaturated bonds in lipids decreases slightly in the first 40 days and then drops abruptly. Additionally, Raman data indicated the lipids are being continuously hydrolyzed over the aging time.

Keywords: fingerprint, forensic science, aging, Raman spectroscopy.

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| CAPÍTULO 1 | 16 |
| 1. INTRODUÇÃO | 16 |
| CAPÍTULO 2 | 19 |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRAFICA | 19 |
| 2.1. Impressões Digitais Papilares | 19 |
| 2.1.1. <i>Composição inicial das impressões digitais</i> | 20 |
| 2.1.2. <i>Perfil do doador de impressões digitais</i> | 23 |
| 2.1.3. <i>Envelhecimento das impressões digitais latentes</i> | 26 |
| 2.2. Composição Química das Impressões Digitais | 29 |
| 2.2.1. <i>Carotenoides</i> | 29 |
| 2.2.2. <i>Lipídios</i> | 31 |
| 2.2.3. <i>Proteínas</i> | 34 |
| 2.2.4. <i>Espectroscopia Raman Aplicada em Impressões Digitais</i> | 34 |
| 2.3. Espectroscopia Raman | 36 |
| 2.3.1. <i>Espalhamento Raman na teoria Clássica</i> | 38 |
| 2.3.2. <i>Espalhamento Raman na Teoria Quântica</i> | 40 |
| CAPÍTULO 3 | 44 |
| 3. METODOLOGIA | 44 |
| 3.1. <i>Preparação das Impressões Digitais Latentes</i> | 44 |
| 3.2. <i>Técnicas Experimentais</i> | 45 |
| 3.2.1. <i>Espectroscopia Raman</i> | 45 |
| 3.3. <i>Análise dos dados</i> | 46 |
| CAPÍTULO 4 | 47 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES | 47 |
| CAPÍTULO 5 | 68 |
| 5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS | 68 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 70 |
| APÊNDICE A | 81 |

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Esquema de uma impressão digital papilar, após a sua deposição em algum substrato (superfície).....19*
- Figura 2: regiões nas camadas da pele onde ficam localizadas as camadas da derme e epiderme, extraído da referência [1].....21*
- Figura 3: Forma estrutural química dos principais carotenoides encontrados com maior frequência no corpo humano, sendo resultado da alimentação humana, extraído.....30*
- Figura 4: Resultado na reação de esterificação entre glicerol e ácidos graxos, extraído da referência [2].....32*
- Figura 5: Radiação monocromática (Laser) incidindo sobre um material, resultando no Espalhamento Rayleigh e Espalhamento Raman e suas respectivas energias ($\hbar\nu_0$ e $\hbar(\nu_0 \pm \nu_m)$), onde ν_0 é a frequência do laser, ν_m é a frequência vibracional do material ou sistema estudado.....37*
- Figura 6: Espectro Raman de CCl_438*
- Figura 7: Substrato de vidro revestido de alumínio utilizado para deposição do dedo de cada doador.....44*
- Figura 8: Espectrômetro Raman (LabRam Evolution) utilizado para coleta dos espectros em impressões digitais latentes.....45*
- Figura 9: Espectro Raman característico de uma impressão digital fresca. As bandas destacadas estão relacionadas aos compostos químicos encontrados em resíduos de impressões digitais, constituídos por: lipídios (cor cinza), carotenoides (laranja), esqualeno (cor verde) e proteína (cor azul).....47*
- Figura 10: Espectros Raman médios ($n = 30$) das impressões digitais latentes frescas, obtidas dos doadores 01, 02 e 03. Os quadros em laranja evidenciam as regiões associadas aos carotenoides enquanto os quadros cinzas evidenciam as regiões associadas aos lipídios.....50*
- Figura 11: Espectros Raman médios ($n = 10$) das impressões digitais latentes frescas, coletadas do 02 e obtidas nos dia zero (antes do início da dieta), dia 07 (final da dieta) e dia 15 (sete dias após final da dieta). Os quadros em laranja evidenciam as regiões associadas aos carotenoides.....52*
- Figura 12: Espectros Raman médios obtidas das impressões digitais do doador 03 ao longo de 90 dias.....54*
- Figura 13: Comparação das Intensidades integradas normalizadas dos picos mais intensos de carotenoides, presentes nos espectros Raman de uma impressão digital latente dos doadores 01 (cor preto), 02 (cor azul) e 03 (cor vermelho), respectivamente. a) C-C em $\sim 1157 \text{ cm}^{-1}$ e (b) C=C $\sim 1520 \text{ cm}^{-1}$55*

Figura 14. Números de onda dos modos vibracionais $\nu(\text{C-C})$ versus $\nu(\text{C}=\text{C})$ para diferentes carotenoides (círculos verdes), adaptada da referência [3]. Os círculos preto, vermelho e azul referem-se aos doadores 01, 02 e 03, respectivamente.....57

Figura 15: Representação da estrutura do β -caroteno e seus quatro principais isômeros cis.....58

Figura 16: Dependência da razão entre as intensidades integradas $I_{\nu(\text{C-C})}/I_{\nu(\text{C}=\text{C})}$ (a) e das energias vibracionais do modo $\nu(\text{C}=\text{C})$ (b) em função do tempo de envelhecimento, obtidas para os diferentes doadores. (c) Dependência das intensidades integradas $I_{\nu(\text{C-C})}/I_{\nu(\text{C}=\text{C})}$ em função das energias vibracionais do modo $\nu(\text{C}=\text{C})$, obtidas para os diferentes doadores. (d) Espectros Raman nas regiões espectrais de $1100 - 1200 \text{ cm}^{-1}$, obtidos no primeiro dia de coleta e nos dias 05 e 60 para os doadores 01 e 03, respectivamente.....61

Figura 17: Espectros Raman das impressões digitais frescas (linhas pretas) e envelhecidos (linhas azuis) dos doadores 01, 02 e 03 em torno das regiões de $1100-1200 \text{ cm}^{-1}$ e $1480 - 1600 \text{ cm}^{-1}$63

Figura: 18: Espectros Raman nas regiões espectrais de $1230 - 1350 \text{ cm}^{-1}$ (a) e $1600 - 1800 \text{ cm}^{-1}$ (b) associadas aos modos vibracionais as vibrações $\delta(=\text{CH})$ e $(\text{C}=\text{C})/(\text{C}=\text{O})$, respectivamente, em diferentes tempos de envelhecimento. Dependência da razão entre as intensidades integradas I_{1275}/I_{300} (c), $I_{\nu(\text{C}=\text{C})}/I_{\delta(\text{CH}_2)}$ (d) e $I_{\nu(\text{C}=\text{O})}/I_{\delta(\text{CH}_2)}$, em função do tempo de envelhecimento. A inserção em (a) mostra os espectros Raman na região de $1600 - 1750 \text{ cm}^{-1}$ obtidos em $t = 0$ e 78 dias. As bandas $\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{cis}}$ e $\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{trans}}$ são evidenciadas com as cores cinza claro e cinza escuro, respectivamente.....66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Atribuições dos modos vibracionais Raman (cm^{-1}) dos espectros Raman de impressões digitais latente.....49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DNA- Ácido Desoxirribonucleico.

STR- (Repetições Curtas em Tandem) Ferramentas eficientes para fins de Identificação Genética Individual Humana.

ETs- Fitas Eletricas.

MS- Espectroscopia de Massa.

MALDI-MSI- Ionização e Dessorção a laser assistida por Matriz.

GC-MS- Cromatografia Gasosa acoplada à Espectroscopia de Massa.

DFT- Teoria Funcional de Densidade.

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO

A ciência forense é constituída por um conjunto de técnicas e métodos que contribui de forma significativa na resolução e combate aos crimes cometidos na sociedade. Ela é uma área que envolve a física, química, biologia, matemática, dentre outras ciências de fronteira [4]. Seu objetivo é dar suporte às investigações relativas à justiça civil e criminal. Ela pode ser empregada na solução de crimes em todos os níveis, indo de um simples roubos a lojas, passando por homicídio e indo até mesmo ao desaparecimento de materiais radioativos de usinas nucleares [5]. Essa ciência não é utilizada somente para determinar o que aconteceu em uma cena de crime, mas também possibilita analisar cientificamente, fornecendo assim uma explicação sólida e precisa dos eventos passados e suas evidências. Dentre as diversas evidências deixadas em uma cena de crime as impressões digitais estão entre os principais meios de prova técnica usados em sua elucidação. [4],[5].

As impressões digitais papilares são formadas no período de fase fetal da vida humana, onde suas características são utilizadas por especialistas forenses para chegar ao perfil e identificação de indivíduos, destacando a unicidade dos padrões, onde não foram encontrados dois humanos com padrões idênticos de impressões digitais; os padrões de impressões digitais não mudam com tempo vivido; Após lixar ou derramar ácidos o padrão reaparece após o crescimento da pele [6]. Em cenas de crimes podem ser encontradas três tipos de impressões digitais: impressões digitais patentes, impressões em plásticos e impressões latentes.

As impressões digitais patentes são visíveis, em geral impressões com material sangrento ou impressões gordurosas. As impressões digitais plásticas são classificadas como moldes tridimensionais de impressões digitais contidas em um material com característica macia, como tinta pegajosa, cera ou argila [7]. Já as impressões digitais latentes são invisíveis a olho nu, tendo origem desconhecida. Sua criação é dada após a deposição da matriz composta

por suor e outras substâncias que envolvem as cristas de atritos, em um substrato (superfície), assim como o padrão utilizado com um carimbo de borracha. As três glândulas responsáveis pelas secreções de suor na pele são: as glândulas sudoríparas: apócrinas e écrinas e, glândulas sebáceas [8].

Em sua maioria, as impressões digitais latentes encontradas no local do crime estão relacionadas ao suor produzido pelas glândulas sudoríparas écrinas e/ou glândulas sebáceas [9]. O suor écrino tem grande concentração aquosa, compostos orgânicos e inorgânicos, sendo encontrado nas solas dos pés ou mãos. O suor sebáceo está concentrado no rosto ou cabelo, sendo sua principal composição pelos lipídios [10]. Além disso, outros contaminantes podem ser tocados durante o dia, podendo ser encontrados em impressões digitais incluindo: drogas, cosméticos, loções, alimentos, sabonetes ou graxa, entre outros. A determinação da composição química dessas impressões digitais com o auxílio de métodos químicos ou físicos, podem ajudar a criar ou desvendar o perfil do doador, resultando em informações que possam chegar ao verdadeiro culpado [11].

No entanto, mesmo identificando o doador da impressão digital, ainda um dos maiores desafios em toda e qualquer ocorrência policial é determinar a idade das impressões digitais latentes [12]. No passado o pó de ninidrina, iodo fumegante e nitrato de prata eram as técnicas mais utilizadas para o desenvolvimento das impressões digitais latentes [13]. Com os avanços tecnológicos, ultimamente várias pesquisas voltadas para métodos que possam auxiliar na identificação química, bem como degradação das substâncias presentes nas impressões digitais foram realizadas [14]. Atualmente, não existem métodos analíticos aceitos para determinar com segurança a idade da impressão digital. O potencial para determinar um prazo durante o qual uma impressão digital foi depositada é, no entanto, um fator altamente relevante nas investigações criminais. As condenações podem depender da capacidade de provar, além de qualquer dúvida razoável, se uma impressão digital foi depositada quando um crime foi

cometido ou de uma visita legítima anterior, como é frequentemente alegado pela equipe de defesa [15]. Vários métodos possíveis foram propostos recentemente, que se concentraram em mudanças físicas e químicas nas impressões digitais ao longo do tempo, bem como o efeito dessas mudanças no aprimoramento subsequente com pós ou técnicas químicas. Atualmente, a análise por espectroscopias é um dos métodos mais utilizados por não serem invasivos e terem maior praticidade na condução da amostra. Dentre estas destacam-se a Espectroscopia no Infravermelho por Transformada Fourier-FTIR, Espectroscopia de Massa-MS e Espectroscopia Raman-ER.

A Espectroscopia Raman é uma técnica que permite identificar, quantificar e estudar a composição de inúmeros tipos de materiais sendo eles orgânicos, inorgânicos e biológicos. Os materiais analisados podem estar nos estados sólido, líquido ou gasoso [16]. Na ciência forense a ER tem um papel fundamental em termos de identificação de drogas e outras substâncias exógenas [17], verificação de documentos ou ainda verificação de arte e arqueologia. Nas impressões digitais latentes contribui em evidências relacionadas ao material que o indivíduo manuseou. Além disso, pode ser usada para observar a cinética de degradação dos componentes químicos presentes nas impressões após seu envelhecimento [18].

Nota-se a importância do uso da ER em impressões digitais latentes por possibilitar o fortalecimento de métodos não destrutivos que possam ajudar a aprimorar os dados coletados em evidências forenses. Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo analisar a cinética de degradação dos resíduos químicos presentes em impressões digitais latentes após deposição em substrato apropriado, utilizando a técnica de Espectroscopia Raman.

CAPÍTULO 2

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Impressões Digitais Papilares

As impressões digitais papilares são o desenho formado pelas papilas (elevações da pele), presentes nos dedos das palmas da mão, conforme mostrado na Fig. 1. Elas originam-se pela transferência do material presente na pele epidérmica extraída dos dedos em uma superfície após o contato das pessoas [19]. As impressões digitais papilares são únicas em cada indivíduo, possibilitando a formação de um padrão biométrico único, sendo capaz de separar ou individualizar cada indivíduo. As impressões digitais papilares podem ser divididas em duas formas: impressões digitais latentes e impressões digitais padrão ou exemplares [20]. O uso dessas impressões fornece curto benefício na identificação do indivíduo, rapidez, resultados satisfatórios e praticidade, sendo usadas mundialmente.



Figura 1: Esquema de uma impressão digital papilar, após a sua deposição em algum substrato (superfície), extraído [21].

2.1.1. Composição inicial das impressões digitais

Há várias substâncias que podem ser encontradas e contribuem na composição inicial presente nas secreções das impressões digitais, As principais fontes originárias são: epiderme, glândulas secretoras na derme e contaminantes extrínsecos.

A epiderme é a camada mais externa na pele, (ver Fig. 2), é formada por tecido epitelial, que por sua vez é formado pelas camadas: estrato córneo, estrato lúcido, estrato granuloso, estrato espinhoso e estrato germinativo. A camada córnea (estrato córneo) é a camada mais externa da epiderme, tem composição de células mortas que são eliminadas durante o processo de descamação, possibilitando a renovação da pele [22], [23]. Após esse processo as células tendem a migrar através da camada basal em direção à superfície em torno de 30 dias.

A camada córnea é composta por células escamosas com queratina que ajudam na proteção contra vários acidentes, sejam eles físicos ou químicos. Esta proteção é dada pelo filme hidrolipídico que é composto por glicerídeos e ácidos graxos, colesterol e esteroides [22]. A proteção dos tecidos subjacentes dos efeitos da luz ultravioleta é feita pelos pigmentos da epiderme.

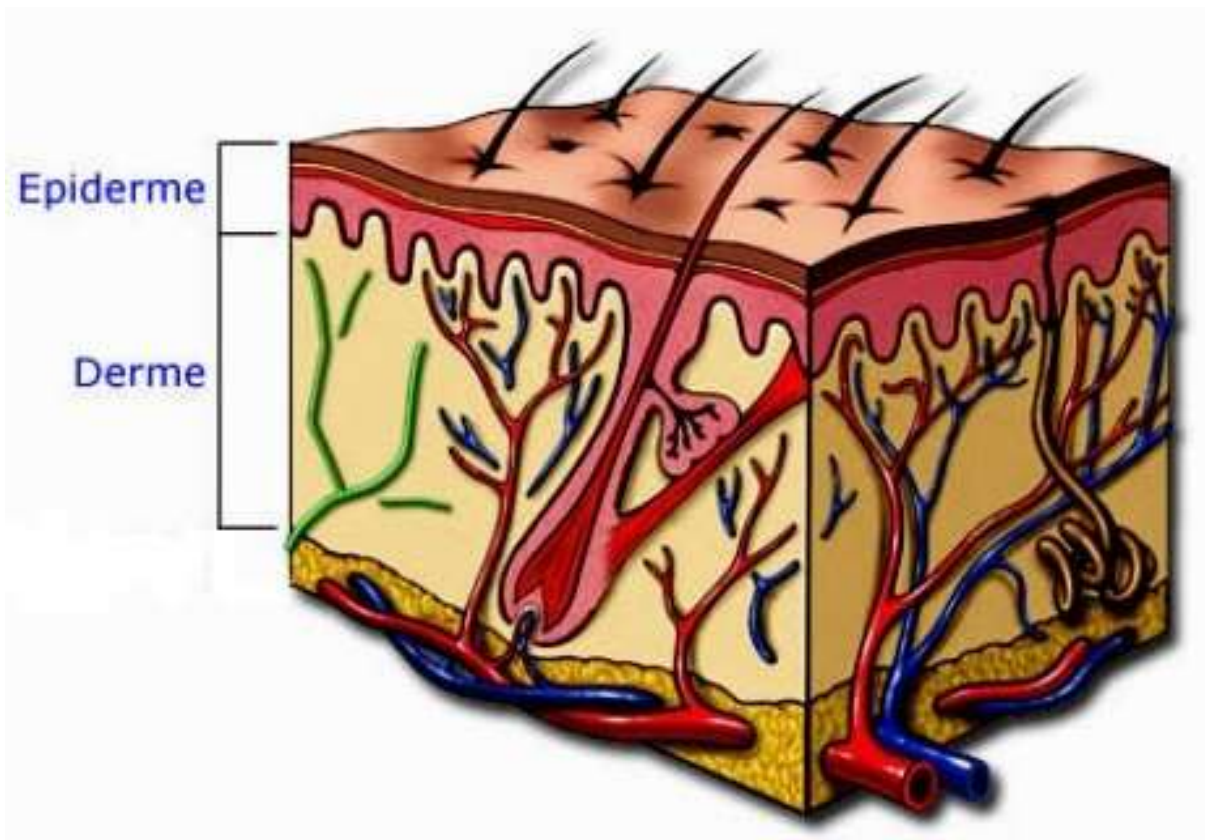


Figura 2: regiões nas camadas da pele onde ficam localizadas as camadas da derme e epiderme, extraído da referência [1].

A derme é uma camada inferior da pele constituída de duas camadas: papilar e reticular, e onde estão presentes os órgãos funcionais da pele. Na derme estão presentes os vasos linfáticos, glândulas, folículos capilares e nervos que proporcionam a sensação de toque, dor, pressão e temperatura. As glândulas secretoras incluem glândulas sudoríparas e sebáceas, suas secreções chegam na superfície da pele através dos poros. As glândulas sudoríparas são responsáveis pela produção do suor e são encontradas na superfície do corpo em mamíferos [23]. A partir do nascimento elas já permanecem presentes em sua maioria nas palmas das mãos, nas plantas dos pés e na testa. Além disso, podemos dividi-la em dois grupos: apócrinas e écrinas.

As glândulas apócrinas são encontradas em menor quantidade que as écrinas no corpo humano. Estão presentes em algumas regiões do corpo como por exemplo, na região das axilas,

couro cabeludo, região genital e ao redor das aréolas mamárias. Elas permitem a passagem para a excreção de terpeno e dietas ricas em carotenoides e licopeno. O suor apócrino é rico em compostos lipídicos (lipoproteínas, lipídios sebáceos), amônia e ureia, assim como os compostos voláteis de enxofre (3-sulfanilhexan-1nol) que têm grande influência no odor do suor [24].

As glândulas écrinas podem ser classificadas como glândulas exócrinas e são responsáveis pela abertura do canal excretor na superfície da pele, sendo consideradas como poros da pele. Sua presença se expande por todo o corpo sem exceções principalmente nas solas dos pés e palmas das mãos e, portanto, tem um papel importante na composição da impressão digital. O principal contribuinte das suas secreções é composto por aproximadamente 99% de água, mas muitos outros compostos orgânicos (proteínas e lipídios) e inorgânicos (amônia, sódio, fosfato fluoreto e cloreto), foram encontrados [8].

As secreções écrinas são fundamentais para a composição de impressões digitais por produzirem solução de baixa concentração pela via subcutânea, porém, alguns processos como reabsorção e evaporação da água mudam o conteúdo presente na superfície. Outros fatores como a temperatura e o estresse físico ou psicológico podem afetar a produção do material depositado [10].

As glândulas sebáceas são encontradas em todo o corpo, com exceção das mãos e dos pés. Elas secretam sebo, material oleoso que é um importante componente na composição de marcas digitais. Como as mãos e os pés permanecem livres das glândulas sebáceas, a transferência do sebo para as pontas dos dedos acontece apenas quando há contato com outras partes do corpo, como por exemplo o hábito de passarmos nossas mãos no rosto ou no cabelo. Os componentes do sebo incluem triglicerídeos, esqualeno, ésteres lipídicos, colesterol e ácidos graxos livres, onde os ácidos graxos livres estão em quantidade mais abundante de compostos lipídicos encontrados em resíduos de marcas de dedos [9].

O suor não é a única fonte que contribui na composição química das impressões digitais. Nota-se que outros fatores como contaminantes ambientais e materiais corporais endógenos, como a saliva, também podem afetar na composição das marcas digitais. Contudo, a partir dessas informações e das diferentes fontes, os perfis de doadores e informações características dos mesmos são obtidos, assim auxiliando e promovendo grandes resultados nas investigações forenses [25]. A seguir, veremos algumas informações sobre os perfis dos doadores de impressões digitais.

2.1.2 Perfil do doador de impressões digitais

Os perfis ou características dos doadores nas impressões digitais podem ser originados da etnia, sexo, idade, saúde, metabolismo, estado psicológico, dieta e medicação, bem como outros fatores relacionados a parâmetros externos, contato com alimentos, medicamentos ou cosméticos [8]. No entanto, nem sempre as impressões digitais encontradas nos locais de crime podem ser utilizadas para individualização, seja por não estarem presentes nos bancos de dados ou por a baixa qualidade na marca do dedo provocada pela distorção dos padrões de impressão digital utilizados para análise. Portanto, nota-se a importância de técnicas ou meios que possibilitem avaliar as características dos doadores.

O uso do ácido desoxirribonucleico (DNA) encontrado nas impressões digitais latentes é bastante frequente no processo de individualização de pessoas na cena do crime [26]. Embora em algumas situações as impressões digitais não podem ser analisadas por estarem manchadas ou distorcidas, o DNA presente nas marcas dos dedos com auxílio de técnicas podem possibilitar informações individualizadas [27]. A maioria dos métodos de extração do DNA são destrutivos, resultando na perda de informações durante a análise das impressões digitais.

O STR (Repetições Curtas em Tandem) foi uma das primeiras ferramentas usadas na área forense para identificação genética individual humana, onde os perfis completos de STR são obtidos com apenas uma impressão digital latente. Bhoelai *et al.*, observaram que dependendo da duração e intensidade do contato na superfície ou da presença de fluidos corporais, haverá grande variação de DNA entre os doadores. Além do risco de contaminação, o STR das impressões digitais não se mostra tão eficaz [28]. Para a recuperação do DNA através do toque nas marcas de dedos, um estudo recente [29] mostrou que fitas elétricas (ETs) componente presente em dispositivos explosivos que envolve acetona-água contém grandes benefícios técnicos, sendo que obter um perfil de DNA pelo ET é mais poderoso que por extração direta. O suspeito terá mais dificuldade em alegar a presença do seu DNA por manuseio ao rolo ou ter feito uma transferência secundária. Esse método é bastante importante e oferece grande potencial no estudo forense utilizando DNA.

Com o avanço tecnológico, outros métodos para análise das impressões digitais foram estudados. Helmond *et al.*, analisaram através da espectroscopia de massa a composição química de 1852 impressões digitais de 463 doadores, onde usou-se impressões naturais, écrinas e sebáceas [30]. Observou-se que os níveis de aminoácidos variam de 100ng a 10µg. O componente lipídico variou de 100ng a 100µg nas impressões naturais (sem lavagem), enquanto nas impressões sebáceas variou cerca de 1µg a mais de 100µg. Notou-se também que a previsão precisa do sexo do doador e o hábito de fumar são informações fundamentais porque ajudam na redução da população amostral em investigações forenses [30].

Estudos como os encontrados nas referências [25], [31], [32], mostraram que a idade dos doadores influenciam na composição dos resíduos em impressões digitais. Foi verificado que as impressões digitais de crianças depositadas em superfícies, desaparecem mais rapidamente que as de adultos, pois nos resíduos das impressões digitais das crianças estão presentes compostos mais voláteis, por exemplo, compostos salinos e poucos ácidos graxos

livres. Já os resíduos presentes nas marcas de dedo dos adultos inclui colesterol, esqualeno, ésteres de ácidos graxos, ésteres de ceras e glicerídeos, sendo compostos menos voláteis, assim tendo mais resistência da composição no substrato. Na puberdade há uma grande variação nas secreções devido seu início acontecer em idades diferentes. Vale ressaltar que ainda não há métodos que possam estimar com mais precisão a idade do doador, espera-se que futuramente com mais investimentos em pesquisas forenses isso melhore.

Em relação as composições presentes nas impressões digitais e observadas na identificação do sexo, o estudo de Puit *et al.* mostrou-se bastante eficaz sendo utilizado a derivatização de cloreto de fluorenil metoxicarbonil para separação por cromatografia líquida (LC) e Espectroscopia de Massa-MS (GCMS) [33]. A análise dos aminoácidos derivatizados possibilitou obter perfis completos para 20 doadores. Foi verificado que o ácido glutâmico apresentou resultados significativamente diferentes por doador e a serina foi o aminoácido que permaneceu em maior abundância no resíduo de impressão digital latente masculina que para doadores do sexo feminino.

Croxton *et al.*, analisaram os ácidos graxos e aminoácidos presentes nas impressões digitais de homens e mulheres, encontrando maior quantidade de ácidos graxos nas marcas digitais masculinas que femininas [9]. Já os aminoácidos permaneceram em um nível médio nas marcas digitais femininas. Além disso, outros estudos como Ferguson *et al.*, usaram o método espectrometria de massa (MALDI- MSI) na detecção de peptídeos e proteínas em impressões digitais de 80 doadores (40 homens e 40 mulheres) [27]. Os resultados obtidos, indicaram que há uma variação de 67,5% a 85%, dependendo dos critérios de atribuição, indicando o potencial que difere homens de mulheres.

Souza *et al.*, em seu estudo recente apresentou o uso da Espectroscopia Raman e análise quimiométrica em impressões digitais para caracterização do sexo em indivíduos [34]. Foram coletadas 42 impressões (21 homens e 21 mulheres), sendo submetidas ao claro e escuro,

considerando o período de sete dias. Percebeu-se que a degradação das impressões relacionada a fotosensibilidade influencia na determinação do sexo.

Nos estudos de Gorka *et al.* usou-se as deposições de secreções utilizando a técnica Imagem por Espectrometria de Massa obtida através da dessorção, ionização e vaporização das seções de tecidos biológicos presentes nas impressões digitais, a detecção e caracterização da relação massa/carga (m/z) das moléculas detectadas [35]. Percebeu-se que há como distinguir os diferentes tipos de secreção, as marcas de dedos estão próximas umas das outras, bem como, a separação entre as secreções écrinas e naturais e entre as secreções écrinas e ricas em sebo, além da sua composição química geral. As marcas de dedos associadas a um dos indivíduos podem ser agrupadas e diferenciadas dos outros doadores e as marcas de dedos depositadas pela manhã estão em consistência com as deixadas à tarde, assim como as da noite.

Esses e outros estudos contribuem de forma significativa para pesquisas na área forense em especial, com o uso de impressões digitais latentes.

2.1.3 Envelhecimento das impressões digitais latentes

À medida que a impressão digital envelhece haverá mudanças nas substâncias de sua composição, assim interferindo no desempenho dos métodos usados para revelação da idade da mesma. Essas mudanças acontecem por conta da degradação química ou biológica dos compostos presentes nas impressões digitais [36].

Na degradação química podem ser incluídos a desidratação de componentes aquosos, a isomerização, a oxidação e a clivagem molecular. Estes processo podem afetar os níveis de ureia, aminoácidos, esqualeno, colesterol, ácidos graxos, DNA, entre outros. Já a degradação biológica é resultado das atividades bacterianas que são encontradas nas mãos, afetando a degradação do resíduo das impressões digitais [37].

Vale lembrar que a complexidade da idade de uma impressão digital corresponde à diversidade da composição química e exposição de fatores ambientais como: Luz, umidade e temperatura [38]. A determinação do envelhecimento ou idade das impressões digitais latentes ainda proporciona um grande desafio nas investigações forenses [39]. Nota-se a necessidade de métodos precisos que possam ajudar a detectar o envelhecimento das impressões digitais latentes e com isso melhorar nas investigações forenses.

Com o passar do tempo as impressões digitais latentes vão mudando em suas substâncias e componentes individuais, afetando assim a morfologia das cristas. Barros *et al.* utilizaram a técnica conhecida como morfometria para avaliar o envelhecimento das impressões digitais em 20 doadores (10 homens e 10 mulheres) com o método de pó magnético por 30 dias [37]. Observou-se que o pó magnético é eficaz para impressões recentes e envelhecidas. Com o envelhecimento as cristas latentes tiveram um estreitamento e uma redução na porcentagem das cristas visíveis, assim entrando em conformidade com os estudos de [40] e [36].

De acordo com Bhargava *et al.*, as técnicas Espectroscópicas de Infravermelho (IV) além de serem não destrutivas, são atraentes pois permitem identificar as composições químicas intrínsecas dos materiais constituintes [41]. Fritz *et al.* utilizaram a espectroscopia infravermelha- por transformada de Fourier (FTIR) na determinação da composição química de resíduos de impressões digitais, no período de nove meses, armazenadas em condições ambientais. Após o envelhecimento, notou-se que a partir de três meses houve uma diminuição geral na intensidade do sinal e uma perda do material. Os componentes estáveis ou voláteis entram em um processo de evaporação rápido, já os mais estáveis permanecem por mais tempo, ajudando na identificação da impressão digital até mesmo após 20 anos [42].

Archer *et al.*, estudaram a variação da composição lipídica com o tempo, usando o material sebáceo presente em resíduos de impressões digitais, armazenadas no claro e no escuro [43]. Foram analisadas impressões de cinco doadores masculinos, durante 33 dias pelo método

cromatografia gasosa acoplado à espectrometria de massa (GC-MS). Percebeu-se que, com o passar do tempo o teor de ácidos graxos, tanto na luz quanto no escuro, aumenta ao longo do período inicial de envelhecimento. O esqualeno que foi observado em quase todas as amostras frescas, se degradou ou se transformou em outros compostos rapidamente, sendo dificilmente detectado em amostras mais antigas e armazenadas à luz.

Per *et al.*, empregaram o método de espectroscopia Raman para analisar as impressões digitais de alguns doadores ao decorrer de quatro semanas, sendo armazenadas no claro e no escuro. Foi possível notar a presença e o comportamento de alguns compostos como: carotenoides, esqualeno, ácidos graxos insaturados e porções de aminoácidos em proteínas. Com o envelhecimento houve decaimento nos carotenoides, esqualeno, ácidos graxos insaturados e porções de aminoácidos, sendo que as proteínas se mantiveram mais estáveis e menos sensíveis à luz [18].

Embora as técnicas mostradas acima para análise de envelhecimento das impressões digitais sejam não destrutivas, sem contato e de fácil utilização na área forense, atualmente não existe algum método confiável de datação das impressões digitais em cenas de crime. Há uma grande lacuna a ser preenchida e aprofundada por pesquisas futuras [41].

2.2 Composição Química das Impressões Digitais

Nesta seção são apresentados de forma resumida os principais componentes químicos presentes em impressões digitais latentes.

2.2.1 Carotenoides

Os carotenoides são compostos pigmentados e sintetizados por plantas e microrganismos, mas não por animais [44]. Eles são hidrocarbonetos que contém pelo menos 40 carbonos com um enorme sistema de duplas ligações conjugadas. Sua classificação pode ser dada como carotenos e xantofilas, dependendo de sua estrutura química, α -, β -caroteno e licopeno, sendo exemplos de carotenos, representando carotenoides não oxigenados [45]. Na natureza, foram identificadas mais de 600 estruturas de carotenoides [46]. No entanto, apenas 40 estão presentes na alimentação humana, sendo que 20 destes carotenoides estão localizados no sangue e tecidos humanos [44].

Os principais carotenoides existentes no corpo humano são: β -caroteno, α -caroteno, licopeno, luteína e criptoxantina (ver Fig. 3), sendo que 70% desses carotenoides são o β -caroteno e licopeno. O licopeno é um carotenoide importante por não conter atividade provitamina A [47]. É responsável pela cor vermelha de várias frutas e vegetais. Ele pode ser encontrado principalmente no tomate vermelho e seus derivados [48]. Sua capacidade como um potente oxidante contribui na proteção de células contra o dano oxidativo, assim possibilitando a diminuição do risco de adquirir doenças crônicas [47].

O β -caroteno é um carotenoide importante e encontra-se presente nas frutas e vegetais, tendo como principal característica a atividade pró-vitamina A, ou seja, são convertidos em vitamina A no organismo [44]. Esse pigmento é conhecido pela sua capacidade de antioxidante,

atua na supressão do oxigênio singlete por meio da transferências de elétrons para radicais livres, gerando cátions do radical β -caroteno. Sua coloração em alimentos varia de amarelo ao laranja, podendo ser encontrado na cenoura, laranja ou abóbora [49]. Além disso, o β -caroteno tem outros papéis fisiológicos como: Comunicação célula a célula, efeito imunomodulador e proteção UV da pele [50].

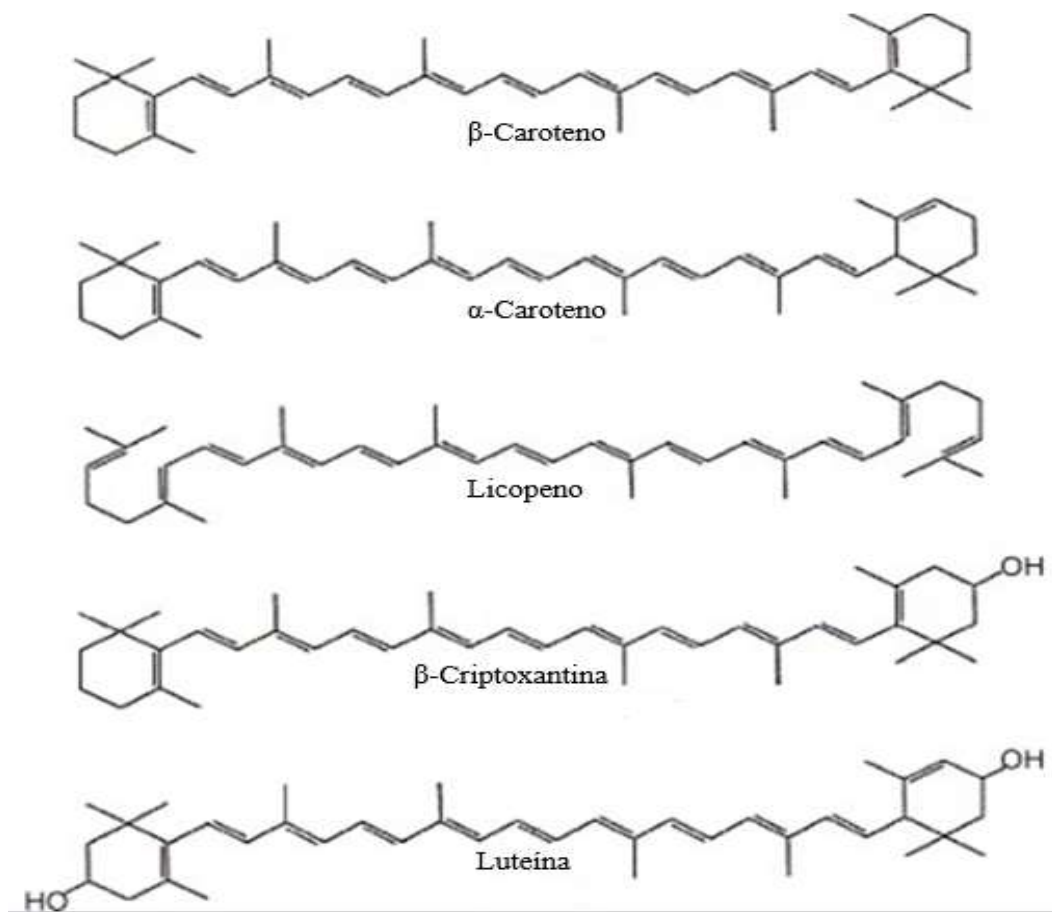


Figura 3: Forma estrutural química dos principais carotenoides encontrados com maior frequência no corpo humano, sendo resultado da alimentação humana, adaptada de [44].

Devido à sua característica insaturada, os carotenoides estão sujeitos a alterações principalmente pelos processos de isomerização e oxidação [45]. Além disso, a luz, o pH e a temperatura contribuem para alterações na cor dos alimentos e em seu valor nutricional, como no caso do azeite, que ao ser submetido a altas temperaturas, muda de cor e seu teor de carotenoides diminui [51].

2.2.2 Lipídios

Entre os componentes presentes nas impressões digitais de origem sebáceas, pode-se destacar os lipídios que têm como compostos: Ácidos graxos, glicerídeos, colesterol, esqualeno e variedades de ésteres lipídicos [9], [52].

Os lipídios do grego “lipos” que significa gordura, englobam vários tipos de moléculas orgânicas que têm como características alta solubilidade em solventes orgânicos não polares. Essas moléculas originam-se através da relação entre os ácidos graxos e álcool. Além disso, sua coloração é esbranquiçada ou levemente amarelada [53].

Na dieta alimentar humana, os lipídios se fazem presente quando ingeridos em sua forma triacilgliceróis, contendo bastante importância por incluírem ácidos graxos fundamentais e vitaminas lipossolúveis. As fontes lipídicas podem ser encontradas na sua maioria em alimentos como: grãos e gorduras vegetais e animais em geral. A importância dos lipídios na alimentação está relacionada na sua função de depósitos de energia [2,53]. Os triacilgliceróis são caracterizados como uma forma de armazenamento de energia presente nos organismos, sendo menos oxidados que os carboidratos e consomem pouca água no processo de solvatação na hora de serem armazenados, pois são apolares. Sua formação está relacionada à reação de esterificação dos ácidos graxos com a presença de três grupos hidroxila de glicerol (ver Fig. 4). Os triacilgliceróis mais simples têm em sua composição somente um tipo de ácido graxo, porém, os triacilgliceróis mistos são constituídos de dois ou três tipos de ácidos graxos [2].

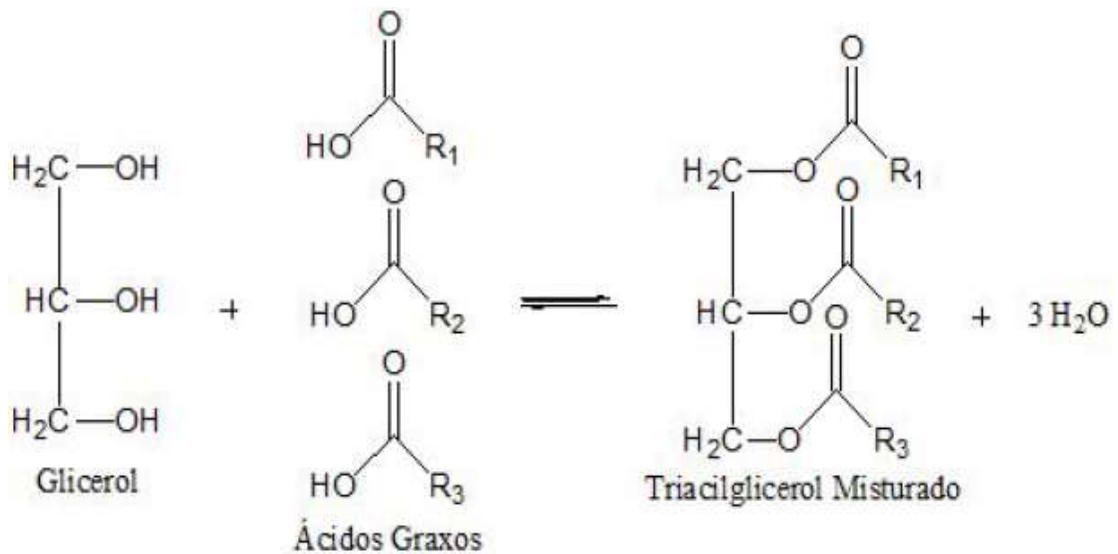


Figura 4: Resultado na reação de esterificação entre glicerol e ácidos graxos, extraído da referência [2].

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos com longas cadeias de hidrocarbonetos, podendo ser divididos em saturados e insaturados. Os ácidos graxos saturados apresentam somente de ligações simples, ao contrário dos insaturados que contém uma ou mais ligações duplas. Os ácidos insaturados podem ser representados na isomeração *cis* ou na isomeração *trans*. A ligação dupla *cis* provoca um dobramento no ácido graxo. Se tratando dos ácidos graxos, o ligante utilizado é o hidrogênio [54]. Caso o ácido graxo tenha duas ou mais ligações duplas em sua cadeia, elas permanecerão espaçadas com intervalos de três carbonos [55].

As principais fontes de ácidos graxos *trans* são: gorduras hidrogenadas, óleos refinados, carne, leite e alguns derivados de animais ruminantes. Quanto aos ácidos graxos *cis* são de origem vegetais e são menos estáveis que o *trans* [55].

Nos estudos de Archer *et al.*, foram encontrados e identificados alguns ácidos graxos de cadeia longa nas impressões digitais, como: ácido tetradecanóico (C_{14} saturado), ácido palmitoleico (C_{16} insaturado), ácido palmítico (C_{16} saturado), ácido oleico (C_{18} insaturado) e ácido esteárico (C_{18} saturado) [43]. Além disso, os ácidos graxos saturados aparecem com mais

frequência do que seus análogos insaturados. O ácido palmítico e ácido esteárico são detectados em quase todas as amostras. Com o tempo, os ácidos graxos de cadeias curtas (ácidos hexanóicos, octanóico, não anóico) aparecem com mais frequência nas amostras envelhecidas. Os ácidos graxos de cadeias mais longas aparecem em todas as amostras.

O esqualeno é uma biomolécula lipofílica pertencente à classe química dos triterpenos. Sua fórmula é dada por seis unidades de isopreno, sendo portanto um composto isoprenóide contendo 30 carbonos com seis ligações duplas ($C_{30}H_{30}$) [56]. Pode ser encontrado em óleos de peixe, em especial no óleo do fígado do tubarão, em óleos vegetais que apresentam menor quantidade. No sebo humano é encontrado em aproximadamente 13% de esqualeno. Sua importância se dá devido à prevenção em doenças cardiovasculares relacionadas ao estresse oxidativo [57,58]. A presença de aminoácidos, ácidos graxos e esqualeno nas impressões digitais latentes é bastante frequente, porém, as quantidades presentes são relativamente diferentes, dependendo do doador [9]. Em crianças, as composições lipídicas secretadas não são sebáceas, são adquiridas através da epiderme, tendo como seus principais componentes: Ésteres de colesterol e colesterol livre [59].

Os ésteres são compostos resultantes da troca de hidrogênio encontrado em carboxilas dos ácidos carboxílicos através de um grupo orgânico. A partir do envelhecimento das impressões digitais, os lipídios saturados provocam níveis mais elevados de éteres de ceras. Nas impressões digitais de crianças os ésteres têm um decaimento maior e mais rápido que os sais em temperaturas mais elevadas [60].

2.2.3 Proteínas

As proteínas são moléculas orgânicas fundamentais para as células vivas e estão relacionadas às funções fisiológicas [61]. Ao mesmo tempo, são catalisadores, ajudam na seleção dos compostos que entram e saem das moléculas, fazem parte do processo de regeneração dos tecidos e estão presentes nos mecanismos de defesa celular. Podem ser encontradas em carnes, leites, ovos e no trigo, além de serem bastante utilizadas no processo de ganho de massa muscular em academias ou outros meios de atividade física [62].

As proteínas são os compostos que estão em maior concentração nas impressões digitais quando expelidas pelas das glândulas écrinas. Porém, estão em baixos teores nos resíduos nas impressões digitais [22]. Cerca de 133 μ g de proteínas são encontradas em resíduos écrinos, enquanto que para resíduos mistos (écrinos, sebáceos e apócrinos) podem ser encontrados cerca de 38 μ g. Os resíduos mistos presentes nas marcas de dedos são resultantes do esfregamento dos dedos contra o rosto, sendo carregados de sebos e proteínas [63].

A concentração de proteínas nas impressões digitais de crianças é muito menor que em adultos. Nas crianças o valor da proteína equivale a 1%, enquanto em adultos 5%. Percebe-se que os resultados em crianças não são positivos [60].

2.2.4 Espectroscopia Raman Aplicada em Impressões Digitais

A espectroscopia Raman recentemente tem se tornado uma ferramenta muito poderosa na análise das impressões digitais. Este método vem sendo usado para detecção de vários materiais exógenos e endógenos em impressões digitais latentes. Um exemplo disso é uma variedade de drogas de abuso identificadas a partir das impressões digitais latentes com outras drogas não controladas de natureza semelhante. Os medicamentos utilizados continham sulfato de anfetamina, nitrazepam, aspirina, cafeína e fosfato de codeína. A identificação dessas drogas

ocorreu com sucesso, diferenciadas de suas contrapartes não semelhantes [19]. Além disso, em análises de impressões digitais por espectroscopia Raman após serem reveladas com pó e coletadas com fita adesivas, foram encontrados vários analgésicos de vendas livres como: comprimidos de co-codamol Tesco, Veganin, Codis 500 solúveis, Anadin Original, Solpadine Plus e Nurofen Plus. Constatou-se que mesmo com o tratamento com pó e fitas adesivas não houve impedimento em detectar as drogas [64]. Recentemente, um estudo de Amin *et al.*, mostraram que através da espectroscopia Raman com análise de estatísticas utilizados nas análises de impressões digitais latentes é possível separar impressões digitais naturais de impressões digitais dopadas com contaminantes como: ibuprofeno, diclofenaco, cetoprofeno e naproxeno [65].

A técnica Raman também pode ser aplicada em estudos sobre a composição química presente nas impressões digitais latentes. Um exemplo é o uso dos aminoácidos (componente químico da impressão digital) que foi analisado para determinar o sexo do originador da impressão digital [66]. Deng *et al* usaram o sistema de imagens Raman de varreduras para identificar impressões digitais compostas com β -caroteno e óleo de peixe em diferentes substratos [67]. Em seus resultados mostraram que o método pode mapear a distribuição 2D de sinais de diferentes picos Raman em diferentes materiais de substrato, identificando o potencial do sistema para mapear simultaneamente diferentes materiais em impressões digitais latentes.

Embora a espectroscopia Raman seja favorável na detecção de materiais em impressões digitais, outras técnicas baseadas em Raman podem ser utilizadas. O método de espectroscopia Raman de superfície aprimorada (SERS) é uma poderosa técnica sensível à superfície que estuda as propriedades plasmônicas do ouro (Au) ou prata (Ag), para melhorar o sinal Raman [68]. Como no SERS os analitos estão em contato com as nanopartículas metálicas, estudos sugerem que o uso de nanopartículas de prata funcionalizadas por anticorpos para direcionar componentes específicos encontrados no suor, seguido por imagens de SERS [69]. Connatser

et al., utilizaram o método de espectroscopia Raman de superfície aprimorada (SERS) para revelar as impressões digitais, estudando os aminoácidos e lipídios presentes nos resíduos [70]. Outro método de grande eficácia é a microscopia de espalhamento Raman estimulado (SRS) que possibilita um rápido levantamento de padrões de imagens de impressões digitais com alta resolução espacial, principalmente em bandas de lipídios. Uma característica importante desse método é que o mesmo não precisa de limpeza inicial na coloração das impressões digitais para uma visualização ou análise, assim possibilitando aos cientistas forenses uma análise do substrato fora do local [71].

2.3 Espectroscopia Raman

Na última década a espectroscopia Raman teve um grande amadurecimento, tornando-se uma das técnicas mais utilizadas na ciência analítica, devido a sua sensibilidade molecular, facilidade de implementação, além de possibilitar a sua aplicabilidade em materiais com soluções aquosas [72]. O efeito Raman, descoberto pelo físico indiano Chandrasekhara Venkata Raman em 1928, tornou-se uma ferramenta amplamente utilizada para fornecer informações sobre estruturas químicas e formas físicas, para identificar substâncias a partir de padrões espectrais característicos ('impressão digital') e para determinar quantitativa ou semi-quantitativamente o teor de uma substância em uma amostra. A espectroscopia Raman é usada de modo a estudar os modos vibracionais de energias de baixa frequência, transições energéticas rotacionais e vibracionais, através da dispersão inelástica incidida na amostra [16].

Se considerarmos a incidência de um "laser" com um único comprimento de onda sobre uma amostra (líquida, sólida ou gasosa), ocorrerá o espalhamento dessa radiação. Esse espalhamento pode ser dividido em: espalhamento elástico (Espalhamento de Rayleigh), onde a luz possui a frequência do "laser" (ν_0) ou espalhamento inelástico (Espalhamento Raman),

cuja componente tem a frequência deslocada com relação ao laser ($\nu_0 \pm \nu_m$) [73], tais informações podem ser observadas na Fig. 5.

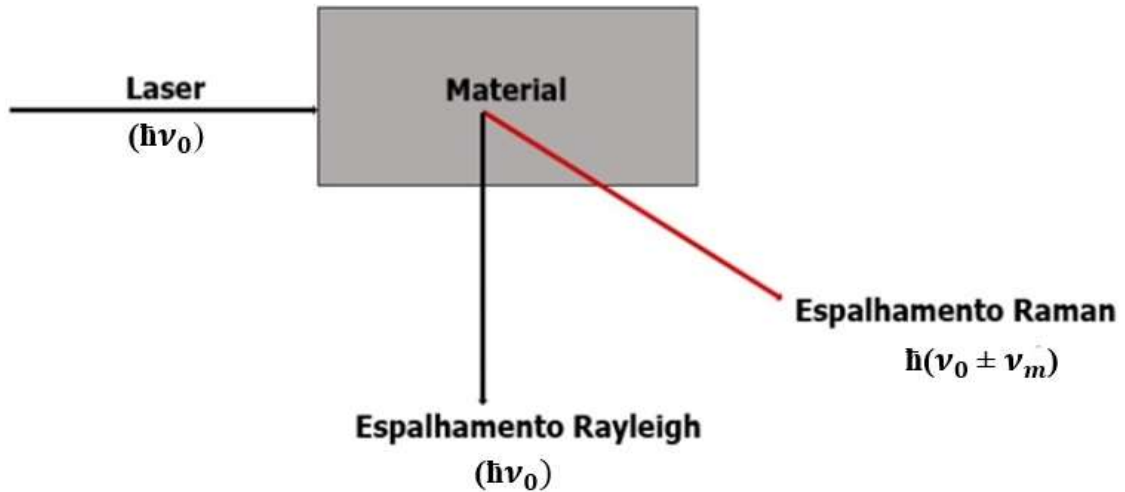


Figura 5: Radiação monocromática (Laser) incidindo sobre um material, resultando no Espalhamento Rayleigh e Espalhamento Raman e suas respectivas energias ($\hbar\nu_0$ e $\hbar(\nu_0 \pm \nu_m)$), onde ν_0 é a frequência do laser, ν_m é a frequência vibracional do material ou sistema estudado.

O espalhamento Raman é um fenômeno de dispersão da luz, onde a energia é transferida entre um fóton incidente com a energia incidente e a amostra, tendo como resultado um fóton espalhado com uma energia diferente e dispersa, bem como mudanças em sua frequência [74], [75]. Se as bandas ou linhas Raman tiverem frequências menores que a frequência incidente ($\nu_0 - \nu_m$) podemos chamá-las bandas Stokes e as frequências maiores que a frequência incidente ($\nu_0 + \nu_m$) são definidas como bandas Anti-Stokes, [76]. No espalhamento Raman Stokes a molécula ganha energia do fóton durante o espalhamento (excitado para um nível vibracional mais alto), visto que no fóton espalhado há perda de energia e seu comprimento de onda aumenta. Pelo contrário, no espalhamento Raman Anti-Stokes a molécula perde energia relaxando para um nível vibracional mais baixo, o fóton espalhado ganha energia

correspondente e seu comprimento de onda diminui [72]. A título de exemplo o espectro Raman do CCl_4 é mostrado na Fig. 6.

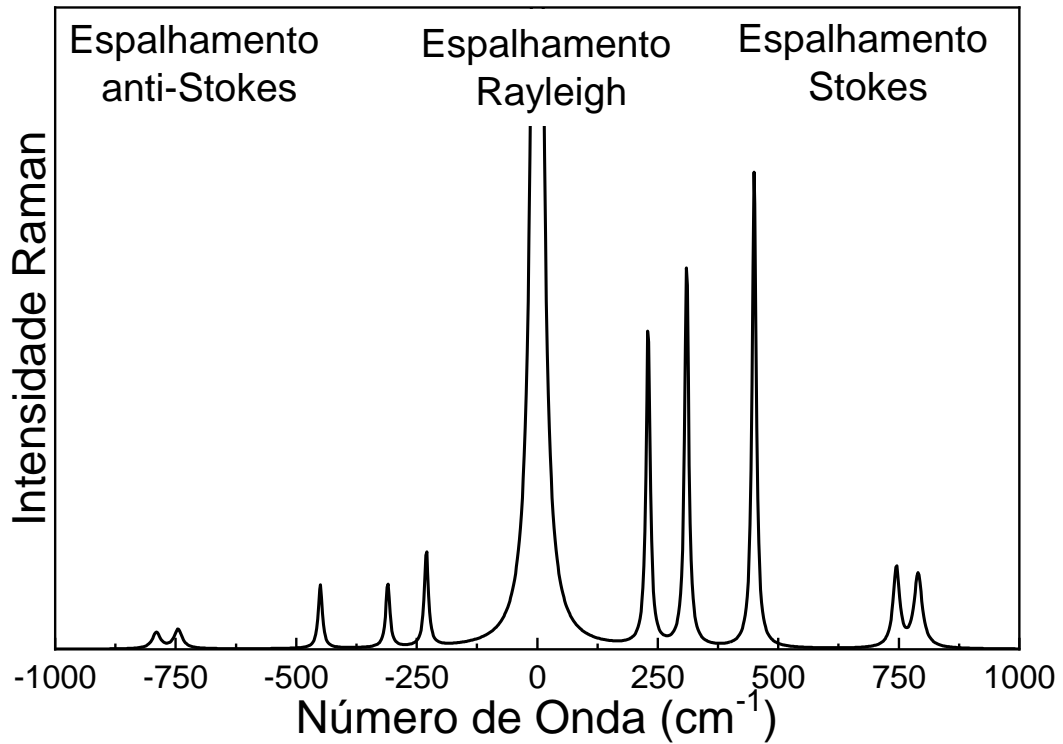


Figura 6: Espectro Raman de CCl_4 .

2.3.1 Espalhamento Raman na teoria Clássica

O espalhamento Raman clássico parte da teoria eletromagnética, considerando que a intensidade do campo elétrico \vec{E} da onda eletromagnética varia em função do tempo, como mostrado na equação:

$$|\vec{E}| = E_0 \cos 2\pi\nu_0 t. \quad (01)$$

sendo que ν_0 é a frequência da radiação eletromagnética. Caso a molécula diatômica seja irradiada por essa onda, um momento dipolo elétrico \vec{P} é induzido, assim:

$$|\vec{P}| = \vec{\alpha}|\vec{E}|, \quad (02)$$

substituindo a Eq. (1) em (2), temos

$$|\vec{P}| = \vec{\alpha}\vec{E}_0 \cos 2\pi\nu_0 t, \quad (03)$$

onde $\vec{\alpha}$ é a constante de proporcionalidade e é chamada de polarizabilidade. Se a molécula está vibrando com uma frequência ν_m , pode-se escrever o deslocamento nuclear q como:

$$q = q_0 \cos(2\pi\nu_m t), \quad (04)$$

onde q_0 é a amplitude máxima vibracional. Para pequenas amplitudes, α é uma função linear de q . Dessa forma, pode-se expandi-lo utilizando a série de Taylor, assim

$$\vec{\alpha} = \vec{\alpha}_0 + \left(\frac{d\vec{\alpha}}{dq}\right)_0 q + \dots \quad (05)$$

No qual $\vec{\alpha}_0$ é a polarização na posição de equilíbrio e $\left(\frac{d\vec{\alpha}}{dq}\right)_0$ é a taxa de variação de $\vec{\alpha}$ relacionada a posição de equilíbrio. Substituindo na Eq. (3), temos

$$|\vec{P}| = \vec{\alpha}_0\vec{E}_0 \cos 2\pi\nu_0 t + \left(\frac{d\vec{\alpha}}{dq}\right)_0 q\vec{E}_0 \cos 2\pi\nu_0 t. \quad (06)$$

Agora combinando com a Eq. (4)

$$|\vec{P}| = \vec{\alpha}_0\vec{E}_0 \cos 2\pi\nu_0 t + \left(\frac{d\vec{\alpha}}{dq}\right)_0 q_0\vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \cos(2\pi\nu_m t). \quad (07)$$

Lembrando da relação trigonométrica $\cos(a) \cos(b) = \frac{1}{2}[\cos(a+b) + \cos(a-b)]$,

assim reescrevendo a Eq. (7), como

$$|\vec{P}| = \vec{\alpha}_0\vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \frac{1}{2}\left(\frac{d\vec{\alpha}}{dq}\right)_0 q_0\vec{E}_0 \cos(2\pi(\nu_0 + \nu_m)t) + \cos(2\pi(\nu_0 - \nu_m)t) \quad (08)$$

Pela teoria clássica, o primeiro termo da Eq. (8) representa um dipolo oscilante que irradia luz da frequência ν_0 (espalhamento Rayleigh), o segundo termo da equação corresponde

ao espalhamento Raman anti-Stokes com frequência $(\nu_0 + \nu_m)$, onde a radiação incidida na amostra tem energia menor que a energia de radiação emitida e o terceiro termo da equação com frequência $(\nu_0 - \nu_m)$ está relacionado ao espalhamento Raman Stokes, tendo sua energia de radiação incidente menor que a energia da radiação emitida pela amostra. Vale lembrar que se $\left(\frac{d\vec{\alpha}}{dq}\right)_0$ for igual a zero, a vibração é Raman ativa, ou seja, para ser Raman ativa é necessário que a taxa de mudança de polarização $\vec{\alpha}$ com a vibração seja zero [73].

2.3.2 Espalhamento Raman na Teoria Quântica

Pela teoria quântica que relaciona o espalhamento da luz nos sólidos, pode-se aplicar o Hamiltoniano H formado por:

$$H = H_0 + H_1, \quad (09)$$

onde H_0 é representado por $H_0 = H_m + H_r$, sendo H_m o Hamiltoniano do material e H_r o Hamiltoniano do campo da radiação eletromagnética. Já H_1 é formado por $H_1 = H_{mr} + H_{ep}$, onde H_{mr} é o Hamiltoniano relacionado a interação entre o material e a radiação e, H_{ep} representa a interação entre o elétron e o fônon. Ao compararmos H_0 com H_1 , nota-se que H_1 é muito menor, assim podemos relacioná-lo como a perturbação do sistema descrito acima.

Analisando o Espalhamento Raman de primeira ordem com a participação de somente um fônon óptico, considerando que o sistema está no estado $|i\rangle$, só exista um fóton incidente de energia $\hbar\nu_i$, tendo o material em seu estado fundamental. Em contrapartida o sistema passa para o autoestado $|a\rangle$, onde o material absorve o fóton incidente, resultando em um par de elétron-buraco. Depois o sistema passa para o autoestado $|b\rangle$, onde ocorre a criação de um fônon óptico de energia $\hbar\nu_{ph}$. Por último, no estado $|f\rangle$, ocorre a recombinação do par de elétron-buraco, assim criando o fóton espalhado de energia $\hbar\nu_s$.

Considerando os autoestados de $|x\rangle$, onde $(x = i, a, b, f)$ pertencente ao Hamiltoniano não perturbado H_0 descritos acima pelo Espalhamento Raman com fônon óptico, podemos defini-los como:

$$|i\rangle = |n_i, 0, n, \phi_0\rangle, \quad (10)$$

$$|a\rangle = |n_i - 1, 0, n, \phi_e\rangle, \quad (11)$$

$$|b\rangle = |n_i - 1, 0, n \pm 1, \phi_e\rangle, \quad (12)$$

$$|f\rangle = |n_i - 1, 1, n \pm 1, \phi_0\rangle, \quad (13)$$

onde, a representação dos termos dentro de cada ket é dado pela seguinte ordem: número de fótons incidentes, número de fótons espalhados, número de fônons e o estado eletrônico. Note que no terceiro termo nos kets $|b\rangle$ e $|f\rangle$ há presença dos sinais (\pm) , onde o sinal $(+)$ representa a componente do Raman Stokes e o sinal $(-)$ representa a componente Raman anti-Stokes. A representação dos autovalores de energia destes autoestados são dados por:

$$E_i = n_i \hbar \nu_i + n \hbar \nu_{ph} + \varepsilon^\mu(k_0), \quad (14)$$

$$E_a = (n_i - 1) \hbar \nu_i + n \hbar \nu_{ph} + \varepsilon^c(k_0), \quad (15)$$

$$E_b = (n_i - 1) \hbar \nu_i + (n \pm 1) \hbar \nu_{ph} + \varepsilon^c(k_0), \quad (16)$$

$$E_f = (n_i - 1) \hbar \nu_i + \hbar \nu_s + (n \pm 1) \hbar \nu_{ph} + \varepsilon^\mu(k_0), \quad (17)$$

onde, $\hbar \nu_i$ é a energia do fóton incidente, $\hbar \nu_{ph}$ é a energia do fônon, $\varepsilon^\mu(k_0)$ e $\varepsilon^c(k_0)$ são as energias dos elétrons presentes na banda de valência e condução e, $\hbar \nu_s$ a energia do fóton espalhado. Considerando as equações de conservação de energia e conservação do momento linear, representadas abaixo:

$$\hbar \nu_i = \hbar \nu_s \pm \hbar \nu_{ph}, \quad (18)$$

$$\vec{k}_i = \vec{k}_s \pm \vec{q}_{ph}, \quad (19)$$

onde o sinal positivo representa o Raman Stokes e o sinal negativo o Raman anti-Stokes, respectivamente. Os termos ν_{ph} e \vec{q}_{ph} , representam a frequência e o vetor de onda do fônon

óptico criado ou aniquilado. Já os termos \vec{k}_i e \vec{k}_s representam o vetor de onda do fóton incidente e o vetor de onda do fóton espalhado. Utilizando a teoria da perturbação de terceira ordem dependente do tempo para relacionar a intensidade da luz espalhada em função da luz incidente [76], temos:

$$(E_i) \propto \left| \sum_{a,b} \frac{\langle f | H_{mr}^{abS} | b \rangle \langle b | H_{ep} | a \rangle \langle a | H_{mr}^{emS} | i \rangle}{(E_i - E_a - i\Gamma_r)(E_i - E_b - i\Gamma_r)} \right|^2 \quad (20)$$

sendo, H_{mr}^{abS} e H_{mr}^{emS} corresponde aos Hamiltonianos de absorção e emissão na interação do material com a radiação. O termo H_{ep} descreve a interação elétron-fônon, Γ_r é o amortecimento e este se relaciona com o tempo de vida do estado intermediário.

Subtraindo os autovalores das energias das Eqs. (14) e (15), eliminando os termos iguais, mas com sinais opostos e reescrevendo a equação, obtêm-se

$$E_i - E_a = \hbar\nu_i - \Delta\varepsilon. \quad (21)$$

A Eq. (21) é a condição do Raman ressonante com intensidade de luz espalhada entre o fóton incidente e a energia de transição eletrônica. Agora, substituindo os valores de E_i e E_b das Eqs. (14) e (16), eliminando os termos iguais com sinais opostos, têm-se

$$E_i - E_b = (\hbar\nu_i \mp \hbar\nu_{ph}) - [\varepsilon^c(k_0) - \varepsilon^\mu(k_0)]. \quad (22)$$

Sabe-se que $\hbar\nu_i = \hbar\nu_S \pm \hbar\nu_{ph}$, então

$$E_i - E_b = \hbar\nu_S - \Delta\varepsilon. \quad (23)$$

A Eq. (23) descreve a ressonância entre o fóton espalhado e a transição eletrônica. Ainda na Eq. (23) é possível identificar devido ao sinal (\mp) que o termo $E_i - E_b$ pode ser tanto positivo (+), quanto negativo (-) e ambos estão relacionados aos espalhamentos Raman Stokes e anti-Stokes [76]. Usando as Eqs. (22) e (23) em (21):

Para a componente Raman Stokes:

$$I_{RS}(E_i) \propto \left| \sum_{a,b} \frac{\langle f | H_{mr}^{abS} | b \rangle \langle b | H_{ep} | a \rangle \langle a | H_{mr}^{emS} | i \rangle}{(\hbar\nu_i - \Delta\varepsilon - i\Gamma_r)(\hbar\nu_i - \hbar\nu_{ph} - \Delta\varepsilon - i\Gamma_r)} \right|^2 \quad (24)$$

Para a componente Raman anti-Stokes

$$I_{Ra-S}(E_i) \propto \left| \sum_{a,b} \frac{\langle f | H_{mr}^{abS} | b \rangle \langle b | H_{ep} | a \rangle \langle a | H_{mr}^{emS} | i \rangle}{(\hbar\nu_i - \Delta\varepsilon - i\Gamma_r)(\hbar\nu_i + \hbar\nu_{ph} - \Delta\varepsilon - i\Gamma_r)} \right|^2 \quad (25)$$

Através das Eqs. (24) e (25), nota-se que a intensidade da componente Stokes é maior que a componente anti-Stokes. Assim, entrando em consenso com os dados experimentais dos espectros Raman.

CAPÍTULO 3

3. METODOLOGIA

Neste capítulo serão abordados os métodos de preparação e coleta de dados aplicados às impressões digitais latentes.

3.1 Preparação das Impressões Digitais Latentes

As impressões digitais foram obtidas a partir da deposição do dedo indicador sobre uma lâmina de vidro revestida com papel alumínio. Para análise foram selecionados 3 doadores masculinos com idades entre 25 a 54 anos. As deposições das marcas digitais ocorreram após cada doador lavar as mãos com sabão líquido (neutro) e esfregar o dedo indicador sobre a testa e em seguida pressionando-o sobre o substrato de vidro revestido de alumínio, mostrado na fig. 7. É importante mencionar que na ocasião da coleta os rostos dos doadores estavam sem resíduos de produtos químicos como: protetor solar, creme hidratante, etc.



Figura 7: Substrato de vidro revestido de alumínio utilizado para deposição do dedo de cada doador.

Para monitorar os efeitos do tempo de envelhecimento nas características espectrais, três impressões digitais foram coletadas de cada um dos doadores, perfazendo um total de 9 amostras. Além do mais, a fim de evitar possíveis inhomogeneidades dos componentes químicos presentes nas impressões digitais, foram adquiridos 10 espectros Raman (pontos diferentes) em cada uma

das 9 impressões digitais, perfazendo um total de 90 espectros para cada dia de medida durante 90 dias. Por fim, uma média aritmética dos 30 espectros de cada doador foi obtida e analisada. Vale ressaltar que todas amostras foram armazenadas em ambiente fechado e escuro por 90 dias e examinadas em diferentes momentos.

3.2 Técnicas Experimentais

3.2.1 Espectroscopia Raman

Os espectros Raman das impressões digitais latentes foram obtidas por meio de um espectrômetro LabRam HR Evolution da marca Horiba, instalado no Laboratório de Espectroscopia Óptica do Instituto de Física da Universidade de Brasília – UnB (Ver. Fig. 8).



Figura 8: Espectrômetro Raman (LabRam Evolution) utilizado para coleta dos espectros em impressões digitais latentes.

O Espectrômetro Raman está equipado com microscópio confocal, detector CCD (*Charge Coupled Device*) e grade de difração de 1800 linhas/mm. As medidas foram realizadas com um laser sintonizado na linha 532 nm (linha verde) , potência 5 mW, focalizado na amostra por meio de uma objetiva Olympus com ampliação de 50X. Os espectros foram coletados na região de 600 a 1800 cm^{-1} .

3.3 Análise dos dados

Para análise dos espectros, utilizou-se a ferramenta LabSpec ® 5 para fazer a linha de base e a normalização dos espectros. Posteriormente fez-se a média aritmética dos dez espectros obtidos de cada uma das três impressões digitais de cada doador. Para isso foi usado o software OriginPro ® 9.0, tendo como resultado final três espectro médios para cada um dos três doadores. Para a análise dos dados, os nove espectros médios foram ajustados por funções Gaussian+Lorentziana área, utilizando o software Peakfit v4. As barras de erro dos dados experimentais foram determinadas a partir do desvio padrão calculado a partir dos ajustes dos três espectros médios de cada doador.

CAPÍTULO 4

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Fig. 9 mostra um espectro Raman típico de uma impressão digital fresca (1^o dia). O espectro é composto principalmente pelos modos vibracionais associados aos carotenoides (laranja) e lipídios (cinza). Bandas fracas associadas ao esqualeno (verde) e proteína (azul) também são observadas em 1382 e 1635 cm^{-1} , respectivamente [77].

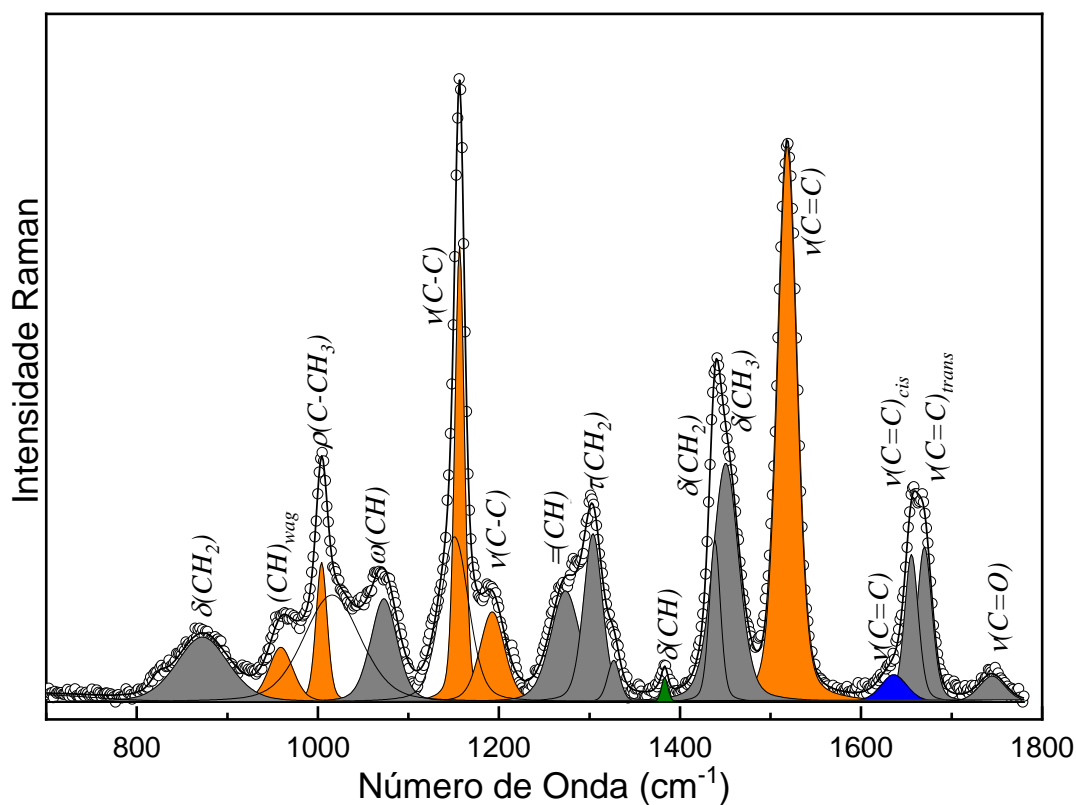


Figura 9: Espectro Raman característico de uma impressão digital fresca. As bandas destacadas estão relacionadas aos compostos químicos encontrados em resíduos de impressões digitais, constituídos por: lipídios (cor cinza), carotenoides (laranja), esqualeno (cor verde) e proteína (cor azul).

Os carotenoides se acumulam na pele humana, com os níveis de carotenoides refletindo a ingestão alimentar e a biodisponibilidade de fontes alimentares. Os carotenoides mais comuns na dieta ocidental são α -caroteno, β -caroteno, β -

criptoxantina, licopeno, luteína e zeaxantina [44],[78]. Após a absorção no intestino, os carotenoides são transportados através da corrente sanguínea por lipoproteínas para vários tecidos-alvo, incluindo a pele [79] e posteriormente são secretadas pelo suor [78].

Os espectros Raman dos carotenoides são compostos por três bandas vibracionais proeminentes em 1005, 1157, 1520 cm^{-1} . Os picos de maior intensidade em 1157 e 1520 cm^{-1} são atribuídos ao estiramento simétrico das ligações $C-C$ e $C=C$ da cadeia de polienocarotenoide, respectivamente. De acordo com Mike *et al.* [80], estas bandas são características da isomerização *all-trans* do carotenoide. Além disso, de acordo com a teoria da Coordenada de Conjugação Efetiva (ECC) as ligações $C-C$ e $C=C$ se movimentam em fase, ou seja todos $C=C$ esticam em fase e $C-C$ encolhem em fase [81]. O pico em $\sim 1005 \text{ cm}^{-1}$ ocorre devido aos modos de balanço no plano do grupo metil ($C-CH_3$). Por fim, os picos em 962 cm^{-1} (balanço fora do plano $\gamma(CH)$) e 1187 cm^{-1} estão associados aos modos de deformação ($C-H$) [82],[83]. Em complemento, os modos vibracionais associados aos lipídios são encontrados nas regiões de 870, 1050 - 1300, 1400 - 1500, 1650-1700 e 1750 cm^{-1} [84]. Os modos dos grupos metil e metileno tais como a deformação, torção e estiramento do CH_2 e a deformação simétrica da ligação CH_3 são encontrados em: 870, 1300, 1435 e 1450 cm^{-1} , respectivamente. A deformação $= (CH)$ no plano, adjacente a ligação $(C = C)_{cis}$ não conjugada pode ser encontrada em torno de 1275 cm^{-1} . Por fim, as vibrações de estiramento das ligações $C=C$ (*cis* e *trans*) e $C=O$ (grupo éster carbonila) são encontradas em aproximadamente em 1655, 1670 e 1740 cm^{-1} , respectivamente [85], tais informações são mostradas com mais detalhe na tabela 1.

Tabela 1: Atribuições dos modos vibracionais Raman (cm^{-1}) dos espectros Raman de impressões digitais latente.

| Raman (cm^{-1}) | Atribuição | Composição |
|--|--|--------------------|
| 824 | <i>Respiração do anel</i> | <i>Lipídio</i> |
| 873 | (C – C) | <i>Lipídio</i> |
| 970 | <i>Bending (C – H)</i> | <i>Lipídio</i> |
| 1005 | ν (C – C) | <i>Carotenoide</i> |
| 1032 | δ (C – C) | <i>Lipídio</i> |
| 1072 | (C – C) <i>t</i> | <i>Lipídio</i> |
| 1126 | (C – C) <i>g</i> | <i>Lipídio</i> |
| 1157 | ν (C – C) | <i>Carotenoide</i> |
| 1180 | δ (CH) | <i>Carotenoide</i> |
| 1275 | = (C –H) | <i>Lipídio</i> |
| 1300 | γ (CH ₂) | <i>Lipídio</i> |
| 1328 | δ (CH) | <i>esqualeno</i> |
| 1375 | δ (CH ₃), δ (CH) | <i>Lipídio</i> |
| 1383 | δ (CH) | <i>esqualeno</i> |
| 1440 | (CH ₂) <i>tesoura</i> | <i>Lipídio</i> |
| 1455 | CH ₃ | <i>Lipídio</i> |
| 1520 | ν (C = C) | <i>Carotenoide</i> |
| 1630 | ν (C = C) | <i>Proteína</i> |
| 1657 | ν (C = C) <i>cis</i> | <i>Lipídio</i> |
| 1670 | ν (C = C) <i>trans</i> | <i>Lipídio</i> |
| 1740 | ν (C = O) | <i>Lipídio</i> |

A Fig. 10 mostra as médias ($n = 30$ para cada) dos espectros Raman das impressões digitais latentes frescas (dia zero) obtidas de três diferentes doadores. Para melhor comparação, os espectros foram normalizados segundo a intensidade das bandas em torno de 1450 cm^{-1} , associadas às vibrações de deformação dos grupos CH_2/CH_3 das cadeias de hidrocarboneto, foi escolhida como padrão de intensidade interna, pois esta banda não se mostrou sensível aos processos de envelhecimento das amostras, como a oxidação [86]. De forma geral os espectros Raman dos três doadores são muitos similares, diferindo principalmente nas intensidades

relativas das bandas associadas aos carotenoides ($950 - 1050 \text{ cm}^{-1}$, $1100 - 1200 \text{ cm}^{-1}$ e $1480 - 1560 \text{ cm}^{-1}$) e lipídios ($1620 - 1700 \text{ cm}^{-1}$).

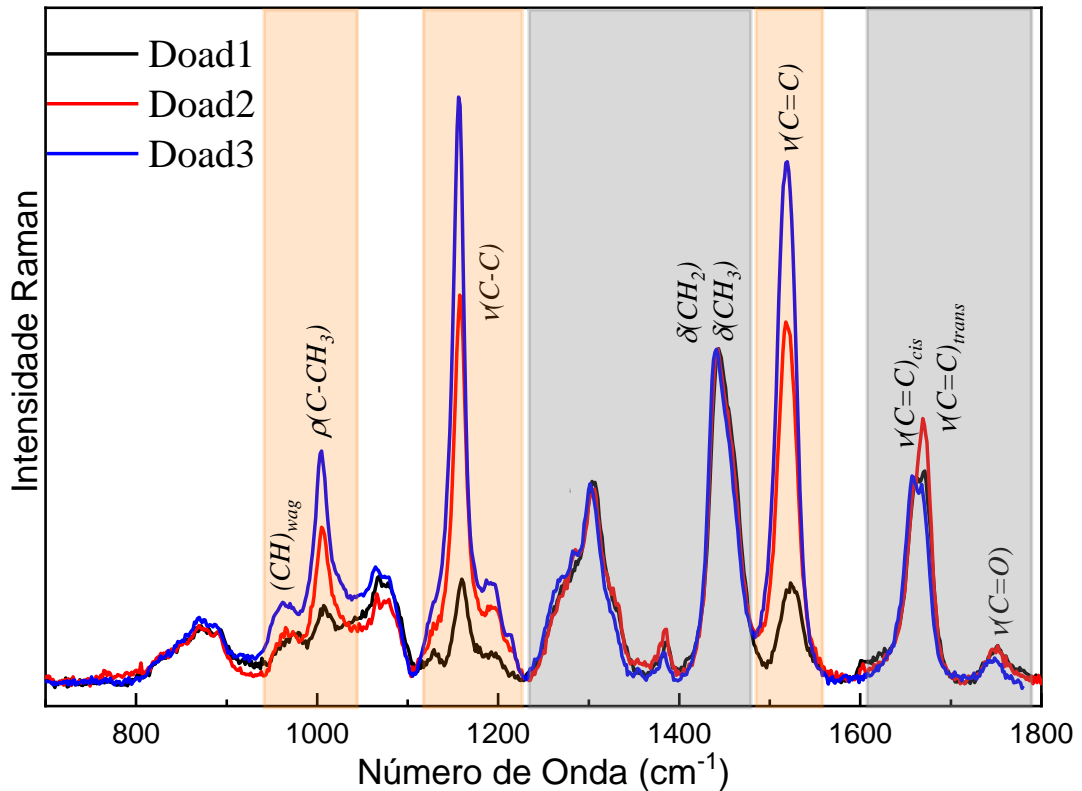


Figura 10: Espectros Raman médios ($n = 30$) das impressões digitais latentes frescas, obtidas dos doadores 01, 02 e 03. Os quadros em laranja evidenciam as regiões associadas aos carotenoides enquanto os quadros cinzas evidenciam as regiões associadas aos lipídios.

A composição relativa de uma impressão digital pode variar significativamente entre os doadores. Isso pode ser devido às diferenças tais como: gênero, idade, raça, dieta, metabolismo, saúde, medicação, uso de cosméticos, entre outras [9]. Por exemplo, Buchanan *et al.*, demonstram que, em geral, as impressões digitais obtidas de crianças continham níveis mais elevados de ácidos graxos livres relativamente voláteis, enquanto que as impressões obtidas de adultos apresentaram concentrações mais altas de ésteres de ácidos graxos de cadeia longa menos voláteis [87]. Por outro lado, comparações entre as impressões digitais de duas classes

de doadores revelaram que o teor de aminoácidos foi diferente entre os doadores vegetarianos e aqueles com dieta onívora [9]. Análises por cromatografia gasosa combinada/espectroscopia massa revelaram que o teor médio de alanina, glicina e serina foi maior para os doadores vegetarianos, embora não significativamente ($P > 0,1$). Ácidos pentadecanóicos ($C_{15}: C_{15}H_{30}O_2$), no entanto, diferiu significativamente entre os onívoros e vegetarianos, sendo maiores em onívoros em comparação com os vegetarianos. Adicionalmente, foi verificado que a ingestão de carboidratos pode afetar a concentração total de amônia no suor [88]. Assim, é razoável supor que níveis anormais de outros grupos de alimentos também possam influenciar as várias concentrações de componentes secretados na impressão digital. Neste contexto, a fim de analisar o efeito da alimentação na composição química dos doadores utilizados neste trabalho, o doador Doad02 foi submetido a uma dieta pobre em carotenoides, por um período de 7 dias, retornando em seguida a sua dieta normal. Espectros Raman foram coletados ($n = 30$) no dia anterior ao início da dieta (dia d00), sete dias após dieta pobre em carotenoides (d07) e uma semana após o término da dieta (d15). As médias dos espectros Raman deste experimento são mostrados na Fig. 11.

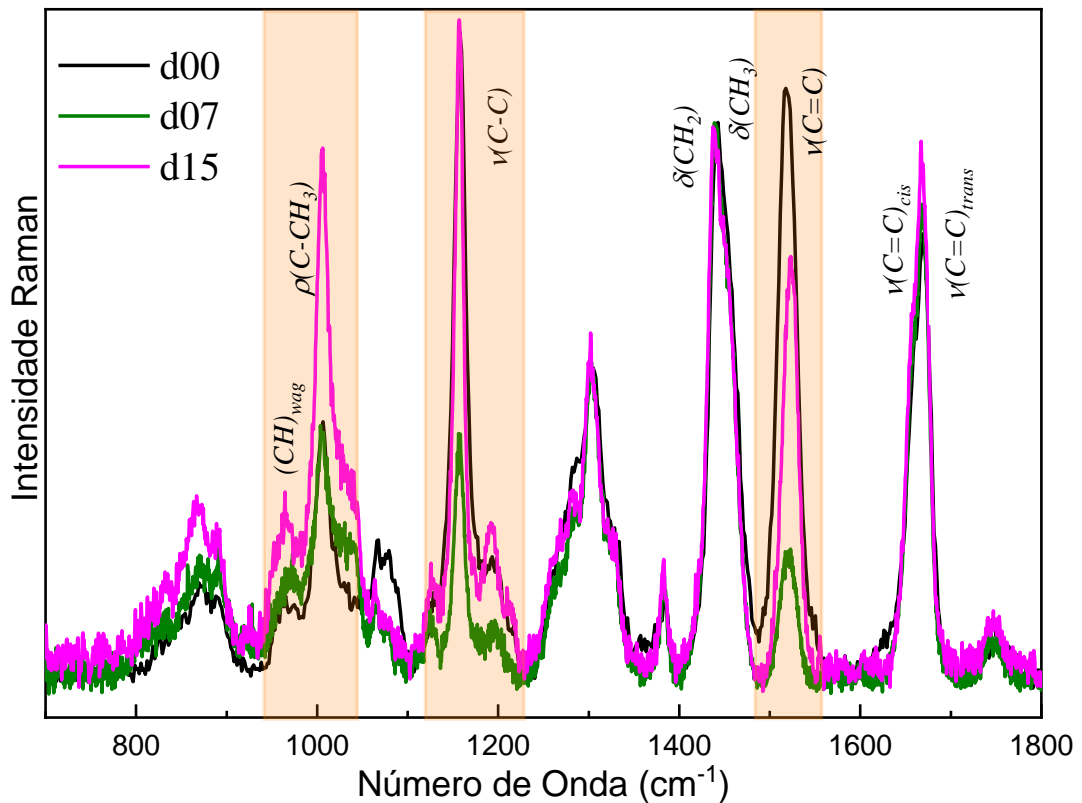


Figura 11: Espectros Raman médios ($n = 10$) das impressões digitais latentes frescas, coletadas do 02 e obtidas nos dia zero (antes do início da dieta), dia 07 (final da dieta) e dia 15 (sete dias após final da dieta). Os quadros em laranja evidenciam as regiões associadas aos carotenoides.

Note da Fig. 11 que as intensidades relativas das bandas associadas aos carotenoides variam significativamente antes e após a dieta pobre em carotenoides. Verifica-se que no primeiro dia (linha preta) as intensidades das bandas em torno 1157 ($\nu(C-C)$) e 1520 cm^{-1} ($\nu(C=C)$) são máximas. Após sete dias em dieta, as intensidades destas bandas são fortemente reduzidas, retornando parcialmente às intensidades originais sete dias após encerrado a dieta. Embora este resultado não seja conclusivo, ele sugere que uma dieta pobre em carotenoides têm efeitos significativos nas intensidades dos picos a eles associados. Para um melhor entendimento dos efeitos da alimentação nos espectros Raman, estudos mais criteriosos se fazem necessários. Contudo, este estudo foge do escopo desta dissertação.

A Fig. 12 mostra a média ($n = 30$) dos espectros Raman das impressões digitais do doador Doad3 colhidos ao longo de 90 dias. Resultados semelhantes foram observados para os demais doadores (ver Fig. A1 e A2 no Apêndice A.). Note das Fig. 12 (e Figs. A1 e A2) que os espectros Raman das impressões digitais frescas e com 90 dias de idade mostram diferenças significativas. As principais diferenças são encontradas nas regiões de $800 - 1200 \text{ cm}^{-1}$ e $1500 - 1650 \text{ cm}^{-1}$. Como relatado anteriormente, essas regiões espectrais concentram os sinais Raman de biomoléculas como carotenoides, lipídios, ácidos graxos e proteínas [89],[85], [90], [91].

Os espectros Raman mostrados na Fig. 12, evidenciam claramente uma redução progressiva nas intensidades dos picos em torno de 1005 , 1157 e 1520 cm^{-1} , característicos dos carotenoides. Este comportamento pode ser explicado levando-se em conta a degradação dos carotenoides ao longo do tempo.

Assim, a fim de investigar o processo de degradação dos carotenoides totais ao longo do tempo, os espectros Raman médios das impressões digitais dos três doadores, variando no tempo de $0 - 90$ dias, foram ajustados com uma combinação de curvas lorentziana + gaussiana. Um ajuste típico de um espectro Raman é mostrado na Fig. 9. A partir dos ajustes, foram extraídas as intensidades integradas e as energias vibracionais das bandas relativas a cada um dos componentes químicos presentes na impressão digital.

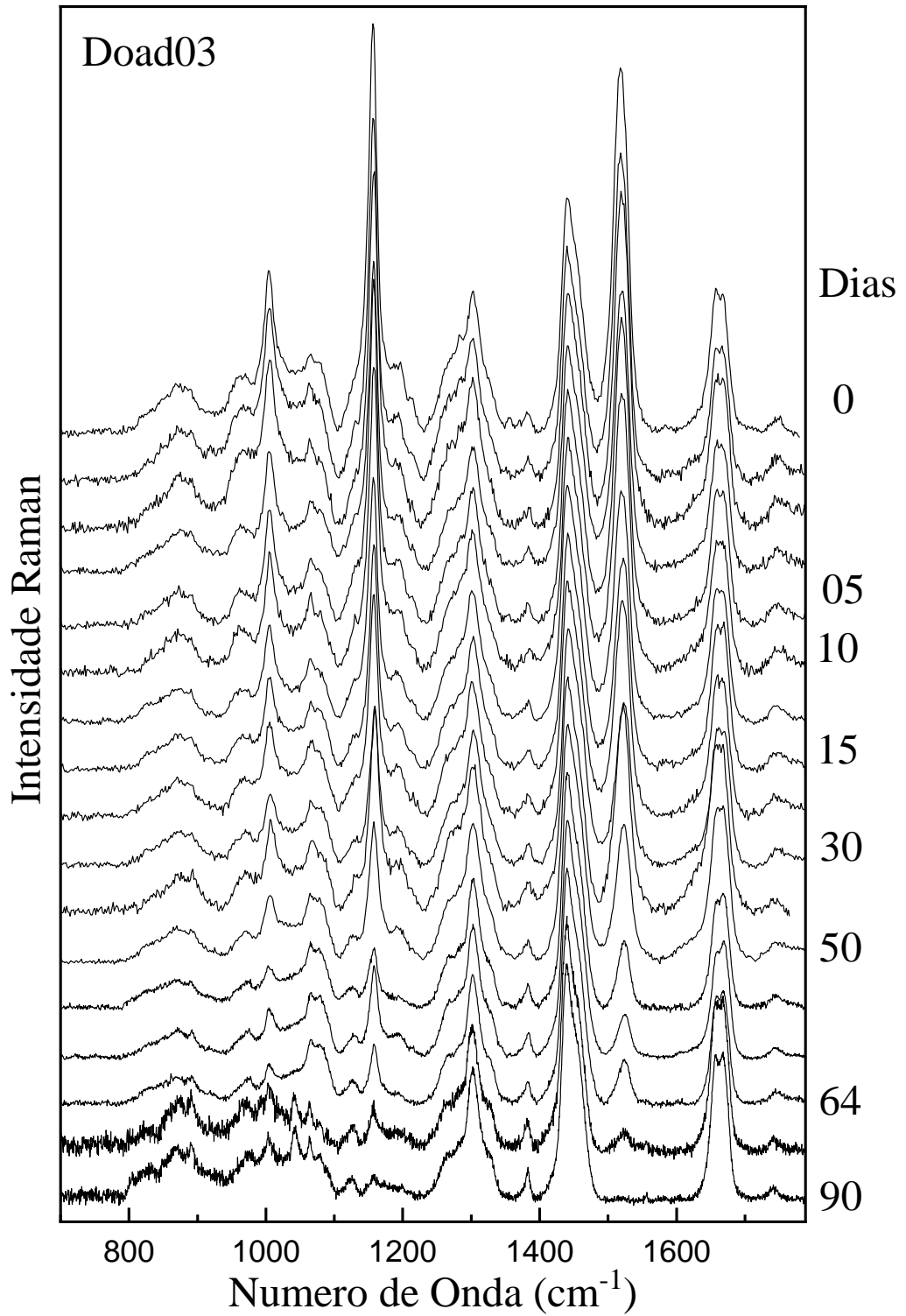


Figura 12: Espectros Raman médios obtidas das impressões digitais do doador 03 ao longo de 90 dias.

Carotenoides

A Fig. 13 mostra a dependência das intensidades integradas dos modos vibracionais $\nu(C-C)$ em $\sim 1157\text{ cm}^{-1}$ (a) e $\nu(C=C)$ em $\sim 1520\text{ cm}^{-1}$ (b) como função do tempo de envelhecimento das amostras, para os três doadores.

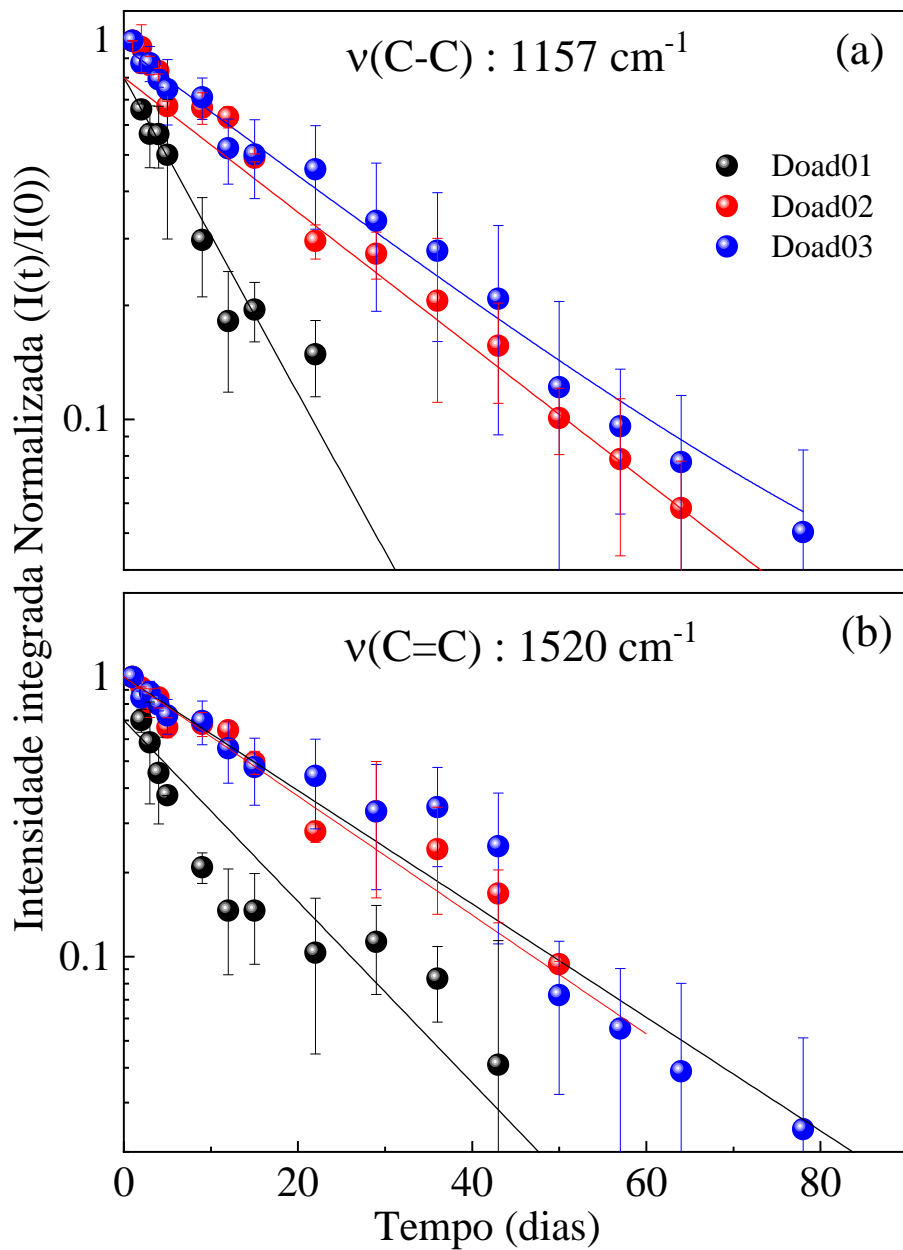


Figura 13: Comparação das Intensidades integradas normalizadas dos picos mais intensos de carotenoides, presentes nos espectros Raman de uma impressão digital latente dos doadores 01 (cor preto), 02 (cor azul) e 03 (cor vermelho), respectivamente. a) C-C em $\sim 1157\text{ cm}^{-1}$ e (b) C=C $\sim 1520\text{ cm}^{-1}$.

Os comportamentos mostrados na Fig. 13 podem ser analisados considerando que as intensidade integradas Raman para $t = 0$ dia é diretamente proporcional a concentração inicial (C_0) de carotenoides, os quais degradam com o tempo segundo a taxa $dC/dt = -kC^n$ [92]. Nesta equação a taxa a degradação dC/dt é proporcional n -ésima (n^{th}) potência da concentração de carotenoides, sendo n a ordem da reação e k (dias^{-1}) a taxa de reação. Verificou-se que a cinética da degradação dos carotenóides segue a cinética de primeira ordem (Avila e Silva 1999). Assim, pode-se encontrar que a concentração de carotenoides varia segundo a equação [93].

$$C = C_0 e^{-kt} \quad (26)$$

Assim, ajustando os dados mostrados na Fig. 13 com a Eq. 26 pode se encontrar que o valores de k são aproximadamente iguais a 0,083, 0,044 e 0,043 (dias^{-1}), para os doadores Doad01, Doad02 e Doad03, respectivamente. Estas taxas de reação levam a tempos de meia vida ($t_{1/2}$) da ordem de 8,3, 15,7 e 16,0 dias, respectivamente.

As diferenças encontradas para os valores de k provavelmente estão associadas às diferentes composições dos carotenoides presentes nas diferentes impressões digitais. Por exemplo, em um estudo com suco de laranja, foi demonstrado que a taxa de degradação, a 60°C , da zeaxantina é 2,7 vezes maior que a do β -caroteno, que por sua vez é 40% maior que a da luteína [93].

Assim, a fim de verificar a possibilidade de que as composições dos carotenoides, presentes nas impressões digitais dos três doadores podem ser diferentes, foi realizado uma comparação entre as frequências dos modos vibracionais $\nu(C - C)$ e $\nu(C = C)$ extraídos dos espectros Raman médios obtidos de cada doador (ver Fig. 14). A Fig. 14 foi construída levando-se em conta que a frequência do modo vibracional $\nu(C = C)$ decresce com o aumento do comprimento da cadeia *trans*-polieno dos carotenoides, e que existe uma correlação linear positiva entre as frequências dos modos vibracionais $\nu(C - C)$ e $\nu(C = C)$ [94] [3]. Portanto,

com base nos dados mostrados na Fig. 14 é possível inferir que as composições dos carotenoides presentes nas impressões digitais são realmente diferentes, principalmente a do doador 01 quando comparada com os demais. Explicando assim a grande diferença entre as taxas de reação dos doadores 02 e 03 em comparação com o doador 01.

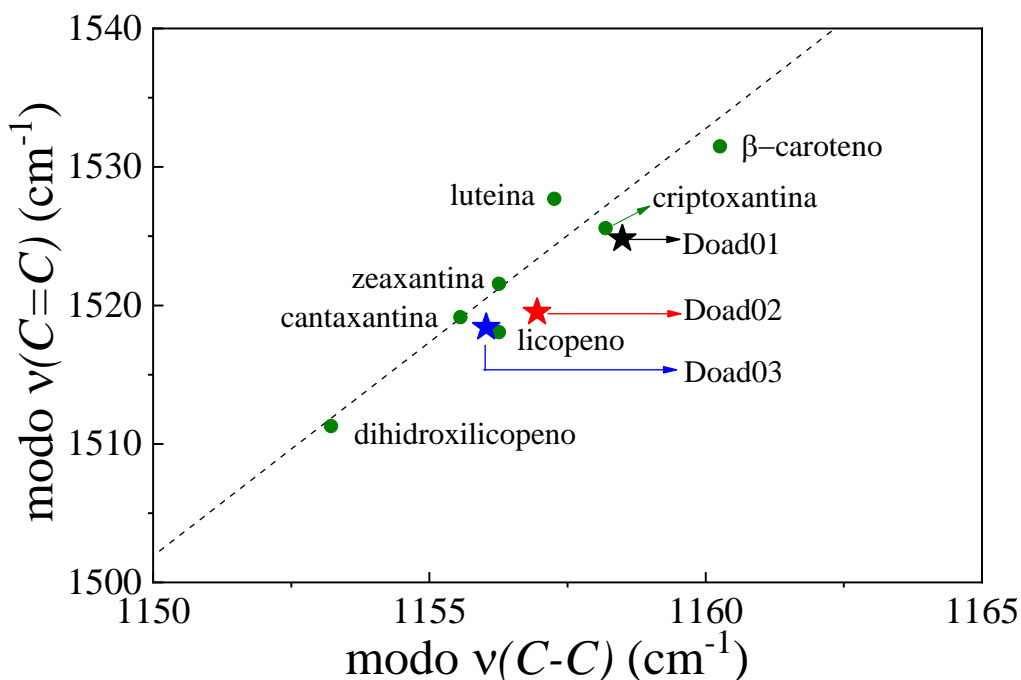


Figura 14. Números de onda dos modos vibracionais $\nu(C-C)$ versus $\nu(C=C)$ para diferentes carotenoides (círculos verdes), adaptada da referência [3]. Os círculos preto, vermelho e azul referem-se aos doadores 01, 02 e 03, respectivamente.

Uma característica distintiva da estrutura dos carotenoides é a presença de um extenso sistema de ligações duplas conjugadas, que constituem os cromóforos de absorção de luz responsáveis pela coloração amarela, laranja ou vermelha que esses micronutrientes conferem a muitos alimentos. Contudo, é justamente devido à presença de ligações duplas conjugadas, que os carotenoides podem sofrer reações que culminam na sua degradação. Os principais fatores que contribuem para as modificações estruturais e degradação dos carotenoides são: exposição ao oxigênio, exposição à luz, calor, presença de enzimas, metais, ácidos e peróxidos [95][92]. As duas principais alterações em carotenoides, decorrentes desses processos, são

isomerização e oxidação. Vale ressaltar que, geralmente a oxidação é precedida da isomerização, uma vez que carotenoides com isômeros *cis* são termodinamicamente menos estáveis, com pontos de fusão mais baixos do que suas contrapartes *trans* [96] [97]. De fato, a baixa estabilidade dos carotenoides com isômeros *cis* está relacionada a uma menor tendência à cristalização destes quando comparada com os *all-trans* [98]. A Fig. 15 mostra a estrutura do β -caroteno e seus quatro principais isômeros *cis*.

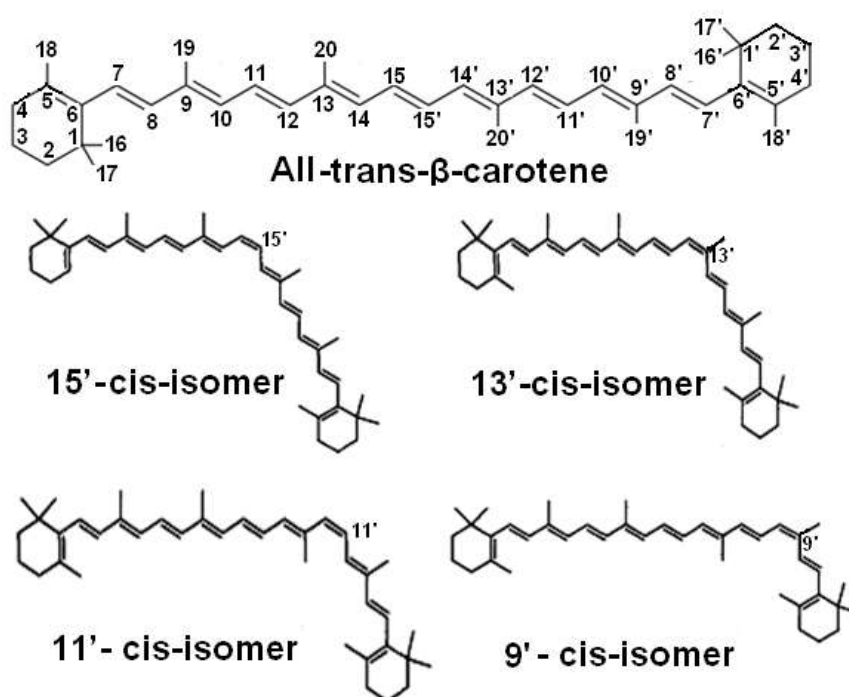


Figura 15: Representação da estrutura do β -caroteno e seus quatro principais isômeros *cis*.

A transição da isomerização *all-trans* para a *cis* pode ser promovida por ácidos, luz e calor. De fato, muitos autores relatam que o teor de isômeros *cis* aumenta com a temperatura e com o tempo de processamento [99]. Cálculos de teoria de funcional de densidade (DFT), realizados para o β -caroteno, mostram que a transição da isomerização *trans* para a *cis* é refletida principalmente nas mudanças na polarizabilidade que ocorrem nas vibrações $\nu(C - C)$ e $\nu(C = C)$ [100]. Neste trabalho, os autores mostraram que as razões das intensidades calculadas $I_{\nu(C-C)}/I_{\nu(C=C)}$ é de 0,73 para os isômeros *s-cis* e 0,58 para isômeros *all-trans*. Em

complemento, Koyama *et al.*, mencionaram em seus estudos sobre formas *cis* do β -caroteno que a intensidade dos modos Raman também pode ser afetada pela formação de isômeros *cis*. [101].

Adicionalmente, Subramanian *et al.*, mostraram, ao estudarem o carotenoide astaxantina, que a transição da isomerização *trans* - para - *cis* provoca um deslocamento da banda $\nu(C = C)$ para números de onda mais altos como resultado de um impedimento da conjugação eletrônica na cadeia e, portanto, uma maior localização dos elétrons π na molécula [102]. Em complemento, eles também mostraram que a transição da isomerização *trans* para *cis* leva a uma relação linear entre a razão $I_{\nu(C-C)}/I_{\nu(C=C)}$ e o deslocamento para menores energias do pico associado às vibrações $\nu(C = C)$ [102]. Por fim, além das mudanças nas intensidades relativas e nas energias vibracionais dos modos $\nu(C - C)$ e $\nu(C = C)$, os autores verificaram que a transição do isômero *trans* para o *cis* também leva ao surgimento de uma nova banda com energia ligeiramente inferior à do modo $\nu(C - C)$. O surgimento deste novo modo vibracional foi explicado considerando que a curvatura *cis* na estrutura conjugada central resulta na ruptura das vibrações em fase das ligações $C - C$. Este efeito introduz uma quebra no acoplamento de longo alcance do modo estendido com os modos locais, o que leva a vibrações em fase e fora de fase da cadeia de polieno com ligações *cis*, provocando o surgimento de um novo pico. [102].

Neste contexto, uma análise detalhada das bandas $\nu(C - C)$ e $\nu(C = C)$, foi realizada em todas as amostras. Estes resultados são mostrados na Fig. 16. A Fig. 16 (a) mostra que as razões das intensidades $I_{\nu(C-C)}/I_{\nu(C=C)}$, obtidas nos espectros Raman dos doadores 02 e 03, estão em torno de 0,55 (valor muito próximo do relatado na referência [100]) e são praticamente constantes ao longo do tempo. Diferentemente, observa-se que a razão $I_{\nu(C-C)}/I_{\nu(C=C)}$ para o doador 01 está em torno de 0,6, no primeiro dia e aumenta para aproximadamente 1,0 após 15 dias de envelhecimento. Este comportamento sugere que, diferentemente dos doadores 02 e 03,

os carotenoides presentes na impressão digital do doador 01 sofrem intensa isomerização já nos primeiros dias de envelhecimento. No que se refere aos efeitos do tempo de envelhecimento (ver Fig. 15 (b)), constata-se que as energias vibracionais dos modos $\nu(C = C)$ se deslocam para maiores comprimentos de onda, sugerindo transformação do isômero *trans* para o *cis*. O fato de que as energias vibracionais dos modos $\nu(C = C)$ do doador 01 serem maiores e deslocarem mais rapidamente do que os outros doadores, sugere novamente que a mudança na isomerização nesta amostra é muito mais rápida e acentuada que nas demais amostras.

A Fig. 16 (c) mostra a dependência entre as energias vibracionais dos modos $\nu(C = C)$ e as razões $I_{\nu(C-C)}/I_{\nu(C=C)}$. Note que, enquanto as razões $I_{\nu(C-C)}/I_{\nu(C=C)}$ dos doadores 02 e 03 permanece constante, e em torno de 0,55, a mesma razão, para o doador 01, cresce linearmente quando a energia vibracional varia de ~ 1525 para 1528 cm^{-1} . Novamente, este resultado sugere que a isomerização dos carotenoides presentes na impressão digital do doador 01 ocorre muito mais rapidamente e intensamente que as encontradas nos carotenoides presentes nas impressões digitais dos doadores 02 e 03. Este fato é reforçado nas intensidades relativas dos picos que surgiram no lado de mais baixa energia da vibração $\nu(C - C)$. Note da Fig. 16 (d) que no primeiro dia (dia = 0) a intensidade da banda em $\sim 1130 \text{ cm}^{-1}$ é próxima a zero para o doador 03 (linha azul), e se torna relevante apenas 60 dias após a coleta (linha verde). Por outro lado, a intensidade da mesma banda, obtida do espectro Raman da impressão digital coletada do doador 01, já é visível no primeiro dia e cresce intensamente no dia 05.

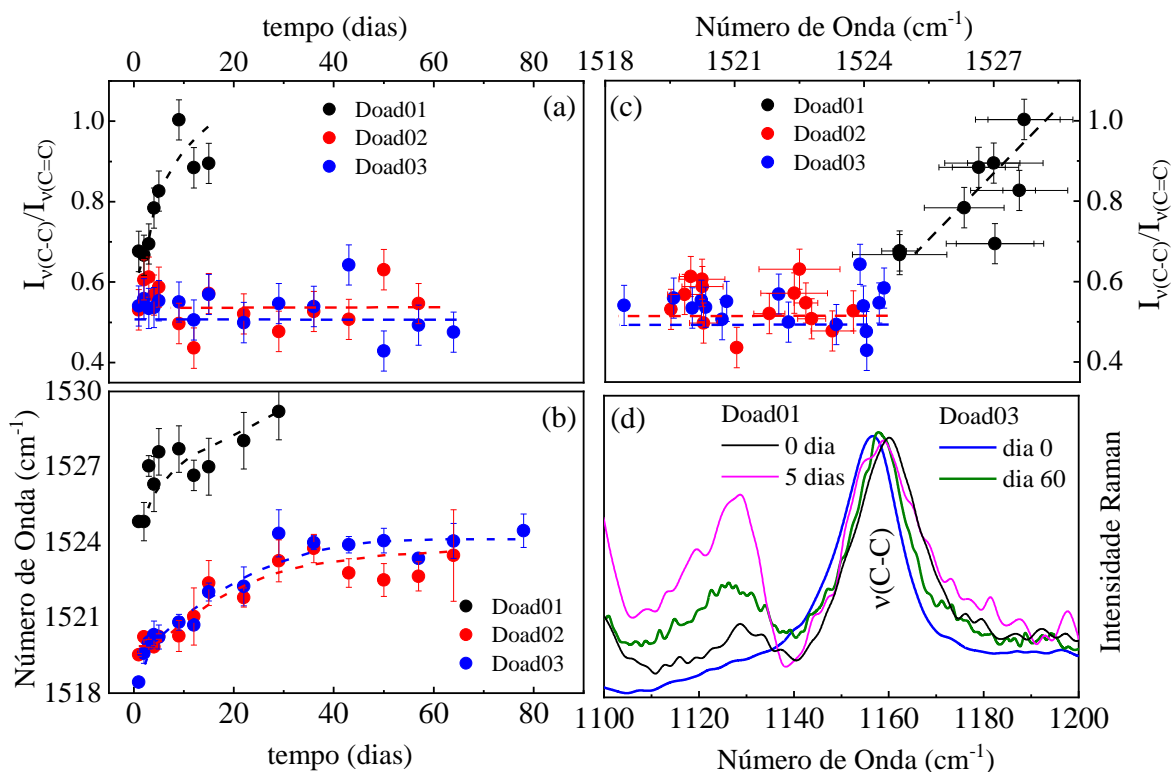


Figura 16: Dependência da razão entre as intensidades integradas $I_{\nu(C-C)}/I_{\nu(C=C)}$ (a) e das energias vibracionais do modo $\nu(C=C)$ (b) em função do tempo de envelhecimento, obtidas para os diferentes doadores. (c) Dependência das intensidades integradas $I_{\nu(C-C)}/I_{\nu(C=C)}$ em função das energias vibracionais do modo $\nu(C=C)$, obtidas para os diferentes doadores. (d) Espectros Raman nas regiões espectrais de 1100 – 1200 cm^{-1} , obtidos no primeiro dia de coleta e nos dias 05 e 60 para os doadores 01 e 03, respectivamente.

Embora a isomerização tenha grande importância na degradação dos carotenoides, a oxidação (seja ela enzimática ou não) é uma das reações que mais contribuem para a degradação dos mesmos [103]. Quando oxidados, os carotenoides sofrem degradação de suas moléculas, podendo ocorrer clivagem da cadeia de polieno, epoxidação da ligação dupla ou reações em posições alílicas [104]. Mordí *et al.* [105], descreveram a oxidação do β -caroteno como uma reação em cadeia de radicais livres envolvendo radicais peróxila reativos, resultando em produtos de clivagem do caroteno inicial. Existem muitos produtos finais da reação de oxidação, dependendo da localização do ataque oxidativo. Por exemplo Rodriguez e Rodriguez-Amaya, usando cromatografia líquida (HPLC) detectaram subprodutos da clivagem do β -caroteno como por exemplo epoxicaroteno, apocaroteno e hidroxicaroteno [106].

Fernández *et al.*, ao estudarem as mudanças nos espectros Raman do β -caroteno oxidado por irradiação UV, observaram que após exposição à radiação a banda $\nu(C = C)$ sofre um desvio para maiores números de comprimento de ondas. Observou também a presença de duas novas bandas, uma em 1245 cm^{-1} , atribuída à conformação *cis* da ligação $C_{15} = C_{15'}$ e também uma banda em 1138 cm^{-1} atribuída à conformação *cis* da ligação $C_{13} - C_{14}$ [107]. Um resultado similar foi encontrado na referência [108] ao estudarem a fotodegradação do β -caroteno. Eles verificaram o surgimento de um fraco pico em 1537 cm^{-1} , que de acordo com os autores é provavelmente devido à formação de um produto de fotoisomerização contendo um ou mais ligações ($C = C$) *cis*. Embora, de menor intensidade, eles também verificaram o surgimento de picos em 1133 , 1284 e 1569 cm^{-1} , todos acompanhados da redução da intensidade da banda *all-trans* em 1520 cm^{-1} .

A fim de verificar o efeito da oxidação dos carotenoides presentes nas impressões digitais nos espectros Raman, foram realizadas ampliações nas regiões em torno de 1150 e 1550 cm^{-1} . Como os modos vibracionais presentes na região em torno de 1280 cm^{-1} estão associados principalmente a lipídios, ela será analisada adiante no texto.

A Fig. 17 mostra ampliações, em torno das regiões das 1150 e 1550 cm^{-1} , dos espectros Raman das impressões digitais frescas (dia 0) e envelhecidas em diferentes tempos, dos doadores 01, 02 e 03. Para melhor comparação, os espectros Raman foram normalizados com relação às intensidades relacionadas aos picos principais em 1157 , 1520 cm^{-1} . Note que, enquanto os espectros Raman obtido das impressões digitais frescas dos doadores 02 e 03 não apresentam evidências de bandas laterais em tornos dos modos vibracionais $\nu(C - C)$ ($\sim 1157\text{ cm}^{-1}$) e $\nu(C = C)$ ($\sim 1520\text{ cm}^{-1}$), o espectro Raman da impressão digital do doador 01 já evidencia um pico em 1130 cm^{-1} e um ombro em $\sim 1550\text{ cm}^{-1}$. Este comportamento sugere que o processo de oxidação dos carotenoides presentes na impressão digital do doador 01 já se iniciou no mesmo dia em que foi coletada. Observe ainda que somente 5 dias após a coleta a

intensidade destes picos mais que dobra de intensidade. Efeitos de oxidação semelhantes ao observado na impressão digital do doador 01 foram somente detectados nos doadores 02 e 03, 50 e 78 dias após a coleta, respectivamente. Este comportamento está de acordo com a maior taxa de degradação dos carotenoides presentes nas impressões digitais do doador 01, quando comparada com os doadores 02 e 03, como evidenciado na Fig. 13.

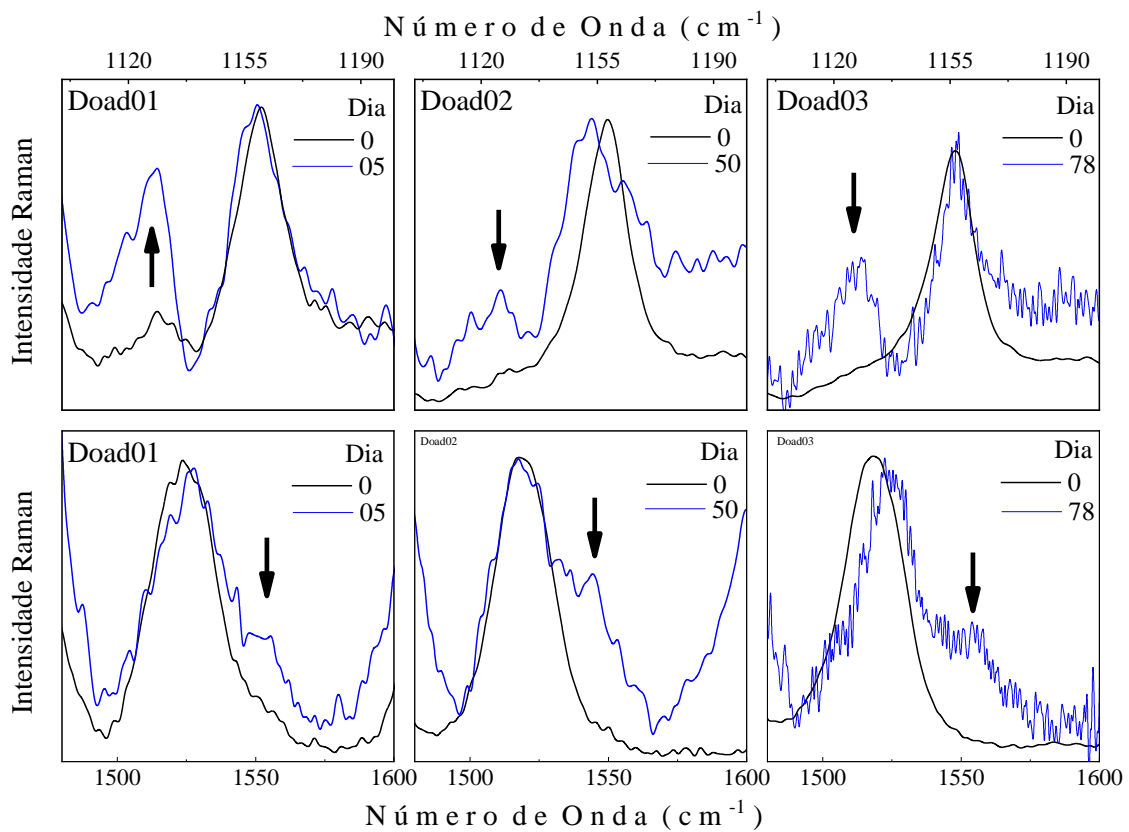


Figura 17: Espectros Raman das impressões digitais frescas (linhas pretas) e envelhecidas (linhas azuis) dos doadores 01, 02 e 03 em torno das regiões de 1100-1200 cm^{-1} e 1480 – 1600 cm^{-1} .

Lipídios

Além de investigar o efeito do tempo de envelhecimento no estado de oxidação dos carotenoides presentes nas impressões digitais, a espectroscopia Raman também pode ser usada para estimar o estado de oxidação dos lipídios e, portanto, caracterizar a estabilidade temporal dos lipídios, também presentes nas impressões digitais. A oxidação de ácidos graxos insaturados é a principal reação responsável pela degradação de lipídios. Sob condições brandas, o oxigênio molecular reage com as ligações duplas seguindo um mecanismo de radicais livres, a chamada autooxidação.

A autooxidação pode ser iniciada por espécies endógenas, (H_2O_2 , $ROOH$) e radicais (O_2^- , $ROO\cdot$, $\cdot OH$, etc) ou por espécies exógenas (1O_2 , O_3), radicais (NO_x , SO_3^-) e agentes (radiações ionizantes, calor, etc.) [109]. Devido à presença de ligações duplas os ácidos graxos insaturados são muito suscetíveis à peroxidação lipídica, o que causa um enfraquecimento da energia da ligação C-H no carbono vizinho (hidrogênio alílico) [110]. A oxidação dos lipídios se inicia com o ataque ao ácido graxo insaturado por uma espécie com reatividade suficiente para remover um átomo de hidrogênio de um grupo metileno ($=CH_2-$) levando ao início da oxidação lipídica. Nesta fase, ocorre a formação de um radical livre centrado no carbono metileno ($-^{\cdot}CH-$), que combina com O_2 (atmosférico) para produzir o radical peroxila ($ROO\cdot$) que ainda é mais reativo. Este radical peroxila inicia a nova sequência, removendo um átomo de hidrogênio de outra molécula de ácido graxo instaura não oxidado produzindo um hidroperóxido contribuindo assim para uma reação em cadeia ($ROO\cdot + RH \rightarrow ROOH + R\cdot$) e desta forma a reação de oxidação se propaga [111],[112]. Como resultado, quando os lipídios são oxidados, as ligações duplas *cis* das cadeias hidrofóbicas se reorganizam para formar ligações duplas *trans* [113]. Devido a este fato, há um decréscimo no grau de insaturação *cis* e

um aumento no nível de insaturação *trans*. Note que esse comportamento pode ser observado na inserção da Fig. 18 (b), onde em $t = 0$ a intensidade da banda $\nu(C = C)_{cis}$ (marcado em cinza claro) supera a intensidade da banda $\nu(C = C)_{trans}$ (marcado em cinza escuro), contudo em $t = 78$ dias este comportamento é invertido. Por esta razão, o comportamento mostrado na inserção da Fig. 18 (b) evidencia que o processo de oxidação está presente.

Inúmeros estudos têm mostrado que a razão entre as intensidades integradas da banda em 1275 cm^{-1} e 1300 cm^{-1} (I_{1275}/I_{300}), atribuídas às vibrações ($= (C - H)$) e $\gamma(CH_2)$), respectivamente, estão altamente correlacionadas às insaturações com isômeros *cis* [113],[114],[115]. Assim, para investigar a estabilidade química dos lipídios ao longo do tempo de envelhecimento as bandas associadas ao grau de instauração dos lipídios (modos vibracionais atribuídos às ligações duplas $(C = C)$ (*cis* e *trans*) e as ligações ($= (CH)$), adjacentes a uma ligação dupla na configuração *cis*, foram examinadas. Além do mais, por indicar a ocorrência de hidrólise, a banda $\nu(C = O)$ (grupo éster carbonila) também foi analisada [116].

Observe na Fig. 18 (a) que a intensidade da banda em $\sim 1300\text{ cm}^{-1}$, atribuída ao modo de torção CH_2 , se mantém praticamente constante ao longo dos 90 dias de envelhecimento. Por outro lado, a banda $\sim 1275\text{ cm}^{-1}$, resultante da vibração ($= (CH)$), decresce continuamente em intensidade à medida que o tempo de envelhecimento aumenta. Este comportamento pode ser melhor visualizado na A Fig. 18 (c), onde é mostrado a dependência temporal da razão entre as intensidades I_{1275}/I_{300} . As Figs. 18 (b) e (d) mostram a variação temporal das intensidades integradas da banda $\nu(C = C)$. É importante mencionar que na Fig. 18 (d) as intensidades $I_{(C=C)cis}$ e $I_{(C=C)trans}$ foram somadas.

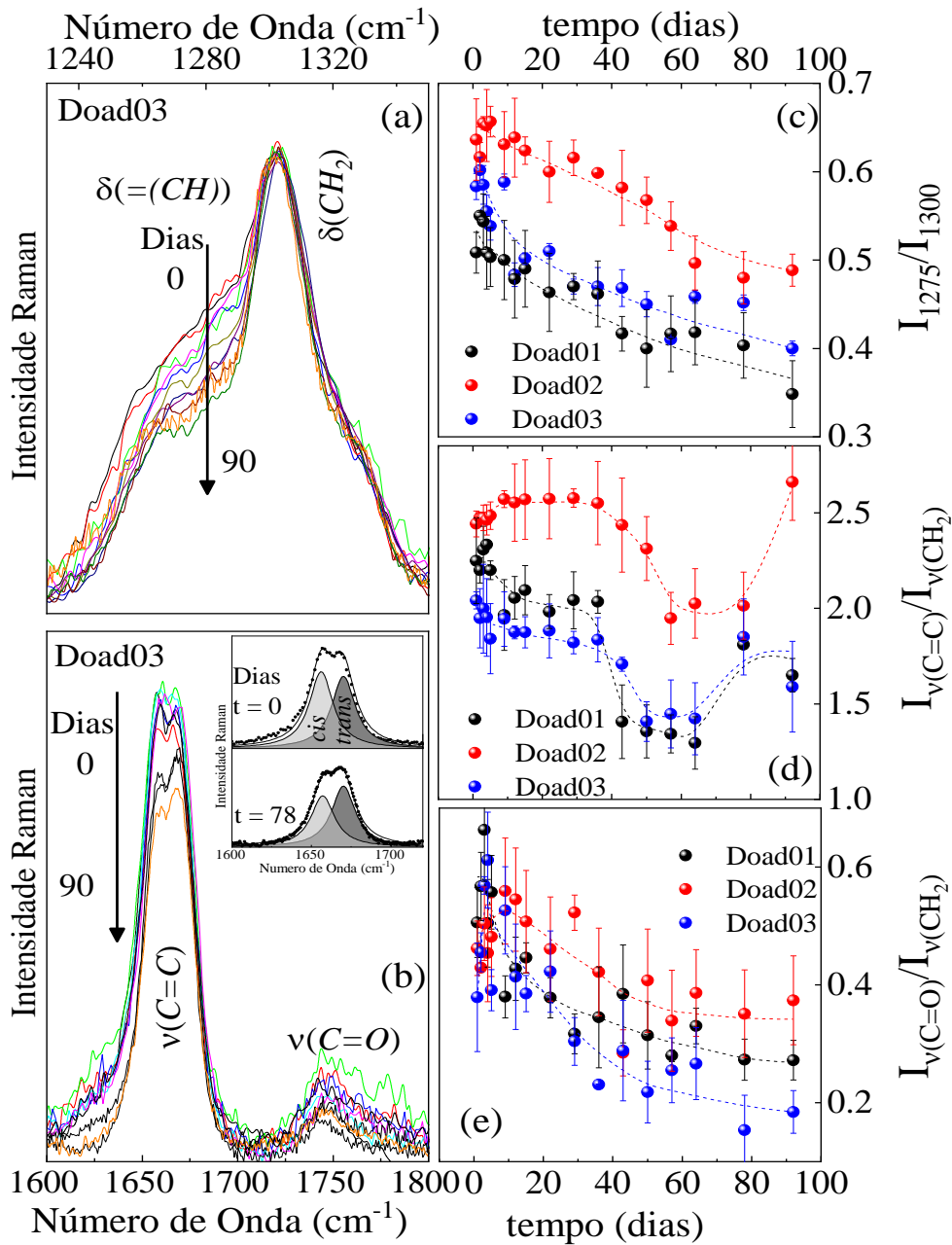


Figura 18: Espectros Raman nas regiões espectrais de $1230 - 1350 \text{ cm}^{-1}$ (a) e $1600 - 1800 \text{ cm}^{-1}$ (b) associadas aos modos vibracionais as vibrações $\delta(=CH)$ e $(C=C)/(C=O)$, respectivamente, em diferentes tempos de envelhecimento. Dependência da razão entre as intensidades integradas I_{1275}/I_{1300} (c), $I_{\nu(C=C)}/I_{\delta(CH_2)}$ (d) e $I_{\nu(C=O)}/I_{\delta(CH_2)}$, em função do tempo de envelhecimento. A inserção em (a) mostra os espectros Raman na região de $1600 - 1750 \text{ cm}^{-1}$ obtidos em $t = 0$ e 78 dias. As bandas $\nu(C=C)_{cis}$ e $\nu(C=C)_{trans}$ são evidenciadas com as cores cinza claro e cinza escuro, respectivamente.

Note da Fig. 18 (d) que, para todos os doadores, $I_{(C=C)}$ decresce levemente nos primeiros 40 dias de envelhecimento e em seguida decresce abruptamente. É importante mencionar que o decréscimo de $I_{(C=C)}$ é devido a perda da insaturação. Curiosamente, as

intensidades $I_{(C=C)}$ voltam a crescer, em todas as amostras, após ~ 80 dias de envelhecimento. Não é claro porque isso ocorre. Mas este comportamento pode estar associado a presença de ácidos graxos polinsaturados, os quais na presença de radicais livres permite a geração de vários subprodutos oxigenados, como a peroxila. A combinação da peroxila ($ROO\bullet$) com o átomo de hidrogênio abstraído de uma segunda molécula forma hidroperóxido ($ROOH$) como produto primário. A oxidação das múltiplas ligações duplas leva a formação de isômeros de monohidroperóxido, todos contendo dienos conjugados [110], resultando assim, no aumento do sinal do modo $\nu(C=C)$.

É possível observar na Fig. 18 (c) que a razão I_{1275}/I_{1300} decresce continuamente mesmo quando as intensidades $I_{\nu(C=C)}/I_{\delta(CH_2)}$ permanece praticamente constante (t = 0 até 40 dias). Este comportamento mostra que as ligações ($C=C$) não são destruídas imediatamente, mas são precedidas da isomerização das ligações ($C=C$)_{cis} para ($C=C$)_{trans}.

Por fim, embora apresentando grande dispersão dos pontos devido à baixa intensidade da banda $\nu(C=O)$, a intensidade integrada $I_{\nu(C=O)}$ também decresce continuamente com o passar do tempo (Fig. 18 (e)). Este comportamento indica que os lipídios estão sendo hidrolisados devido ao processo de oxidação [117].

CAPÍTULO 5

5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Neste trabalho foi demonstrado a utilidade da espectroscopia Raman no estudo dos processos de degradação dos componentes químicos presentes em impressões digitais latentes em função do tempo de envelhecimento. A alta especificidade molecular da espectroscopia Raman permitiu obter informações sobre a natureza das mudanças químicas que ocorrem durante a degradação molecular. As mudanças observadas nos espectros Raman refletem com alta sensibilidade às mudanças nas estruturas moleculares, que ocorrem nos componentes químicos presentes em impressões digitais durante o processo de envelhecimento. Especificamente, as alterações moleculares dos carotenoides e dos lipídios, durante o processo de envelhecimento, foram claramente diferentes. Foi encontrado que a cinética de degradação dos carotenoides é de primeira ordem, com diferentes taxas de reações a depender da composição dos carotenoides presentes nas impressões digitais dos diferentes doadores. O sinal Raman dos carotenoides de um dos doadores (doador 01) não foi mais detectado após 10 dias da deposição, enquanto que em um outro doador (doador 03) estes sinais somente desapareceram após 80 dias de envelhecimento. Este comportamento é apoiado pela constatação de que o teor e composição dos carotenoides depende da frequência e da qualidade da alimentação ingerida pelos doadores. Além do mais, foi verificado que as graduais mudanças nos modos vibracionais $\nu(C - C)$ e $\nu(C = C)$ e o surgimento de novos modos fornecem uma descrição qualitativa dos processos oxidativos das moléculas de carotenoides. As evidências espectrais mostram que, para o caso do doador 01, a transição das ligações $C = C$ com isômero *trans* para o *cis*, inicia-se imediatamente após a deposição da impressão digital, enquanto que para os demais doadores esta transição foi iniciada muito mais tarde. Quanto aos lipídios, verificou-se que o processo de degradação destes se inicia, já no primeiro dia após deposição, com a transição das ligações duplas *cis* das cadeias hidrofóbicas em ligações duplas *trans*.

Contudo, constatou-se que o número de ligações insaturadas decresce levemente nos primeiros 40 dias e então cai abruptamente. Por fim, os dados Raman indicaram que os lipídios estão sendo continuamente hidrolisados ao longo do tempo de envelhecimento.

A espectroscopia Raman demonstrou ser uma técnica promissora do ponto de vista da datação das impressões digitais. Contudo, devido a variabilidade do teor e da composição dos componentes químicos presentes nas impressões digitais, mais pesquisas são necessárias para validar a robustez e as limitações da espectroscopia Raman na avaliação dos componentes químicos presentes nas impressões digitais em condições de trabalho real e de casos não controlados

Perspectivas de Trabalhos Futuros

- Estudar mais aprofundados o efeito da alimentação na composição química das impressões digitais
- Aprofundar estudos visando a utilização das espectroscopias Raman e infravermelho na diferenciação de gênero
- Aprofundar estudos visando a utilização das espectroscopias Raman e infravermelho na diferenciação de indivíduos com diferentes idades.
- Aprofundar estudos visando a utilização das espectroscopias Raman e infravermelho na detecção e identificação de substâncias exógenas presentes na impressão digital.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] L. Magalhães, Hipoderme, (n.d.).
- [2] I.P. Otvos, Lipídios, ácidos graxos e fosfolipídeos, (2016).
- [3] J.C. Merlin, Resonance Raman spectroscopy of carotenoids and carotenoid-containing systems, *Pure Appl. Chem.* 57 (1985) 785–792. <https://doi.org/10.1351/pac198557050785>.
- [4] A.P. Sebastiany, M.C. Pizzato, J.C. del Pino, T.D.M. Salgado, The use of forensic science and criminal Investigation as a teaching strategy in the understanding of scientific concepts, *Educ. Quim.* 24 (2013) 49–56. [https://doi.org/10.1016/s0187-893x\(13\)73195-1](https://doi.org/10.1016/s0187-893x(13)73195-1).
- [5] Matthew E. Johll, *Investigating Chemistry a Forensic Science Perspective*, Second Edi, Clancy Marshall, New York, NY 10010, 2009.
- [6] David E. Newton, *Forensic Chemistry*, New York, NY 10010, 2007. <http://www.fsctsonfile.com>.
- [7] Hillary Moses Daluz, *Fingerprint Analysis Laboratory Workbook*, 2015.
- [8] A. van Dam, F.T. van Beek, M.C.G. Aalders, T.G. van Leeuwen, S.A.G. Lambrechts, Techniques that acquire donor profiling information from fingermarks - A review, *Sci. Justice.* 56 (2016) 143–154. <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2015.12.002>.
- [9] R.S. Croxton, M.G. Baron, D. Butler, T. Kent, V.G. Sears, Variation in amino acid and lipid composition of latent fingerprints, *Forensic Sci. Int.* 199 (2010) 93–102. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.03.019>.
- [10] T. Kent, Water content of latent fingerprints - Dispelling the myth, *Forensic Sci. Int.* 266 (2016) 134–138. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.05.016>.
- [11] R.S. Fernandez, T.D. Rabelo, *Papiloscopia Do Ontem Ao Hoje: Avanços, Segurança Pública Cid.* 6 (2015) 11–28.
- [12] K. Wertheim, Fingerprint age determination: Is there any hope?, *J. Forensic Identif.* 53 (2003) 42–49.
- [13] O.P. Jasuja, P. Kumar, G. Singh, Development of latent fingermarks on surfaces submerged in water: Optimization studies for phase transfer catalyst (PTC) based reagents, *Sci. Justice.* 55 (2015) 335–342. <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2015.03.001>.
- [14] A. Girod, A. Spyratou, D. Holmes, C. Weyermann, Aging of target lipid parameters in

- fingermark residue using GC/MS: Effects of influence factors and perspectives for dating purposes, *Sci. Justice*. 56 (2016) 165–180. <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2015.12.004>.
- [15] Thomas J. Gardner, Terry M. Anderson, *Criminal Evidence: Principles and Cases*, Ninth Edit, Cengage Learning, 2015.
- [16] C. Krafft, J. Popp, *Raman Microscopy*, 2013. <https://doi.org/10.1002/9783527643981.bphot022>.
- [17] A. Tripathi, E.D. Emmons, P.G. Wilcox, J.A. Guicheteau, D.K. Emge, S.D. Christesen, A.W. Fountain, Semi-Automated detection of trace explosives in fingerprints on strongly interfering surfaces with raman chemical imaging, *Appl. Spectrosc.* 65 (2011) 611–619. <https://doi.org/10.1366/10-06214>.
- [18] P.O. Andersson, C. Lejon, T. Mikaelsson, L. Landström, Towards Fingermark Dating: A Raman Spectroscopy Proof-of-Concept Study, *ChemistryOpen*. 6 (2017) 706–709. <https://doi.org/10.1002/open.201700129>.
- [19] J.S. Day, H.G.M. Edwards, S.A. Dobrowski, A.M. Voice, The detection of drugs of abuse in fingerprints using Raman spectroscopy I: Latent fingerprints, *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 60 (2004) 563–568. [https://doi.org/10.1016/S1386-1425\(03\)00263-4](https://doi.org/10.1016/S1386-1425(03)00263-4).
- [20] C. Magno, A. Girelli, *Brazilian Journal of Forensic Sciences*, *Medical Law and Bioethics Impressões Papilares Podem Revelar Mais do que a Identidade de seus Autores Friction Ridge Impressions May Reveal More Than their Sources*, 5 (2015) 28–41.
- [21] A. Girod, R. Ramotowski, S. Lambrechts, P. Misriellal, M. Aalders, C. Weyermann, Fingermark age determinations: Legal considerations, review of the literature and practical propositions, *Forensic Sci. Int.* 262 (2016) 212–226. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.03.021>.
- [22] A. Girod, R. Ramotowski, C. Weyermann, Composition of fingermark residue: A qualitative and quantitative review, *Forensic Sci. Int.* 223 (2012) 10–24. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2012.05.018>.
- [23] M.C. Martini, Deodorants and antiperspirants, *Ann. Dermatol. Venereol.* 147 (2020) 387–395. <https://doi.org/10.1016/j.annder.2020.01.003>.
- [24] J.C.M. Stewart, Tomatoes cause under-arm odour, *Med. Hypotheses*. 82 (2014) 518–521. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2014.02.001>.
- [25] R.S. Ramotowski, *Composition of Latent Print Residues. Advances in Fingerprint Technology*, 2nd ed., Boca Raton, 2001.
- [26] R. Kanable, DNA from Fingerprints, *Law Enforc. Technol.* 32 (2005) 66.

- [27] L.S. Ferguson, F. Wulfert, R. Wolstenholme, J.M. Fonville, M.R. Clench, V.A. Carolan, S. Francese, Direct detection of peptides and small proteins in fingermarks and determination of sex by MALDI mass spectrometry profiling, *Analyst*. 137 (2012) 4686–4692. <https://doi.org/10.1039/c2an36074h>.
- [28] B. Bhoelai, B.J. de Jong, M. de Puit, T. Sijen, Effect of common fingerprint detection techniques on subsequent STR profiling, *Forensic Sci. Int. Genet. Suppl. Ser.* 3 (2011) e429–e430. <https://doi.org/10.1016/j.fsigs.2011.09.076>.
- [29] I. Feine, M. Shpitzen, B. Geller, E. Salmon, T. Peleg, J. Roth, R. Gafny, Acetone facilitated DNA sampling from electrical tapes improves DNA recovery and enables latent fingerprints development, *Forensic Sci. Int.* 276 (2017) 107–110. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2017.04.023>.
- [30] W. van Helmond, A.W. van Herwijnen, J.J.H. van Riemsdijk, M.A. van Bochove, C.J. de Poot, M. de Puit, Chemical profiling of fingerprints using mass spectrometry, *Forensic Chem.* 16 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.forc.2019.100183>.
- [31] A. Hemmila, J. McGill, D. Ritter, Fourier transform infrared reflectance spectra of latent fingerprints: A biometric gauge for the age of an individual, *J. Forensic Sci.* 53 (2008) 369–376. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2007.00649.x>.
- [32] K.M. Antoine, S. Mortazavi, A.D. Miller, L.M. Miller, Chemical differences are observed in children's versus adults' latent fingerprints as a function of time, *J. Forensic Sci.* 55 (2010) 513–518. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2009.01262.x>.
- [33] M. De Puit, M. Ismail, X. Xu, LCMS Analysis of Fingerprints, the Amino Acid Profile of 20 Donors, *J. Forensic Sci.* 59 (2014) 364–370. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.12327>.
- [34] M.A. Souza, A.S. Santos, S.W. da Silva, J.W.B. Braga, M.H. Sousa, Raman spectroscopy of fingerprints and chemometric analysis for forensic sex determination in humans, *Forensic Chem.* 27 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.forc.2021.100395>.
- [35] M. Gorka, M. Augsburg, A. Thomas, A. Bécue, Molecular composition of fingermarks: Assessment of the intra- and inter-variability in a small group of donors using MALDI-MSI, *Forensic Chem.* 12 (2019) 99–106. <https://doi.org/10.1016/j.forc.2018.12.002>.
- [36] K. Baniuk, Determination of age of fingerprints, *46* (1990) 133–137.
- [37] R.M. Barros, B.E.F. Faria, S.A.S. Kuckelhaus, Morphometry of latent palmprints as a function of time, *Sci. Justice.* 53 (2013) 402–408. <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2013.08.002>.

- [38] A.H. Szabo, M. Ciga, J. Blas, GC – MS / MS method for age determination of fingerprints, (2017) 1673–1678. <https://doi.org/10.1007/s00706-017-1984-y>.
- [39] R. Merkel, J. Dittmann, C. Vielhauer, Approximation of a mathematical aging function for latent fingerprint traces based on first experiments using a Chromatic White Light (CWL) sensor and the binary pixel aging feature, *Lect. Notes Comput. Sci. (Including Subser. Lect. Notes Artif. Intell. Lect. Notes Bioinformatics)*. 7025 LNCS (2011) 59–71. https://doi.org/10.1007/978-3-642-24712-5_5.
- [40] G. Popa, R. Potorac, N. Preda, Method for fingerprints age determination, *Rom. J. Leg. Med.* 18 (2010) 149–154. <https://doi.org/10.4323/rjlm.2010.149>.
- [41] R. Bhargava, R. Schwartz Perlman, D.C. Fernandez, I.W. Levin, E.G. Bartick, Non-invasive detection of superimposed latent fingerprints and inter-ridge trace evidence by infrared spectroscopic imaging, *Anal. Bioanal. Chem.* 394 (2009) 2069–2075. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-2817-6>.
- [42] P. Fritz, W. van Bronswjik, K. Lepkova, S.W. Lewis, K.F. Lim, D.E. Martin, L. Puskar, Infrared microscopy studies of the chemical composition of latent fingermark residues, *Microchem. J.* 111 (2013) 40–46. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2012.08.005>.
- [43] N.E. Archer, Y. Charles, J.A. Elliott, S. Jickells, Changes in the lipid composition of latent fingerprint residue with time after deposition on a surface, *Forensic Sci. Int.* 154 (2005) 224–239. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2004.09.120>.
- [44] A. V. Rao, L.G. Rao, Carotenoids and human health, *Pharmacol. Res.* 55 (2007) 207–216. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2007.01.012>.
- [45] D. Ribeiro, M. Freitas, A.M.S. Silva, F. Carvalho, E. Fernandes, Antioxidant and pro-oxidant activities of carotenoids and their oxidation products, *Food Chem. Toxicol.* 120 (2018) 681–699. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.07.060>.
- [46] M. Uenojo, M.R. Maróstica, G.M. Pastore, Carotenóides: Propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma, *Quim. Nova.* 30 (2007) 616–622. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000300022>.
- [47] A. V. Rao, Z. Waseem, S. Agarwal, Lycopene content of tomatoes and tomato products and their contribution to dietary lycopene, *Food Res. Int.* 31 (1998) 737–741. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(99\)00053-8](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(99)00053-8).
- [48] S.K. Clinton, Lycopene: Chemistry, biology, and implications for human health and disease, *Nutr. Rev.* 56 (1998) 35–51. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1998.tb01691.x>.
- [49] B.D. Ribeiro, D.W. Barreto, M.A.Z. Coelho, Technological Aspects of β -Carotene

- Production, Food Bioprocess Technol. 4 (2011) 693–701. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0545-3>.
- [50] V. Lavelli, B. Zanoni, A. Zaniboni, Effect of water activity on carotenoid degradation in dehydrated carrots, Food Chem. 104 (2007) 1705–1711. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.033>.
- [51] M.L. Rodrigues, A.R.M. de Souza, J.C.R. de Lima, C.J. de Moura, R.M. Geraldine, Cinética da degradação de carotenoides e da alteração de cor do azeite de pequi submetido ao aquecimento em temperatura de fritura, Cienc. Rural. 43 (2013) 1509–1515. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782013000800027>.
- [52] C. Weyermann, C. Roux, C. Champod, Initial Results on the Composition of Fingerprints and its Evolution as a Function of Time by GC/MS Analysis, J. Forensic Sci. 56 (2011) 102–108. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2010.01523.x>.
- [53] F. ingredients BRASIL, Os lipídios e suas principais funções, Food Ingredients Bras. 37 (2016) 55–61.
- [54] D.R. Ferrier, Lippincott Illustrated Reviews: Biochemistry, Seventh Ed, 2017.
- [55] C.A. Martin, M. Matshushita, N.E. de Souza, Ácidos Graxos Trans: Implicações Nutricionais E Fontes Na Dieta, Rev. Nutr. 17 (2004) 361–368. <https://doi.org/10.1590/s1415-52732004000300009>.
- [56] M. Micera, A. Botto, F. Geddo, S. Antoniotti, C.M. Berteza, R. Levi, M.P. Gallo, G. Querio, Squalene: More than a step toward sterols, Antioxidants. 9 (2020) 1–14. <https://doi.org/10.3390/antiox9080688>.
- [57] I. Popa, N. Elena Băbeanu, S. Niță, O. Popa, Squalene-Natural resources and applications, Farmacia. 62 (2014) 840–862.
- [58] M. Spanova, G. Daum, Squalene - biochemistry, molecular biology, process biotechnology, and applications, Eur. J. Lipid Sci. Technol. 113 (2011) 1299–1320. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201100203>.
- [59] M.E. Stewart, D.T. Downing, Measurement of sebum secretion rates in young children, J. Invest. Dermatol. 84 (1985) 59–61. <https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12274825>.
- [60] D.K. Williams, C.J. Brown, J. Bruker, Characterization of children’s latent fingerprint residues by infrared microspectroscopy: Forensic implications, Forensic Sci. Int. 206 (2011) 161–165. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.07.033>.
- [61] V. de Godoi Contessoto, A.B. de Oliveira Junior, J. Chahine, R.J. de Oliveira, V.B. Pereira Leite, Introdução ao problema de enovelamento de proteínas: uma abordagem utilizando modelos computacionais simplificados, Rev. Bras. Ensino Física. 40 (2018).

- <https://doi.org/10.1590/1806-9126-rbef-2018-0068>.
- [62] PROTEÍNAS As proteínas estão presentes em diversos tipos de alimentos e desempenham várias funções no organismo. Entre os alimentos mais ricos em proteínas estão as carnes, o leite, os ovos e o trigo, (2014) 30–58.
- [63] V. Drapel, A. Becue, C. Champod, P. Margot, Identification of promising antigenic components in latent fingerprint residues, *Forensic Sci. Int.* 184 (2009) 47–53. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2008.11.017>.
- [64] M.J. West, M.J. Went, The spectroscopic detection of drugs of abuse in fingerprints after development with powders and recovery with adhesive lifters, *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 71 (2009) 1984–1988. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2008.07.024>.
- [65] M.O. Amin, E. Al-Hetlani, I.K. Lednev, Detection and identification of drug traces in latent fingerprints using Raman spectroscopy, *Sci. Rep.* 12 (2022) 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-07168-6>.
- [66] C. Huynh, E. Brunelle, L. Halámková, J. Agudelo, J. Halánek, Forensic Identification of Gender from Fingerprints, *Anal. Chem.* 87 (2015) 11531–11536. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b03323>.
- [67] S. Deng, L. Liu, Z. Liu, Z. Shen, G. Li, Y. He, Line-scanning Raman imaging spectroscopy for detection of fingerprints, *Appl. Opt.* 51 (2012) 3701–3706. <https://doi.org/10.1364/AO.51.003701>.
- [68] G. Kolhatkar, C. Parisien, A. Ruediger, C. Muehlethaler, Latent fingerprint imaging by single-metal deposition of gold nanoparticles and surface enhanced Raman spectroscopy, *Front. Chem.* 7 (2019) 1–8. <https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00440>.
- [69] W. Song, Z. Mao, X. Liu, Y. Lu, Z. Li, B. Zhao, L. Lu, Detection of protein deposition within latent fingerprints by surface-enhanced Raman spectroscopy imaging, *Nanoscale.* 4 (2012) 2333–2338. <https://doi.org/10.1039/c2nr12030e>.
- [70] R.M. Connatser, S.M. Prokes, O.J. Glembocki, R.L. Schuler, C.W. Gardner, S.A. Lewis, L.A. Lewis, Toward surface-enhanced raman imaging of latent fingerprints, *J. Forensic Sci.* 55 (2010) 1462–1470. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2010.01484.x>.
- [71] B. Figueroa, Y. Chen, K. Berry, A. Francis, D. Fu, Label-Free Chemical Imaging of Latent Fingerprints with Stimulated Raman Scattering Microscopy, *Anal. Chem.* 89 (2017) 4468–4473. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b04213>.
- [72] H.K. V Lotsch, W.T. Rhodes, E.B.A. Adibi, T. Asakura, T.W. Hänsch, T. Kamiya, F. Krausz, B. Monemar, H. Venghaus, H. Weber, H. Weinfurter, W.T. Rhodes, Springer

- Series in Springer Series in, 2009.
- [73] S. Seinsoth, H. Uhlmann-Schiffler, H. Stahl, Bidirectional DNA unwinding by a ternary complex of T antigen, nucleolin and topoisomerase I, 2003. <https://doi.org/10.1038/sj.embor.embor770>.
- [74] E. Smith, G. Dent, Modern raman spectroscopy: A practical approach, 2019. <https://doi.org/10.1002/0470011831>.
- [75] G. Bauer· W. Richter Optical Characterization of Epitaxial Semiconductor Layers, n.d.
- [76] The Raman effect, 1932.
- [77] H.J. Chun, T.L. Weiss, T.P. Devarenne, J. Laane, Vibrational spectra and DFT calculations of squalene, *J. Mol. Struct.* 1032 (2013) 203–206. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2012.10.008>.
- [78] S.T. Mayne, B. Cartmel, S. Scarmo, L. Jahns, I. V. Ermakov, W. Gellermann, Resonance Raman spectroscopic evaluation of skin carotenoids as a biomarker of carotenoid status for human studies, *Arch. Biochem. Biophys.* 539 (2013) 163–170. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2013.06.007>.
- [79] H. Tsuruoka, W. Khovidhunkit, B.E. Brown, J.W. Fluhr, P.M. Elias, K.R. Feingold, Scavenger receptor class B type I is expressed in cultured keratinocytes and epidermis. Regulation in response to changes in cholesterol homeostasis and barrier requirements, *J. Biol. Chem.* 277 (2002) 2916–2922. <https://doi.org/10.1074/jbc.M106445200>.
- [80] T. Miki, Y. Kakitani, Y. Koyama, H. Nagae, Stimulated emission from the 1 Bu-(0) level and the 1 Bu+(0) + 1Bu- (1 and 2) diabatic levels upon excitation to the 1Bu+(0) level in neurosporene and spheroidene, *Chem. Phys. Lett.* 457 (2008) 222–226. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2008.03.069>.
- [81] L. Brambilla, M. Tommasini, G. Zerbi, R. Stradi, Raman spectroscopy of polyconjugated molecules with electronic and mechanical confinement: The spectrum of *Corallium rubrum*, *J. Raman Spectrosc.* 43 (2012) 1449–1458. <https://doi.org/10.1002/jrs.4057>.
- [82] B.N. Vinay Kumar, B. Kampe, P. Rösch, J. Popp, Characterization of carotenoids in soil bacteria and investigation of their photodegradation by UVA radiation via resonance Raman spectroscopy, *Analyst.* 140 (2015) 4584–4593. <https://doi.org/10.1039/c5an00438a>.
- [83] H. Schulz, M. Baranska, R. Baranski, Potential of NIR-FT-Raman spectroscopy in natural carotenoid analysis, *Biopolymers.* 77 (2005) 212–221. <https://doi.org/10.1002/bip.20215>.
- [84] J. Qiu, H.Y. Hou, I.S. Yang, X.B. Chen, Raman spectroscopy analysis of free fatty acid

- in olive oil, *Appl. Sci.* 9 (2019). <https://doi.org/10.3390/app9214510>.
- [85] M. Motoyama, Structure and Phase Characterization of Triacylglycerols by Raman Spectroscopy, *Bull NARO Inst Livest Grassl Sci.* 12 (2012) 19–68.
- [86] K. Sailer, S. Viaggi, M. Nüsse, Kinetics of radiation- and cytochrome c-induced modifications in liposomes analysed by FT-Raman spectroscopy, *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr.* 1329 (1997) 259–268. [https://doi.org/10.1016/S0005-2736\(97\)00113-2](https://doi.org/10.1016/S0005-2736(97)00113-2).
- [87] M. V. Buchanan, K. Asano, A. Bohanon, <title>Chemical characterization of fingerprints from adults and children</title>, *Forensic Evid. Anal. Crime Scene Investig.* 2941 (1997) 89–95. <https://doi.org/10.1117/12.266300>.
- [88] D. Czarnowski, J. Langfort, W. Pilis, J. Górski, Effect of a low-carbohydrate diet on plasma and sweat ammonia concentrations during prolonged nonexhausting exercise, *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.* 70 (1995) 70–74. <https://doi.org/10.1007/BF00601811>.
- [89] K. Czamara, K. Majzner, M.Z. Pacia, K. Kochan, A. Kaczor, M. Baranska, Raman spectroscopy of lipids: A review, *J. Raman Spectrosc.* 46 (2015) 4–20. <https://doi.org/10.1002/jrs.4607>.
- [90] A. Rygula, K. Majzner, K.M. Marzec, A. Kaczor, M. Pilarczyk, M. Baranska, Raman spectroscopy of proteins: A review, *J. Raman Spectrosc.* 44 (2013) 1061–1076. <https://doi.org/10.1002/jrs.4335>.
- [91] V.E. de Oliveira, H. V. Castro, H.G.M. Edwards, L.F.C. de Oliveiraa, Carotenes and carotenoids in natural biological samples: A Raman spectroscopic analysis, *J. Raman Spectrosc.* 41 (2010) 642–650. <https://doi.org/10.1002/jrs.2493>.
- [92] N. Achir, V.A. Randrianatoandro, P. Bohuon, A. Laffargue, S. Avallone, Kinetic study of β -carotene and lutein degradation in oils during heat treatment, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 112 (2010) 349–361. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200900165>.
- [93] A. Fratianni, L. Cinquanta, G. Panfili, Degradation of carotenoids in orange juice during microwave heating, *LWT - Food Sci. Technol.* 43 (2010) 867–871. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.01.011>.
- [94] R.F. Dallinger, S. Farquharson, W.H. Woodruff, M.A.J. Rodgers, Vibrational Spectroscopy of the Electronically Excited State. 4. Nanosecond and Picosecond Time-Resolved Resonance Raman Spectroscopy of Carotenoid Excited States, *J. Am. Chem. Soc.* 103 (1981) 7433–7440. <https://doi.org/10.1021/ja00415a006>.
- [95] S. Baldermann, M. Naim, P. Fleischmann, Enzymatic carotenoid degradation and aroma

- formation in nectarines (*Prunus persica*), *Food Res. Int.* 38 (2005) 833–836. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.02.009>.
- [96] I.F. Strati, V. Oreopoulou, Recovery and Isomerization of Carotenoids from Tomato Processing By-products, *Waste and Biomass Valorization.* 7 (2016) 843–850. <https://doi.org/10.1007/s12649-016-9535-z>.
- [97] J. Song, Q. Wei, X. Wang, D. Li, C. Liu, M. Zhang, L. Meng, Degradation of carotenoids in dehydrated pumpkins as affected by different storage conditions, *Food Res. Int.* 107 (2018) 130–136. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.024>.
- [98] A. Schieber, R. Carle, Occurrence of carotenoid cis-isomers in food: Technological, analytical, and nutritional implications, *Trends Food Sci. Technol.* 16 (2005) 416–422. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.03.018>.
- [99] B. Hiranvarachat, P. Suvarnakuta, S. Devahastin, Isomerisation kinetics and antioxidant activities of β -carotene in carrots undergoing different drying techniques and conditions, *Food Chem.* 107 (2008) 1538–1546. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.026>.
- [100] S. Schlücker, A. Szeghalmi, M. Schmitt, J. Popp, W. Kiefer, Density functional and vibrational spectroscopic analysis of β -carotene, *J. Raman Spectrosc.* 34 (2003) 413–419. <https://doi.org/10.1002/jrs.1013>.
- [101] Y. Koyama, I. Takatsuka, M. Nakata, M. Tasumi, Raman and infrared spectra of the all-trans, 7-cis, 9-cis, 13-cis and 15-cis isomers of β -carotene: Key bands distinguishing stretched or terminal-bent configurations from central-bent configurations, *J. Raman Spectrosc.* 19 (1988) 37–49. <https://doi.org/10.1002/jrs.1250190107>.
- [102] B. Subramanian, N. Tchoukanova, Y. Djaoued, C. Pelletier, M. Ferron, J. Robichaud, Investigations on the geometrical isomers of astaxanthin: Raman spectroscopy of conjugated polyene chain with electronic and mechanical confinement, *J. Raman Spectrosc.* 45 (2014) 299–304. <https://doi.org/10.1002/jrs.4459>.
- [103] R. Arimboor, R.B. Natarajan, K.R. Menon, L.P. Chandrasekhar, V. Moorkoth, Red pepper (*Capsicum annuum*) carotenoids as a source of natural food colors: analysis and stability—a review, *J. Food Sci. Technol.* 52 (2015) 1258–1271. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1260-7>.
- [104] A.A. Woodall, G. Britton, M.J. Jackson, Carotenoids and protection of phospholipids in solution or in liposomes against oxidation by peroxy radicals: Relationship between carotenoid structure and protective ability, *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* 1336 (1997) 575–586. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(97\)00007-X](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(97)00007-X).
- [105] C. Mordi, Exploratory Study of p-carotene Autoxidation, 32 (1991) 4203–4206.

- <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0040403900799059>.
- [106] E.B. Rodriguez, D.B. Rodriguez-Amaya, Formation of apocarotenals and epoxy-carotenoids from β -carotene by chemical reactions and by autoxidation in model systems and processed foods, *Food Chem.* 101 (2007) 563–572. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.015>.
- [107] A. Fernandez, S. Torres-Giner, J.M. Lagaron, Novel route to stabilization of bioactive antioxidants by encapsulation in electrospun fibers of zein prolamine, *Food Hydrocoll.* 23 (2009) 1427–1432. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.10.011>.
- [108] I. Noda, C. Marcott, Two-dimensional Raman (2D Raman) correlation spectroscopy study of non-oxidative photodegradation of β -carotene, *J. Phys. Chem. A.* 106 (2002) 3371–3376. <https://doi.org/10.1021/jp0122528>.
- [109] M.G. Simic, S. V. Jovanovic, E. Niki, *Mechanisms of Lipid Oxidative Processes and Their Inhibition*, New York: American Chemical Society, 1992. <https://doi.org/10.1021/bk-1992-0500.ch002>.
- [110] P.B.M.C. Derogis, A.B. Chaves-Fillho, S. Miyamoto, Characterization of hydroxy and hydroperoxy polyunsaturated fatty acids by mass spectrometry, *Adv. Exp. Med. Biol.* 1127 (2019) 21–35. https://doi.org/10.1007/978-3-030-11488-6_2.
- [111] C.J. Barrow, C. Nolan, Y. Jin, Stabilization of highly unsaturated fatty acids and delivery into foods, *Lipid Technol.* 19 (2007) 108–111. <https://doi.org/10.1002/lite.200600037>.
- [112] D.S. Santos, J.A. V. Morais, Í.A.C. Vanderlei, A.S. Santos, R.B. Azevedo, L.A. Muehlmann, O.R.P. Júnior, M.R. Mortari, J.R. da Silva, S.W. da Silva, J.P.F. Longo, Oral delivery of fish oil in oil-in-water nanoemulsion: Development, colloidal stability and modulatory effect on in vivo inflammatory induction in mice, *Biomed. Pharmacother.* 133 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110980>.
- [113] L.E. Jamieson, A. Li, K. Faulds, D. Graham, Ratiometric analysis using Raman spectroscopy as a powerful predictor of structural properties of fatty acids, *R. Soc. Open Sci.* 5 (2018). <https://doi.org/10.1098/rsos.181483>.
- [114] U. Münchberg, L. Wagner, C. Rohrer, K. Voigt, P. Rösch, G. Jahreis, J. Popp, Quantitative assessment of the degree of lipid unsaturation in intact *Mortierella* by Raman microspectroscopy, *Anal. Bioanal. Chem.* 407 (2015) 3303–3311. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8544-2>.
- [115] H. Sadeghi-Jorabchi, R.H. Wilson, P.S. Belton, J.D. Edwards-Webb, D.T. Coxon, Quantitative analysis of oils and fats by Fourier transform Raman spectroscopy, *Spectrochim. Acta Part A Mol. Spectrosc.* 47 (1991) 1449–1458.

- [https://doi.org/10.1016/0584-8539\(91\)80236-C](https://doi.org/10.1016/0584-8539(91)80236-C).
- [116] B. Muik, B. Lendl, A. Molina-Díaz, M.J. Ayora-Cañada, Direct monitoring of lipid oxidation in edible oils by Fourier transform Raman spectroscopy, *Chem. Phys. Lipids*. 134 (2005) 173–182. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2005.01.003>.
- [117] J. Bai, M. Zang, H. Zou, J. Wu, Y. Shi, H. Wang, S. Wang, X. Qiao, Prediction of the Lipid Degradation and Storage Time of Chilled Beef Flank by Using Raman Spectroscopy and Chemometrics, *Food Anal. Methods*. (2022). <https://doi.org/10.1007/s12161-022-02276-5>.

APÊNDICE A

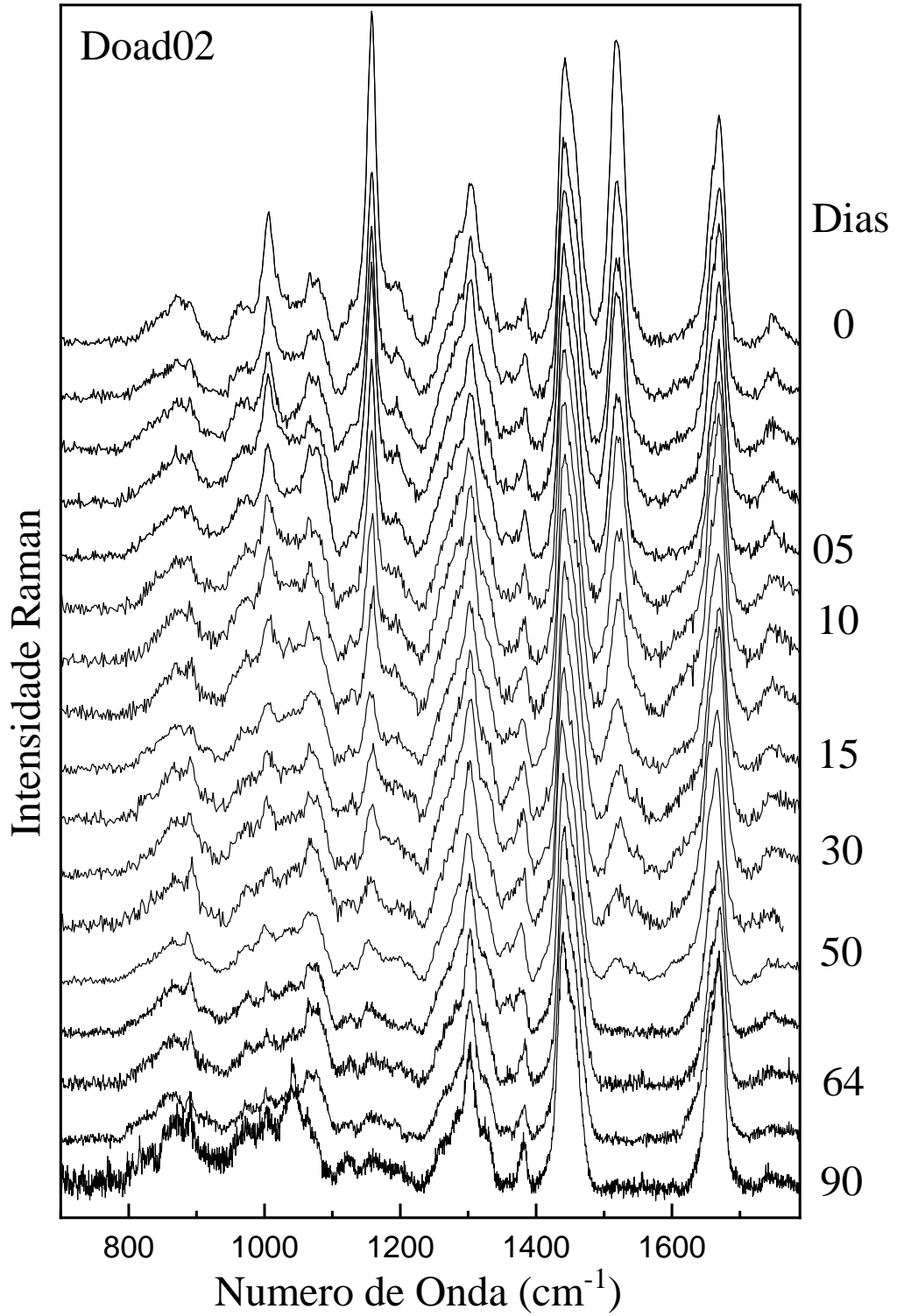


Figura A1: Espectros Raman médios obtidas das impressões digitais do doador 01 ao longo de 90 dias.

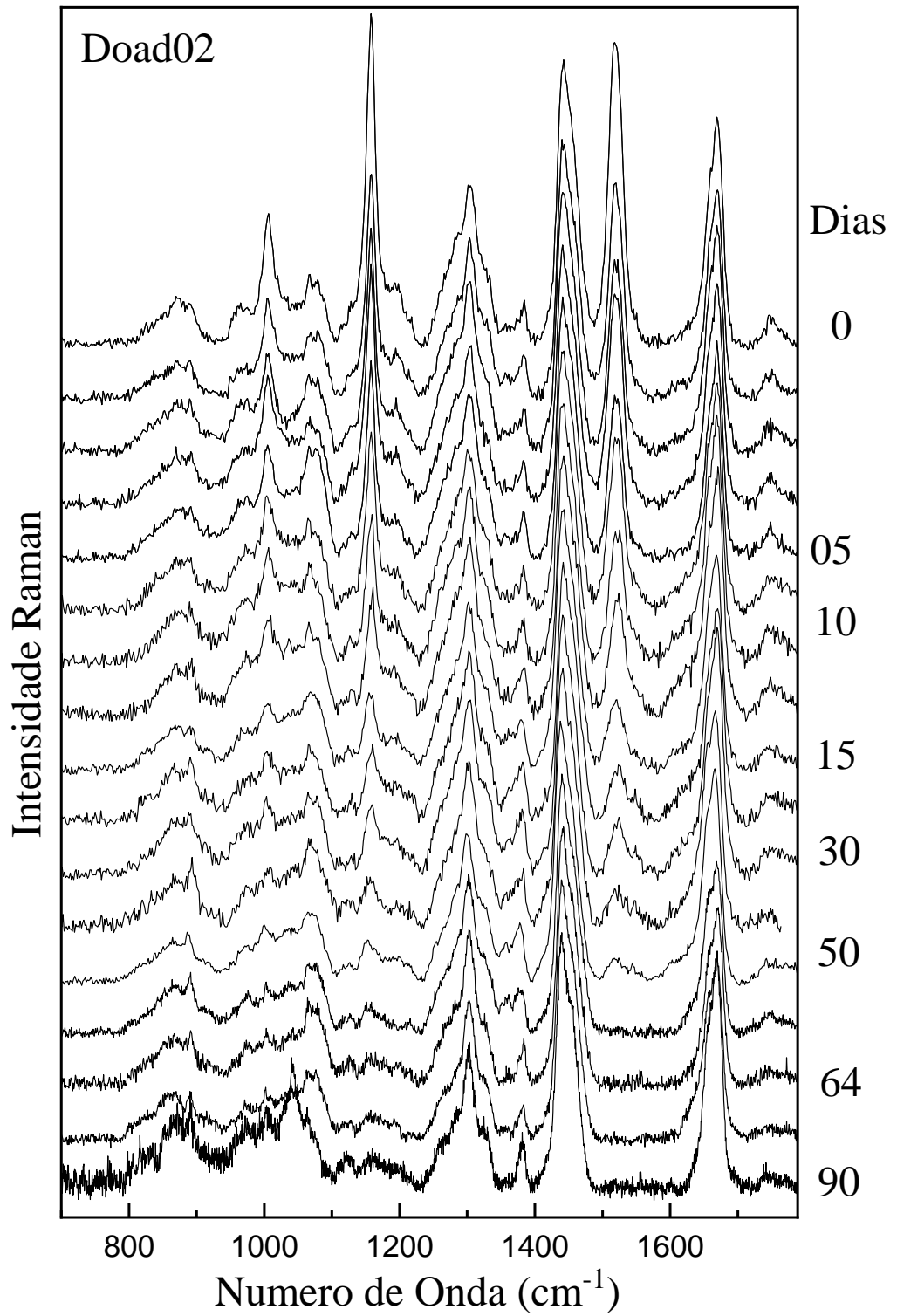


Figura A2: Espectros Raman médios obtidas das impressões digitais do doador 02 ao longo de 90 dias.