

Estudo sobre técnicas de quimioluminescência utilizadas na identificação de vestígios de sangue em cenas de crimes

Study on chemiluminescence techniques used in the identification of blood traces in crime scenes

Estudio sobre técnicas de quimioluminiscencia utilizadas en la identificación de rastros de sangre en escenas del crimen

Recebido: 06/12/2022 | Revisado: 18/12/2022 | Aceitado: 19/12/2022 | Publicado: 22/12/2022

Odilon José Claudino Soares

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4993-1178>
Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Brasil
E-mail: odivet@hotmail.com

Gabriel Artur Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0132-7518>
Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Brasil
E-mail: gabrielxartur@gmail.com

Rennedy da Mota Macêdo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9296-2626>
Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Brasil
E-mail: rennedyfarmabio@gmail.com

Dyenny Ellen Lima Lhamas

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1860-8498>
Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Brasil
E-mail: dyenny@unifesspa.edu.br

Vinicius Vescovi

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6560-4222>
Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Brasil
E-mail: v.vescovi@unifesspa.edu.br

Ruthinéia Jéssica Alves do Nascimento

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5737-4164>
Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Brasil
E-mail: ruthineia.nascimento@unifesspa.edu.br

Wagner Soares de Alencar

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0880-9317>
Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Brasil
E-mail: alencarws@unifesspa.edu.br

Adjane da Costa Tourinho e Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8996-0689>
Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Brasil
E-mail: adtourinho@terra.com.br

José Alberto Silva de Sá

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8703-8532>
Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Brasil
E-mail: josealbertosa@uepa.br

Raiane Sodrê de Araújo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9065-2210>
Centro Universitário Estácio de Sergipe, Brasil
E-mail: raianefisica@gmail.com

Fernanda Carla Lima Ferreira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1671-533X>
Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Brasil
E-mail: fernandaferreira@unifesspa.edu.br

Resumo

A química forense é uma área interdisciplinar que fornece informações valiosas para auxiliar a justiça na resolução de questões de natureza criminal. A quimioluminescência é um dos métodos mais utilizados para a detecção de manchas de sangue. Mesmo após a lavagem da cena do crime, essa técnica ainda é capaz de identificar a presença de material biológico. Neste contexto, o objetivo principal para o desenvolvimento deste trabalho é fazer uma revisão das principais técnicas de quimioluminescência utilizadas em cenas de crime. Dentre as técnicas mais usuais na quimioluminescência, destaca-se as baseadas em Luminol, Fluoresceína, Bluestar Forensics e Lumiscene como os métodos mais eficazes na detecção de sangue em diversos tipos de superfícies e até mesmo em cenários lavados. A partir da revisão da literatura,

constatou-se que mais pesquisas são necessárias para entender melhor o mecanismo de reação envolvido nos materiais usuais em ciências forenses. Além disso, o desenvolvimento de novos materiais com maior luminescência, maiores contrastes, baixa toxicidade, maior tempo de resposta e alta sensibilidade.

Palavras-chave: Quimioluminescência; Luminol; Sangue; Delitos; Química forense.

Abstract

Forensic chemistry is an interdisciplinary area that provides valuable information to assist justice in solving criminal matters. Chemiluminescence is one of the most widely used methods for detecting bloodstains. Even after washing the crime scene, this technique is still able to identify the presence of biological material. In this context, the main objective for the development of this work is to review the main chemiluminescence techniques used in crime scenes. Among the most common techniques in chemiluminescence, those based on Luminol, Fluorescein, Bluestar Forensics and Lumiscene stand out as the most effective methods for detecting blood on different types of surfaces and even in washed scenarios. From the literature review, it was found that more research is needed to better understand the reaction mechanism involved in the usual materials in forensic sciences. In addition, the development of new materials with greater luminescence, greater contrasts, low toxicity, longer response time and high sensitivity.

Keywords: Chemiluminescence; Luminol; Blood; Crimes; Forensic chemistry.

Resumen

La química forense es un área interdisciplinaria que brinda información valiosa para asistir a la justicia en la resolución de asuntos penales. La quimioluminiscencia es uno de los métodos más utilizados para detectar manchas de sangre. Incluso después de lavar la escena del crimen, esta técnica todavía es capaz de identificar la presencia de material biológico. En este contexto, el objetivo principal para el desarrollo de este trabajo es revisar las principales técnicas de quimioluminiscencia utilizadas en las escenas del crimen. Entre las técnicas más comunes en quimioluminiscencia, las basadas en Luminol, Fluorescein, Bluestar Forensics y Lumiscene se destacan como los métodos más efectivos para detectar sangre en diferentes tipos de superficies e incluso en escenarios lavados. A partir de la revisión de la literatura, se encontró que se necesita más investigación para comprender mejor el mecanismo de reacción involucrado en los materiales habituales en las ciencias forenses. Además, el desarrollo de nuevos materiales con mayor luminescencia, mayores contrastes, baja toxicidad, mayor tiempo de respuesta y alta sensibilidad.

Palabras clave: Quimioluminiscencia; Luminol; Sangre; Delitos; Química forense.

1. Introdução

A Química Forense é considerada uma área das ciências forenses que se utiliza de produção de materiais para justiça, tendo em vista análise minuciosa de materiais variados, como drogas ilícitas e lícitas, fluidos corporais, resíduos de armas de fogo, venenos, combustíveis, fibras, entre outros, sendo que a Química Forense pode ser definida, de maneira resumida, como a aplicação de conhecimentos químicos em auxílio à justiça na resolução de assuntos de natureza criminosos, como por exemplos, estudos de drogas de abuso, novas drogas e drogas de desenho – spot tests (Farias *et al.*, 2022, da Costa Tourinho *et al.*, 2022).

Em uma cena de crime, o sangue é o principal vestígio biológico a ser encontrado e pode se apresentar de diversas formas, estando em sua forma líquida ou solidificado nas vestes da vítima. A análise de sangue fornece informações importantes para resolução de casos periciais, dando o entendimento da dinâmica do crime, ou, a partir dos dados obtidos por meio do sangue da vítima e de um possível suspeito, vinculando estes a um local de crime (Longo *et al.*, 2011).

Para auxiliar a investigação, o perito criminal recorre a técnicas de identificação e recolhimento, no local do crime, de vestígios/indícios, podendo utilizar exame macroscópico, testes de presunção e teste de espécie. Na primeira categoria, encontra-se como principal mecanismo o sistema de luz de varrimento, para localização inicial de manchas de sangue e seus percursos. Atualmente, existem diversos métodos utilizados para identificação de sangue com diferentes finalidades, tais como Luminol (Barni *et al.*, 2007; Brenzini. & Pathak, 2018; Cavalcanti. & Barros, 2016; Hayashi *et al.*, 2019; Nagesh & Ghosh, 2017; Morg *et al.*, 2018), Fluoresceína (Bravo *et al.*, 2018), Bluestar Forensics (Dilbeck, 2006), Lumiscene (Bravo *et al.*, 2018), Leuco-malaquita verde (Hara *et al.*, 2016; Hidayah *et al.*, 2013; Dorea *et al.*, 2005), Negro amido (Rangel, 2015), Diazafluorenona (DFO) (Nogueira *et al.*, 2021) e entre outros (Anderson, R. , 2017; Finnis *et al.*, 2013; Howard, 2019).

Outro fator relevante para revelação sangue em local de crime é a morfologia das manchas de sangue, que pode variar conforme a altura, as angulações e a velocidade das projeções do ponto hemorrágico, além das características dos suportes em

que as manchas foram projetadas e se encontram impregnadas na cena. Pela importância que as manchas de sangue representam no contexto das investigações periciais envolvendo locais de morte violenta, sua análise na cena de crime permite inferir sobre: o tipo de arma utilizado na ação e a quantidade de golpes desferidos contra a vítima; o ponto de convergência dos impactos e o posicionamento dos indivíduos envolvidos no evento; os tipos de lesões; o tempo decorrido dos fatos; a dinâmica dos acontecimentos; e até mesmo permite a identificação da vítima e da autoria do delito, por meio do levantamento do perfil genético. Dessa forma, as características das manchas de sangue podem definir padrões, identificando a natureza do evento que as originou e fornecendo informações importantes sobre a ocorrência (Botteon, 2018).

Em resumo, a Química Forense é um dos procedimentos padrões na Cadeia de Custódia, que estabelece uma sequência, que visa analisar, controlar e identificar evidências, a fim de solucionar o crime. Entretanto, até o momento, não existe uma metodologia padronizada para determinar manchas de sangue com relação ao tempo de exposição e diferentes superfícies. Dessa maneira, o desenvolvimento de novas tecnologias e o aprimoramento de técnicas existentes podem auxiliar os profissionais forenses durante a investigação criminal. Neste contexto, este artigo tem como objetivo realizar uma revisão das principais técnicas utilizadas para identificar vestígios de sangue em cenas de crime.

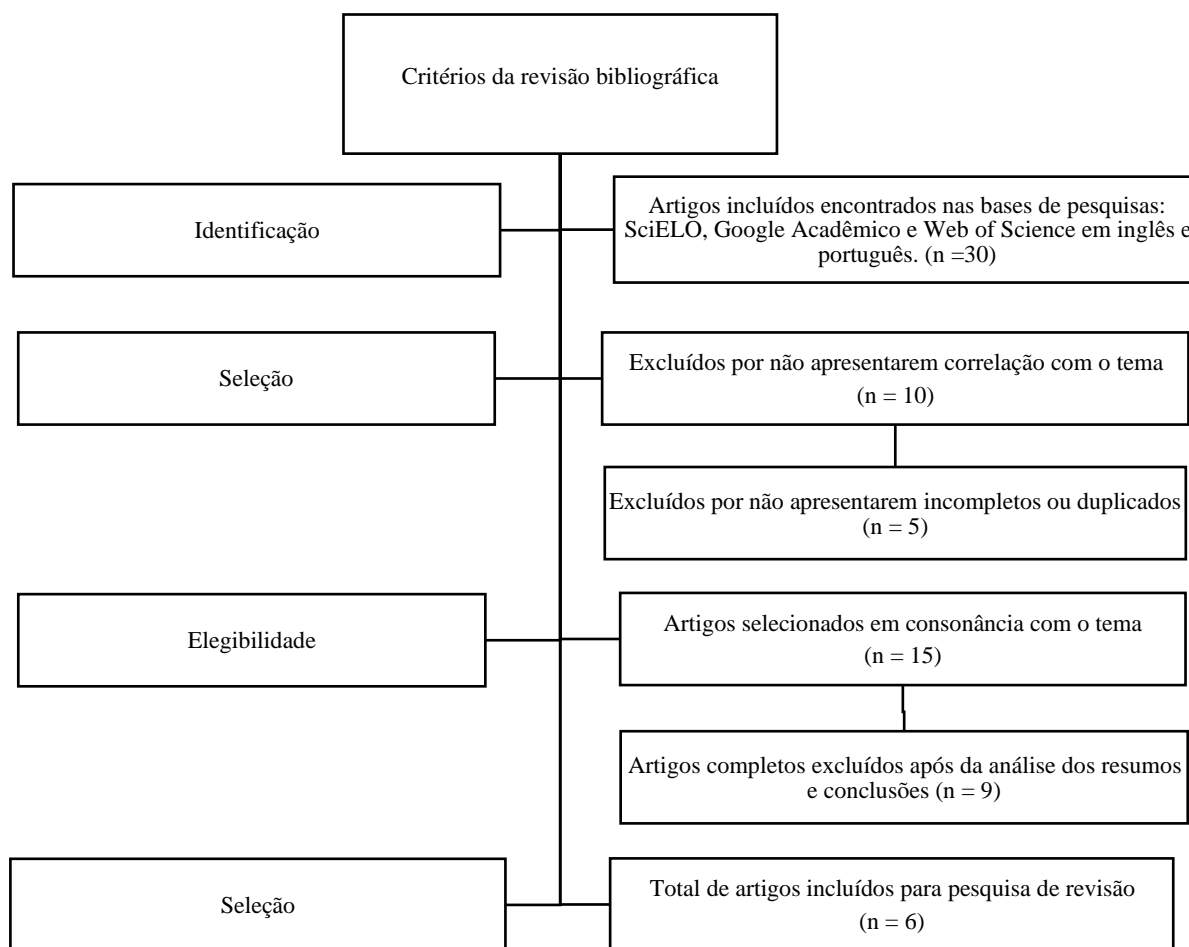
2. Metodologia

O presente estudo caracterizou-se por uma revisão da literatura, utilizando o método PRISMA (Moher, *et al.*, 2009), para seleção dos artigos baseada nas discussões por meio de uma análise sobre os principais métodos e/ou técnicas utilizados para identificação de vestígios de sangue em cenas de crime. Os artigos selecionados foram encontrados em diferentes bases de dados científicos, a saber: *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), Google Acadêmico e *Web of Science*. Estes foram lidos na íntegra para a análise dos conteúdos relatados pelos autores. Os descritores utilizados nas pesquisas, no idioma português e inglês, foram: “vestígios de sangue”, “técnicas de quimioluminescência” e “aplicações em ciências forenses”. Aqui, buscou-se entender a importância da utilização de diferentes técnicas quimioluminescentes como uma ferramenta para elucidação de crimes, bem como auxiliar os peritos em suas investigações. O principal intuito dessa revisão foi avaliar as características das técnicas quimioluminescentes conhecidas para identificação de vestígios de sangue em locais de crime.

Inicialmente, realizou-se um levantamento bibliográfico, em que somente foram incluídos os artigos no idioma inglês e português que possuíam nos títulos as palavras chaves citadas anteriormente, sendo estes revisados por pares e em revistas indexadas nos últimos 10 (dez) anos, entre 2012-2022. Foram excluídos artigos que não abordam diretamente as técnicas de quimioluminescência e que não estavam diretamente relacionados com o tema de ciências forenses. Depois da aplicação dos critérios adotados, os artigos foram selecionados a partir da leitura dos títulos, resumos e conclusões. Após a seleção, foi realizado o estudo completo do conteúdo e as discussões desses artigos.

A partir dos critérios adotados acima obtivemos um quantitativo de 6 (seis) artigos que foram lidos e analisados na íntegra, como pode ser observado no fluxograma ilustrado na Figura 1. Para uma melhor visualização dos dados extraídos para a análise do conteúdo, sumarizadas no Quadro 1 as principais técnicas reportadas na literatura para identificação de vestígios de sangue as seguintes variáveis: autores/ ano do artigo; título e revistas indexadas, resultados e conclusão, bem como as vantagens e desvantagens de cada uma das técnicas.

Figura 1 - Fluxograma dos artigos selecionados.



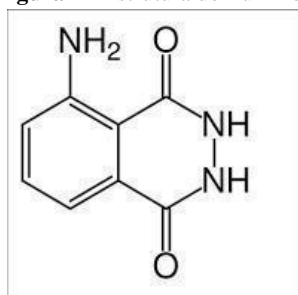
Fonte: Elaborado pelos autores.

3. Resultados e Discussão

Dentre os testes de presunção que são utilizados na constatação inicial dos vestígios de sangue, destaca-se o teste com o luminol (LUM), sendo esta uma reação bastante conhecida pelos peritos, quando oxidado com o peróxido de hidrogênio, emite uma luz azulada a qual permite resgatar os resíduos que foram ofuscados a partir da tentativa de limpeza ou eliminação da mancha de sangue (Alves & Boaventura, 2021).

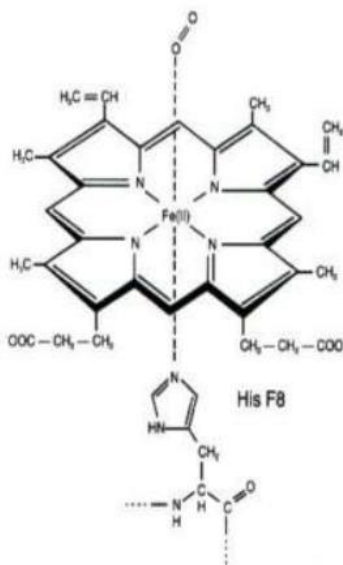
O luminol (LUM), cuja estrutura está ilustrada na Figura 2, é um sólido cristalino de cor branca-amarelada, praticamente insolúvel em água, estável em temperatura ambiente e com sensibilidade à luz e ao calor. Este composto químico apresenta reação de quimioluminescência (QL), quando em contato com o sangue (ver Figura 3). A emissão de radiação eletromagnética que ocorre junto a processos químicos, onde a luminosidade acontece pela quebra das ligações existentes nas moléculas ou através de rearranjos moleculares, é observada nas aplicações do químico, podendo variar sua intensidade de acordo com o solvente utilizado (Fragoso *et al.*, 2021). Para acontecer esse fenômeno utilizando o LUM, são necessários reagentes oxidantes, tais como H_2O_2 , O_2 e ClO^- , e catalisadores, como os metais de transição, e assim em um ambiente escuro pode se observar um brilho azul proveniente dessa QL, que dura cerca de 30 segundos se o sangue estiver presente (Fragoso *et al.*, 2021).

Figura 2 - Estrutura do Luminol.



Fonte: Frago *et al.* (2021).

Figura 3 - Estrutura do grupo heme da hemoglobina e as ligações do átomo de ferro com oxigênio e o radical His.



Fonte: Frago *et al.* (2021).

No Quadro 1, estão sumarizadas as principais técnicas reportadas na literatura para identificação de vestígios de sangue, onde ressalta-se os principais objetivos, vantagens e desvantagens de cada uma das técnicas.

Quadro 1 - Técnicas forenses usuais para identificação de sangue em locais de crime.

Técnica forense	Objetivo da técnica	Vantagem	Desvantagem
Luminol	Identificar a presença de sangue em locais que foram limpos e/ou lavados.	Alta sensibilidade, não reage com outros fluidos corporais e a reação apresenta uma cor azul escuro, que indica o contorno e os detalhes das marcas de sangue por até 30 segundos.	Tóxico, agride o DNA, tempo de resposta curto. Não recomendado para revelar detalhes tão finos quanto marcas de dedos
Fluoresceína	Identificar a presença de e os componentes de proteínas encontrados no sangue.	Intensifica manchas latentes contaminadas com sangue em superfícies porosas e não porosas com uma marca azul escura, não é inflamável, permite um bom contraste visual	Não revela uma mancha de transpiração normal.
Bluestar ¹ ®	Identificar a presença de sangue com tempo de resposta alto.	A reação é mais intensa e maior tempo de duração em relação ao luminol, funciona em cenas que não tão escura.	Não é recomendado desenvolver marcas com detalhes finos, como marca de dedo

¹ O Bluestar é um reagente de aprimoramento de sangue cuja finalidade é revelar manchas de sangue que foram lavadas, limpas ou invisíveis a olho nu.

Lumiscene	Identificação de sangue a partir da combinação do Luminol com a Fluoresceína	Aprimoramento do bluestar, capaz de detectar marcas minúsculas de sangue, permitindo uma maior recuperação de provas críticas de padrão de sangue e DNA.	Pode causar risco de dano do DNA e distorção do padrão do sangue
Leuco-malaquita verde	Identificar sangue rapidamente em até 3 segundos, quando há suspeita da presença de sangue.	É um teste de triagem valioso para identificação rápida de sangue até a conclusão da descoberta de sangue suspeito com o uso de produtos como o Luminol, Bluestar e Lumiscene.	Não indica que sangue analisado é humano
Negro amido	Intensificar as manchas latentes contaminadas com sangue em superfícies porosas e não porosas com uma marca azul escura.	As manchas marcam azul escuro imediatamente, melhora o contraste das imagens, bom desempenho na maioria dos substratos e não tóxico.	Não pode ser usado em superfícies de alumínio, chumbo, magnésio, cobre e zinco.
Diazafluorenona (DFO)	Identificar sangue em diferentes superfícies	Elevada capacidade de revelação de impressão de digital com sangue e forte fluorescência quando iluminadas com uma fonte de excitação (Laser).	Digitais são facilmente afetadas pela cor e propriedades dos substratos de fundo; baixa sensibilidade; requer fonte de luz laser e filtros apropriados.

Fonte: Elaborado pelos autores.

Como pode-se observar no Quadro 2, até o momento não existe uma metodologia padrão para identificação de sangue, no entanto, as técnicas acima podem ser utilizadas para uma determinada especificação, bem como serem usados em conjunto para obtenção de uma resposta quimioluminescente melhorada (Bossers *et al.*, 2011).

A partir da seleção dos artigos, analisou-se as principais discussões sobre tema discorrido no presente trabalho. Nosso principal intuito foi avaliar as técnicas mais usuais para identificação de vestígios de sangue. A seguir, ilustramos as contribuições evidenciadas e as técnicas quimioluminescentes usadas nessas pesquisas científicas.

Quadro 2 - Trabalhos selecionados para discussão.

SELEÇÃO	AUTORES/ANO/ TÍTULO/ REVISTA	RESULTADOS/CONCLUSÃO	TÉCNICA UTILIZADA
1	Nogueira (2013). Análise de Padrões de Manchas de Sangue - A importância Médico-Legal. Dissertação de Mestrado em Medicina Legal, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto.	Abordam os estudos físicos e métricos das manchas de sangue são importantes, pois para se conseguir interpretar corretamente os padrões das manchas de sangue presentes em um local de crime e reconstituir os eventos que ocorreram, é necessário efetuar o cálculo da área de convergência e, a partir dessa, determinar a área de origem. Chama-se à atenção para o fato de que os padrões importantes para esta análise são os padrões de impacto, principalmente aqueles criados por pancadas, objetos contundentes ou perfurantes.	Luminol
2	Vasconcellos & De Paula (2017). Aplicação Forense do Luminol – Uma Revisão. Revista Criminalística e Medicina Legal	Neste trabalho, os autores ressaltam a importância das análises dos principais vestígios em locais de crimes, destacando como ponto focal das pesquisas a identificação das manchas de sangue. Para que seja possível essa identificação, o autor apresenta as definições dos fenômenos de quimioluminescência, que é um termo empregado para descrever a emissão de radiação quando uma molécula ou átomo sofre uma transição de um estado eletronicamente excitado para um estado de energia mais baixa	Luminol

3	Fragoso <i>et al.</i> , (2021). Luminol: Possíveis interferentes no estudo do sangue humano. Brazilian Journal of Forensic Sciences	Reportam uma revisão bibliográfica sobre os possíveis interferentes no estudo de sangue humano com o objetivo de auxiliar a pesquisa de sangue latente em cenas de crime.	Luminol
4	Finez & Chiarato (2019). Análise dos Padrões de Manchas de Sangue: A Física e a Biologia nas Cenas de Crimes. Danville Revista Científica da Faculdade Gran Tiete	Relatam os aspectos físicos e biológicos dos padrões das manchas de sangue identificadas em uma cena de crime são considerados um dos mais importantes vestígios a serem encontrados na cena, uma vez que este fluido se faz extremamente relevante, principalmente pelo fato de estar a ele relacionadas às propriedades físicas, biológicas, entre outras em um só elemento da cena de crime	Padrões de manchas de sangue em locais de crime
5	Vieira <i>et al.</i> , (2016). Comportamento do reagente Bluestar em manchas de sangue frente a diferentes tempos, superfícies e lavagens. Brazilian Journal of Forensic Sciences,	Afirma que demonstra ser eficaz na detecção e revelação de sangue, incluindo manchas de sangue latente, ou seja, que tenham sido retiradas mecanicamente ou lavadas. Essa eficácia foi evidenciada nos quatro substratos utilizados em pesquisa (tecido de algodão, MDF, carpete e cerâmica), submetidos a lavagem com água e sabão em pó e avaliados em intervalos de 01 dia (T1), 07 dias (T2) e 30 dias (T3). Evidenciando que no MDF, tecido, carpete e cerâmica nos períodos T1, T2 e T3, a quimiluminescência do Bluestar® foi observada em ambiente não muito escuro.	Bluestar
6	Indalecio-Céspedes <i>et al.</i> , (2021). Occult bloodstains detection in crime scene analysis. Journal of Forensic Chemistry.	Os autores reforçam que as luzes forenses são muito úteis para detecção de sangue, mesmo para cenas de crime reformadas. Elas ofereceram melhor resultados no suporte de madeira, esteira e tênis. Em um suporte de madeira, o filtro amarelo rendeu maior eficácia contra laranja, pois permitiu observar manchas de sangue mais escuras sem adição de outras substâncias e não diluídas, ou seja, manchas de sangue sem e com conservante. A única exceção foi encontrada na mancha de sangue escondida com tinta marrom, onde não se distinguiu a nítida diferença de coloração.	Luminol

Fonte: Elaborado pelos autores.

A seguir apresentaremos uma breve discussão acerca dos artigos selecionados em consonância com a temática proposta no presente estudo.

Nogueira (2013), recomenda que para uma boa exploração da cena de crime o perito deve então começar a sua análise por uma apreensão inicial da cena de crime como um todo, tendo uma ideia geral da distribuição e localização dos padrões de manchas de sangue. Posteriormente, o perito deve concentrar a sua atenção em cada um dos padrões individualmente, avaliando-os e tentando determinar os mecanismos que estiveram na sua origem, postulando uma hipótese. Contudo, existem muitas variáveis que podem interferir na aparência das manchas de sangue. O volume de sangue derramado, a altura a que este cai, o tipo de superfície que atinge e também o ângulo de impacto são alguns dos fatores que poderão dificultar a determinação dos eventos através da análise dos padrões de manchas de sangue. Assim, o perito deve manter-se fiel apenas aos factos que observa e que podem ser potencialmente provados, sendo objetivo e não fazendo quaisquer interpretações subjetivas. No final, o perito deve ter a certeza de que analisou a totalidade do local do crime, até ao mais ínfimo pormenor, tendo todos os detalhes bem documentados.

O tipo de trabalho realizado no local do crime, especificamente no âmbito da análise dos padrões de manchas de sangue, depende daquilo que a investigação pretende, se é a simples interpretação ou se é a reconstituição dos eventos. Em se tratando

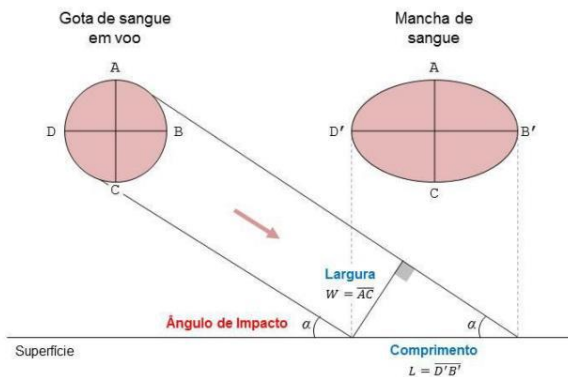
somente da interpretação, o perito analisa os padrões de forma a concluir sobre o que os originou e a forma como foram criados, explicitando os princípios e propriedades que lhe são inerentes, descrevendo as manchas e nomeando os padrões observados. No caso de uma reconstituição ser o objetivo máximo do estudo, além da interpretação prévia, o perito faz o levantamento dos padrões e das manchas mais pertinentes para posteriormente colocar no banco de dados no sentido de determinar a área de origem, o ponto de convergência e fazer um esboço esquemático da cena do crime e dos possíveis acontecimentos que nela decorreram (Nogueira, 2013).

Segundo Vieira *et. al.*, (2016), o reagente Bluestar® foi eficaz na detecção de manchas de sangue em todos os materiais estudados (MDF, cerâmica, tecido de algodão e carpete), inclusive após a lavagem dos substratos com água, sabão em pó e escova, passados 30 dias da aplicação. O reagente mostra sua versatilidade nos materiais testados e principalmente passa sua confiabilidade ao perito no momento de seu julgamento e interpretação da cena de crime, auxiliando-o na elucidação da dinâmica ocorrida naquele local. Ademais, nos testes T1, T2 e T3, o Bluestar® se manteve ativo na identificação dos vestígios, não apresentando resultado negativo sobre os substratos. Não houve alteração da intensidade na quimiluminescência em função do tempo das amostras, apenas observou-se alteração na duração da mesma, variando de acordo com o tipo de substrato (Vieira *et. al.*, 2016).

Um dos principais métodos para a obtenção do Luminol é por meio da reação da hidrazina com o ácido 3-nitroftálico, mediante aquecimento com a posterior redução do grupamento nitro do 5-nitroftalhidrazina para a formação do produto (Vasconcelos & De Paula, 2018). Outro aspecto de extrema importância refere-se ao registro fotográfico da reação quimiluminescente do LUM, utilizando os mais modernos equipamentos fotográficos, desde processos analógicos até processos digitais, incluindo câmeras de smartphones (Vasconcelos & De Paula, 2018). No que tange a coleta das amostras analisadas, os autores Vasconcelos & De Paula (2018), indicam que o modelo de coleta a ser utilizado depende da natureza do substrato em que a mancha está localizada. Para objetos imutáveis, como piso, paredes e veículos o melhor procedimento consiste na utilização de cotonete (swab) ou outro material altamente absorvente. Em alguns casos, as manchas podem ser removidas da superfície por raspagem com um bisturi ou recorte de parte do material.

Finez & Chiarato (2019) ainda dizem que, biologicamente, o estudo do DNA, de forma íntegra, é um fator que contribui de forma ampla para a análise pericial, fato que se comprova pelos vestígios encontrados nas cenas de crimes, tais como cabelo, pele, saliva, entre outros. Fisicamente, o estudo da tensão superficial, o volume da gota, o tipo de choque entre as superfícies assim como sua viscosidade do sangue são alguns dos fatores que podem contribuir para a dinâmica do crime. Além disso, objetos que foram retirados do lugar, a possibilidade de o agressor estar ferido ou não, posições relativas entre agressor e vítima, impregnação de sangue da vítima no agressor, por exemplo, são características que podem ser elucidadas com conhecimentos básicos de Física. Quando lidamos com padrões de manchas de sangue, muitas são as variáveis a considerar. O volume de sangue derramado, a altura que este cai, o tipo de superfície que atinge e também o ângulo de impacto são alguns exemplos, conforme ilustrados nas figuras 4 a 7. Para cada volume de sangue variado, solto de uma altura fixa e perpendicular à superfície, tem-se um padrão distinto para cada espécie de superfície.

Figura 4 - Ângulo de Impacto



Fonte: Finez & Chiarato (2019).

Figura 5 - Diâmetro da Mancha no Mármore



Fonte: Finez & Chiarato (2019).

Figura 6 - Padrão da Mancha no Papelão



Fonte: Finez & Chiarato (2019).

Figura 7 - Padrão da Mancha no Tecido



Fonte: Finez & Chiarato (2019).

Em estudo realizado por Indalecio-Céspedes *et al.*, (2021), constatou-se que as luzes forenses se mostraram ineficazes para detectar a mancha de sangue em alguns casos, devido ao tipo e cor do suporte, à lavagem deliberada do mesmo ou porque foi ocultado com outros produtos, assim o uso do luminol é crucial e não interfere na análise subsequente de DNA por PCR. Foram detectados falsos positivos e negativos anteriores com luzes forenses, enquanto nenhum falso negativo foi obtido com luminol nos diferentes suportes utilizados (Indalecio-Céspedes *et al.*, 2021). Na cena de um crime, podem ser encontradas situações de fácil localização de sangue, pela quantidade de sangue ou contraste com o suporte, mas, pelo contrário, o sangue pode apresentar-se em quantidades insignificantes, em suportes da mesma cor ou que foram submetidos a limpeza. Nesses casos, o uso de técnicas de detecção de sangue é essencial para determinar sua presença, isolar o sinal ou mancha e proceder à individualização (Indalecio-Céspedes *et al.*, 2021).

Fragoso *et al.*, (2021), mostra que existem diversos produtos que podem afetar a reação de quimioluminescência (QL) do luminol (LUM), tais como detergentes, alvejantes, antioxidantes comuns em bebidas e alimentos como chá, vinho, cerveja, café, legumes e frutas, desinfetantes ou antissépticos contendo permanganato de potássio ou iodo. Observaram-se que o resultado do ensaio com luminol pode ser alterado por uma ampla gama de compostos que interferem em seu resultado e comumente podem ser encontrados no ambiente doméstico, tais como sais de ferro, cobre, iodo, permanganato de potássio, hemoglobina animal, peroxidases vegetais e íons de hipoclorito (água sanitária). Este último representa a principal causa de um resultado falso positivo, já que quando há depuração de uma mancha de sangue após a lavagem com solução de hipoclorito, este remove mais hemoglobina em comparação à água isolada.

É ressaltado também que à medida que a concentração de hemoglobina diminui, a emissão de luz pelo luminol é reduzida. No entanto, uma lavagem sucessiva com solução de hipoclorito promove o acúmulo desse íon, o que aumenta a intensidade da emissão de luz produzida pelo luminol. Em resumo, a hemoglobina é substituída pelo íon hipoclorito, levando a uma emissão de luz equivalente à emitida por uma mancha de sangue que foi lavada apenas com água (Fragoso *et al.*, 2021).

No que diz respeito a aplicação do luminol na detecção do sangue, o fator mais relevante identificado nas pesquisas refere-se à natureza dos substratos. Os materiais absorventes englobam substratos com superfícies porosas, como madeira, paredes e telhas que, devido a sulcos ou fissuras na superfície, são capazes de manter o sangue durante muito tempo, mesmo após lavagens. Podem ser incluídos também substratos com maior capacidade de absorção tais como carpetes, roupas em couro, roupas em tecido e cobertores. Dentre os substratos não absorventes tem-se vinil, azulejo, vidro e metal, os quais apresentam dificuldades tanto na aplicação do reagente quanto na qualidade da quimioluminescência (Vasconcelos & De Paula, 2017).

No que diz respeito à aplicação do luminol na detecção do sangue, o fator mais relevante identificado de estudos, refere-se à natureza dos substratos. Os materiais absorventes abrangem substratos com superfícies porosas ou fissuras na superfície e que mesmo após lavagens, são capazes preservar o sangue durante algum tempo. Alguns substratos que têm maior capacidade de absorção são: carpetes, roupas em couro, roupas em tecido e cobertores. O vinil, azulejo, vidro e metal, os substratos não absorvem e apresentam dificuldades tanto na aplicação do reagente quanto na qualidade da quimioluminescência (Vasconcelos & De Paula, 2017).

Por conseguinte, mais estudos com aplicabilidade forense se fazem necessários para identificação e formulação de novos protocolos de exames forenses que venham a auxiliar na elucidação de fatos acerca de um crime e no melhor aproveitamento da obtenção dos resultados da investigação (Silva *et al.*, 2021). Estudos apontam que é necessário avançar no desenvolvimento de novos marcadores forenses para revelação digital com sangue e impressões digitais em cena de crime (de Araújo *et al.*, 2022; Guerreiro & Sampaio, 2019).

4. Considerações Finais

A identificação de vestígios de sangue por métodos quimioluminescentes, tornou-se um elemento crucial na dinâmica de uma cena de crime. Através de uma mancha sanguínea, pode-se delimitar diversos fatores que embasaram a elucidação dos fatos ali ocorridos. Os métodos de detecção de manchas de sangue em cenas de crime são os mais diversos, sendo um mais eficiente que o outro. Por exemplo, o Luminol é um dos testes mais eficazes para detectar manchas de sangue frescas e latentes sem interferência de contaminação, entretanto, apresenta inúmeras desvantagens, incluindo tempo de resposta rápido, ambiente escuro, interferência de fundo, toxicidade e entre outros.

Por fim, como sugestão de trabalhos futuros mais explorações são necessárias em relação às técnicas quimioluminescentes, o desenvolvimento de materiais com propriedades luminescentes aprimoradas e kits forenses para auxiliar na identificação de vestígios de sangue. Além disso, deve-se garantir a padronização de métodos, materiais e etapas do uso sequencial dos reagentes, visando melhorar a qualidade das investigações, segurança e saúde dos peritos forenses.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq e a FAPESPA (Termo de Outorga n. 008/2021 e Termo de Outorga n. 046/2021), pelo aporte financeiro.

Referências

Andersson, R. (2017). *An Evaluation of Two Presumptive Blood Tests and Three Methods to Visualise Blood*. Linköping University.

- Alves, L. Q. & Boaventura, R. C. (2021). A importância das manchas de sangue em local de crime: aspectos periciais. *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação*, 7(8), 1-19.
- de Araújo, R. S., de Souza, G. A. B., Vieira, D. A., Fernandes, C. S., & Ferreira, F. C. L. (2022). Marcadores forenses para revelação de digital com sangue: uma breve revisão. *Research, Society and Development*, 11(11), e38111133371-e38111133371.
- Barni, F., Lewis, S. W., Berti, A., Miskelly, G. M., & Lago, G. (2007). Forensic application of the luminol reaction as a presumptive test for latent blood detection. *Talanta*, 72(3), 896-913.
- Bossers, L. C. A. M., Roux, C., Bell, M. & McDonagh, A. M. (2011). Methods for the enhancement of fingerprints in blood. *Forensic Science International*, 210, 1-11.
- Botteon, V. W. (2018). Interpretação do padrão das manchas de sangue em um caso de homicídio em local inidôneo. *Brazilian Journal of Forensic Sciences, Medical Law and Bioethics* 7(3), 162-171.
- Bravo, J. A., Valdivieso, F., Quiróz, N. & Vila, J. L. (2018). Luminescent compounds: gingerol, quinine, sulphate and fluorescein, a short review. *Revista Boliviana de Química* 25(4), 108-116.
- Brenzini, V. & Pathak, R. (2018). Estudo comparativo da detecção de manchas de sangue em superfícies pintadas e limpas com luminol. *Ciências Forenses Internacional*, 289, 75-82.
- Cavalcanti, D. R. & Barros, R. M. (2016). Escondendo manchas de sangue em locais de crime: análise da ação antioxidante dos chás verde e preto sobre o luminol. *Brazilian Journal of Forensic Sciences, Medical Law and Bioethics*, 6(1), 47-60.
- da Costa Tourinho, A., Ferreira, F. C. L., dos Santos, F., da Silva, A. C., & Fernandes, C. S. (2022). Ensino por investigação e Ciências Forenses: possibilidades para a alfabetização científica. *Research, Society and Development*, 11(2), e36111225775-e36111225775.
- Dilbeck, L. (2006). Use of bluestar forensic in lieu of luminol at crime scenes. *Journal of Forensic Identification*, 56(5), 706-729.
- Dorea, L. E. C., Stumvoll, V. P. & Quintela, V. (2005). *Tratado de Perícias Criminalística* Campinas, SP: Millennium Editora.
- Fragoso, L. V., Neto, A. G. V. C., Pelegrina, J. O. & Rissato, S. R. (2021). Luminol: Possíveis interferentes no estudo do sangue humano. *Brazilian Journal of Forensic Sciences*, 10, 111-129.
- Farias, J. S. Soares, E. M. C., Silva, A. M. F. S., Correia, D. V. & Figuerêdo, A. M. T. A. (2022). Aplicação da química no âmbito judiciário. *Brazilian Journal of Development*, 8(4), 31017-31027.
- Finez, M. A. & Chiarato, C. G. (2019). Análise dos padrões de manchas de sangue: a física e a biologia nas cenas de crimes. *Danville Revista Científica da Faculdade Gran Tiete*, 82-90.
- Finnis, J., Lewis, J. & Davidson, A. (2013). Comparison of methods for visualizing blood on dark surfaces. *Science & Justice*, 53(2), 178-186.
- Guerreiro, I. L. & Sampaio, G. C. (2019). Papiloscopia forense e revelação de impressões digitais na cena de um crime: uma ferramenta para o ensino de Química com enfoque CTS. *Research, Society and Development*, 8(9), 01-16.
- Hayashi, S., Kakizaki, E., Sonoda, A., Shinkawa, N., Shiragami, T. & Yukawa, N. (2019). Efeito da aceleração da reação do luminol forense induzida por irradiação de luz visível de soluções aquosas de sangue humano total. *Ciências Forenses Internacional*, 299: 208-214.
- Hara, M., Nakanishi, H., Yoneyama, K., Saito, K. & Takada, A. (2016). Effects of storage conditions on forensic examinations of blood samples and bloodstains stored for 20 years. *Legal Medicine*, 18, 81-84.
- Hidayah, N., Abu Bakar, F., Mahyudin, N. A., Faridah, S., Nur-Azura, M. S. & Zaman, M. Z. (2013). Detection of malachite green and leuco-malachite green in fishery industry. *International Food Research Journal*, 20(4), 1511-1519.
- Howard, D., Chaseling, J. & Wright, K. (2019). Detection of blood on clothing laundered with sodium percarbonate. *Forensic Science International*, 302, 109885.
- Indalecio-Céspedes, C. R., Hernández-Romero, D., Legaz, I., Rodríguez, M. F. S. & Osuna, E. (2021). Occult bloodstains detection in crime scene analysis. *Journal of Forensic Chemistry*, 26, 100368
- Longo, P., Dias Filho, C. R., Valadares, M. P. O., Alonso, E. C., Gonçalves, S. P. S. & Auler-Bittencourt. (2011). Avaliação Comparativa de Teste Imunocromatográfico para Identificação Forense de Sangue Humano. *Revista Brasileira Criminalística*, 1(1), 16-21.
- Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., Altman, D. G., & Prisma Group. (2009). Reprint—preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Physical therapy*, 89(9), 873-880.
- Nogueira, T. M. B. (2013). *Análise de padrões de manchas de sangue – a importância médico-legal*. Dissertação de Mestrado em Medicina Legal, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto.
- Nagesh, D. & Ghosh, S. (2017). Um estudo temporal sobre a eficiência do luminol na detecção de manchas de sangue ocultas por tinta em diferentes superfícies. *Ciências Forenses Internacional*, 275: 1-7.

Morgan, R. M., Oldfield, C., French, J. & Miles, H. (2018). The efficacy of luminol in detecting bloodstains that have been washed with sodium percarbonate and exposed to environmental conditions. *Australian Journal of Forensic Sciences*, 50(4), 345-354

Rangel, D. R. (2015). Amido-black en el revelado de huellas dactilares ensangrentadas. *Revista Skopein - Criminalística y Ciencias Forenses*, 10, 6-14.

Silva, A. V., Rêgo, B. R. M., Bezerra, M. F. S., Resque, R. L. & Gomes, M. R. F. (2021). Detecção e análise de sangue humano em cena de crimes sexuais simulados, *Brazilian Journal of Development*. 7(2), 20368-20385.

Vasconcellos, F. A. & De Paula, W. X. (2017). Aplicação forense do luminol – uma revisão. *Revista Criminalística e Medicina Legal*, 1(2), 28-36.

Vieira, C. S. M., Anghe, C. G., Delwing, F., Fernandes, M. M., Tinoco, R. R. & Baldasso, R. P. (2016). Comportamento do reagente Bluestar m manchas de sangue frente a diferentes tempos, superfícies e lavagens. *Brazilian Journal of Forensic Sciences*, 5, 402-409.