

# CAPÍTULO



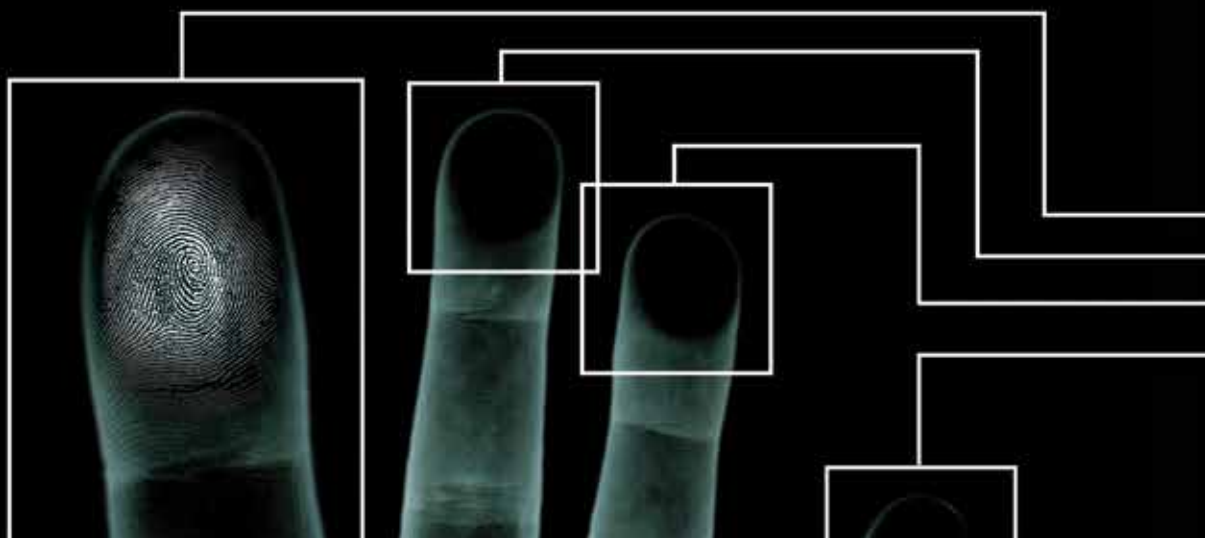
## DESARROLLO DE LA IMPRESIÓN LATENTE

BRIAN YAMASHITA Y  
MIKE FRENCH

AUTORES COLABORADORES:  
STEPHEN BLEAY, ANTONIO CANTU,  
VICI INLOW, ROBERT RAMOTOWSKI,  
VAUGHN SEARS Y MELISSA WAKEFIELD

# CONTENIDO

3	7.1 Introducción	31	7.10 Examinación de Fluorescencia
6	7.2 La Composición del Residuo de la Impresión Latente	36	7.11 Depósito de Metal al Vacío
12	7.3 Polvos de Impresión Latente	40	7.12 Técnicas de Mejoramiento de la Sangre
15	7.4 Ninhidrina y Análogos	46	7.13 Técnicas Acuosas
20	7.5 1,8-Diazafluoreno-9-uno (DFO)	57	7.14 Formulaciones para Soluciones Químicas
22	7.6 1,2-Indanediona	59	7.15 Revisores
23	7.7 5-Metiltioninhidrina (5-MTN)	60	7.16 Referencias
24	7.8 Modificaciones para el uso en Papeles Tratados Químicamente	71	7.17 Información Adicional
25	7.9 Extracción de Cianoacrilato		





## CAPÍTULO 7

# DESARROLLO DE LA IMPRESIÓN LATENTE

BRIAN YAMASHITA Y  
MIKE FRENCH

AUTORES COLABORADORES:  
STEPHEN BLEAY, ANTONIO CANTU,  
VICI INLOW, ROBERT RAMOTOWSKI,  
VAUGHN SEARS Y MELISSA WAKEFIELD

## 7.1 Introducción

El revelado de la huella dactilar latente puede lograrse con una amplia gama de procesos ópticos, físicos y químicos, la mayor parte evolucionados durante el siglo pasado. Debido a que algunas técnicas están a menudo íntimamente relacionadas y en continuo cambio, es imperativo que los involucrados en el laboratorio y el procesamiento del lugar de los hechos estén bien capacitados y hayan practicado bien (Trozzi et al, 2000, pág. 4-9; Kent, 1998).

Para los que participan en el lugar de los hechos y en el trabajo de laboratorio, la seguridad es primordial. Es importante seguir las prácticas de trabajo seguras al utilizar los procedimientos descritos en este capítulo. Esto se puede lograr mediante la observación de las advertencias del fabricante, la lectura de las hojas de datos de seguridad de materiales y la observación de las propias políticas institucionales de manejo de pruebas y desarrollo de huellas dactilares. También es importante para los que trabajan con materiales o equipos potencialmente peligrosos llevar el equipo de protección personal adecuado, como guantes, batas de laboratorio, gafas protectoras y respiradores; utilizar controles de ingeniería, tales como campanas de extracción; y practicar los procedimientos adecuados de laboratorio para reducir la exposición a agentes patógenos o sustancias químicas nocivas (Masters, 2002).

### 7.1.1 Tipos de Impresiones

Las huellas dactilares encontradas en el lugar de los hechos o reveladas en el laboratorio se clasifican por parte de algunos examinadores como visibles, latentes o impresiones negativas (Lee y Gaennslen, 2001, pág. 106), aunque los tres tipos se asocian habitualmente con el término *impresión latente*.

Una impresión visible es simplemente una impresión patente. Muchos de estos tipos de impresiones son totalmente perceptibles a simple vista y sólo se necesita algún

tipo de formación de imágenes para su conservación. Un buen ejemplo de una impresión visible sería una impresión grasienta en un cristal. Las impresiones visibles también pueden dejarse en sangre, pintura, tinta, barro o polvo. La iluminación es una consideración muy importante en la búsqueda de este tipo de huellas dactilares; una buena lámpara de mano o una fuente de luz forense son especialmente útiles en la búsqueda de impresiones visibles.

La palabra *latente* significa oculto o invisible. Las huellas latentes son indetectables hasta que se descubren con un proceso físico o químico diseñado para mejorar el residuo de la impresión latente. Muchos de estos procesos y técnicas se discuten en el resto de este capítulo.

Una impresión negativa se crea cuando el sustrato es lo suficientemente flexible en el momento de contacto para registrar los aspectos tridimensionales de la piel de fricción. Estas impresiones se forman cuando las crestas de fricción planteadas son empujadas físicamente en el sustrato, creando un molde de la estructura de las crestas de fricción en la piel. La arcilla, masilla, cera blanda, plástico derretido, grasa pesada y pintura pegajosa son todos sustratos conductivos a la formación y retención de impresiones negativas. Las impresiones negativas están generalmente fotografiadas bajo una iluminación oblicua que mejora el contraste de las crestas y surcos. Estas impresiones también se pueden conservar con materiales de fundición de tipo silicón.

## 7.1.2 Factores de Depósito

Los factores de depósito que influyen en la calidad, o incluso la presencia, de huellas latentes son las condiciones que rodean el contacto entre la piel de fricción y los objetos que se tocan. Estas condiciones se describen de la siguiente manera:

Las condiciones de *pre-transferencia* incluyen la condición o la salud de la piel de fricción del donante y la cantidad y tipo de residuos en la piel (Olsen, 1978, pág. 118-120). Estas condiciones se ven afectadas por la edad, el género, los estímulos, la ocupación, la enfermedad y las sustancias que el sujeto puede haber tocado antes del depósito.

Las condiciones de *transferencia* también dictan si se dejará una impresión adecuada (Olsen, 1978, pág. 117-122). Estas son las condiciones de la superficie (sustrato) que ha sido tocada, incluyendo la textura, el área de superficie,

curvatura de la superficie o forma, temperatura de la superficie, la condensación, los contaminantes y residuos en la superficie. La presión aplicada durante el contacto (presión de deposición), incluyendo la fuerza lateral, contribuye también a transferir condiciones.

Las condiciones de *post-transferencia*, también llamados factores ambientales, son las fuerzas que afectan la calidad de las impresiones latentes después del depósito (Olsen, 1978, pág. 121-122). Ejemplos de estos factores son el contacto físico de otra superficie, el agua, la humedad y la temperatura.

## 7.1.3 Tipos de Superficie

Identificar correctamente el tipo de superficie que se espera lleve una huella dactilar es un paso importante hacia un revelado exitoso. Las superficies están generalmente separadas en dos clases: porosas y no porosas. Se requiere esta separación para seleccionar la técnica adecuada o el reactivo y el orden secuencial adecuado para su procesamiento.

Los sustratos porosos son generalmente absorbentes e incluyen materiales como el papel, cartón, madera y otras formas de celulosa. Las huellas dactilares depositadas sobre estos medios se absorben en el sustrato y son algo duraderas. Las técnicas de aminoácidos son especialmente útiles aquí porque los aminoácidos tienden a permanecer estacionarios cuando se absorben y no migran (Almog, 2001, pág. 178).

Las superficies no porosas no absorben. Estas superficies repelen la humedad y con frecuencia aparecen pulidas. Estas incluyen vidrio, metal, plástico, madera lacada o pintada y caucho. Las impresiones latentes sobre estos sustratos son más susceptibles al daño debido a que el residuo de la huella dactilar permanece en la superficie más externa. El cianoacrilato (CA), las manchas de tinte, polvos y el depósito al vacío de metal suelen ser las mejores opciones para utilizarse en estas superficies.

Un tipo de sustrato que no encaja fácilmente en las dos primeras categorías, pero debe ser mencionado, es considerado semiporoso. Las superficies semiporosas se caracterizan por su naturaleza para resistir y absorber residuos de huellas dactilares. El residuo de huellas dactilares sobre estas superficies puede o no absorberse a causa de las propiedades absorbentes del sustrato y las propiedades viscosas variables del residuo de huellas dactilares. Estas



superficies incluyen el cartón satinado, portadas de revistas satinadas, algunas maderas con acabados y algunos celofanes. Las superficies semiporosas se deben tratar con procesos destinados a ambas superficies no porosas y porosas.

Los sustratos texturizados pueden ser porosos o no porosos y presentar el problema de contacto incompleto entre las crestas de fricción en la piel y la superficie a tocarse. (Un ejemplo podría ser el plástico en forma de piedras de algunos monitores de computadora.) Esto a menudo resulta en huellas dactilares discontinuas y carentes de detalle fino cuando se revelan. Además, estas superficies a menudo no responden bien a un cepillo convencional y al polvo. La acción de cepillado y la elevación de la cinta revelan típicamente la textura del sustrato, dejando huellas dactilares difíciles o imposibles de visualizar.

Diversas técnicas, tales como el uso de polvo muy fino o medios de elevación flexibles, se pueden utilizar para reducir los problemas causados por superficies texturizadas (Guerrero, 1992; Kelly et al., 2001, pág. 7-12; Knaap y ADACH, 2002, pág. 561-571).

### 7.1.4 Selección del Proceso

Los reactivos de huellas dactilares y las técnicas de revelado están generalmente destinados a ser utilizados en combinación y orden secuencial. Estos métodos son a menudo específicos a sustratos porosos o no porosos; sin embargo, algunas técnicas tienen aplicaciones universales. La desviación del orden recomendado podría hacer los procesos posteriores ineficaces. Consulte Trozzi et al. (2000), Kent (1998) y Champod et al. (2004, pág. 217-225) para ejemplos de directrices para la ordenación secuencial y a Champod et al. (2004, pág. 105-179) para una revisión reciente que incluye muchas técnicas de revelado de huellas dactilares. Los siguientes procedimientos generales son apropiados durante una búsqueda sistemática de pruebas de huellas dactilares latentes:

- Inspección visual con una luz brillante, una fuente de luz forense o láser
- El proceso de impresión latente secuencial
- Documentación de las impresiones reveladas en cada paso

Es importante tener en cuenta que no todos los procesos se utilizan invariablemente. Alguna discreción permanecerá

con los distintos organismos y profesionales, tanto en la escena del crimen como en el laboratorio. Los siguientes factores pueden influir en la elección de las técnicas de revelado, así como el nivel de los recursos utilizados en cualquier situación:

- Tipo de residuo de la huella latente sospechosa
- Tipo de sustrato
- Textura del sustrato
- Estado de sustrato (limpio, sucio, viscoso, pegajoso, grasoso, etc.)
- Las condiciones ambientales durante y después del depósito de la impresión latente
- Lapso de tiempo desde que la evidencia fue tocada
- Consecuencias de los métodos de procesamiento destructivos
- Exámenes forenses posteriores
- Ordenamiento secuencial de reactivos
- Gravedad del delito

### 7.1.5 Manejo de Evidencia

El manejo adecuado de evidencia comienza con el uso de látex, nitrilo, PVC u otros guantes adecuados. Algunos fabricantes de guantes o distribuidores de suministros de seguridad, mencionarán una lista de guantes recomendados para su uso con diversos productos químicos. El uso de guantes protege la evidencia de la contaminación y al usuario de la exposición a agentes patógenos o sustancias químicas peligrosas. Sin embargo, no garantiza que las huellas latentes serán preservadas porque incluso una mano enguantada puede destruir las huellas latentes frágiles en contacto. Esto es especialmente cierto en superficies no porosas donde la huella latente reside en la superficie extrema de las pruebas. Para evitar daños en las huellas dactilares en estas superficies, la evidencia debe ser manejada en zonas que normalmente no han sido expuestas al tacto o en superficies incapaces de producir huellas viables. También hay que señalar que el uso de guantes no impide la transferencia de detalles de la cresta de fricción del examinador a la exposición (Willinski, 1980, pág. 682-685; St-Amand, 1994, pág. 11-13; Hall, 1991, pág. 415-416).

### 7.1.6 Embalaje

El embalaje ayuda a garantizar la integridad de las pruebas manteniendo los contaminantes lejos, manteniendo evidencia de pistas intacta y ayudando a garantizar la cadena de custodia. Las cajas de cartón, bolsas de papel y bolsas de plástico son las formas más comunes de embalaje de pruebas. La mayoría de expertos recomiendan los envases de papel, ya que es transpirable y rentable, a pesar de las bolsas de plástico son también ampliamente utilizadas. Cualquier artículo que ha sido mojado se debe permitir que antes del envasado sea secado al aire, porque el exceso de humedad atrapado en cualquier paquete aumentará la probabilidad de crecimiento de hongos destructivos. La humedad también puede ser atrapada en bolsas de plástico cuando se reúnen pruebas en ambientes de alta humedad.

A los artículos de pruebas no porosas no se les debe permitir que se froten juntos. Las pruebas no porosas deben ser almacenadas por separado, aseguradas dentro de un paquete de tamaño adecuado de manera que se impida el desplazamiento y frotamiento. Bajo ninguna circunstancia se debe utilizar rellenos tales como papel picado, virutas de madera o cacahuetes de embalaje dentro del paquete con la evidencia, ya que pueden limpiar fácilmente las huellas frágiles. (Sin embargo, pueden ser utilizadas fuera del contenedor de prueba, dentro del contenedor de correo.) La evidencia porosa se puede asegurarse en cajas, bolsas y sobres, y se puede almacenar junta porque las huellas latentes no son susceptibles a borrarse al contacto. Una vez que la evidencia está asegurada, el paquete se debe sellar con cinta de evidencia de manera que no haya puntos de entrada. La cinta debe ser firmada por la persona que asegura la evidencia y la información de identificación apropiada debe ser colocada en el paquete según lo especificado por la dependencia responsable de la recolección.

El resto de este capítulo pretende describir, con cierto detalle, la naturaleza de los residuos de impresión latente y las técnicas de revelado de huellas dactilares más utilizadas. Las técnicas experimentales y novedosas no han sido incluidas, ni los procesos considerados por los autores son redundantes, poco prácticos o excesivamente peligrosos. Sin embargo, la omisión de la referencia a una técnica particular no indica su falta de idoneidad como una técnica de desarrollo de huellas dactilares. Varias formulaciones para diversas soluciones químicas se han recolectado en la Sección 7.14.

## 7.2 La Composición del Residuo de Impresión Latente

### 7.2.1 Introducción

La composición del sudor que es depositado cuando la cresta de fricción en la piel hace contacto con una superficie es una mezcla compleja (Ramotowski, 2001, pág. 63-104; Bramble y Brennan, 2000, pág. 862-869). Estudios recientes han identificado cientos de compuestos presentes en el sudor humano (Bernier et al., 1999, pág. 1-7; Bernier et al., 2000, pág. 746-756). Un número considerable de estudios en la naturaleza del sudor se han llevado a cabo por parte de las comunidades de dermatología y de ciencia forense. En particular, un número de estudios han investigado cómo la composición química de estos residuos cambia con el tiempo, lo cual es un problema crítico para el examinador de huella dactilar. Aunque el conocimiento de la composición del sudor producido en las diferentes glándulas a lo largo del cuerpo es de interés y provee una base para propósitos de comparación, esta información no representa exactamente lo que está sucediendo realmente en la impresión depositada en el lugar de los hechos. Los estudios han mostrado que empiezan a ocurrir cambios significativos en la impresión latente casi inmediatamente después del depósito. Si la impresión latente llegara ser visualizada exitosamente, se necesita un entendimiento exhaustivo de estos cambios.

Esta sección comenzará con un muy breve vistazo de la anatomía de la piel, lo cual será necesario para obtener un mejor entendimiento de cómo los compuestos químicos en una impresión latente se secretan sobre la superficie de la cresta de fricción de la piel. Después, habrá una mirada detallada a la composición química de las secreciones de cada una de las glándulas responsables de contribuir al residuo de la impresión latente. Otra sección cubrirá cómo la composición de algunas de estas secreciones cambia a medida que el donante envejece. Finalmente, se resumirán estudios recientes que han investigado cómo el residuo de la impresión latente cambia con el tiempo.

### 7.2.2 Anatomía de la Piel

Este tema se cubre con más detalle en otra sección en este libro de referencia, por lo que el tratamiento aquí será muy breve. Los lectores serán dirigidos con Ramotowski (2001, pág. 63-104) para más detalles.



La piel es el órgano más grande del cuerpo humano (Odland, 1991). El área total de la piel en el cuerpo excede los 2 m<sup>2</sup>; aun así, en la mayoría de partes del cuerpo, el grosor no es de más de 2mm. La piel hace muchas funciones, incluyendo la regulación de la temperatura corporal, retención de humedad, protección contra organismos invasores (por ejemplo, virus, bacterias) y sensación. Se compone de dos capas primarias y distintas, epidermis y dermis.

La epidermis se compone de muchas capas distintas (Ramatowski, 2001, pág. 63-104; Odland, 1991). La capa situada justo por debajo de la dermis es el estrato germinativo (capa celular basal) y la capa superior es el estrato córneo (capa cornificada). Es este estrato, la eleidina se convierte en queratina, la cual es continuamente desplazada hacia la superficie de la epidermis, resultando en una necesidad constante de reponer la queratina que se ha perdido. Una célula que comienza en el estrato germinativo viaja típicamente a través del estrato corneo en aproximadamente 28 días.

La dermis se compone de una variedad de tejidos conectivos diferentes, incluyendo colágeno, fibras de elastina y un gel inter fibrilar compuesto de glucosamina-proteoglicanos, sales y agua (Odland, 1991). Esta capa también contiene las dos mayores glándulas sudoríparas y sebáceas

### 7.2.3 La producción de Sudor

Tres glándulas primarias contribuyen a la producción del sudor. Estas son las glándulas sudoríparas (ecrinas y apocrinas) y las glándulas sebáceas. Cada glándula contribuye a una única mezcla de compuestos químicos. Estos compuestos exudan desde los poros hacia las crestas de fricción o son transferidos a las crestas de fricción a través del tocamiento de un área (por ejemplo, la frente, el antebrazo, etc.).

La glándula ecrina es una de los dos tipos de glándulas sudoríparas presentes en el cuerpo. Algunos millones de estas glándulas están distribuidas a lo largo del cuerpo, más comúnmente en las palmas de las manos y en las plantas de los pies y algunas menos en el cuello y espalda (Anderson et al., 1998, pág. 1561). Estas glándulas producen una secreción que es mayormente agua pero contiene muchos compuestos en cantidades detectables (Brusilow y Gordes, 1968, pág. 513-517; Mitchell y Hamilton, 1949, pág. 360; Sato, 1979, pág. 52-131; Bayford, 1976, pág. 42-43; Olsen, 1972, pág. 4). La cantidad promedio de secreciones producidas durante un periodo típico de 24 horas varía entre los 700 y 900 gramos. El pH del sudor

ha reportado variaciones desde 7.2 (extraído directamente desde la glándula) hasta 5.0 (recuperado desde la superficie de la piel a un ritmo de sudor bajo), hasta entre 6.5 y 7.0 (recuperado desde la superficie de la piel a un ritmo de sudor alto) (Kaiser y Drack, 1974, pág. 261-265).

La glándula ecrina también secreta compuestos orgánicos. Los aminoácidos son de primaria importancia para el revelado del detalle de la cresta de impresión latente. La tabla 7-1 resume los valores promedio de abundancia de los aminoácidos listados (Hadorn et al., 1967, pág. 416-417; Hamilton, 1965, pág. 284-285; Gold y Skewes, 1965, pág. 1042-1045). La cerina es el aminoácido más abundante y por lo tanto todos los otros valores se normalizan al valor de 100 para este compuesto. Las proteínas también se encuentran en el sudor ecrino (Nakayashiki, 1990, pág. 25-31; Uyttendaele et al., 1977, pág. 261-266). Un estudio encontró presentes más de 400 componentes de polipéptido diferentes (Marshall, 1984, pág. 506-509).

Los lípidos también han sido detectados en el sudor ecrino. Hay un poco de dificultad en determinar exactamente las

**Tabla 7-1**

**Abundancia relativa de aminoácidos en el sudor.**

Amino Acid	Average Abundance
Cerina	100
Glycine	60
Ornitina-Lisina	45
Ornithine	41
Alanina	30
Aspartic acid	18
Treonina	15
Histidine	15
Valina	10
Leucine	9
Ácido glutámico	8
Isoleucine	7
Fenilalanina	6
Lysine	7.5
Tirosina	5

cantidades de estos compuestos presentes en las secreciones ecrinas porque el sudor generalmente se mezcla con compuestos sebáceos en la superficie de la piel. Sin embargo, un estudio reportó cantidades detectables tanto de ácidos grasos como de compuestos de esterol (Boysen et al., 1984, pág. 1302-1307).

Otros compuestos variados, incluyendo fármacos, han sido encontrados en las secreciones ecrinas (Sato, 1979, pág. 52-131; Lobitz y Mason, 1948, pág. 908; Förström et al., 1975, pág. 156-157). Un estudio reportó la presencia de sulfonamidas, antipirina y aminopirina (Johnson y Maibach, 1971, pág. 182-188). Otro informó que se habían detectado L-dimetilamfetamina y su metabolito L metanfetamina (Vree et al., 1972, pág. 311-317). El etanol también se ha detectado en el sudor ecrino (Naitoh et al., 2000, pág. 2797-2801), lo que ha llevado a la sugerencia de utilizar el sudor como un medio para determinar de forma no invasiva la concentración de etanol en el suero de una persona (Hawthorne y Wojcik, 2006, pág. 65-71). El acetaminofén también ha sido reportado en el sudor de una persona un día después de tomar el medicamento (Mong et al., 1999).

La otra glándula sudorípara presente en la piel es la glándula apocrina. Estas glándulas sudoríparas están asociadas con el pelo grueso de las axilas y la zona púbica. Estas son más grandes que las glándulas ecrinas y secretan un fluido más espeso (Anderson et al., 1998, pág. 1561). El conducto de la glándula normalmente desemboca en un folículo piloso (arriba en donde estaría un conducto de la glándula sebácea) antes de que las secreciones alcancen la superficie de la piel (Robertshaw, 1991). Debido a que el contenido de la glándula apocrina a menudo se mezcla con las secreciones sebáceas antes de llegar a la superficie de la piel, es difícil obtener secreciones apocrinas no contaminadas, "puras" para su análisis. Uno de los pocos estudios publicados de las secreciones apocrinas las describió con un aspecto lechoso y declaró que se secaban como un sólido parecido al plástico, que es fluorescente y tiene un olor (Shelley, 1951, pág. 255). Los compuestos que habrían sido aislados a partir de las secreciones apocrinas incluyen proteínas, hidratos de carbono, colesterol, hierro (Knowles, 1978, pág. 713-721), C<sub>19</sub> sulfatos de esteroides y Δ16-esteroides (Toth y Faredin, 1985, pág. 21-28; Labows et al., 1979, pág. 249-258).

Las glándulas sebáceas son órganos relativamente pequeños en forma de saco y se pueden encontrar en la capa de la dermis de la piel. Se encuentran en todo el cuerpo y se asocian con el pelo del cuerpo. Son especialmente

abundantes en el cuero cabelludo, la cara, el ano, la nariz, la boca y las partes externas de la oreja (Anderson et al., 1998, pág. 1,464). No se encuentran en las palmas de las manos o las plantas de los pies. Las secreciones de las glándulas sebáceas normalmente desembocan en un folículo de cabello antes de llegar a la superficie de la piel, aunque en algunas regiones llegan a la superficie de la piel directamente (por ejemplo, los labios). El propósito de las secreciones sebáceas parece ser la de ayudar a prevenir la evaporación del sudor (y así retener el calor corporal) y para lubricar el pelo y la piel circundante.

Los compuestos primarios presentes en las secreciones sebáceas son lípidos. La Tabla 7-2 enumera los valores de porcentaje aproximado para las diversas clases de lípidos presentes en las secreciones sebáceas, según lo informado por Goode y Morris (1983). Knowles (1978, pág. 713-721) informó intervalos de concentración similares.

Los ácidos grasos libres en el sebo se derivan principalmente de la hidrólisis de los triglicéridos y ésteres de cera. Alrededor de la mitad de los ácidos grasos son saturados, de cadena lineal con C16 y C14 siendo la más común (Green, 1984, pág. 114-117). Los ácidos grasos monoinsaturados comprenden aproximadamente el 48% de sebo y los ácidos poliinsaturados comprenden del 2-3% restante (Nicolaidis y Ansari, 1968, pág. 79-81). Los ácidos grasos de cadena ramificada también se reportaron (Green, 1984, pág. 114-117).

Los ésteres de cera comprenden aproximadamente el 20-25% de sebo. Estos compuestos contienen un ácido graso que ha sido esterificado con un alcohol graso. Un porcentaje significativo de estos compuestos (≈27%) se ha informado que contiene ácidos grasos de cadena ramificada (Nicolaidis et al., 1972, pág. 506-517). Los ésteres

**Tabla 7-2**

**Porcentaje aproximado de lípidos en secreciones sebáceas.**

Lípido	Porcentaje
Glicéridos	33
Ácidos grasos	30
Ésteres de cera	22
Ésteres de colesterol	2
Colesterol	2
Escualeno	10





de esterol se cree que se producen secundariamente por ciertas cepas de bacterias (Puhvel, 1975, pág. 397-400). El escualeno, que comprende aproximadamente 10% de sebo, es un precursor importante para la producción de esteroides en el cuerpo (incluyendo los alcoholes esteroides, lanosterol y colesterol).

## 7.2.4 Variación en la Composición del Sebo Según la Edad del Donador

La composición de ácidos grasos libres en el sebo cambia dramáticamente con la edad del donador (Ramasastry et al., 1970, pág. 139-144). El porcentaje aproximado de ácidos grasos en los recién nacidos (aproximadamente a los 5 días de edad) se ha informado que es sólo alrededor del 1.5% de la composición global de sebo. Este valor se eleva dramáticamente aproximadamente del 20 a 23% en niños de corta edad (de 1 mes a 4 años de edad). El valor se estabiliza del 16-19% para los sujetos adolescentes y postadolescentes (hasta aproximadamente los 45 años de edad).

Los triglicéridos también varían significativamente. Se encontró que los recién nacidos tienen triglicéridos que constituyen aproximadamente el 52% de su sebo. Este valor se redujo al 38% en lactantes (de 1 mes a 2 años de edad). Posteriormente, el valor alcanzó el 50% en los niños pequeños (de los 2-4 años de edad) y luego, poco a poco se redujo hasta el 41% en sujetos postadolescentes.

En los recién nacidos, el 26.7% de sebo se compone de ésteres de cera. Este valor comenzó a disminuir en los lactantes (17.6%) y continuó hasta llegar a un mínimo de 6.9% en sujetos de edades comprendidas entre los 4 y 8 años. Los valores a continuación comenzaron a aumentar en los preadolescentes (17.8%) y siguieron aumentando hasta alcanzar un máximo del 25% en postadolescentes (hasta los 45 años de edad).

El valor de colesterol en el sebo tiende a alcanzar su punto máximo en preadolescentes (7.2%). Se informó que los recién nacidos tienen 2.5% de colesterol en su sebo, mientras los postadolescentes tuvieron los valores más bajos, del 1.4%. La composición de éster de colesterol tiende a variar de un modo impredecible. Un valor del 6.1% se informó en los recién nacidos, el cual aumentó hasta el 10.3% para los lactantes (de 1 mes a 2 años de edad). Este valor se redujo hasta el 8.9% para los niños pequeños (de 2 a 4 años de edad) y luego aumentó al 14.6% en niños de edades de 4-8 años. Este valor se redujo drásticamente hasta el 5.7% en los niños preadolescentes y siguió

disminuyendo hasta el 2.1% en sujetos postadolescentes (hasta los 45 años de edad).

Aunque la composición de escualeno cambia con la edad del donante, el rango no es muy significativo. La concentración de escualeno comienza al 9.9% para los recién nacidos y alcanza un bajo 6.2% en niños de entre 2-4 años de edad. La concentración entonces comienza lentamente a aumentar en los niños de 4-8 años de edad (7.7%) y alcanza su máximo a un valor del 12% en los postadolescentes.

## 7.2.5 Residuo de la Impresión Latente

Una impresión latente es una mezcla de algunas o todas las secreciones de los tres tipos de glándulas. La cantidad de material contenida en un depósito de impresión latente es bastante pequeña, típicamente menos de 10  $\mu\text{g}$  y tiene un espesor medio de aproximadamente 0.1  $\mu\text{g}$  (Scruton et al., 1975, pág. 714-723). La secreción de la impresión latente es un complejo de emulsificación de estos numerosos y diversos compuestos. Cuando se deposita sobre una superficie, casi el 99% de la impresión se compone de agua. A medida que esta agua comienza a evaporarse rápidamente desde el depósito, la impresión comienza a secarse. Este proceso comienza a alterar la capacidad de ciertos reactivos para visualizar la impresión. El polvo de las huellas dactilares, por ejemplo, no funcionará tan bien en una impresión latente reseca, pero otros procesos, como la ninhidrina y el revelador físico, han revelado impresiones por varios años (McDiarmid, 1992, pág. 21-24).

El residuo de la impresión latente se divide generalmente en dos categorías básicas, solubles en agua e insolubles en agua. La porción soluble en agua del depósito de impresión normalmente se compone de secreciones ecrinas como sales (por ejemplo, NaCl) y aminoácidos (por ejemplo, serina, glicina). Los productos químicos como la ninhidrina (que reacciona con los aminoácidos) y el nitrato de plata (que reacciona con cloruro de sodio) son reactivos eficaces para la visualización de esta porción soluble en agua del residuo. Sin embargo, una huella latente rica en ecrinas que se expone al agua más probable a no recuperarse con estos métodos. Es por ello que, antes de la introducción del revelador físico en la década de 1970, no existía un método fiable para la recuperación de las impresiones de documentos empapados en agua.

La porción insoluble en agua realmente se puede dividir en dos subcategorías. Una fracción de este residuo está compuesto de moléculas grandes, insolubles en agua (por

ejemplo, proteínas) y la otra fracción se compone principalmente de lípidos no polares (por ejemplo, ácidos grasos). Se piensa que los reactivos como reveladores físicos reaccionan con compuestos similares a la primera fracción y los reactivos como Oil Red O o Rojo Nilo reaccionan con lípidos a partir de la segunda fracción.

## 7.2.6 Envejecimiento del Residuo de la Impresión Latente

Varios laboratorios han examinado el estudio de los cambios en la composición de los residuos de impresiones latentes y han determinado que la composición de los residuos de impresión latente puede cambiar drásticamente con el tiempo. El trabajo fundamental de esta área se llevó a cabo durante las décadas de 1960 y 1970 por parte de la Oficina Central de la Rama de Investigación científica y Desarrollo del Reino Unido y el Establecimiento de Investigación Central (Bowman et al., 2003, pág. 2-3). Estudios adicionales se han llevado a cabo por parte de algunos de los laboratorios de la Oficina Central de Servicios de Ciencias Forenses y varios Departamentos de Laboratorios Nacionales de Energía.

## 7.2.7 Oficina Central de la Rama de Desarrollo Científico (Reino Unido)

La Oficina Central del Reino Unido patrocinó un número de esfuerzos de investigación, los cuales se llevaron a cabo por parte de dos grupos: la Rama de Investigación Científica y Desarrollo (también conocida como la Rama de Desarrollo Científico de la Policía (PSDB) y actualmente conocida como la Rama de Desarrollo Científico) y Establecimiento de Investigación Central. Un número de estudios llevados a cabo a mediados y finales de la década de 1960 buscó determinar la cantidad de ciertos compuestos inorgánicos (cloruros) (Cuthbertson, 1969) así como lípidos (Wilson and Drake, 1978) en el residuo de la impresión latente. Estos estudios no abordan los cambios en la composición con el tiempo. Sin embargo, un estudio monitoreó el cambio en cloruros, aminoácidos (como la leucina) y la concentración de urea en un depósito en el transcurso de 236 días (Knowles, 1978, pág. 713-721). Después de 236 días, la concentración de cloruro había pasado de  $0.223 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  a  $0.217 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . El contenido de aminoácido había cambiado a partir de  $0.083 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  a  $0.046 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  y el contenido de urea a partir de  $0.083 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  a  $0.028 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ .

La PSDB patrocinó recientemente un poco de trabajo en esta área (Fitzgerald, 2003). Un proyecto se inició en

febrero de 2002 entre la Universidad de Lincoln y la PSDB para examinar el análisis de la espectroscopia de cromatografía de gases-masas (GC-MS) de la composición de los residuos de impresión latente y cómo cambia con el tiempo.

## 7.2.8 Oficina Central de Servicios de Ciencias Forenses (Reino Unido)

La Oficina Central de Servicios de Ciencias Forenses de Reino Unido (FSS) también ha estado activa en el área de la química de la impresión latente. La FSS llevó a cabo un estudio preliminar en conjunto con la Universidad de Lausanne en 1999 (Jacquat, 1999). Este estudio comparó el envejecimiento de las impresiones expuestas a la luz y la oscuridad en el período de 1 mes. Los seis picos más abundantes que se encuentran en el residuo fueron ácido oleico, ácido palmítico, colesterol, escualeno y dos ésteres de cera. Los datos se recogieron a partir de cuatro donantes en el momento del depósito ( $t = 0$ ), después de 2 semanas y finalmente después de 4 semanas. El ácido palmítico en una impresión mantenida en la oscuridad y el escualeno en una impresión mantenida a la luz mostraron una disminución significativa en las primeras 2 semanas y luego se estabilizaron. El colesterol y ácido oleico mostraron una disminución regular en impresiones almacenadas en la oscuridad. No se detectaron otras tendencias observables para los otros compuestos.

Un estudio reciente financiado por el Grupo de Trabajo de Apoyo Técnico (TSWG), un grupo de trabajo interinstitucional que financia proyectos relacionados con la lucha contra el terrorismo, observó los cambios en el contenido de lípidos de una impresión a través del tiempo y en diferentes condiciones ambientales (Jones et al., 2001a). El estudio de la FSS utiliza metil-N trimetilsililtrifluoroacetamida como un agente derivativo. Las muestras fueron analizadas en los intervalos seleccionados y almacenadas en cualquiera de las condiciones de luz o de oscuridad a  $25^\circ\text{C}$  y una humedad relativa del 20%. Se observaron varias tendencias generales. El escualeno se encontró degradándose bastante rápido y rara vez se detectó en impresiones más viejas. En algunos casos, ciertas concentraciones de ácidos grasos aumentaron inicialmente antes de que tendieran a disminuir con el tiempo. Esto pudo haber sido debido a la ruptura de los ésteres de cera, lo que pudo haber contribuido con ácidos grasos al residuo antes de que los compuestos comenzaran a romperse. Se observaron tendencias similares para



las muestras almacenadas en la oscuridad; sin embargo, las disminuciones fueron menos rápidas que para las muestras almacenadas en la luz. La FSS actualmente continúa investigando este tema con una beca de investigación emitida por el Consejo de Investigación de Ciencias Físicas e Ingeniería del Reino Unido.

Otro esfuerzo realizado por la FSS implicó el uso de sistemas de microfluidos para el análisis químico de los residuos de impresión latentes (Valussi, 2003). El objetivo de este trabajo fue desarrollar un dispositivo de microfluidos, basado en electroforesis capilar (CE), que permita el muestreo, preconcentración y el análisis de residuos de impresión latentes. El micro-TAS (sistema analítico total, TAS, por sus siglas en inglés) propuesto utiliza la tecnología del microchip para permitir separaciones ultrarrápidas y de alta eficacia. El análisis incluyó la colocación de una impresión directamente en un chip de CE revestido con gel. Un voltaje aplicado causó que los componentes polares del residuo migraran en el chip. Después de la preconcentración, el residuo se separó y después se analizó. El proyecto demostró que el método de chip CE es capaz de separar ciertos componentes del residuo de impresión latente; sin embargo, serán necesarios refinamientos adicionales para separar compuestos específicos (o grupos de compuestos de interés).

### 7.2.9 Laboratorio Nacional del Pacífico Noroeste

El Laboratorio Nacional del Pacífico Noroeste (Pacific Northwest National Laboratory (PNNL) realizó una serie de experimentos de envejecimiento para impresiones latentes depositadas sobre papel filtro de fibra de vidrio (Mong et al., 1999). Este esfuerzo financiado por el TSWG R&D se realizó durante los últimos años de la década de 1990. Los resultados obtenidos en los experimentos de envejecimiento salieron en general como se esperaba. La mayoría de los lípidos insaturados (por ejemplo, el escualeno y los ácidos grasos tales como los ácidos oleicos y palmitoleicos) disminuyeron significativamente durante el período de estudio de 30 días. Los compuestos saturados (por ejemplo, los ácidos palmítico y esteárico) se mantuvieron esencialmente estables durante el mismo período de 30 días. En general, a medida que la impresión de muestra envejeció, hubo una tendencia a formar más productos de bajo peso molecular de degradación (por ejemplo, ácidos octanoico y nonanoico) a través del tiempo. Se planteó la hipótesis de que estos compuestos de bajo peso molecular se descompondrían más adelante o se evaporarían.

### 7.2.10 Centro Técnico de Savannah River

El Centro Técnico de Savannah River (Savannah River Technical Center, SRTC), en un proyecto financiado conjuntamente por el Departamento de Energía y el TSWG, también estudió cómo los residuos de impresión latente cambian con el tiempo (Walter, 1999). Este estudio se centró en los cambios que se producen cuando los lípidos en la impresión comienzan a envejecer. El objetivo final fue determinar si alguno de los productos de degradación sería adecuado para la visualización mediante reactivos químicos. Un número limitado de condiciones (por ejemplo, la exposición a rayos UV, las condiciones de interior y al aire libre, la adición de un catalizador) también fueron evaluadas como parte de este estudio.

Se encontró que los productos de degradación principales para los lípidos estudiados por el SRTC son una clase de compuestos conocidos como hidroperóxidos. La mezcla estándar utilizada en este experimento consistió en una combinación de colesterol, triglicéridos, ácidos grasos, ésteres de cera, ésteres de colesterol y un catalizador, protoporfirina IX dimetil éster (aproximadamente el 0.01% de la mezcla total). A continuación, esta mezcla se expuso a las diversas condiciones ambientales. Al igual que con el estudio del PNNL, el SRTC encontró que los compuestos insaturados se agotaron rápidamente de las muestras, incluso los almacenados en condiciones oscuras relativamente frías. Un experimento que observó el envejecimiento del escualeno en un portaobjetos de vidrio encontró que después de 1 mes de exposición a condiciones de laboratorio ambiente, el 10% de la muestra se había convertido en hidroperóxidos. El SRTC iba a perseguir métodos de quimioluminiscencia para la visualización de estos hidroperóxidos. Sin embargo, debido a que los hidroperóxidos en sí son algo inestables, no se sabe cuánto tiempo estos compuestos permanecen en los residuos de impresión añejos y si los compuestos adicionales que se encuentran en impresiones reales podrían acelerar su descomposición.

### 7.2.11 Conclusión

La química de los residuos de impresión latente es muy compleja; sin embargo, sus características físicas y propiedades se deben a algo más que a los cientos (o potencialmente miles) de compuestos químicos que componen el residuo. Estos compuestos forman una matriz tridimensional compleja, una emulsión de agua y compuestos orgánicos e inorgánicos. La interacción de

todos estos diferentes compuestos, ya que están expuestos a una variedad de condiciones ambientales durante un período de tiempo, puede producir cambios dramáticos en las propiedades físicas de la impresión latente. Estos cambios pueden explicar por qué algunos reactivos, como polvos y humos de yodo, tienden a trabajar en las impresiones relativamente frescas, mientras que un reactivo como desarrollador físico es sabido que revela impresiones con décadas de antigüedad.

Es sólo mediante la obtención de una mejor comprensión de la composición química de los residuos de impresión latente y cómo cambia con el tiempo que podemos hacer mejoras en los reactivos existentes y nuevos compuestos de diseño para condiciones o superficies especiales. Estos datos también ayudarán a comprender mejor cómo los reactivos de revelado de la impresión latente funcionan realmente (así como a lo que en realidad reaccionan con en el residuo). Sólo entonces podremos desarrollar un enfoque metódico para el diseño de reactivos que producirá nuevas técnicas útiles en el futuro para la visualización de los residuos de huellas latentes.

## 7.3 Polvos de Impresión Latente

### 7.3.1 Antecedentes

La visualización de la impresión latente con polvo o “espolvoreo”, consiste en la aplicación de partículas finamente divididas que se adhieren físicamente a los componentes acuosos y oleosos en los residuos de impresión latente sobre superficies no porosas (Sodhi y Kaur, 2001, pág. 172-176). Esta técnica es uno de los métodos más antiguos y comunes de detección de huellas latentes, con una de las primeras referencias que datan de 1891 (Forgeot, 1891, pág. 387-404). Los primeros practicantes utilizaron una variedad de ingredientes disponibles localmente para hacer sus propios polvos, incluyendo carbón, polvo de plomo, ceniza de cigarro (Moenssens, 1971, pág. 106-107), polvo de “azul de lavado”, hierro en polvo, hollín (Rayo Polvo Inc., 2002, pág. 2-3) y talco (Olsen, 1978, pág. 212-214).

### 7.3.2 Teoría

Quitar el polvo de huellas dactilares es relativamente simple y se basa en la adherencia de polvo al residuo de la impresión latente para proporcionar una buena visibilidad y definición de los detalles de las huellas dactilares. El polvo de impresión latente tiene una afinidad por la humedad y

preferentemente se aferra al residuo depositado por las crestas de fricción en la piel. Es bien aceptado que la atracción mecánica entre estas partículas y la humedad y componentes oleosos en una impresión provoca la adhesión, siendo la absorción un factor (Olsen, 1978, pág. 212-214; Lee y Gaensslen, 2001, pág. 108-109). El tamaño, forma, área de superficie relativa (Olsen, 1978, pág. 212-214) y la carga (Menzel, 1999, pág. 143) de la partícula también parecen desempeñar papeles.

La mayoría de los polvos comerciales se basan en al menos dos elementos esenciales para proporcionar adhesión a los residuos de impresión latente sin “pintar” el sustrato. Estos elementos se denominan pigmento y aglutinante. El pigmento en polvo de huellas dactilares brinda visualización efectiva, ofreciendo contraste y definición contra la superficie de fondo. El aglutinante (también referido como el portador en algunas aplicaciones) ofrece la adhesión máxima y preferencial al residuo de impresión latente (Menzel, 1999, pág. 143). Algunos polvos de pigmentos ofrecen suficiente adherencia para ser utilizados de forma individual. La pintura del fondo se produce cuando una cantidad indeseable de polvo se adhiere al sustrato, así como a la huella latente, lo que dificulta la detección.

La visualización se producirá a través de la luz reflejada (polveros de luz), luz absorbida (polveros oscuros) y luminiscencia (polveros fluorescentes). A veces, los polvos se combinan para la eficacia en luz y sustratos oscuros. Este es el caso del polvo bicromático, que utiliza polvo de aluminio altamente reflectante mezclado con polvo negro para lograr la visualización en ambas superficies claras y oscuras. Una desventaja de la mezcla de diferentes tipos de partículas de pigmento es que las impresiones extremadamente débiles, con pocas partículas adheridas a la impresión, pueden sufrir al tener sólo una fracción del pigmento necesaria para la visualización. Este problema se puede superar mediante el etiquetado de un solo tipo de partícula de pigmento con una mancha de colorante fluorescente, creando así una partícula con doble uso en lugar de la combinación de diferentes tipos de partículas.

Los fabricantes comerciales de polvo tienden a etiquetar los polvos por color: negro, blanco, plata, gris y así sucesivamente, en lugar de etiquetar los ingredientes. Las partículas que sirven como buenos polvos de huellas dactilares incluyen el negro de carbono (carbono coloidal), negro de humo, talco, caolín, aluminio, escamas de metal y dolomita (Lee y Gaensslen, 2001, pág. 108-109), entre



otros. Los buenos aglutinantes incluyen polvo de hierro (Lee y Gaennslen, 2001, pág. 108-109), licopodio, almidón de maíz, colofonia y goma árabe (Menzel, 1999, pág. 143).

Uno de los polvos más comunes de huellas latentes, conocido por su versatilidad y eficacia, es el negro de carbono. Cuando se mezcla con un portador, este polvo trabaja en una amplia gama de superficies y causa poca pintura de sustrato (Cowger, 1983, pág. 79-80). Las mezclas de negro de carbono producen una imagen oscura (gris-negra) que puede ser visualizada en varias superficies de color. Este tipo de polvo también se mostrará en superficies de color negro brillante, que aparece a la inversa del color claro (Cowger, 1983, pág. 79-80). Curiosamente, el polvo de huellas dactilares negro también se puede preparar o "etiquetar" con una mancha de tinte fluorescente (Thornton, 1978, pág. 536-538), dándole así el doble propósito como técnica foto luminiscente.

Otros polvos de impresión latente eficaces y ampliamente utilizados son los polvos de hojuelas metálicas hechas de aluminio, zinc, cobre, latón, acero inoxidable, hierro, cobalto y níquel. Algunos datos indican que los polvos de hojuelas son más sensibles que los polvos que no están hechos de hojuelas (Kent, 1998). Sin embargo, los polvos de hojuelas también a veces tienden a "pintar" el sustrato más de lo que las partículas que no están hechas de hojuelas lo hacen.

Los polvos de hojuelas son fabricados con partículas metálicas esféricas molidas como hojuelas que van de 1 a 50  $\mu\text{m}$  de diámetro (James et al., 1991, pág. 1368-1375). El área de superficie aumentada de la hojuela con respecto al peso de la partícula contribuye a la adhesión de este polvo. Parece que el polvo de hojuela comercialmente disponible con un diámetro medio de 10  $\mu\text{m}$  y un espesor medio de 0.5  $\mu\text{m}$  es óptimo para el revelado de la impresión latente. También es importante señalar que la adición de ácido esteárico, destinado a influir en la morfología de la hojuela durante la molienda, aumenta el valor de la adherencia de los copos también (James et al., 1990, pág. 247-252). El polvo de hojuelas de aluminio que se lavó de su contenido de ácido esteárico dio como resultado un revelado pobre de huellas dactilares, mientras que las hojuelas de aluminio producidas con aproximadamente el 10 por ciento en peso de ácido esteárico dieron buenos resultados (James et al., 1991, pág. 1368-1375). Otro estudio indicó que una serie de metales en hojuelas produjo resultados óptimos con el 3-5% en peso de los niveles de ácido esteárico (James et al., 1993, pág. 391-401).

### 7.3.3 Aplicación

Todas las advertencias del fabricante, incluidas las de las fichas de datos de seguridad de materiales, deben ser observadas cuando se utiliza polvo de huellas dactilares. Aunque los proveedores comerciales de polvo de huellas latente han descontinuado el uso de ingredientes peligrosos conocidos como el plomo, el mercurio y el cadmio, se recomienda encarecidamente que el experto use una máscara para polvo o trabajar en una mesa de aspiración como precauciones mínimas durante el uso de cualquier tipo de polvo.

Los polvos se aplican típicamente a superficies no porosas con un cepillo suave. La pulverización no se recomienda para superficies porosas o altamente absorbentes tales como el papel sin recubrir o la madera en bruto porque otros tratamientos químicos superan en su acción al polvo en estas superficies. La suavidad de las cerdas es particularmente importante para evitar daños a los residuos de impresión latente frágiles. Las huellas latentes con un alto contenido de humedad o aceite se dañan fácilmente con un cepillo demasiado rígido o si se utiliza con demasiada fuerza. Los cepillos convencionales se hacen típicamente con pelo animal, filamentos de fibra de vidrio o, a veces, plumas. Aunque los cepillos de huellas dactilares se toman en gran medida por sentado estos días, un estudio de los cepillos se ha llevado a cabo (Bandey, 2004).

Los polvos aplicados con un cepillo de filamentos tradicionales consisten en partículas muy finas y suelen ser de baja densidad o "suaves" por naturaleza. Esto permite que las partículas sean fácilmente recogidas o "cargadas" en los filamentos del cepillo. La baja densidad de este polvo también permite que se vuelva fácilmente aerotransportada durante el proceso de formación de polvo, haciendo una máscara anti polvo o respiratoria necesaria en la escena del crimen.

Es importante mantener las escobillas limpias, secas y relativamente libres de enredos. Para aplicar el polvo de huellas dactilares con un cepillo convencional, las puntas de los filamentos se sumergen ligeramente en un recipiente de boca ancha estéril que contiene una pequeña cantidad de polvo. Esto se llama "carga" del cepillo. El exceso de polvo a continuación se agita, se gira o extrae del cepillo. El polvo se aplica entonces de manera uniforme a todas las áreas del sustrato.

Un área de la superficie (o un sustrato de naturaleza similar) debe ser evaluado antes de procesar completamente el artículo. Esto se hace para determinar la cantidad óptima de polvo que será utilizado en ese sustrato y evitar que se pinte el fondo. El cepillado se realiza con luz e incluso con trazos que asemejan la pintura. Es importante siempre para comenzar ligeramente espolvorear y construir lentamente las aplicaciones más pesadas para minimizar el daño de las huellas dactilares.

Cuando aparecen las huellas latentes, pueden ser ligeramente cepilladas añadiendo polvo y posteriormente cepillando el exceso de polvo de distancia. Esto se hace en la dirección de la trayectoria de las crestas para evitar daños a la impresión.

Otro tipo de polvo, denominado polvo magnético o magna, permite la aplicación con una barra imantada que no tiene cerdas. Este tipo de polvo puede ser ligero, oscuro o fluorescente y utiliza las propiedades ferromagnéticas del hierro en polvo mezcladas con pigmentos en polvo. El aplicador imantado (cepillo magna) se sumerge en el polvo, recogiendo una bola de la mezcla de hierro y partículas, esencialmente formando su propio cepillo (Figura 7-1). Esta bola sirve como un vehículo eficaz para las partículas de pigmento y se pasa hacia atrás y adelante sobre el sustrato para revelar las impresiones latentes.

Es importante tener en cuenta que la bola de polvo magnético formado con un cepillo magna es mucho más suave que los cepillos de filamentos convencionales y típicamente causa menos daño a las huellas latentes frágiles (MacDonell, 1961, pág. 7-15). Los polvos magnéticos suelen ser

menos eficaces en sustratos ferromagnéticos tales como el acero o níquel y por lo tanto no se recomiendan en estos sustratos. La atracción magnética puede provocar el contacto entre el aplicador y el sustrato, dañando las huellas latentes en el proceso. Además, las partículas magnetizadas de polvo se adhieren al sustrato y resisten la remoción.

Hay dos maneras de registrar o conservar una impresión en polvo. El método más común y simple es el levantado. Para levantar una impresión, se coloca cinta transparente de buena calidad sobre la superficie que lleva una impresión en polvo. El tamaño común de la cinta para el levantamiento de huellas dactilares es de 1.5-2 pulgadas de ancho. Mientras se está aplicando, la cinta se frota para quitar las burbujas de aire y para asegurar una buena adherencia a las huellas latentes. Se retira y se pone en una tarjeta base que contraste con el color del polvo. Probablemente el levantamiento más común es la de polvo de huellas dactilares negro colocado en una tarjeta base blanca. Otros medios adhesivos de levantamiento son los levantadores de bisagra, donde el cuadro adhesivo está unido a la tarjeta base por medio de una bisagra; los levantadores de gel adhesivo opaco, por lo general de color negro o blanco; y materiales de tipo silicón que se extienden sobre la superficie y se dejan endurecer con un medio flexible de goma antes de levantarse. Se debe tener cuidado durante el proceso de comparación al señalar que las técnicas de levantamiento causan que la impresión aparezca invertida.

Si la impresión se va a fotografiar *in situ*, la importancia del color del polvo aumenta. Documentar de esta manera las

**FIGURA 7-1**

*Aplicador magnético.*





impresiones en polvo requiere la combinación de la selección apropiada de polvo y la iluminación fotográfica que producirá un amplio contraste contra el sustrato.

Otro tipo de polvo que produce excelentes resultados en una amplia variedad de superficies es el polvo fluorescente. El polvo fluorescente se basa en el principio de luminiscencia para proporcionar un contraste entre la huella dactilar y el fondo. Los polvos fluorescentes son típicamente creados por medio de la adición de un colorante láser en la solución a un aglutinante y permitiendo que la mezcla se evapore (Menzel, 1999, pág. 62-65). La masa seca resultante se muele en polvo de impresión latente.

La pulverización fluorescente es muy sensible cuando se utiliza con una buena fuente de luz forense y los filtros de barrera adecuados. En teoría, el polvo de huellas dactilares luminiscente debe ser más sensible que los métodos convencionales (Menzel, 1999, pág. 4-7). Es importante probar la cinta y las tarjetas de levantamiento utilizadas con polvos fluorescentes para cualquier fluorescencia inherente ya que la fluorescencia causada por el medio de levantamiento interferirá con la calidad de la impresión.

Otro uso del polvo de huellas dactilares, o de los componentes de éste, es en una suspensión, para uso en superficies mojadas o en cintas adhesivas. El reactivo convencional de pequeñas partículas, para el revelado de las huellas dactilares en superficies mojadas y no porosas, utiliza disulfuro de molibdeno en suspensión, pero otros reactivos se han desarrollado (Frank y Almog, 1993, pág. 240-244). Una suspensión similar, el polvo pegajoso de un lado (Burns, 1994, pág. 133-138), es utilizado para revelar impresiones del lado adhesivo de la cinta, también se ha reformulado utilizando polvo de huellas dactilares (Bratton et al, 1996, pág. 28; Wade, 2002, pág. 551-559).

Por último, una palabra de precaución puede estar a la orden. Aunque el uso del polvo de huellas dactilares es rápido y barato, han surgido preocupaciones recientemente en relación a la posibilidad de contaminación debido a la transferencia de ADN mediante el uso de cepillos de huellas dactilares (van Oorschot et al., 2005, pág. 1417-1422). Los examinadores del lugar de los hechos están siendo advertidos a ser conscientes de esta posibilidad.

## 7.4 Ninhidrina y Análogos

### 7.4.1 Historia de la Ninhidrina

La ninhidrina fue descrita por primera vez en 1910 cuando Siegfried Ruhemann preparó erróneamente el compuesto (Ruhemann, 1910a, pág. 1438-1449). Ruhemann observó que el nuevo compuesto reaccionó con la piel y los aminoácidos para originar un producto de color púrpura (Ruhemann, 1910b, pág. 2025-2031) y publicó una serie de documentos que detallan ésta y otras reacciones (Ruhemann, 1911a, pág. 792-800; 1911b, pág. 1306-1310; 1911c, pág. 1486-1492). Propuso una estructura para el producto de color intenso (Ruhemann, 1911c, pág. 1486-1492), hoy conocida como *púrpura de Ruhemann* y comentó sobre la posible aplicación de la reacción a la detección de rastros de aminoácidos y productos de proteína en muestras biológicas (Ruhemann, 1911, pág. 792-800).

Tras el descubrimiento de Ruhemann, la ninhidrina encontró un amplio uso en aplicaciones de química y bioquímica analíticas. Ya en 1913, la reacción con aminoácidos era una prueba de diagnóstico importante para la presencia de compuestos de proteínas y amina en muestras biológicas (Crown, 1969, pág. 258-264; Friedman y Williams, 1974, pág. 267-280). Con el advenimiento de la cromatografía, la reacción se hizo aún más útil para la localización de los aminoácidos en los cromatogramas de papel o en fracciones producidas por cromatografía líquida (Crown, 1969, pág. 258-264; Smith y Agiza, 1951, pág. 623-627).

El púrpura de Ruhemann y otros subproductos de la reacción de ninhidrina y aminoácidos también se utilizaron para medir cuantitativamente el contenido de aminoácidos de las muestras (Yemm et al, 1955, 209-214; Smith y Agiza, 1951, pág. 623-627). El reactivo era tan potente y versátil que algunos autores sugirieron que era la reacción más utilizada en los laboratorios analíticos (Friedman y Williams, 1974, pág. 267-280).

Este uso de ninhidrina fue frecuentemente acompañado de advertencias para evitar el contacto entre la piel desnuda y cualquier superficie que entre en contacto con el reactivo (Crown, 1969, pág. 258-264). Esto fue debido a la fuerte reacción entre la ninhidrina y el sudor, lo que provocaría la aparición de huellas dactilares en los cromatogramas (Crown, 1969, pág. 258-264; Oden y Von

Hofsten, 1954, pág. 449-450). A pesar de estas advertencias, que indican claramente la capacidad de la ninhidrina para revelar las huellas dactilares, el reactivo no se aplicó en un contexto forense hasta 1954 (Oden y von Hofsten, 1954, pág. 449-450).

A raíz de este informe inicial, la ninhidrina rápidamente se convirtió en una herramienta indispensable en la detección de huellas dactilares latentes, con el uso generalizado entre los ordenamientos jurídicos, siendo documentado ya en 1959 (Speaks, 1964, pág. 11-13, 23). La técnica se encuentra ahora entre los métodos más populares para la detección de huellas dactilares en el papel y otros sustratos porosos (Champod et al., 2004, pág. 114-136). Este método tiene limitaciones; sin embargo, los químicos han abordado estas limitaciones a través de la síntesis de análogos de compuestos estructuralmente relacionados con ninhidrina que exhiben reacciones similares con aminoácidos para mejorar la claridad de la huella dactilar revelada (Almog, 2001, pág. 177-209). Varios de estos análogos fueron altamente exitosos (por ejemplo, 1,8-Diazafluoreno-9-uno [DFO], 1,2-Indanodiona y 5-Metiltioninhidrina), aunque ninguno de ellos ha sido capaz de reemplazar completamente a la ninhidrina como la técnica más frecuentemente utilizada (Almog, 2001, pág. 177-209).

## 7.4.2 Teoría

**7.4.2.1 Detección de huella dactilar por medio de reactivos aminoácidos.** Algunas huellas dactilares son creadas por medio del depósito de sudor de los dedos cuando entran en contacto con una superficie. Este sudor se compone principalmente de componentes acuosos, que comprenden el 98% del volumen de una huella dactilar (Pounds y Jones, 1983, pág. 180-183). Estos depósitos acuosos contienen una pequeña, pero detectable, cantidad de aminoácidos, con un promedio de 250 ng por cada huella dactilar (Hansen y Joullié, 2005, pág. 408-417). Después de que el agua se evapora de la superficie, los aminoácidos permanecen como material sólido (Knowles, 1978, pág. 713-720).

Para las superficies porosas tales como papel, los aminoácidos son objetivos deseables para los reactivos de revelado de la huella dactilar (Almog, 2001, pág. 177-209). Aunque las variables incontrolables (tales como la cantidad total de sudor depositado por el dedo, la concentración de aminoácidos de las excreciones del individuo y la edad de la huella dactilar) influyen en la cantidad de aminoácidos transferidos al papel (Everse y Menzel, 1986, pág. 446-454), los aminoácidos están siempre presentes en la transpiración en una

cierta cantidad (Speaks, 1970, pág. 14-17). En contacto con el papel, estos aminoácidos impregnan la superficie del papel, donde son retenidos por su alta afinidad por la celulosa (Champod et al, 2004, pág. 114; Almog, 2001, pág. 177-209; Hansen y Joullié, 2005, pág. 408-417).

Debido a esta afinidad, los aminoácidos no migran significativamente de sus sitios iniciales de depósito; sin embargo, la cantidad de aminoácidos retenida en la huella dactilar disminuye gradualmente con el tiempo (Knowles, 1978, pág. 713-720). Además, los aminoácidos reaccionan con una amplia variedad de productos químicos para producir compuestos coloreados (Hansen y Joullié, 2005, pág. 408-417). Estas cualidades han sido explotadas para producir imágenes claras y nítidas de huellas dactilares que tenían hasta 40 años (Champod et al., 2004, pág. 114).

Al menos 14 aminoácidos pueden estar presentes en los residuos de huellas dactilares (Knowles, 1978, pág. 713-720; Hier et al, 1946, pág. 327-333). Para producir la huella dactilar más desarrollada, el reactivo ideal debe ser no específico para un aminoácido particular (es decir, reaccionar bien con todos).

La ninhidrina es uno de muchos productos químicos que actúa como un reactivo de aminoácido no específico y es, por lo tanto, muy adecuado para el revelado de la huella dactilar (Champod et al, 2004, pág. 114; Almog, 2001, pág. 177-209).

**7.4.2.2 Propiedades de la ninhidrina.** La ninhidrina es un sólido cristalino que va de incoloro a color amarillo pálido y es altamente soluble en disolventes polares tales como agua y metanol (McCaldin, 1960, pág. 39-51). Cuando se calienta, el sólido se convierte de rosa a rojo en aproximadamente 125°C (Almog, 2001, pág. 177-209), se funde de 130-140°C y se descompone a 241°C. El compuesto se encuentra en forma de hidrato estable en la presencia de cualquier agua, pero asumirá una estructura tricetona en condiciones anhidras (Hansen y Joullié, 2005, pág. 408-417). Este equilibrio se ilustra en la Figura 7-2.

**7.4.2.3 Reacción de ninhidrina con aminoácidos.** La primera observación de la reacción de la ninhidrina con la piel para formar un compuesto de color morado oscuro se informó en 1910 (Ruhemann, 1910a, pág. 1438-1449). Estudios posteriores indicaron que el color púrpura resultante de la reacción entre ninhidrina y aminoácidos, y describieron el producto de esta reacción como dicetohidrandilideno-dicetohindamina (Ruhemann, 1910b, pág. 2025-2031; 1911a, pág. 792-800; 1911c, pág. 1486-1492) y que ahora se conoce como púrpura de Ruhemann. Los subproductos



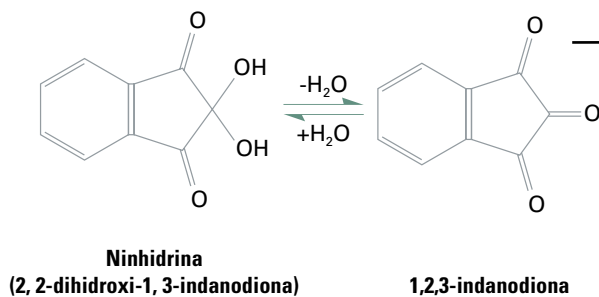


de esta reacción incluyen un derivado de aldehído del aminoácido y dióxido de carbono (Friedman y Williams, 1974, pág. 267-280; Yemm et al, 1955, pág. 209-214).

Múltiples intentos se han hecho para determinar el mecanismo de esta reacción (Friedman y Williams, 1974, pág. 267-280; Hansen y Joullié, 2005, pág. 408-417; McCaldin, 1960, pág. 39-51; Retinger, 1917, pág. 1059 -1,066; Bottom et al, 1978, pág. 4 5; Grigg et al, 1986, pág. 421-422; Grigg et al, 1989, pág. 3.849-3.862; Joullié et al, 1991, pág. 8791 a 8830; Schertz et al., 2001, pág. 7.596-7.603). El mecanismo más aceptado hoy en día es el propuesto por Grigg et al. (1989, pág. 3849-3862) y brevemente se ilustra en la Figura 7-3. El ácido y el agua son otros reactivos requeridos para esta reacción se produzca.

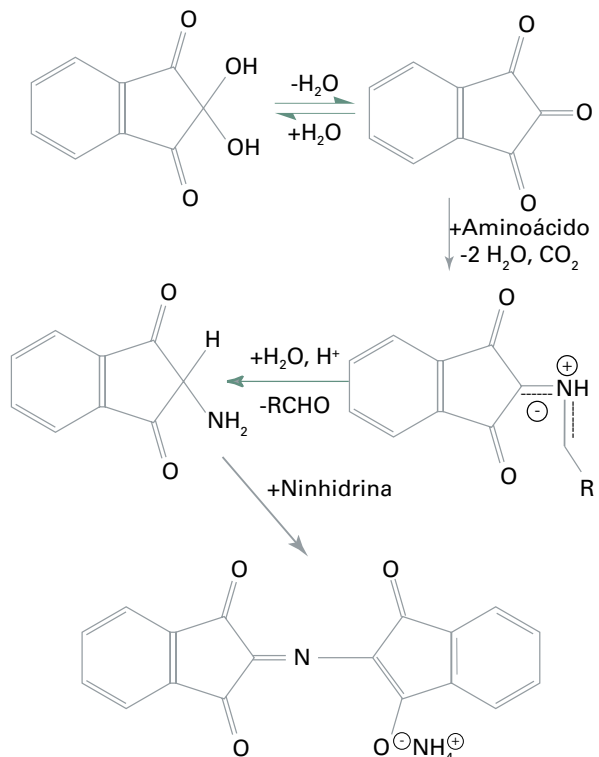
Estudios estructurales del producto de reacción han confirmado que la estructura del producto original de Ruhemann era correcta y que la reacción con aminoácidos produce la sal de amonio del púrpura de Ruhemann (Ruhemann, 1911c, pág. 1486-1492; Grigg et al, 1986, pág. 421-422.; 1989, pág. 3849-3862).

Esta reacción es compleja y requiere un conjunto perfectamente ajustado de condiciones con el fin de progresar a un ritmo razonable. El pH de la reacción debe estar por encima de 4 (Friedman y Williams, 1974, pág. 267-280; Bottom et al, 1978, pág. 4-5.) e idealmente debe estar entre 4.5 y 5.2 (Grigg et al, 1989, pág. 3.849 a 3862). El revelado en un ambiente de alta humedad es de suma importancia (Champod et al, 2004, pág. 116-117; Almog, 2001, pág.



**FIGURA 7-2**

*Equilibrio entre las estructuras hidratadas y anhidras de ninhidrina.*



**FIGURA 7-3**

*Mecanismo de reacción aceptado de ninhidrina con aminoácidos.*

177-209) porque el agua es un reactivo necesario. Finalmente, debido a que se sabe que el púrpura de Ruhemann se degrada en presencia de luz y oxígeno, la huella dactilar tratada debe almacenarse en un lugar oscuro y fresco (Friedman y Williams, 1974, pág. 267-280; Joullié et al, 1991, pág. 8791-8830). Las huellas dactilares tratadas con ninhidrina son de color púrpura y presentan un excelente contraste y claridad de detalle (Champod et al, 2004, pág. 117; Almog, 2001, pág. 177-209).

**7.4.2.4 Mejora óptica de huellas dactilares reveladas con ninhidrina.** El tratamiento con ninhidrina ofrece un excelente contraste en condiciones ideales (por ejemplo, en huellas dactilares frescas sobre papel blanco). Sobre papel de color o con huellas dactilares viejas; sin embargo, los resultados pueden a menudo ser inferiores al óptimo (Crown, 1969, pág. 258-264; Everse y Menzel, 1986, pág. 446-454; Speak, 1970, pág. 14-17; Grigg et al., 1989, pág. 3849 a 3862; German, 1981, pág. 3-4; Herod y Menzel, 1982a, pág. 200-204; Lennard et al, 1986, pág. 323-328).

Varios métodos han sido desarrollados para aumentar el contraste entre las huellas dactilares reveladas con ninhidrina y un sustrato de color o para mejorar las huellas dactilares débilmente reveladas. El espectro de luz UV a visible del púrpura de Ruhemann muestra dos máximos de absorción-longitudes de onda de la luz que están fuertemente absorbidos por el compuesto. Estos máximos, que se encuentran en  $\lambda = 407 \text{ nm}$  y  $\lambda = 582 \text{ nm}$  (Lennard et al., 1986, pág. 323-328), se pueden utilizar para aumentar el contraste entre la huella dactilar revelada y un fondo no absorbente. Cuando los láseres se hicieron disponibles para la comunidad forense a finales de la década de 1970 y principios de la de 1980, un tratamiento con cloruro de zinc se describió para la mejora de las impresiones de ninhidrina débiles mediante el uso de la luz de un láser de iones de argón (German, 1981, pág. 3-4; Herodes y Menzel, 1982a, pág. 200-204). Este método era capaz de aumentar drásticamente el número de huellas dactilares latentes identificables reveladas por el proceso de ninhidrina. Con la ubicuidad actual de fuentes de luz forenses, ambas bandas de absorción del púrpura de Ruhemann pueden ser explotadas para producir huellas dactilares de alto contraste (Champod et al., 2004, pág. 117).

**7.4.2.5 Post-tratamiento con sales metálicas.** Se utilizó la reacción entre el púrpura de Ruhemann y sales de metal tales como zinc, cadmio, cobalto y cobre en un contexto bioquímico para preservar los puntos de ninhidrina en

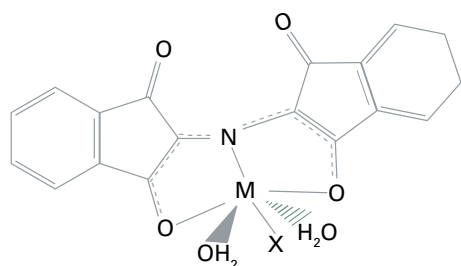
cromatogramas (Kawerau y Wieland, 1951, pág. 77-78). La formación de un complejo de metal-sal altera el color del púrpura de Ruhemann de un color violeta oscuro a rojo o naranja, dependiendo de la sal que se utilice (Stoilovic et al., 1986, pág. 432-445). El tono más claro puede proporcionar un mayor contraste contra un fondo de color oscuro, especialmente cuando se observa a 490-510 nm, en donde el metal complejo del púrpura de Ruhemann tiene un máximo de absorción (Stoilovic et al., 1986, pág. 432-445).

Se ha informado que el análisis de las huellas dactilares con ninhidrina y complejos de zinc bajo un láser de iones de argón podría inducir la fluorescencia de las impresiones incluso débilmente reveladas (Herod y Menzel, 1982b, pág. 513-518). Este descubrimiento tuvo un profundo impacto en el revelado de huellas dactilares porque los reactivos fluorescentes son más sensibles que los cromogénicos y se pueden ver más claramente en contra de fondos de color (Champod et al., 2004, pág. 120). Estudios posteriores revelaron que la intensa luz láser no era necesaria si las muestras tratadas con zinc se enfriaran a la temperatura del nitrógeno líquido ( $-196^\circ\text{C}$  o 77 K); la fluorescencia se puede observar bajo una lámpara de arco de xenón. Esta técnica requiere la inmersión del documento en nitrógeno líquido, se coloca una placa de vidrio entre la muestra y la fuente de luz y la cámara, y una fuente de calor para evitar la condensación sobre el cristal (Kobus et al., 1983, pág. 161-170). La investigación posterior mostró que los complejos de cadmio presentaron una luminiscencia mejorada en estas condiciones (Stoilovic et al., 1986, pág. 432-445).

Estudios estructurales de complejos de sales de metal del púrpura de Ruhemann han identificado la estructura en la figura 7-4 (Lennard et al, 1987, pág. 597-605; Davies et al, 1995a, pág. 565-569; 1995b, pág. 1802-1805).

## 7.4.3 Aplicación

**7.4.3.1 Formulaciones de ninhidrina.** Varias formulaciones de ninhidrina se han reportado en la literatura (Crown, 1969, pág. 258-264; Oden y van Hofsten, 1954, pág. 449-450; Speaks, 1964, pág. 11-13, 23; Champod et al, 2004, pág. 117-120; Almog, 2001, pág. 177-209; Everse y Menzel, 1986, pág. 446-454; Clay, 1981, pág. 12-13). Las soluciones de ninhidrina se preparan típicamente en dos pasos: primero, se prepara una solución madre que tiene una alta proporción de disolvente polar para facilitar la estabilidad de la mezcla; segundo, una porción de la solución madre se diluye con un vehículo no polar disolvente para producir



M: Cadmio o Zinc  
X: Anión de la sal de metal

## FIGURA 7-4

*Estructura del complejo de sal de metal del púrpura de Ruhemann.*

un reactivo adecuado para su aplicación a los elementos probatorios.

La aplicación de soluciones viables de ninhidrina se puede realizar por inmersión, pulverización o cepillado (Oden y van Hofsten, 1954, pág. 449-450; Speaks, 1964, pág. 11-13, 23), con el método de inmersión preferido en la mayoría de los casos. El producto a examinar se sumergió brevemente en la solución activa y se dejó secar al aire para evaporar el disolvente (Champod et al., 2004, pág. 116-117).

Después del tratamiento con solución de ninhidrina, el revelado debe proceder idealmente a temperatura ambiente, en un ambiente oscuro y húmedo (con un 50-80% de humedad), durante un período de 1-2 días (Champod et al., 2004, pág. 116-117). Si la humedad ambiente es baja, el revelado con una cámara especializada de huellas dactilares con control de humedad puede ser necesario (Almog, 2001, pág. 177-209). El revelado se puede acelerar mediante la aplicación de vapor o calor, pero esto puede resultar en un mayor grado de revelado del fondo y la reducción de la claridad y el contraste de las huellas dactilares resultantes (Almog, 2001, pág. 177-209). El revelado al vapor se puede lograr mediante la superposición de una plancha de vapor por encima de la exposición; el calor se puede generar a partir de en una prensa, horno, gabinete de revelado de huellas dactilares o un horno de microondas y no debe exceder los 80°C (Almog, 2001, pág. 177-209).

Los cristales de ninhidrina se pueden moler en un mortero para formar un polvo fino y aplicarse directamente a las huellas dactilares con un cepillo de huellas dactilares (Almog, 2001, pág. 177-209). Este método es lento y produce sólo impresiones débiles, pero puede ser adecuado para algunos tipos de papel sensibles al calor o solventes (Wakefield y Armitage, 2005). La ninhidrina también se puede aplicar mediante un método de formación de humos; un gabinete humeante forense se utiliza para

calentar la ninhidrina hasta que se sublime, permitiendo que la ninhidrina gaseosa se deposite en los residuos de huellas dactilares (Schwarz y Frerichs, 2002, pág. 1274-1277). El reactivo es más adecuado para el papel, aunque cualquier sustrato poroso puede dar resultados visibles y algunos sustratos no porosos han reportado la producción de huellas visibles (Herod y Menzel, 1982a, pág. 200-204; Speaks, 1966, pág. 3-5).

**7.4.3.2 Post-tratamiento de sal de metal.** La aplicación de sales de zinc o cadmio en huellas dactilares reveladas con ninhidrina darán como resultado un cambio de color inmediato de morado a naranja o rojo, respectivamente (Lennard et al., 1987, pág. 597-605). Cabe destacar que se prefiere el uso de zinc a cadmio debido a la toxicidad del cadmio. La inmersión de la prueba en la solución es preferible a la pulverización debido a la toxicidad de algunos de los reactivos. Si la humedad es baja, una breve ráfaga de vapor puede ser requerida para producir el revelado. Sin embargo, la humedad debe controlarse cuidadosamente si se utilizan sales de zinc porque los niveles altos de humedad causan la formación de un complejo rojo inestable, no fluorescente que reducirá el contraste de la huella dactilar resultante (Stoilovic et al, 1986, pág. 432-445; Davies et al., 1995a, pág. 565-569).

Las huellas dactilares posteriormente tratadas se pueden mejorar aún más al verse bajo una luz de 490 nm (para los residuos tratados con zinc) o de 510 nm de luz (para los residuos tratados con cadmio) (Champod et al, 2004, pág. 120; Stoilovic et al, 1986, pág. 432-445). La fluorescencia puede ser inducida sumergiendo el artículo en nitrógeno líquido y estimulando la huella dactilar tratada con las longitudes de onda de luz antes mencionadas. Las emisiones fluorescentes deben ser vistas utilizando un filtro de paso de banda de 550 a 570 nm o un filtro de 550 nm de paso largo (Champod et al., 2004, pág. 121-124).

## 7.5 1,8-Diazafluoreno-9-uno (DFO)

### 7.5.1 Historia

El 1,8-Diazafluoreno-9-uno (DFO) se preparó por primera vez en 1950 (Druey y Schmidt, 1950, pág. 1080-1087), pero su reacción con aminoácidos no se exploró sino hasta 1990, cuando se aplicó primero como un reactivo de revelado de huella dactilar. Los resultados preliminares de este estudio fueron prometedores; el tratamiento con DFO resultó en huellas dactilares de color rojo o rosa pálido que eran intensamente fluorescentes a temperatura ambiente (Pounds et al, 1990, pág. 169-175; Grigg et al, 1990, pág. 7215-7218). Esto presenta claras ventajas sobre el metal de fluorescencia inducido por complejidad de huellas dactilares reveladas con ninhidrina y el DFO se identificó rápidamente como el mejor reactivo fluorescente para el revelado de huellas dactilares (Almog, 2001, pág. 177-209). El reactivo se utiliza ahora ampliamente en secuencia con ninhidrina para revelar huellas dactilares en superficies porosas (Wilkinson et al., 2005).

### 7.5.2 Teoría

Aunque el DFO no es un análogo directo de ninhidrina (Hansen y Joullié, 2005, pág. 408-417), las estructuras de los dos compuestos y el resultado de sus reacciones con aminoácidos, son similares (Grigg et al., 1990, pág. 7215-7218; Wilkinson, 2000a, pág. 87-103). Como la ninhidrina, el DFO contiene un centro de cetona central activado por la presencia cercana de grupos aceptores de electrones. La estructura del DFO se ilustra en la Figura 7-5; los anillos nitrogenados actúan de forma similar a los grupos cetónicos que flanquean en la ninhidrina (Hansen y Joullié, 2005, pág. 408-417).

Estudios mecánicos de la reacción del DFO con aminoácidos han demostrado que la presencia de metanol es esencial. Esto permite que el DFO forme un hemiacetal (Figura 7-6), que es menos estable que la estructura matriz y por lo tanto más reactiva, produciendo una respuesta más sensible a los residuos de aminoácidos en las huellas dactilares (Wilkinson, 2000a, pág. 87-103). El producto de reacción de color rojo se ha caracterizado completamente y se asemeja al púrpura de Ruhemann (Grigg et al, 1990, pág. 7215 hasta 7218; Wilkinson, 2000a, pág. 87-103).

El producto de esta reacción es de color rosa a rojo con  $\lambda_{\text{max}}$  de aproximadamente 560 nm y una absorción débil a 520 nm (Pounds et al, 1990, pág. 169-175; Wilkinson,

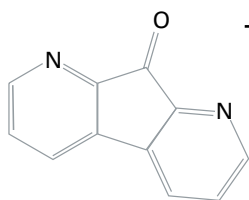
2000a, pág. 87-103). En virtud de la estimulación de cualquiera de estas longitudes de onda, el producto es fuertemente fluorescente a temperatura ambiente, emitiendo una luz intensa de 576 nm (Stoilovic, 1993, pág. 141-153). Una ilustración de una huella dactilar revelada con DFO en luz blanca y en condiciones fluorescentes aparece en la Figura 7-7.

A diferencia de la reacción de la ninhidrina, la reacción del DFO requiere de una temperatura alta y un ambiente de baja humedad (Pounds et al., 1990, pág. 169-175). El tratamiento posterior con sales metálicas y el subsecuente enfriamiento a temperaturas de nitrógeno líquido no afecta significativamente a la intensidad de la fluorescencia del producto de DFO (Conn et al., 2001, pág. 117-123).

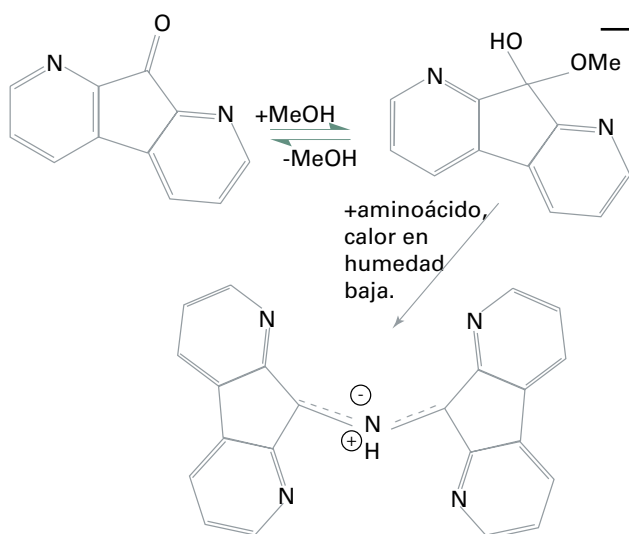
Se reporta que el DFO es un reactivo de desarrollo de huellas dactilares más sensible que la ninhidrina, produciendo un mayor número de huellas dactilares latentes identificables (Wilkinson et al., 2005; Stoilovic, 1993, pág. 141-153; Cantu et al, 1993, pág. 44-66). Esta sensibilidad se debe al hecho de que una huella dactilar débilmente fluorescente es más fácil de ver que una huella dactilar débilmente coloreada (Almog, 2001, pág. 177-209). A pesar de esta observación, si se aplica ninhidrina después del tratamiento DFO, el revelado adicional se produce, resultando en púrpura de Ruhemann. La explicación convencional para este fenómeno es que, aunque las huellas dactilares reveladas con DFO son más visibles cuando son fluorescentes, el DFO no reacciona completamente con todos los aminoácidos en el residuo de huellas dactilares, de modo que algunos aminoácidos se encuentran disponibles para reaccionar con ninhidrina (Wilkinson, 2000a, pág. 87-103). La combinación de DFO seguido de ninhidrina revela más huellas dactilares latentes que con DFO o ninhidrina solamente (Wilkinson et al., 2005) y ésta es la secuencia recomendada de exámenes para superficies porosas, tales como papel (Champod et al., 2004, pág. 128-131; Almog, 2001, 177-209).

### 7.5.3 Aplicación

Varias formulaciones de DFO se han reportado en la literatura (Champod et al, 2004, pág. 230-231; Almog, 2001, pág. 177-209; Pounds et al, 1990, pág. 169-175; Grigg et al, 1990, pág. 7215-7218; Wilkinson et al., 2005; Wilkinson, 2000a, pág. 87-103; Stoilovic, 1993, pág. 141-153; Didierjean et al, 1998, pág. 163-167). La solución de DFO se puede aplicar a muestras por inmersión, pulverización o cepillado, aunque la de inmersión es el método preferido (Champod et al., 2004, pág. 128-131). Se dejó la

**FIGURA 7-5**

*Estructura del 1,8-Diazafluoreno-9-uno (DFO).*

**FIGURA 7-6**

*Formación del hemiacetal y la reacción con aminoácidos.*

**FIGURA 7-7**

*Huella dactilar revelada con DFO. Izquierda, bajo luz ambiental. Derecha, estimulada por medio de una fuente de luz forense y vista a través del filtro de visión apropiado.*

exposición a secar y después se calentó para promover el revelado. Varios métodos de calentamiento son adecuados: el calentamiento en un horno a 100°C durante 10-20 minutos (Champod et al., 2004, pág. 128; Almog, 2001, pág. 177-209; Pounds et al, 1990, pág. 169-175; Didierjean et al., 1998, pág. 163-167), la aplicación de una plancha a 160°C durante 20-30 segundos (Stoilovic, 1993, pág. 141-153) o la aplicación de una prensa de planchar 180°C durante 10 segundos (Almog, 2001, pág. 177-209;

Stoilovic, 1993, pág. 141-153). La reacción debe llevarse a cabo en un ambiente seco con baja humedad ya que ésta interfiere con la reacción del revelado (Champod et al, 2004, pág. 129; Almog, 2001, pág. 177-209; Wilkinson, 2000a, pág. 87-103).

Después de la aplicación de DFO y calefacción, las huellas dactilares reveladas pueden observarse utilizando 530 nm de luz de excitación y un filtro de barrera 590 nm, o 555

nm de luz de excitación y un filtro de barrera de 610 nm (Almog, 2001, pág. 177-209). La muestra puede entonces ser tratada con ninhidrina como se describió anteriormente.

## 7.6 1,2-Indanediona

### 7.6.1 Historia

Las capacidades de revelado de huellas dactilares de la 1,2-indanodiona se consideraron primero después de que un compuesto relacionado, 6-metil-1,2-indanodiona, se encontró para producir huellas dactilares fluorescentes (Hauze et al., 1998, pág. 744-747). Esto llevó a los investigadores a sintetizar el compuesto original y varios otros análogos y a evaluar su utilidad como reactivos de huellas dactilares (Ramotowski et al., 1997, pág. 131-139). Los resultados fueron similares al DFO en que un producto débil de color rosa que es brillantemente fluorescente a temperatura ambiente (Ramotowski et al., 1997, pág. 131-139). La investigación adicional indicó que estos reactivos son más sensibles que otros métodos actuales y, debido a la facilidad de síntesis, pueden ser una alternativa más barata (Cava et al, 1958, pág. 2257-2263; Dayan et al, 1998, pág. 2752- 2754; Joullié y Petrovskaia, 1998, pág. 41-44). En los ocho años siguientes estos descubrimientos, la 1,2-indanodiona se ha convertido en un reactivo estándar en laboratorios israelíes y ha sido investigado para su uso en muchos otros países (Almog, 2001, pág. 177-209).

### 7.6.2 Teoría

La 1,2-indanodiona es un análogo de cierre de la ninhidrina y se teoriza para reaccionar con los aminoácidos de una manera muy similar (Petrovskaia et al., 2001, pág. 7666-

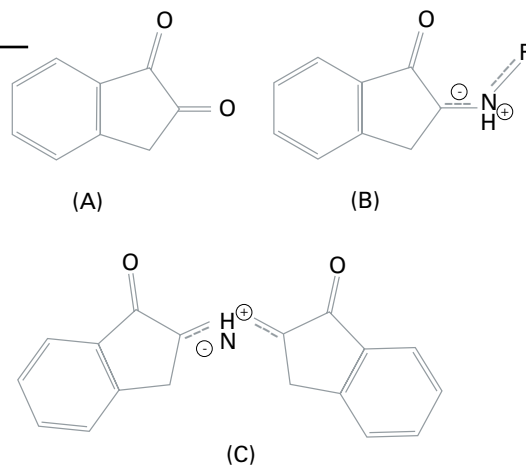
7675). La estructura de la 1,2-indanodiona se caracteriza (Wilkinson, 2000b, pág. 123-132) y se ilustra en la Figura 7-8 (A).

Estudios mecánicos de la reacción de la 1,2-indanodiona con aminoácidos han indicado que la presencia de metanol desensibiliza el reactivo (Wilkinson, 2000b, pág. 123 132). Al igual que el DFO, la indanodiona forma un hemiacetal con metanol; sin embargo, a diferencia del DFO, este hemiacetal es más estable que el compuesto original y por lo tanto su formación impide la reacción con aminoácidos. Debido a que la 1,2-indanodiona se convirtió completamente en el hemiacetal menos sensible (Wilkinson, 2000b, pág. 123-132), algunos sugieren que los alcoholes se deben evitar en cualquier formulación de indanodiona (Wilkinson et al, 2005; Wiesner et al, 2001, pág. 1082-1084). Otros estudios no han corroborado esta falta de sensibilidad en la solución metanólica (Roux et al., 2000, pág. 761-769). Existen ambigüedades similares sobre la adición de ácido acético (Lennard et al, 2005, pág. 43.); algunos autores han encontrado que una pequeña cantidad de ácido acético mejora los resultados (Hauze et al, 1998, pág. 744-747; Joullié y Petrovskaia, 1998, pág. 41-44), mientras que otros han experimentado huellas dactilares borrosas y poco claras cuando se utilizan soluciones acidificadas (Almog, 2001, pág. 177-209; Wiesner et al., 2001, pág. 1082-1084; Kasper et al, 2002). Estas discrepancias se han relacionado con el contenido ácido del papel producido en varios países del autor (Wilkinson et al., 2005).

La producción del compuesto mostrado en la Figura 7-8 (B) durante la reacción entre aminoácidos y 1,2-indanodiona ha sido confirmada. Sin embargo, este compuesto no explica por completo la coloración de la impresión revelada o su fluorescencia. La posibilidad de que un análogo de púrpura

**FIGURE 7-8**

*Estructura de (A) 1,2-indanodina; (B) un producto conocido de la reacción entre 1,2-indanodina y aminoácidos; (C) un análogo púrpura de Ruhemann producido por la reacción.*





de Ruhemann no se ha descartado (Petrovskaia et al, 2001, pág. 7666-7675.); un compuesto de este tipo se ilustra en la Figura 7-8 (C). Otros estudios están actualmente en marcha para elucidar la estructura de la especie fluorescente, que se espera que sea polimérico (Wallace-Kunkel et al., 2005).

Sea o no que el tratamiento posterior de sal de metal mejore la fluorescencia de la huella dactilar revelada es otro punto de contención entre autores. Los resultados variados con cada paso del proceso de revelado con indanodiona indican la influencia que las condiciones ambientales tienen sobre la técnica y cada grupo de investigación debe establecer una fórmula óptima para su uso en su laboratorio (Wilkinson et al., 2005; Lennard et al, 2005, pág. 43).

### 7.6.3 Aplicación

Debido a las variaciones regionales en humedad, el contenido de ácido del papel y otros factores ambientales, una única formulación de 1,2-indanodiona no puede ser recomendada. La aplicación del reactivo 1,2-indanodiona puede llevarse a cabo por inmersión de la muestra o por pulverización del reactivo. El revelado puede ocurrir a temperatura ambiente, pero puede requerir de 4-5 días (Roux et al., 2000, pág. 761-769). A la luz del hecho establecido que el tratamiento térmico no causa un excesivo revelado de fondo, se recomienda que el calor de vapor pueda aplicarse a las huellas dactilares tratadas para acelerar el revelado (Almog, 2001, pág. 177-209; Ramotowski et al, 1997, pág. 131 -139; Joullié y Petrovskaia, 1998, pág. 41-44; Roux et al, 2000, pág. 761-769). Este calor puede ser aplicado en un horno de humedad (a 100°C con una humedad relativa del 60%) (Wiesner et al, 2001, pág. 1082-1084; Roux et al, 2000, pág. 761-769; Almog et al, 1999. , pág. 114-118), por planchado con vapor (Ramotowski et al, 1997, pág. 131 139; Joullié y Petrovskaia, 1998, pág. 41-44) o mediante una prensa de calor (a 100°C durante 2-5 minutos [Kasper et al., 2002] o 165°C durante 10 segundos [Lennard et al., 2005, pág. 43]).

La fluorescencia se puede observar bajo una iluminación a 520 nm y ser vista a través de un filtro de 590 nm (Joullié y Petrovskaia, 1998, pág. 41-44). El tratamiento posterior de sal de zinc se puede aplicar para mejorar el color de la huella dactilar revelada y puede aumentar la intensidad de fluorescencia (Almog, 2001, pág. 177-209 (Roux et al, 2000, pág. 761-769.); Hauze et al, 1998, pág. 744-747; Ramotowski et al, 1997, pág. 131-139; Lennard et al, 2005, pág. 43; Almog et al, 1999, pág. 114-118).

La 1,2-indanodiona revela más huellas dactilares que el DFO, ninhidrina o la secuencia combinada de DFO y ninhidrina (Wiesner et al, 2001, pág. 1082-1084; Lennard et al, 2005, pág. 43). La secuencia de indanodiona-DFO es capaz de visualizar las huellas dactilares latentes aún más que la 1,2-indanodiona sola (Roux et al., 2000, pág. 761-769) y la indanodiona también puede mejorar las huellas dactilares reveladas con ninhidrina (Kasper et al., 2002). Sin embargo, el tratamiento de ninhidrina de las impresiones reveladas con indanodiona no proporciona una mejora adicional (Wiesner et al., 2001, pág. 1082-1084).

Por último, en una nota un tanto negativa, Wilkinson et al. tuvieron resultados muy pobres con la indanodiona para un estudio llevado a cabo a lo largo de Canadá (Wilkinson et al., 2003, pág. 8-18).

## 7.7 5-Metiltioninhidrina (5-MTN)

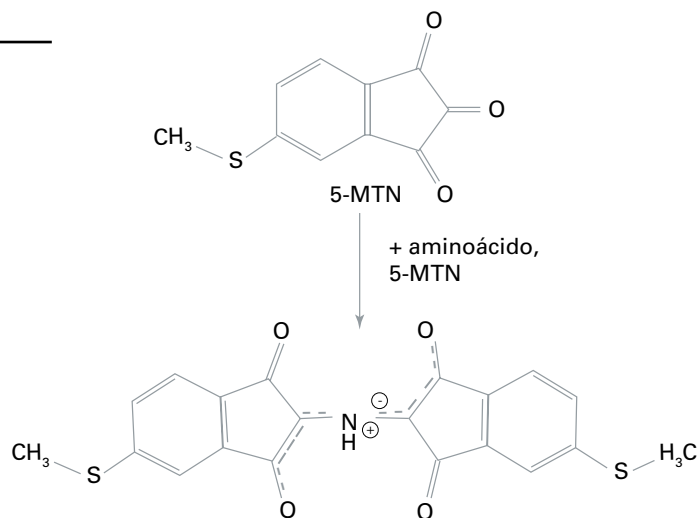
La 5-Metiltioninhidrina (5-MTN) se preparó primero y se aplicó como un reactivo de huellas dactilares en 1990 como parte de un proyecto del Servicio Secreto (Cantu et al., 1993, pág. 44-46). Este análogo reacciona con aminoácidos en una manera idéntica a la ninhidrina debido a que el reactivo, núcleo cromogénico de la molécula, no se cambia por la adición del grupo de azufre (Figura 7-9) (Elber et al., 2000, pág. 757-760). Como resultado, la 5-MTN reveló huellas dactilares que son una sombra de púrpura similar a las reveladas con ninhidrina.

El revelado de las huellas dactilares tratadas con 5-MTN requiere calor y humedad, lo mismo que el revelado con ninhidrina. Éste puede ser entregado en la misma manera descrita anteriormente para la ninhidrina o mediante la exposición de microondas durante 2-3 minutos tratada junto con un recipiente de agua (Almog et al., 1992, pág. 688-694). Se debe tener cuidado para evitar el sobrecalentamiento de la muestra, ya que puede ocurrir un revelado de fondo significativo. La huella dactilar resultante debe aparecer de color púrpura oscuro, similar a una huella dactilar revelada con ninhidrina.

En el tratamiento con una sal de zinc, la huella dactilar revelada con 5-MTN cambia de color de púrpura a rosa (Almog et al., 1992, pág. 688-694). Acompañando este cambio se encuentra una fuerte fluorescencia a temperatura ambiente cuando es estimulada por luz a 520 nm y vista a través de un filtro de 590 nm (Cantu et al, 1993, pág. 44-66.; Almog et al, 1992, pág. 688-694), con una intensidad que

**FIGURA 7-9**

*Estructura de la 5-Metiltioninhidrina y su producto de reacción con aminoácidos.*



es comparable a la del DFO. Esto es una ventaja evidente sobre el uso continuo de ninhidrina (Cantu et al., 1993, pág. 44-66). Un estudio reciente confirmó que la 5-MTN podría superar a la ninhidrina, pero produce resultados fluorescentes más pobres que el DFO o la 1,2-indanodiona (Wallace-Kunkel et al., 2006, pág. 4-13). La fluorescencia se vuelve aún más intensa si la prueba se enfría a temperaturas de nitrógeno líquido, pero este paso no es necesario (Almog et al., 1992, pág. 688-694).

La 5-MTN se puede sintetizar en operaciones a pequeña escala en el laboratorio forense siguiendo métodos descritos en la literatura (Heffner y Joullié, 1991, pág. 2231-2256; Della et al, 1999, pág. 2119-2123). Alternativamente, puede obtenerse por parte de proveedores comerciales forenses. Sin embargo, algunos proveedores ofrecen el hemiacetal etanólico de la 5-MTN, que se disuelve más fácilmente pero puede requerir alguna alteración de la formulación dada (Sección 7.14) para asegurar la concentración apropiada de 5-MTN en la solución (BVDA, 2010).

## 7.8 Modificaciones para el uso en Papeles Tratados Químicamente

### 7.8.1 Papeles Tratados Químicamente

El papel tratado químicamente es una clase que abarca el papel térmico y los papeles especiales sin carbón (Stimac, 2003a, pág. 185-197). Estos papeles no pueden

ser tratados con las formulaciones de reactivos de aminoácidos convencionales descritos anteriormente porque los disolventes polares reaccionan desfavorablemente con los tratamientos químicos aplicados al papel durante la fabricación. Esta interacción no deseada con frecuencia hace que la superficie del papel tienda a ennegrecerse, borrando las evidencias documentales que el papel contenía (Stimac, 2003a, pág. 185-197). Para abordar esta limitación, varias formulaciones libres de disolventes o de baja polaridad se han ideado para el tratamiento de estos sustratos difíciles.

### 7.8.2 Aplicación del DFO al Papel Tratado Químicamente

El DFO se puede aplicar a papel tratado químicamente por un proceso conocido como "Secado de DFO" (Bratton y Juhala, 1995, pág. 169-172). Esta técnica no requiere la aplicación de un disolvente a la prueba que se encuentra bajo examinación. En lugar de ello, el papel de filtro se impregna con una solución de 1 g de DFO en 200 ml de metanol, 200 ml de acetato de etilo y 40 ml de ácido acético. El papel de filtro seco se aplica a la exposición, una toalla se coloca en la parte superior y una plancha de vapor llena con solución de ácido acético al 5% se aplica durante un minuto. Esto transfiere el DFO a la prueba y proporciona el calor para el revelado. Esta técnica resulta en un cambio de color menos prominente, pero igual de fluorescente que los métodos basados en disolventes (Bratton y Juhala, 1995, pág. 169-172).





### 7.8.3 Técnicas de Ninhidrina

**7.8.3.1 Secado de ninhidrina.** Este método fue descrito en 1996 (McMahon, 1996, pág. 4-5) y es similar al proceso del "Secado de DFO" descrito anteriormente. El papel secante o filtro se empapa en una solución de 30-50 g de ninhidrina disuelta en 1.5 L de acetona y se deja secar. Una prueba se coloca entre dos hojas de papel impregnado y luego se sella en una bolsa de plástico durante 3 días a 1 semana. Esta técnica revela huellas dactilares de alto contraste, manteniendo la integridad y el aspecto del documento y es aplicable a cualquier tipo de papel frágil, incluidos los papeles tratados químicamente.

**7.8.3.2 Extracción de ninhidrina.** El método propuesto por Schwarz y Frerichs (2002, pág. 1274-1277) y descrito anteriormente se puede aplicar a papeles tratados químicamente sin pérdida de detalle en el documento.

**7.8.3.3 Solución no polar.** Una solución de ninhidrina se puede preparar en una mezcla de los disolventes no polares HFE 711PA y HFE 7100. La muestra se sumerge en la solución activa y se deja revelar en condiciones húmedas y oscuras durante 2-3 días, evitando altas temperaturas (Stimac, 2003a, pág. 185-197).

### 7.8.4 Formulación de la Indanodiona

La indanodiona es suficientemente soluble en disolventes no polares, se puede aplicar de manera efectiva a papel térmico sin causar ningún ennegrecimiento (Stimac, 2003b, pág. 265-271). La muestra se sumerge en la solución preparada y se deja actuar durante al menos 1 día, en condiciones frías y oscuras. La fluorescencia se induce como se describió anteriormente.

### 7.8.5 2-Isonilninhidrina (INON)

La 2-Isonilninhidrina, también conocida como INON, o comercialmente como ThernaNin, es un derivado de la ninhidrina con gran aumento de solubilidad en disolventes no polares (Takatsu et al., 1991; Joullié, 2000). Este compuesto, que es un producto de la reacción entre 3,5,5-trimetil-1-hexanol y ninhidrina (Almog, 2001, pág. 177-209; Hansen y Joullié, 2005, pág. 408-417; Takatsu et al., 1992), tiene la estructura química que se muestra en la Figura 7-10.

Las soluciones de este reactivo no tienen una larga vida útil, por lo que las soluciones de trabajo deben ser preparadas según sea necesario (BVDA, 2010).

La solución de 2-isonilninhidrina se aplica al papel tratado químicamente mediante la inmersión de la muestra en la solución en una bandeja de aluminio o de plástico. Se permite que la prueba se seque y se revele en condiciones húmedas y oscuras durante 24-48 horas. Bajo estas condiciones, el hemiacetal de ninhidrina reacciona con el agua absorbida por el papel para formar ninhidrina y 3,5,5-trimetil-1-hexanol. La ninhidrina liberada reacciona lentamente con los residuos en la huella dactilar para revelar una impresión que es menos intensamente coloreada que una impresión tradicionalmente revelada con ninhidrina. Esto puede ser debido a la concentración relativamente más baja de ninhidrina presente después de que ocurra la reacción de hidrólisis (Al Mandhri y Khanmy-Vital, 2005).

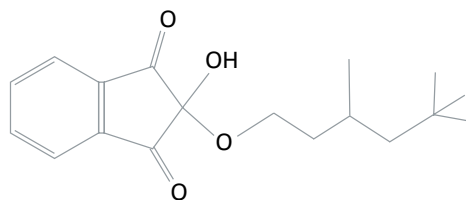
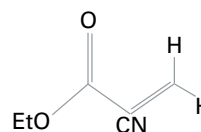
## 7.9 Extracción de Cianoacrilato

### 7.9.1 Antecedentes

El adhesivo comercial líquido, súper pegamento (*super glue*, por su nombre en inglés), se desarrolló de forma inadvertida en la década de 1950 por investigadores que estaban tratando de desarrollar un polímero acrílico para la industria aeronáutica. Además de su uso como un pegamento, el adhesivo de CA también encontró uso como un vendaje de emergencia en Vietnam en la década de 1960, aunque nunca recibió aprobación de la FDA para este uso. A finales de 1970, investigadores de Japón y el Reino Unido descubrieron casi al mismo tiempo las capacidades de revelado de huellas dactilares latentes de los vapores del adhesivo líquido. Poco después, los examinadores de huellas latentes del Laboratorio de Investigación Criminal del Ejército de Estados Unidos en Japón y la Oficina de Alcohol, Tabaco y Armas de Fuego introdujeron esta técnica para América del Norte. Una vez que la extracción de CA resultó práctica, con la introducción de métodos para hacer la técnica más rápida y más eficaz, rápidamente ganó aceptación en todo el mundo (Alemania, 2005; Jueneman, 1982, pág. 15).

Desde aquellos primeros descubrimientos, innumerables crímenes han sido resueltos a través del uso rutinario de la extracción del éster de CA (por lo general metilo o etilo) de las pruebas y una cantidad considerable de investigaciones se han dirigido a identificar el entorno ideal para la técnica.

Hoy, la extracción de CA siendo una técnica de desarrollo versátil y eficaz en todas las superficies prácticamente no

**FIGURA 7-10***Estructura de la 2-isononilhidrina (INON).***FIGURA 7-11***Monómero del etilo de Cianoacrilato.*

porosas, incluyendo vidrio, metal, papeles recubiertos y todas las formas de plásticos. El método es particularmente eficaz en superficies rugosas, donde el contacto físico con un cepillo de huellas dactilares tiende a desarrollar la textura del material junto con las huellas dactilares latentes. Los vapores de CA son extremadamente sensibles a los residuos de la huella dactilar, adaptables a muchas situaciones diferentes en la escena del crimen y en laboratorio, y son relativamente baratos de emplear.

Los estudios sobre los iniciadores de polimerización explícita y el rol del agua en el revelado de las huellas latentes están en curso. Estos estudios deberían eventualmente conducir a una mejor comprensión de la polimerización de la impresión latente, a medida que se relaciona con la composición de la impresión latente, pH, envejecimiento y humedad.

### 7.9.2 Teoría

El revelado de impresiones latentes con súper pegamento o CA se explica mejor como un proceso de tres etapas para producir el crecimiento del polímero, lo que permite la visualización de la impresión latente.

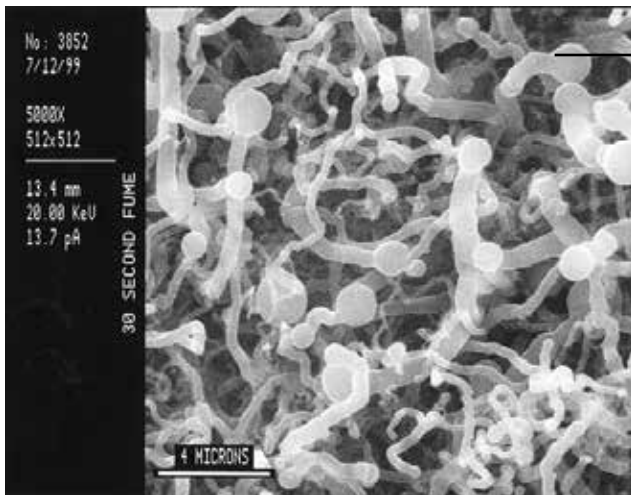
La primera etapa se produce cuando los vapores de monómeros del éster de CA (vea el diagrama del monómero del etilo de CA en la Figura 7-11) se introducen a las huellas dactilares latentes y se unen rápidamente con sus iniciadores en el residuo. En la segunda etapa, el monómero en el residuo de la huella dactilar reacciona con otro monómero de CA en la fase de vapor para formar un

dímero en la impresión. Este reacciona con otro monómero, y otro, formando un polímero, una larga cadena de moléculas de CA. La fase final es cuando se termina la reacción en la cadena del polímero. El tiempo total de revelado es rápido, especialmente cuando se acelera la volatilización del pegamento líquido (Lewis et al., 2001, pág. 241-246). El proceso de polimerización puede, sin embargo, reiniciar más tarde si las huellas dactilares demuestran ser poco reveladas con la primera exposición a los humos.

Las impresiones completamente reveladas con CA son una matriz tridimensional blanca, a menudo visible a simple vista, y puede mejorarse aún más con una variedad de técnicas. Las impresiones reveladas con CA son generalmente más duraderas que las huellas dactilares no tratadas, debido a la plastificación de la impresión. Gracias a esto, algunos expertos recomiendan el tratamiento de CA en el campo antes del envasado de pruebas para proteger las huellas dactilares frágiles durante el transporte y almacenamiento (Perkins y Thomas, 1991, pág. 157-162).

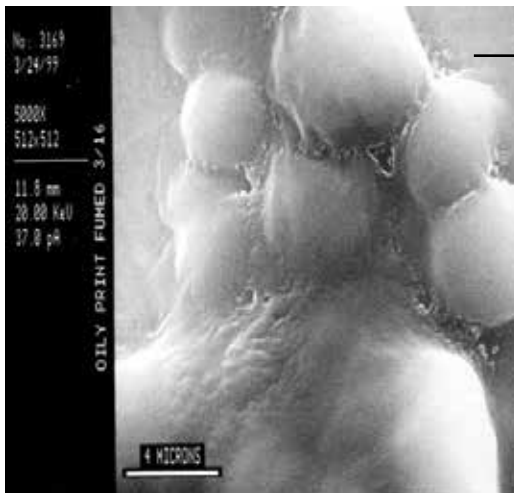
Para las huellas dactilares normales sudoríparas ecrinas, el CA polimerizado bajo condiciones ambientales de laboratorio aparece como estructuras fibrosas en forma de fideo cuando se observa con un microscopio electrónico de barrido (SEM) (Figura 7-12). Estas morfologías del polímero cambian, sin embargo, cuando se alteran las variables tales como la edad de la huella latente, la composición de los residuos y las condiciones ambientales.

Lewis et al. (2001, pág. 241-246) observaron diferencias entre los residuos de huellas latentes limpias y aceitosas,

**FIGURA 7-12**

*Microscopía electrónica de barrido de residuo aceitoso de cianoacrilato polimerizado ecrino. (Reproducido con permiso de la Revista de Ciencias Forenses, 46 (2), derechos de autor de ASTM International, 100 Barr Harbor Drive, West Conshohocken, PA 19428.)*

*Extracción de 30 segundos*

**FIGURA 7-14**

*(A) Impresión de Cianoacrilato (CA) polimerizado en una envolvedora de plástico. (B) Impresión de CA manchada con RAM\* y vista a 475 nm con un filtro de barrera color naranja.*

*\*RAM es una mezcla de manchas fluorescente de rodamina 6G, Ardox y 7-(p-metoxibenzilamino)-4-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazol (MBD).*

y los efectos del envejecimiento en cada una. Las huellas latentes que carecen de sebo (impresiones limpias) tendieron a sufrir los efectos del envejecimiento en mucha mayor medida que las impresiones que contienen sebo (impresiones aceitosas, Figura 7-13). Después de 1 día de envejecimiento, las impresiones limpias mostraron una tendencia a alejarse de la morfología fibrosa mencionada anteriormente hacia estructuras poliméricas que parecían redondeadas bajo SEM. Las impresiones limpias también se volvieron difíciles, si no imposibles, de revelar después de un período de sólo 2 semanas, mientras que las impresiones contaminadas con sebo produjeron el crecimiento del polímero fueron distinguibles por períodos de hasta 6 meses. Lewis et al. (2001, pág. 241-246) también observaron que un ambiente de baja humedad durante el envejecimiento de la huella latente tuvo un impacto notable y adverso en el desarrollo de CA, mientras que las impresiones menores de alta humedad duraron más tiempo y produjeron polimerización de mayor calidad.

Curiosamente, las impresiones latentes reveladas en una cámara de vacío también producen formaciones esféricas lisas o de tipo cápsulas observadas con SEM y tienden a ser más translúcidas a simple vista (Watkin et al., 1994, pág. 545-554). Esto puede ser debido en parte a exponer la impresión al medio ambiente cercano a humedad cero del aspirador, presumiblemente eliminando la humedad de las huellas dactilares. El papel de la humedad en el revelado con CA de impresiones latentes no se entiende en este momento. A mediados de la década de 1990, Kent observa empíricamente que los ambientes húmedos superaron los entornos de vacío en el revelado de impresiones latentes con CA (Kent y Winfield, 1995; Kent, 2005, pág. 681-683), mientras que Lewis et al. (2001, pág. 241-246) observaron que la humedad durante el proceso de envejecimiento de la impresión latente tuvo un efecto mayor que durante la polimerización. Claramente, el papel de la humedad durante el envejecimiento y la polimerización debe examinarse más.

Hace muy poco que se entiende a los iniciadores reales que causan la polimerización de la impresión latente. Originalmente, se creía que el CA reaccionó principalmente con el agua en el residuo de la huella dactilar (Jueneman, 1982, pág. 15). Sin embargo, la investigación actual indica que las aminas solubles en agua y los grupos carboxílicos en el residuo de la impresión latente son los iniciadores principales de polimerización del CA. Estos dos grupos, cada uno produce pesos moleculares de crecimiento significativamente más altos del polímero que el agua sola. Además, las aminas y el ácido carboxílico se polimerizan en ausencia de cualquier agua, dejando poco claro el rol del agua durante el proceso de envejecimiento y revelado (Wargacki et al., 2005).

El pH de la humedad a la que las impresiones latentes están expuestas antes del tratamiento con CA también puede desempeñar un papel importante al rejuvenecimiento de impresiones latentes antes del proceso de polimerización. Las impresiones latentes que están expuestas a vapores de ácido acético y luego a CA extraído han demostrado pesos moleculares más altos que los no expuestos. Por el contrario, la humedad básica producida con vapores de amoníaco también parece mejorar el revelado con CA. La investigación actual deja claro que los ambientes de ácidos y de humedad básica mejorarán individualmente el crecimiento del polímero de la impresión latente, siendo la mejora ácida la más eficaz. Aunque el mecanismo real no se entiende completamente, se cree actualmente que la exposición a vapores de amoníaco aumenta principalmente la funcionalidad de los grupos amina, mientras que los vapores de ácido acético influyen favorablemente los iniciadores carboxílicos más robustos (Wargacki et al., 2005).

### 7.9.3 Aplicación

Es importante mencionar que el CA líquido y sus vapores pueden causar daño agudo a la piel, los ojos y las membranas mucosas, y los efectos de la exposición a largo plazo no se conocen completamente. El usuario debe tener cuidado de utilizar la ventilación adecuada y el equipo de protección personal y de practicar siempre una manipulación segura. Todas las advertencias del fabricante, incluidas las que figuran en las hojas de datos de seguridad, debe prestárseles atención durante el uso.

El resultado ideal del revelado con CA es la polimerización en la impresión latente que dispersa la luz suficiente y no cubre el fondo, haciendo que la impresión blanca sea ligeramente visible contra el sustrato. Este tipo de revelado

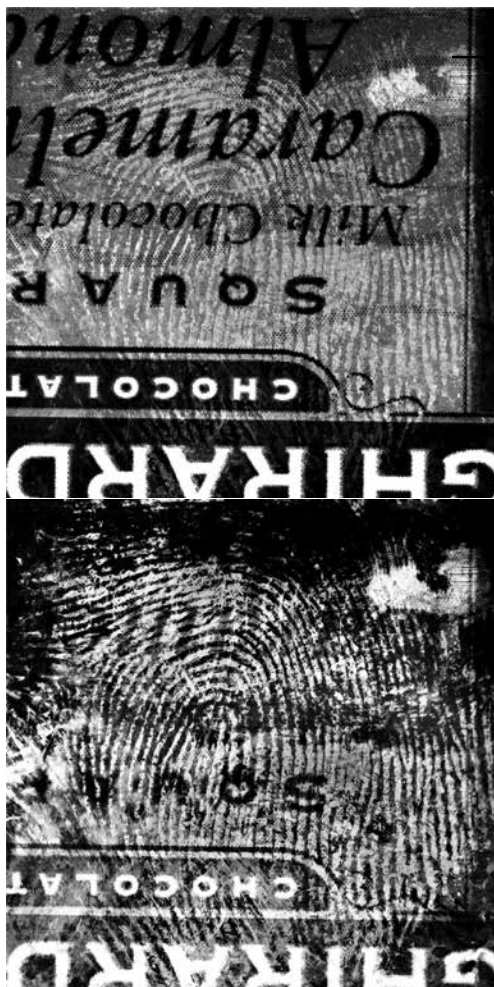
“mínimo” produce la mayor cantidad de detalle, especialmente cuando se usa en conjunción con las manchas de tinte fluorescentes (Figura 7-14). La extracción en exceso dejará impresiones que asemejan a una forma “congelada” con una falta de detalle de los bordes, lo cual hará difícil de diferenciarse de fondo también revestido con polímero de CA.

A veces, dependiendo de la composición latente y las condiciones ambientales, las impresiones reveladas aparecerán translúcidas o vidriosas en naturaleza y van a ser muy difíciles de detectar sin la iluminación específica o tinción de colorante fluorescente. De hecho, la mayoría de impresiones se mejorarán de alguna forma antes del registro.

La extracción con CA puede ser tan simple y barata como la vaporización de pegamento en una pecera con una tapa hermética o tan elaborada como el uso de una cámara diseñada comercialmente con controles de temperatura y humedad dinámicas. Ambos sistemas están diseñados para lograr el mismo resultado: la vaporización de pegamento líquido en un medio ambiente adecuado para la polimerización del CA en las impresiones latentes.

Un enfoque común y eficaz para la volatilización de CA es calentar una pequeña cantidad de pegamento líquido (aproximadamente 0.5 g o menos) en un plato de evaporación de aluminio en un calentador o una taza para café caliente. Se prefiere un plato de aluminio, ya que inhibe la polimerización (Olenik, 1983, pág. 9-10). Los gases calientes se elevan pero pronto caen al fondo de la cámara como conjuntos de refrigeración. Por lo tanto, un ventilador de circulación se utiliza a menudo durante la extracción para mantener los vapores uniformemente dispersos alrededor de la evidencia en todos los niveles del tanque. Las impresiones que se determine serán más tarde sub extraídas y podrán ser extraídas de nuevo, y en efecto reiniciar el proceso de polimerización.

Un segundo enfoque para la vaporización de CA utiliza una vara de extracción disponible comercialmente. Estas varas suelen utilizar gas butano para calentar un pequeño cartucho de latón que contiene CA etílico (Weaver y Clary, 1993, pág. 481-492). Las extracciones del cartucho calentado en el extremo de la vara pueden ser dirigidas hacia la evidencia o utilizadas para rellenar una cámara. La desventaja de usar una vara de extracción en un entorno abierto es que las corrientes de aire barren fácilmente los vapores de CA lejos de las pruebas, haciendo que el revelado sea difícil de controlar. El uso de una vara fuera una campana



**FIGURA 7-14**

(A) Impresión de Cianocrilato (CA) polimerizado en una envolvedora de plástico. (B) Impresión de CA manchada con RAM\* y vista a 475 nm con un filtro de barrera color naranja.

\*RAM es una mezcla de manchas fluorescente de rodamina 6G, Ardox y 7-(p-metoxibenzilamino)-4-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazol (MBD).

de extracción también presenta algunos desafíos de salud y seguridad que deben ser considerados (Froude, 1996, pág. 19-31).

La vaporización también se puede lograr sin una fuente de calor externa. En lugar de ello, la aceleración química se produce por la reacción exotérmica que se puede lograr mediante el vertido de pegamento líquido sobre una almohadilla de alto contenido de celulosa previamente tratada con hidróxido de sodio. El pretratamiento implica simplemente una bola de algodón preparado con unas pocas gotas de solución de NaOH.

La extracción del CA sin aceleración se puede lograr mediante el aumento de la superficie total del pegamento líquido, aumentando así la velocidad de evaporación. Una forma de lograr esto es emparedar un cordón de pegamento líquido entre dos láminas de papel de aluminio (Olenik, 1989, pág. 302-304). Las láminas se prensan juntas y un rodillo de tinta se utiliza para dispersar uniformemente el

pegamento en una capa fina a través de todo el interior de las superficies de aluminio. Estas láminas se abren y se colocan dentro de una cámara, exponiendo al aire las capas relativamente volátiles de pegamento. El tiempo de revelado del CA utilizando este método puede variar significativamente con el tamaño de la cámara.

La extracción en una cámara de vacío también se ha sugerido como un método para aumentar la volatilidad del CA (Campbell, 1991, pág. 12-16; Yamashita, 1994, pág. 149-158; Harvey et al, 2000, pág. 29-31; Bessman et al., 2005, pág. 10-27). La presión atmosférica reducida disminuye el punto de ebullición del pegamento líquido y puede vaporizarse más rápidamente a temperatura ambiente. La presión negativa también elimina la humedad en el tanque, la cual afecta a la apariencia general de las impresiones reveladas. Las impresiones reveladas en un entorno de vacío a menudo aparecen translúcidas, haciéndolas difíciles de detectar sin manchas de colorante líquido (Watkin et al., 1994, pág. 545-554). Sin embargo, algunos investigadores

han encontrado que esta práctica es menos efectiva que el uso de entornos de humedad controlada (Kent y Winfield, 1995; Kent, 2005, pág. 681-683).

Aunque se prefiere el revelado con CA sea en una cámara de laboratorio, las cámaras improvisadas en el campo también se pueden crear fácilmente. Las cámaras incluyen cajas de cartón, pequeños cuadros con láminas de plástico transparente, grandes tiendas de campaña, interiores de vehículos, e incluso cuartos enteros (Weaver, 1993, pág. 135-137; Bandey y Kent, 2003). La más común de estas cámaras de campo es probablemente el interior del automóvil. Un método de extracción consiste en colocar una placa caliente (alcanzando aproximadamente 60°C) en el centro del vehículo, con aproximadamente 1 g de pegamento en un plato de evaporación. El interior es entonces sellado, cerrando todas las puertas y ventanas. Los vapores del pegamento calentado llenan rápidamente el interior del vehículo, revelando las impresiones. Este proceso dura aproximadamente 10-30 minutos, aunque la duración de tiempo es variable. En algunos casos, a fin de no destruir todo el vehículo, partes del vehículo pueden ser quitadas y extraídas por separado (por ejemplo, el volante, espejo).

En algunas instancias, la extracción de CA de un arma de fuego puede interferir en las examinaciones de armas de fuego subsecuentes. Los examinadores de armas de fuego pueden ser consultados antes de cualquier procesamiento de CA (Rosati, 2005, pág. 3-6).

Los tiempos de extracción dependen del tamaño de la cámara, la cantidad de pegamento, la temperatura de la fuente de calor y la naturaleza del sustrato y el residuo de la impresión latente. Bajo todas las condiciones, la extracción debe terminarse poco después de la aparición de los primeros signos de huellas dactilares en la cámara que vigilará el revelado de las impresiones. Esto no solo ayuda a determinar cuando el procesamiento debe cesar pero también actúa para asegurar que el quipo esté funcionando adecuadamente. La extracción puede reiniciarse después si las impresiones parecen no estar del todo reveladas.

### 7.9.4 Mejoramiento

Una vez que se han revelado las impresiones, se pueden mejorar ópticamente con técnicas de iluminación oblicuas, axiales, reflejantes y transmitidas; mejorarse químicamente con las manchas de tinte fluorescentes; y mejorarse físicamente con la aplicación de polvo de huellas dactilares, en ese orden. La tinción de colorante fluorescente y el exa-

men con una fuente de luz láser o forense suele producir los resultados más dramáticos; sin embargo, no todas las impresiones polimerizadas con CA aceptarán las manchas de tinte.

La tinción de colorante simplemente requiere la preparación de una mancha fluorescente comercialmente disponible en solución y su aplicación a las huellas dactilares polimerizadas. Para una referencia completa de recetas de tinción con manchas fluorescentes, consulte la Guía de Procesamiento para el Revelado de Impresiones Latentes del FBI (*FBI Processing Guide for Developing Latent Prints*) (Trozzi et al., 2000) o el manual de *Home Office* (Kent, 1998, 2004). Una vez que se elige una solución de colorante, se aplica a las superficies no porosas tratadas con extracción de CA por inmersión o utilizando una botella de lavado para rociar. Se cree que las impresiones polimerizadas por tinción de colorante funcionan como un tamiz molecular, donde las moléculas de colorante se atascan en el polímero llenando vacíos en el compuesto (Menzel, 1999, pág. 162). Por esta razón, es importante enjuagar adecuadamente la superficie que lleva las huellas dactilares con las manchas de colorante. El resultado será una impresión que produce intensa fluorescencia cuando se ve con una fuente de luz forense o láser (Figura 7-14). En esta etapa, la fotografía adecuada puede ir más allá de simplemente documentar la imagen para mejorar la visibilidad de la impresión fluorescente mediante el registro de detalle imperceptible a simple vista.

La pulverización es también una buena manera de visualizar y documentar impresiones polimerizadas. A menudo, las impresiones son lo suficientemente resistentes para que pueden ser cepilladas repetidamente con polvo de huellas dactilares y levantarse con cinta hasta que se logre el contraste justo en el levantamiento (Illsley, 1984, pág. 15).

### 7.9.5 Conclusión

La extracción de CA es un método probado y eficaz para revelar las impresiones de huellas latentes que contienen residuos ecrinos y sebáceos, que ha estado en uso desde finales de la década de 1970. Las moléculas de CA se unen al residuo a través de la polimerización para formar un compuesto visible y duradero que puede ser mejorado y registrado por fluorescencia, fotografía y levantamiento. Se están realizando investigaciones en la química y la mecánica reales de la reacción del CA. Actualmente, la técnica acelerada por calor en alto grado de humedad controlada



(humedad relativa del 60-80%) es a menudo el método sugerido de aplicación. También se recomienda que el revelado con CA se lleve a cabo poco después del depósito de huellas dactilares para resultados máximos. Aunque la extracción de CA ha demostrado ser eficaz para las duraciones de tiempo considerables después del depósito, la extracción con CA antes del envasado de evidencia también puede ser un medio eficaz para la estabilización de impresiones latentes frágiles durante el almacenamiento y el transporte.

## 7.10 Examinación de Fluorescencia

### 7.10.1 Antecedentes

Ya en 1933, la examinación de fluorescencia con luz UV se sugirió como método de visualización de huellas latentes espolvoreadas con polvo de antraceno en superficies multicolores (INBAU, 1934, pág. 4). Antes de finales de la década de 1970, el polvo fluorescente UV se utilizaba de vez en cuando y parece haber sido el único método fluorescente creíble de detección de impresiones latentes. En 1976, los investigadores del Centro de Investigación de Xerox en Canadá descubrieron la inherente fluorescencia de la impresión latente a través de la continua iluminación laser de ondas de iones de argón. Poco después, se identificó la primera impresión latente en un caso penal, utilizando luminiscencia inherente mediante excitación láser (huella dactilar en cinta aislante color negro) (Menzel y Duff, 1979, pág. 96).

Desde finales de la década de 1970, los avances en la tecnología de detección de fluorescencia han contribuido enormemente a la caza de los muchos tipos de pruebas forenses. Hoy en día, la evidencia que sería apenas perceptible o incluso invisible a la luz normal se intensificó de forma rutinaria por fluorescencia. Las manchas de sangre, semen, contusiones, fragmentos de hueso, documentos cuestionados, residuos inflamables, fibras y huellas dactilares todos ameritaron un examen con una fuente de luz forense o láser.

### 7.10.2 Teoría

La luz visible se compone de la radiación electromagnética de diferentes colores y longitudes de onda. Cuando la luz pasa a través de un prisma, se separa espacialmente de acuerdo con las longitudes de onda, lo que resulta en los colores clásicos del arco iris. La luz violeta tiene la mayor

energía y la longitud de onda más corta (aproximadamente 400 nm, donde un nanómetro es la mil millonésima parte de un metro), mientras que la luz roja tiene la energía más baja y la longitud de onda más larga (aproximadamente 700 nm), el verde, amarillo y naranja siendo intermedios en energía y longitud de onda (Champod et al., 2004, pág. 41-76).

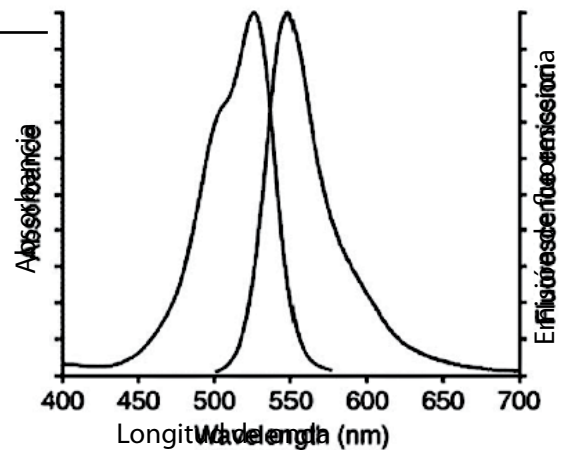
Los átomos y las moléculas tienen diferentes arreglos únicos de electrones alrededor de su núcleo, que corresponden a diferentes "niveles de energía" discretos. Cuando la luz incide sobre una superficie, un fotón de luz se absorbe si la energía del fotón coincide exactamente con la diferencia de energía entre dos de los niveles de energía de las moléculas de la sustancia de la superficie. Si la luz de un color o una energía particular no coinciden con la diferencia de energía, se refleja. El color de la superficie se compone de los colores de la luz que se reflejan y no del color que corresponde a las longitudes de onda de luz que son absorbidos. Los objetos que son de diferentes colores están absorbiendo y reflejando las diferentes longitudes de onda de la luz. Por ejemplo, la clorofila, la cual da a las hojas su color verde, absorbe fuertemente en los extremos rojo y azul del espectro visible, pero refleja la luz verde. Vemos el mundo mediante la observación de las longitudes de onda de luz que se refleja en los objetos que nos rodean.

Después de que una molécula absorbe la luz y se eleva a un nivel de energía más alto, tiende a relajarse de nuevo al nivel más bajo o "estado fundamental" por el desprendimiento de energía en forma de calor, generalmente a través de colisiones con otras moléculas. En algunas moléculas, sin embargo, el exceso de energía absorbida se emite en forma de luz. Esta es la fotoluminiscencia. Si la emisión es inmediata, se denomina fluorescencia. Si vive de más, es fosforescencia. La fluorescencia se detiene en nanosegundos cuando la fuente de luz forense está apagada, mientras que la fosforescencia continuará. Los números brillantes de un temporizador del cuarto oscuro son un ejemplo de fosforescencia.

La molécula excitada perderá algo de su energía antes de que emita luz como fotoluminiscencia. Como resultado, la luz emitida es de un color o longitud de onda diferente de la luz de excitación (Figura 7-15). La fluorescencia se dice que "se desplazó al rojo," lo que significa que es el lado rojo del espectro electromagnético en relación con la luz incidente desde la fuente de luz forense. La diferencia en las longitudes de onda de la luz excitante y emitida se denomina desplazamiento de *Stokes*. Cuando se utiliza la fluorescencia para ver una huella dactilar, los filtros de visión o de barrera

**FIGURA 7-15**

*Espectro de absorción y emisión de la rodamina 6G.*



bloquean las longitudes de onda de la luz reflejada desde la fuente de luz al tiempo que permiten que las longitudes de onda fluorescentes pasen a través de ellos.

La examinación la fluorescencia de las impresiones latentes es extremadamente sensible (Menzel, 1999, pág. 5). Mediante el uso de los filtros de barrera correctos que bloqueen la luz de la fuente de luz forense que se utiliza, pero no la fluorescencia, se puede observar una proporción muy alta de señal a ruido. Si hay química fluorescente sólo en la huella dactilar, el fondo no emite ninguna señal, y la impresión se ve que con facilidad brilla intensamente contra un fondo negro.

Los exámenes de huellas dactilares pueden producir fluorescencia a partir de cuatro fuentes:

- Constituyentes nativos en los residuos de impresión latente
- Sustancias extrañas recogidas por la mano y que se transfieren a través del depósito
- Mejora intencional de la química
- Fluorescencia del sustrato (fondo)

Algunas investigaciones han sido dirigidas a la identificación de luminiscencia "nativa" o inherente en los residuos de huellas dactilares. Esta fluorescencia es típicamente débil y se cree que proviene de compuestos tales como la riboflavina y piridoxina (Dalrymple et al., 1977, pág. 106). Los contaminantes extraños en los residuos de huellas dactilares, tales como alimentos o residuos de medicamentos, también pueden aparecer luminiscentes. El tratamiento por medios químicos y físicos diseñados para

producir fluorescencia; sin embargo, se considera generalmente como el más productivo. Los resultados dramáticos se consiguen de forma rutinaria mediante el uso de polvos fluorescentes, manchas de tinte y reactivos químicos.

### 7.10.3 Aplicación

El uso de láseres y fuentes de luz forenses plantean peligros reales y, a veces, irreversibles en la salud. Los láseres pueden generar suficiente intensidad que la luz incluso incidental o reflejada puede dañar los ojos sin protección. Las lámparas filtradas también producen luz intensa y, además, algunas van a generar radiación UV peligrosa. La protección adecuada para los ojos debe ser utilizada en coordinación con las longitudes de onda de excitación que se emplea. Por favor, lea todas las advertencias del fabricante antes de usar cualquier fuente de luz forense.

Para visualizar las impresiones latentes mediante fluorescencia, un ancho de banda específico de radiación debe hacerse brillar tanto en una impresión latente no tratada o una tratada con un producto químico fluorescente. Las longitudes de onda elegidas serán determinadas por los químicos involucrados y la naturaleza del sustrato luminiscente. La evidencia se examina a continuación, a través de gafas de visión (Figura 7-16) o placas de filtro que bloquean la luz incidental desde la fuente de luz forense. Estas gafas actúan como un filtro de barrera y son fundamentales en la separación de la luz incidente generada por la fuente de luz y la señal fluorescente débil emitida por la impresión latente. Esta separación de señales de luz incidente y emitida le dan al examen de fluorescencia su sensibilidad. Es importante utilizar las gafas correctas para obtener los resultados óptimos, así como por consideraciones de salud y seguridad.



**FIGURA 7-16**

Gafas.



La excitación UV única no requiere necesariamente de gafas de visualización debido a la invisibilidad de la iluminación incidente al ojo humano; sin embargo, las gafas de protección, que pueden incluir lentes de policarbonato transparente, se deben utilizar durante el examen de evidencias para proteger los ojos contra la radiación UV reflejada. No todas las fuentes de luz UV producen UV pura y se requerirá de un filtro de visualización amarillo si la luz visible está presente. La fotografía de fluorescencia excitada de UV única también puede requerir el filtro de barrera UV correcto en la cámara sensible a la luz incidente, incluso cuando el ojo humano no lo es. Ropa protectora debe ser utilizada para minimizar la exposición de la piel a la radiación UV.

En general, los filtros amarillos se utilizan para longitudes de onda de luz incidente de UV a 445 nm, filtros de color naranja para fuentes de luz de 445-515 nm y filtros rojos de 515 a 550 nm. Las gafas y filtros específicos variarán en valores de transmisión y deben ser adaptados a la fuente de luz que se utiliza. Las gafas de visualización están disponibles a través de compañías de láser y luz forense y la mayoría distribuidores de suministros forenses.

Una vez que se observa una imagen fluorescente, a veces puede ser "afinada" ajustando las longitudes de onda de excitación emitida por la fuente de luz, y el filtro de barrera utilizado para ver, para minimizar la fluorescencia de fondo y maximizar el contraste. La imagen resultante debe ser fotografiada utilizando un filtro fotográfico que transmita las mismas longitudes de onda que el filtro utilizado para la visualización.

### 7.10.4 Fuentes de luz

Las fuentes de luz utilizadas para generar estos anchos de banda estrechos vienen en diferentes variedades, incluyendo lámparas UV, lámparas filtradas y láseres. Cada una de

estas fuentes de luz tiene ventajas y desventajas, dependiendo de la finalidad prevista y el presupuesto que se tenga.

Recientemente, las fuentes de luz "alternativas" o "forenses" (lámparas filtradas) se han convertido en gran medida en las más confiadas por los laboratorios y en el lugar de los hechos a causa de las mejoras en la potencia, versatilidad, portabilidad y precio asequible en comparación con los láseres. Estas lámparas de alta intensidad utilizan filtros de pase largo, pase corto y paso de banda frente a un bulbo de xenón o un haluro de metal para producir la longitud de onda deseada para el examen de la evidencia (Wilkinson y Watkin, 1994, pág. 632-651; Wilkinson et al., 2002, pág. 5-15). Recientemente, se han introducido "linternas de mano" forenses, muchas basadas en tecnología de diodos emisores de luz (LED) (Wilansky et al., 2006).

Los láseres, por otra parte, en el pasado han sido menos portátiles y asequibles, pero generan considerablemente más energía que las lámparas filtradas. Los láseres son deseables cuando sólo se observa fluorescencia muy débil. Algunos ejemplos de fluorescencia débil incluyen la fluorescencia inherente del residuo de huellas dactilares latentes o huellas dactilares reveladas con reactivos tales como violeta cristal que emite una señal fluorescente muy débil. Los nuevos láseres (532 nm), que son refrigerados por aire y portátiles, han llegado recientemente al mercado. Para una discusión más amplia sobre tipos de láser, funcionalidad, usos y teoría, consulte *Fingerprint Detection with Lasers de Menzel* (Menzel, 1999, pág. 3-21) o la publicación de Home Office, *Fingerprint Detection by Fluorescence Examination* (Hardwick et al., 1990).

Además de simplemente detectar pruebas, una fuente de luz forense o láser es también a menudo un medio eficaz para la mejora de imagen. Esta mejora puede provenir de causar intencionalmente que un fondo sea fluorescente para aumentar el contraste entre una huella dactilar y su

sustrato, o desde el silenciamiento de patrón del fondo mediante la selección de un rango de longitud de onda que reduzca el color de fondo.

Las impresiones sangrientas son un buen ejemplo de la mejora a través de la absorción a una longitud de onda discreta. La longitud de onda máxima de absorción para sangre seca es de aproximadamente 420 nm. La iluminación en esta longitud de onda hace que las crestas manchadas de sangre aparezcan más oscuras. Si el fondo es fluorescente en este rango de longitud de onda, la impresión sangrienta será mejorada significativamente (Figura 7-17) (Stoilovic, 1991, pág. 289-296; Vandenberg y van Oorschot, 2006, pág. 361-370).

### 7.10.5 Polvos Fluorescentes, Manchas de Tinte y Reactivos

Se han desarrollado muchos procesos fluorescentes para ayudar al examinador forense con herramientas que vayan mucho más allá de utilizar una sola fuente de luz. Los polvos fluorescentes son abundantes y están ampliamente disponibles en las empresas de suministros forenses, con la mayoría de las empresas comercializando su propia marca en particular.

Las manchas de tinte tales como MBD [7-(p-metoxibencilamino)-4-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazol], rodamina 6G (R6G), Ardrox, amarillo básico y rojo básico se pueden preparar en el laboratorio y son extremadamente eficaces para mejorar

las huellas dactilares reveladas con cianoacrilato. Algunas de estas manchas de tinte se pueden combinar para producir una mancha con fluorescencia en un amplio espectro. Una de estas manchas es RAM, una combinación de R6G, Ardrox y MBD. Debido a que la mezcla RAM se puede utilizar en diferentes longitudes de onda, el practicante puede a menudo "afinar" antecedentes problemáticos mediante la selección de una longitud de onda que maximiza la fluorescencia de huellas dactilares y suprime la fluorescencia de fondo.

Los tratamientos para papel son igual de eficaces que los utilizados en superficies no porosas e incluyen ninhidrina tonificada con cloruro de zinc y análogos de ninhidrina: DFO, 1,2 indanodiona y 5-MTN (5-metiltioninhidrina).

Cuatro excelentes referencias que contienen recetas e instrucciones para reactivos fluorescentes son the *FBI Processing Guide for Developing Latent Prints* (Trozzi et al., 2000), the *Home Office Manual of Fingerprint Development Techniques* (Kent, 1998, 2004), *Fingerprints and Other Ridge Skin Impressions* (Champod et al., 2004, pág. 142–145, 228–229) y *Advances in Fingerprint Technology* (Lee and Gaensslen, 2001, pág. 105–175).

La Tabla 7-3 es una lista de reactivos comunes y sus correspondientes longitudes de onda de pico de absorción y emisión. La adherencia precisa a un pico de excitación y longitud de onda de absorción no siempre es posible (dependiendo de la fuente de luz disponible) y no siempre

**FIGURA 7-17**

*Imagen compuesta de una huella dactilar sangrienta en papel de copia. El lado izquierdo fue fotografiado a 415 nm. El lado derecho fue fotografiado bajo la luz del día equilibrada con iluminación fotográfica.*



**Tabla 7-3**

**Reactivos comunes y sus longitudes de onda del pico de absorción y emisión.**

<b>Reactivo/Sustancia</b>	<b>Máximo de absorción (nm)</b>	<b>Máximo de emisión (nm)</b>
<b>DFO</b>	<b>560</b> (Champod et al., 2004, pág. 129-130)	<b>580</b> (Champod et al., 2004, pág. 129-130)
<b>1,2-Indaneodina</b>	<b>515</b>	
<b>5-MTN</b>	<b>550</b> (Wallace-Kunkel et al., 2006, pág. 4-13)	
<b>Ninhidrina</b>	<b>415-560*</b> (Champod et al., 2004, pág. 117-118)	
<b>Ninhidrina/ZnCl</b>	<b>490</b>	<b>540</b> (Champod et al., 2004, pág.120-124)
<b>Ardrox</b>	<b>380</b>	<b>500</b> (Lee and Gaennslen, 2001, pág.124)
<b>Amarillo básico 40</b>	<b>445</b> (Champod et al., 2004, pág.142-145, 228-229)	<b>495</b> (Champod et al., 2004, pág.142-145, 228-229 )
	<b>440</b> (Lee and Gaennslen, 2001, pág.124)	<b>490</b> (Lee and Gaennslen, 2001, pág. 124)
<b>MBD</b>	<b>465</b>	<b>515</b> (Lee and Gaennslen, 2001, pág. 124)
<b>Rojo básico 28</b>	<b>495</b>	<b>585</b> (Champod et al., 2004, pp 142-145, 228-229; Lee and Gaennslen, 2001, pág. 124)
<b>Rodamina 6G</b>	<b>490-530</b> (Champod et al., 2004, pág. 142-145, 228-229)	<b>565</b> (Champod et al., 2004, pág. 142-145, 228-229)
	<b>525</b> (Lee and Gaennslen, 2001, pág. 124)	<b>555</b> (Lee and Gaennslen, 2001, pág. 124)
<b>Violeta cristal</b>	<b>532**</b>	
<b>Amarillo ácido 7</b>	<b>527</b>	<b>550</b> (Sears et al., 2005, pág. 741-763)
<b>Amarillo ácido 7 + Sangre</b>	<b>445-480</b>	<b>485-500</b> (Sears et al., 2005, pág. 741-763)
<b>Sangre seca sin tratar</b>	<b>415*</b> (Champod et al., 2004, pág. 168)	

\*No se hace fluorescente pero aparece obscuro.

\*\*Fluorescencia baja que requiere iluminación láser.

es aconsejable debido a que muchos sustratos pueden interferir con la visibilidad en estas longitudes de onda. Debido a que las bandas de absorción son generalmente bastante amplias, la longitud de onda de excitación puede diferir del máximo de absorción y aún inducir una fluorescencia significativa.

### 7.10.6 Tiempo – y Fase – de la Creación de Imágenes Resueltas

Como se mencionó anteriormente, la fluorescencia de fondo se puede generar intencionalmente para visualizar mejor una huella dactilar que está absorbiendo la luz tenue pero no fluorescente. Esta condición aumenta el contraste iluminando el fondo, haciendo que la huella dactilar más oscura destaque. Sin embargo, la fluorescencia de fondo es más a menudo un obstáculo, compitiendo con una huella dactilar fluorescente para la visualización.

La creación de imágenes resueltas por tiempo se ha defendido como un medio posible para solucionar este problema. Esta técnica se aprovecha de la diferencia entre el momento de la emisión del sustrato y la huella fluorescente (Menzel, 1999, pág. 126). Los primeros dispositivos utilizan una fuente de luz con una rueda cerrada, que “corta” la luz para explotar estas diferencias en las emisiones de rotación. La luz brilla en la huella dactilar y el sustrato cuando una abertura en la rueda está en frente de la luz. La fuente de luz se enciende a continuación, de manera efectiva cuando una cuchilla en la rueda pasa por delante de la fuente de luz. Poco después, una abertura en la rueda pasa por delante de un detector. El tamaño de las aberturas en la rueda y la velocidad con la que ésta gira, determinarán la longitud de tiempo que la impresión es expuesta y el retardo entre la excitación y la detección. Si la fluorescencia de fondo decae más rápido que la fluorescencia de la sustancia química en la huella dactilar latente, el fondo puede ser eliminado mediante el ajuste del tiempo de retardo (Menzel, 2001, pág. 216; Campbell, 1993, pág. 368-377).

Diseños posteriores demostraron ser más prácticos mediante el uso de un cortador de luz electrónico en conjunción con una cámara con un dispositivo de carga acoplada (CCD), cada componente controlado por una computadora con la imagen visualizada en un monitor (Menzel, 1999, pág. 126). La creación de imágenes resueltas con tiempo todavía se considera poco práctica para la aplicación generalizada. Las imágenes resueltas por fase se mantienen como el siguiente avance tecnológico y se utilizan actualmente en otros campos de la espectroscopia (Menzel, 2001, pág. 216).

### 7.10.7 Conclusión

La examinación de fluorescencia está firmemente basada en las técnicas de detección de impresión latentes y la creación de imágenes cotidianas. La sensibilidad de esta técnica garantiza la aplicación en todas las formas de pruebas forenses. Los anchos de banda específicos de radiación son hechos brillantes en las impresiones no tratadas, así como en impresiones tratadas con polvos y reactivos químicos. Cuando se ve con los filtros de barrera apropiados, la sensibilidad a través de la detección de fotoluminiscencia se puede conseguir hasta casi el fotón único. La absorción a longitudes de onda discretas, ausente de fluorescencia, es también una técnica de mejora benéfica sobre sustancias tales como las impresiones de color púrpura de ninhidrina o sangre seca, haciéndolas más oscuras y más fáciles de ver y fotografiar. Debido a que la fluorescencia de fondo es el mayor obstáculo para el examen de fluorescencia, se han propuesto conceptos experimentales tales como la creación de imágenes resueltas con tiempo y fase para abordar este problema.

## 7.11 Depósito de Metal al Vacío

### 7.11.1 Historia

El depósito de metal al vacío (VMD) es una técnica industrial establecida desde hace tiempo para la aplicación de revestimientos de metal para componentes tales como el vidrio para formar un espejo. En 1964, el profesor de física Samuel Tolansky (Royal Holloway College, Universidad de Londres) señaló que la deposición de plata en un sistema de depósito al vacío reveló huellas dactilares latentes accidentalmente en un componente de vidrio. Se propuso una investigación sobre el proceso como una técnica de revelado de huellas dactilares. Sin embargo, esto no fue perseguido en su momento por el Ministerio del Interior del Reino Unido debido a que otras técnicas para la detección de huellas dactilares en el cristal se consideraron más baratas, más fáciles de utilizar y suficientemente eficaces.

En 1968, trabajadores franceses informaron (Theys et al., 1968, pág. 106) que el VMD de una mezcla de zinc, antimonio y cobre en polvo era capaz de revelar impresiones latentes en papel. Como consecuencia de este artículo, el interés por la técnica fue revivido en el Reino Unido y Tolansky inició un programa de investigación para inquirir las condiciones óptimas y las posibles aplicaciones del VMD. Uno de los primeros objetivos de la investigación fue



establecer por qué la composición francesa fue eficaz. Un examen más detallado de los revestimientos metálicos depositados producidos por el laboratorio francés indicó que el recubrimiento era casi en su totalidad de zinc, no siendo necesaria la presencia de antimonio y cobre para revelar impresiones (Hambley, 1972).

El programa de investigación iniciado por Tolansky (Hambley, 1972) investigó las características de deposición de una gama de metales sobre sustratos de papel, la identificación de los metales individuales y las combinaciones de metal que dan el revelado de impresión óptimo. La investigación también se llevó a cabo en la capacidad de la técnica para detectar huellas latentes en los tejidos. Estos experimentos mostraron que, aunque un cierto revelado de impresión se obtuvo mediante el uso de metales individuales (por ejemplo oro, plata, cobre, zinc y cadmio), en general, los mejores resultados se obtuvieron mediante el uso de una combinación de metales, típicamente oro o plata seguido por el cadmio o zinc. Inicialmente, la combinación de oro y cadmio fue seleccionada como la óptima, aunque las cuestiones de salud y seguridad posteriores han dado como resultado la combinación de oro y zinc en su lugar. Se prefirió oro sobre la plata como el metal inicial depósito porque la plata puede ser degradada por las secreciones de huellas dactilares y contaminantes atmosféricos.

El trabajo experimental inicial se llevó a cabo en el equipo a pequeña escala con una campana de cristal, pero la investigación continuó desarrollando un equipo más grande adecuado para su uso en un laboratorio de huellas dactilares. A mediados de la década de 1970, los sistemas modificados de equipos industriales estándar se habían desarrollado (Kent, 1982) y estaban en uso en varias fuerzas policiales y los proveedores forenses en el Reino Unido. Más tarde, los fabricantes hacen refinamientos, aumentando el tamaño de la cámara de vacío y la adición de controles específicos para el proceso de revelado de huellas dactilares. En la década de 1990, la técnica hizo su camino de Europa a América del Norte (Murphy, 1991, pág. 318-320; Misner, 1992, pág. 26-33; Masters y DeHaan, 1996, pág. 32-45). Los equipos de VMD especialmente contruidos son ahora suministrados por varios fabricantes de todo el mundo.

Aunque el VMD se investigó originalmente como una técnica de revelado de huellas dactilares para su uso en papel y tejidos, se estableció que otros procesos son capaces de dar mejores resultados en el papel. Sin embargo, el VMD dio excelentes resultados en sustratos no porosos y

en estudios comparativos se encontró que superó a todas las demás técnicas en el revelado de marcas en bolsas de plástico (Misner, 1992, pág. 26-33; Kent et al, 1975, 1978; y Reynoldson Reed, 1979). También se encontró que el proceso reveló marcas en sustratos expuestos a agua y a condiciones de alta humedad, dando ventajas sustanciales sobre técnicas tales como la extracción de CA para los artículos que han sido expuestos a estas condiciones.

Se han hecho pocas modificaciones al proceso en sí desde el cambio en el segundo metal de depósito de cadmio al zinc a finales de la década de 1970. Recientemente, ha habido una mayor investigación sobre el VMD en Australia, mirando a detalle los diversos regímenes del revelado de impresión que se pueden seguir en diferentes grados de polietileno (Jones et al., 2001c, pág. 73-88) y cómo las superficies podrían ser "reactivadas" para revelar impresiones si el exceso de depósito de metal se había producido inicialmente (Jones et al., 2001d, pág. 5-12). El trabajo se extendió a investigar otros sustratos poliméricos, incluyendo polipropileno, cloruro de polivinilo y tereftalato de polietileno (Jones et al., 2001b, pág. 167-177) y diferentes condiciones de depósito fueron recomendadas para cada tipo de polímero, en particular, la cantidad de oro depositado antes de la deposición de zinc (el tereftalato de polietileno y cloruro de polivinilo requieren significativamente más oro para revelar impresiones que los polímeros o el polipropileno).

Sin embargo, hay situaciones en las que el rendimiento del VMD deja mucho que desear. Se cree que su eficacia puede ser afectada negativamente por la presencia de fluidos corporales (Batey et al., 1998, pág. 165-175) y residuos de medicamentos (Magora et al., 2002, pág. 159-165). También ha sido difícil revelar impresiones en gran medida de polímeros plastificados (tales como película plástica y vinilo plastificado) utilizando el proceso de VMD. Trabajos recientes han indicado que el depósito de la plata como un solo metal puede dar mejores tasas de detección sobre el oro y la combinación de zinc para estos tipos de sustratos y el proceso de depósito de plata ha sido publicado para su uso operacional (Home Office Scientific Development Branch, 2005, pág. 8-9).

### 7.11.2 Teoría

Hay un acuerdo general sobre la teoría asociada con el revelado normal de impresiones por el método de VMD. La razón de que las combinaciones de metal se postulan para trabajar bien es debido a las características de

condensación de zinc (y cadmio). Estos metales no se condensarán en grasa, tales como la que se encuentra en los residuos de huellas dactilares, incluso cuando los residuos oleosos están presentes sólo como una monocapa. Sin embargo, el zinc se deposita en pequeños núcleos de metal y esta es la razón por la que el depósito de oro o plata se lleva a cabo primero. El oro y la plata se pueden depositar sobre toda la superficie y comienzan a formar núcleos, la morfología de los cuales depende de la naturaleza de la superficie (la energía superficial, las especies químicas presentes) sobre los que se están depositando. El recubrimiento de oro resultante es muy delgado (sólo varios nanómetros) y discontinuo. Sin embargo, en las regiones recubiertas con los residuos grasos de la huella dactilar latente, el oro se difunde en la grasa y por lo tanto no hay núcleos de oro cercanos a la superficie. Como consecuencia, cuando el zinc se deposita posteriormente, que se condensará en las regiones de núcleos de oro (es decir, el sustrato de fondo), pero no en las regiones del depósito de grasa (es decir, las crestas de la huella dactilar). Esta teoría de la nucleación se discute en más detalle por Stroud (1971, 1972). El proceso de revelado normal se representa esquemáticamente en la figura 7-18 y una fotografía de una marca producida por el revelado normal se muestra en la figura 7-19.

Las pruebas llevadas a cabo para determinar qué componentes de la huella latente tenían más probabilidades de ser responsables de la inhibición del depósito de metales identificó varias sustancias, incluyendo el ácido esteárico, ácido palmítico, oleato de colesterol, trioleato de glicerol y aminoácidos del monohidrocloreto de L-arginina, L-leucina, y DL-treonina. La mayoría de estas sustancias son grasas o ácidos no solubles al agua o de cadena larga con baja presión de vapor, los cuales determinan su estabilidad y su no migración sobre la superficie durante el proceso de VMD. Estos resultados estaban de acuerdo con la observación de que el VMD era capaz de revelar las impresiones en sustratos expuestos al agua. Los experimentos para estudiar la difusión de oro en forma de películas

delgadas de ácido esteárico (Thomas, 1978, pág. 722-730) demostraron que el 60% del oro penetró el ácido esteárico a una profundidad mayor que la profundidad de detección de la técnica de análisis de superficie por espectroscopía electrónica para el análisis químico (ESCA) y por lo tanto probablemente no serían suficientemente cercanos a la superficie de zinc para nuclear en él.

La microscopía electrónica se ha utilizado también para confirmar que el tamaño y la distribución de núcleos de oro formados durante el proceso de deposición variaron mucho según el sustrato y las especies químicas presentes (Kent, 1981, pág. 15). Fue esta diferencia en el tamaño y la distribución de núcleos, junto con la difusión de oro en los depósitos grasos, que posteriormente delineó la impresión durante el VMD.

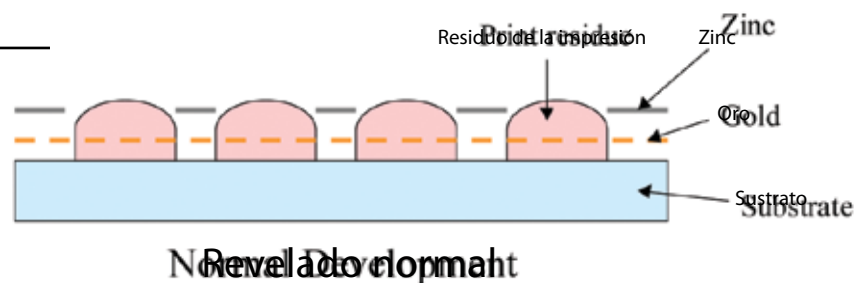
En la práctica, muchas impresiones reveladas utilizando VMD pueden ser "reveladas a la inversa" (es decir, el zinc preferencialmente se deposita en las crestas de las huellas dactilares en lugar del fondo). Hay diferencias de opinión en cuanto a por qué esto surge (Jones et al, 2001b, pág. 167-177; 2001c, 73-78; Kent et al, 1976, pág. 93), pero ninguna de las teorías se han demostrado categóricamente, y en algunos casos se puede observar el revelado inverso y normal en el mismo sustrato (aunque se afirma que esto es más común para [si no exclusivos a] sustratos de polietileno de baja densidad). La Figura 7-20 muestra una marca revelada a la inversa en una bolsa de polietileno.

### 7.11.3 Aplicación

El equipo utilizado para el VMD puede variar según el fabricante, pero los elementos esenciales del sistema son los mismos. El equipo consta de una cámara de vacío capaz de ser bombeada a una presión muy baja ( $<3 \times 10^{-4}$  mbar), filamentos para la evaporación de oro y zinc, y una ventana de visualización de manera que el depósito de zinc pueda ser monitoreada. La cámara también puede contener un "dedo frío", enfriado a baja temperatura para ayudar a reducir los

**FIGURA 7-18**

*Diagrama esquemático del revelado normal, mostrando el depósito de zinc donde se encuentra disponible el núcleo de oro en la superficie.*



**FIGURA 7-19**

*Fotografía de una marca revelada normalmente en una bolsa de polietileno.*

**FIGURA 7-20**

*Fotografía de una marca revelada a la inversa en una bolsa de polietileno.*

tiempos de parada de la bomba mediante la condensación de una parte del vapor en la cámara. Los artículos a recubrir se adjuntan a la circunferencia interior de la cámara de vacío, por encima de los filamentos de revestimiento. Un sistema típico se ilustra en la figura 7-21.

Los filamentos ("botes") utilizados para el depósito de oro y zinc se forman normalmente a partir de láminas delgadas de molibdeno. El filamento de oro por lo general consiste en un hoyuelo poco profundo en una delgada franja de molibdeno. La deposición de oro tiene lugar cuando la cámara ha alcanzado una presión de  $3 \times 10^{-4}$  mbar o inferior y la corriente al filamento se incrementa hasta que el filamento alcanza un calor de amarillo a blanco. El depósito de oro debe ser completado dentro de 10 segundos, pero si se observan residuos en el filamento a medida que la corriente se reduce, la temperatura debe ser aumentada de nuevo hasta que todo el oro se haya evaporado.

Al completar el depósito de oro, la presión en la cámara se aumenta hasta  $\sim 5 \times 10^{-4}$  mbar y la corriente al filamento (s) de depósito de zinc se enciende. La razón para el aumento de la presión en la cámara es reducir la velocidad del depósito de zinc mediante la introducción de más moléculas de aire con las que el zinc pueda colisionar. Algunos sustratos se pueden cubrir muy rápidamente, por lo que el proceso de depósito más lento da al operador un mayor control. Los filamentos de deposición de zinc son más grandes y significativamente más profundos que el filamento de oro, y la cantidad de zinc añadida es mayor, normalmente de 1 g por corrida. Para la deposición de zinc, la corriente se incrementa hasta que el filamento se ilumina con un color cereza-rojo a naranja opaco. Una vez que esto ocurre, el operador debe observar el proceso de deposición a través de la ventana de visualización, dejando de depositar tan pronto como las marcas se hagan visibles sobre el sustrato.

**FIGURE 7-21***Typical vacuum metal deposition equipment.*

Después del depósito de zinc, el filamento de oro debe ser brevemente calentado con un calor de amarillo a blanco para quemar cualquier tipo de contaminación de zinc. El proceso se describe con más detalle en otra parte (Kent, 2004).

Existe una gran variabilidad en la velocidad a la que los diferentes sustratos se recubren y puede tomar más de 10 minutos para obtener un recubrimiento adecuado en algunos tipos de material. En algunos casos, puede ser necesario llevar a cabo múltiples corridas de deposición con el fin de obtener resultados satisfactorios o para revelar todas las marcas presentes. La presencia de contaminación de la superficie, agentes de liberación, plastificantes puede significar que no es posible obtener un recubrimiento de zinc en absoluto; en estas circunstancias, la deposición de 60 mg de plata, usando las mismas condiciones de deposición del oro, puede producir marcas adicionales.

La técnica VMD se adoptó inicialmente como una técnica operativa para la detección de huellas latentes en delgadas láminas de polietileno y ha demostrado ser superior a otros procesos desarrollados con posterioridad a los ensayos de comparación iniciales. El VMD ahora se ha utilizado operativamente durante muchos años y ha demostrado ser una técnica eficaz para una gama más amplia de materiales que el polietileno. Resultados recientes han demostrado que el VMD puede producir resultados en una gama de sustratos (por ejemplo, un billete recubierto con tinta ferromagnética y en poliestireno expandido) (Suzuki et al., 2002, pág. 573-578). El uso de la técnica también ha comenzado a incrementar en América del Norte y se han obtenido resultados exitosos a partir de bolsas de plástico, en algunos casos con varios años de antigüedad y expuestas a la humedad (Batey et al., 1998, pág. 165-175).

La gama de muestras que han sido tratadas con éxito utilizando VMD es extensa e incluye:

- Bolsas de plástico y embalajes.
- Vidrio y botellas de plástico.
- Armas de Fuego.
- Tarjeta brillante, papel fotográfico y portadas de revistas.
- Artículos de cuero limpio (incluyendo bolsos y zapatos).
- Cintas adhesivas (lado no pegajoso).

Es evidente que hay mucha superposición entre los tipos de artículos que pueden ser tratados con VMD y los que son tratados con extracción de CA. En muchos casos, el factor decisivo en cuanto a qué técnica se utilizará es si el artículo ha sido humedecido, porque el VMD sigue siendo eficaz en artículos húmedos mientras que la extracción de CA no lo es. En la práctica, es posible utilizar los dos procesos en secuencia y se pueden detectar más marcas de esta manera porque los dos procesos funcionan en diferentes constituyentes de huellas dactilares. Sin embargo, en la actualidad, todavía parece que hay cierto debate sobre cuál de las dos técnicas se debe hacer primero.

## 7.12 Técnicas de Mejoramiento de la Sangre

### 7.12.1 Historia

La sangre es uno de los contaminantes conocidos más comunes de huellas dactilares encontradas en los lugares





de los hechos. El uso de evidencia de sangre en la historia de la investigación data de más de 150 años. Las primeras pruebas fueron de dos tipos, ambas apoyándose en la presencia del grupo hemo: aquellas que produjeron cristales y aquellas que se apoyaron en su naturaleza catalítica.

Las pruebas de cristal o confirmatorias se formularon por Teichmann en 1850 (Thorwald, 1966, pág. 23) y Takayama en 1912 (Gerber y Saferstein, 1997, pág. 19-19). Sin embargo, estas pruebas requieren que la sangre se raspe de la superficie y, por consiguiente, no le da importancia a las formas de evidencia física tales como las huellas dactilares, impresiones de calzado o patrones de salpicadura.

Los ensayos catalíticos o presuntos que intentaron mantener gran parte de la evidencia física intacta fueron producidos por Van Deen y Day en 1862 y se basaron en guayacol (Gerber y Saferstein, 1997, pág. 18-19); por Schönbein en 1863, utilizando peróxido de hidrógeno; y por Adler y Adler en torno a 1900, utilizando bencidina (Thorwald, 1966, pág. 23). Adler y Adler fueron pioneros en el uso de leucomalaquita verde en 1904 (Eckert y James, 1989, pág. 2); Medinger modificó su método en 1931 para que fuera más sensible (Söderman y O'Connell, 1935, pág. 226).

Otras pruebas presuntas de sangre fueron reveladas por Kastle y Sheed en 1901 y Kastle y Meyer en 1903, utilizando fenoltaleína; por Ruttan y Hardisty en 1912, utilizando o-toluidina; por Specht en 1937, utilizando luminol (3-aminoftalhidrazida); y por Gershenfeld en 1939, utilizando o-toluidina (Eckert y James, 1989, pág. 2).

En 1911, Abderhalden y Schmidt (1911, pág. 37) reportaron el revelado de huellas dactilares en la etiqueta de la botella de hidrato de tricetohidrido (ninhidrina). Este descubrimiento no fue explotado para la detección de huellas dactilares o sangre hasta 1954, cuando Odén (Odén y von Hofsten, 1954, pág. 449) produjo su formulación de ninhidrina sobre la base de acetona. El uso de este método para la mejora de las huellas dactilares en la sangre revolucionó el pensamiento en esta área de investigación forense. El énfasis se desplazó de las pruebas presuntivas de hemo, que generalmente requieren la opinión de expertos para interpretar los resultados de la prueba correctamente, y en reactivos más fáciles de usar que producen productos intensamente coloreados con otros componentes de la sangre, por lo general proteínas o sus productos de degradación.

El uso del tinte de proteína, amido negro (negro ácido 1), rápidamente se hizo popular entre los investigadores forenses. Su uso por parte el Laboratorio de la Policía Metropolitana, en una base de disolvente de metanol y ácido acético, se debatió en un simposio de la ciencia forense en 1961 por Godsell (1963, pág. 79). Esta formulación, con un cambio en el método para la fijación de sangre—desde el uso de calor para la inmersión en metanol (Faragher y Summerscales, 1981), junto con una formulación a base de agua del mismo colorante (Hussain y Pounds, 1989a)—continuó siendo recomendada para la mejora de las huellas dactilares en la sangre por parte del Ministerio del Interior del Reino Unido hasta 2004 (Kent, 2004), cuando se aprobó una nueva formulación por parte de Sears y Prizeman (2000, pág. 470).

También se han propuesto muchas otras manchas de proteínas para la mejora tanto de las huellas dactilares y las impresiones de calzado en la sangre: azul de Coomassie (azul ácido 83) y la doble tinción de Crowle (azul ácido 83 y rojo ácido 71) por Norkus y Noppinger en 1986 (Norkus y Noppinger, 1986, pág. 5); ácido fucsina (violeta ácido 19, rojo húngaro), azul patente V (azul ácido 1) y tartrazina (amarillo ácido 23) por Barnett y sus colegas en 1988 (Barnett et al., 1988); benzoxanteno amarillo y violeta ácido 17 por Sears y sus colaboradores en 2001 (Sears et al, 2001, pág. 28); y amarillo ácido 7 por Sears y sus colaboradores en 2005 (Sears et al., 2005, pág. 741).

Aunque el uso de colorantes de proteína se convirtió en el más popular para la mejora de las huellas dactilares en la sangre, la investigación sobre métodos presuntos de mejora continuó y, en 1976, Garner et al. (1976, pág. 816) propusieron el uso de tetrametilbenzideno (TMB) como el más seguro y tan fiable como la bencidina. Sugerencias para otras pruebas presuntivas siguen: tetraamino-bifenilo (TAB) y diaminobenzidina (DAB) en 1989 por Hussain y Pounds (1989b); fluoresceína en 1995 por Cheeseman y DiMeo (1995, pág. 631); y violeta leucocrystal (LCV) en 1996 por Bodziak (1996, pág. 45).

Además, se han realizado muchas modificaciones a las formulaciones de ninhidrina para aumentar su eficacia y seguridad: por Crown en 1969 (Crown, 1969, pág. 258) y Morris y Goode en 1974 (Morris y Goode, 1974, pág. 45). Otros cambios se vieron obligados a la comunidad de huellas dactilares debido a "El Protocolo de Montreal relativo a las sustancias que agotan la capa de ozono" (Programa Environ de las Naciones Unidas, 1999) y las nuevas formulaciones fueron propuestos por Watling y Smith en 1993

(Watling y Smith, 1993, pág. 131) y Hewlett y sus colegas en 1997 (Hewlett et al., 1997, pág. 300). El uso de tintas de transición de metal para cambiar el color o hacer que se vuelva fluorescente el producto de reacción entre aminas y ninhidrina también fue propuesto por Morris en 1978 (Morris, 1978), Everse y Menzel en 1986 (Everse y Menzel, 1986, pág. 446) y Stoilovic y sus colegas en 1986 (Stoilovic et al., 1986, pág. 432).

También se sugirió que el uso de uno de los diversos análogos de ninhidrina mejoraría la sensibilidad y muchos se han propuesto: benzo (f) ninhidrina en 1982 por Almog et al. (1982, pág. 912), 5-metoxininhidrina en 1988 por Almog y Hirshfeld (1988, pág. 1027), el DFO en 1990 por Grigg et al. (1990, pág. 7215) e indanodiona en 1997 por Ramotowski et al. (1997, pág. 131).

A finales de la década de 1970 y principios de la de 1980, los que revelaron fuentes de luz de alta intensidad observaron que las longitudes de onda más cortas de la luz en las regiones UV y violeta del espectro hacen superficies sean fluorescentes fuertemente. Esto puede proporcionar un detalle extra si una huella dactilar está en un material fuertemente absorbente de la luz, tal como la sangre (Hardwick et al., 1990). Este es un método especialmente valioso para la mejora de las huellas dactilares en la sangre, ya que el grupo hemo absorbe la luz a través de mucha de la parte visible del espectro (Kotowski y Grieve, 1986, pág. 1079).

Todos estos acontecimientos hicieron que a finales de la década de 1990, existieran tantos reactivos y formulaciones para la mejora de las huellas dactilares contaminadas con sangre e impresiones del calzado, con poco o nada de datos comparativos, que estaba causando una inmensa confusión entre los profesionales. Además, la aparición de los análisis de ADN colmó aún más la incertidumbre sobre qué técnicas podrían o deberían ser utilizadas para la mejora de la sangre, de manera que una prueba tan vital era probable que se pierda por las decisiones equivocadas. Por lo tanto, el Ministerio del Interior del Reino Unido se dispuso a aclarar la situación y comenzó un programa de trabajo para revisar y comparar la más utilizada de estas técnicas (Sears y Prizeman, 2000, pág. 470; Sears et al, 2001, pág. 28; 2005, pág. 741). Resultante de esta tarea colosal resultaron una serie de hallazgos clave que se incorporaron en una actualización integral para *El Manual de Técnicas de Desarrollo de Huellas Dactilares* en el año 2004 (Kent, 2004).

### 7.12.2 Teoría

La sangre se compone de glóbulos rojos (eritrocitos), glóbulos blancos (leucocitos) y plaquetas (trombocitos) en un fluido proteico llamado plasma, que constituye aproximadamente el 55% del volumen de sangre entera. Los glóbulos rojos contienen principalmente la proteína hemoglobina, pero también tienen proteínas de superficie específicas (aglutinógenos) que determinan el grupo sanguíneo. Los glóbulos blancos, que forman parte del sistema inmune, tienen un núcleo que contiene ADN.

La hemoglobina constituye aproximadamente el 95% del contenido de proteínas de los glóbulos rojos y está formado por cuatro subunidades de proteínas, cada una contiene un grupo hemo. El grupo hemo está hecho de un anillo de porfirina plano y un ion ferroso conjugado.

Los métodos químicos de mejora de sangre caen ampliamente en dos tipos: los que utilizan la agrupación del hemo para probar o inferir la presencia de sangre y los que reaccionan con las proteínas o sus productos de degradación. Estos últimos no son en absoluto específicos de la sangre; sin embargo, debido al alto contenido en sangre de proteína y productos de degradación de las proteínas, estas técnicas son las más sensibles a disposición del investigador forense (Sears et al., 2005, pág. 741).

### 7.12.3 Pruebas para Hemo

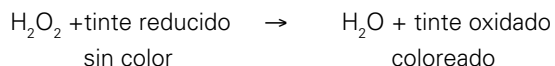
Hay dos tipos de pruebas que utilizan el grupo hemo de la hemoglobina: pruebas de cristal y pruebas catalíticas.

Las pruebas de cristal son específicas o de confirmación de la presencia de hemo, pero no si la sangre es humana o no. Las dos pruebas de cristal más conocidas son las formuladas por Teichmann y Takayama. Los resultados de las pruebas Teichmann en la formación de cristales romboédricos marrones de hematina y los resultados de las pruebas a Takayama en cristales rojo-rosa de piridina hemocromógeno (Palenik, 2000, pág. 1115; Ballantyne, 2000, pág. 1,324). Ambas pruebas tienen que llevarse a cabo *ex situ* también, por lo que no son de utilidad para la mejora de la huella dactilar.

Los ensayos catalíticos son sólo presuntos o infieren la presencia de hemo porque están sujetos a reacciones falsas positivas y falsas negativas causados por una variedad de sustancias no sanguíneas. En consecuencia, los resultados individuales requieren de una cuidadosa interpretación de los expertos. Todas estas pruebas se basan en la actividad



de la peroxidasa del grupo hemo (es decir, la capacidad de reducir el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno). Esta reacción se puede acoplar a la oxidación de tintes incoloros reducidos (por ejemplo, fenoltaleína, leucocristal violeta, tetrametilbenzidina y fluoresceína) que al oxidarse, forman sus homólogos de colores (Ballantyne, 2000, pág. 1324).



(Lee y Pagliaro, 2000, pág. 1333).

La prueba de luminol también se basa en la actividad de la peroxidasa del grupo hemo, pero utiliza perborato de sodio en lugar de peróxido de hidrógeno. Esto produce entonces un producto que tiene luminiscencia en presencia de sangre. La quimioluminiscencia blanco azulada es débil y debe ser vista en la oscuridad por un operador que está totalmente adaptado a la oscuridad para obtener lo mejor de esta prueba. Incluso con una aplicación cuidadosa de luminol, es muy fácil dañar el detalle fino de las huellas dactilares contaminadas con sangre. Esta técnica sólo debe utilizarse cuando no se requiere el detalle fino y cuando otras técnicas pudieran verse comprometidas por tipo o inviabilidad de superficie, tales como alfombras oscuras o estampados (Sears et al., 2005, pág. 741).

La mayor preocupación con las pruebas catalíticas para la sangre es que pueden producir resultados falsos positivos en la presencia de oxidantes químicos y catalizadores; sales de metales pesados como el cobre, níquel y hierro; y peroxidases vegetales tales como las que se encuentran en el rábano picante, cítricos y numerosos tubérculos (Lee y Pagliaro, 2000, pág. 1334). Una prueba de dos etapas puede obviar esto. El colorante incoloro reducido se aplica inicialmente y si no se observa cambio de color, a continuación, se añade el peróxido de hidrógeno. Un cambio de color en este punto es más probable que indique la presencia de sangre.

En general se acepta que un resultado negativo con una prueba catalítica demuestra la ausencia de sangre; sin embargo, los agentes reductores fuertes, tales como el ácido ascórbico, pueden inhibir tales pruebas (Eckert y James, 1989, pág. 121).

#### 7.12.4 Pruebas para Proteínas y sus Productos de Degradación

Hay dos tipos de técnicas para las proteínas—aquellos que se tiñen de material proteico y aquellos que reaccionan con

aminas. La sangre contiene más proteínas que cualquier otro material, por lo que estas técnicas son inherentemente más sensibles que las de hemo, aunque no son en absoluto específicas para la sangre.

Los tintes más eficaces de proteínas para la mejora de las huellas dactilares en la sangre son un grupo conocido como colorantes ácidos. A menudo se caracterizan por la presencia de uno o más grupos de sulfonato ( $-\text{SO}_3^-$ ), generalmente la sal de sodio ( $\text{Na}^+$ ). Estos grupos funcionan de dos maneras: en primer lugar, proveen solubilidad en agua o alcohol, los principales disolventes favorecidos para estos colorantes; y, en segundo lugar, ayudan a la reacción en virtud de su carga negativa (aniónico). Si las condiciones ácidas se utilizan (el ácido acético siendo la opción preferida), las moléculas de proteína en la sangre adquieren una carga positiva (cationes) y esto atrae a los aniones de colorantes ácidos. Además, el enlace de hidrógeno y otras fuerzas físicas, tales como van der Waals, pueden desempeñar un papel en la afinidad de los colorantes ácidos con moléculas de proteína (Christie et al., 2000, pág. 19-20). La presencia de un alcohol de cadena corta en la solución de teñido ayuda a evitar que la sangre se difunda durante la etapa de teñido (Sears y Prizeman, 2000, pág. 470). El etanol se prefiere ya que ofrece menor toxicidad e inflamabilidad que el metanol. El uso de agua como disolvente principal da a la solución un punto de inflamación alrededor de  $30^\circ\text{C}$ , lo que permite que esta formulación (que contiene agua, etanol y ácido acético) sea utilizada en el lugar de los hechos con algunas precauciones simples (Kent, 2004).

Si las formulaciones del colorante ácido se aplican directamente a las huellas dactilares en la sangre sin una etapa de fijación, la sangre se solubilizará y las crestas se difundirán o serán completamente enjuagadas. Se han utilizado un número de diferentes agentes de fijación, pero los más eficaces son el ácido 5-sulfosalicílico y metanol. Cuál se utilice depende del disolvente principal empleado en el proceso de teñido: si el agua es el disolvente principal, entonces una solución de ácido 5-sulfosalicílico será más eficaz, mientras que si el principal disolvente de teñido es metanol, entonces el metanol es el mejor agente de fijación (Sears y Prizeman, 2000, pág. 470). Estos agentes de fijación actúan de diferentes maneras; el ácido 5-sulfosalicílico precipita proteínas básicas y el metanol deshidrata la sangre.

El uso de soluciones basadas en metanol ha disminuido por un número de razones, incluyendo su toxicidad, inflamabilidad y la tendencia a causar daños a las superficies

(por ejemplo, pinturas, barnices y algunos plásticos) y tiene un efecto negativo en el desarrollo de huellas dactilares. Esta etapa de fijación da a los tintes proteicos otra ventaja sobre las pruebas presuntivas de sangre: además de ser una prueba más sensible, a menudo produce crestas de huellas dactilares más claramente definidas y el detalle es más claro.

Una etapa de lavado se requiere posterior al teñido. En superficies no porosas, esto sólo elimina el exceso de tinte; sin embargo, en superficies porosas, esto también actúa como un blanqueador, eliminando el tinte que ha sido absorbido por la superficie del fondo. La solución de lavado tiene que ser construida con cuidado para que solubilice el tinte, que no difundir o lavar la huella dactilar teñida y retener la intensidad de color del colorante en la misma. Por esta razón, la misma mezcla disolvente que es utilizada para el proceso de teñido, o alguna pequeña variación de la misma, es generalmente más eficaz (Sears y Prizeman, 2000, pág. 470).

La ninhidrina y el DFO reaccionan con aminos y son las dos técnicas más utilizadas para el revelado de huellas dactilares latentes en superficies porosas (Figura 7-22). También son muy eficaces para la mejora de la sangre (Sears et al., 2005, pág. 741). Ambos reaccionan con los aminoácidos de manera similar para formar productos que contienen dos moléculas de desoxigenación del producto de partida, puenteados por un átomo de nitrógeno que se donó a partir de la amina (McCaldin, 1960, pág. 39; Wilkinson, 2000a, pág. 87).

Aunque los mecanismos de reacción y los productos tienen similitudes, el método de su visualización es completamente diferente. La ninhidrina, bajo las condiciones adecuadas, produce un producto de color intenso (púrpura de Ruhemann) y el DFO genera un producto de color rosa pálido extremadamente fluorescente. El púrpura de Ruhemann se pueden hacer para generar fluorescencia al complementarlo con sales de metales, pero este proceso adicional todavía no es tan sensible como el DFO (Stoilovic, 1993, pág. 141). El DFO requiere calor para que la reacción proceda (Hardwick et al., 1993, pág. 65), mientras que la ninhidrina reacciona a temperatura ambiente, siempre que la humedad esté disponible, aunque el proceso avanza mucho más rápido a temperaturas y humedades elevadas.

### 7.12.5 Fluorescencia

El uso de la fluorescencia para mejorar las huellas dactilares en la sangre puede ser extremadamente eficaz. Hay

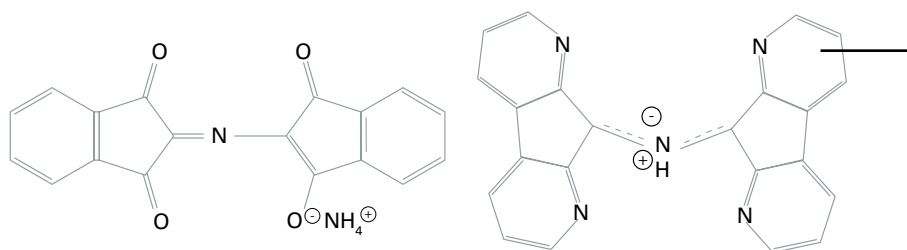
dos maneras en que esto puede lograrse: (1) por fluorescencia excitante en la superficie de fondo sobre el que se deposita la sangre o (2) por tratamiento con un producto químico que, o bien rompe el grupo hemo o convierte la sangre en una especie fluorescente, o hace ambas cosas.

Muchos materiales tienen fluorescencia cuando son excitados por luz de alta intensidad en las regiones UV y violeta del espectro. Esto es coincidentemente donde el grupo hemo es más absorbente, con un pico alrededor de 421 nm (conocido como Banda de Soret) (Kotowski y Grieve, 1986, pág. 1079). Esta absorción es el por qué van a aparecer oscuras las huellas dactilares contaminadas con sangre contra un fondo claro. El examen de fluorescencia se puede utilizar antes de cualquier otra técnica de mejora de la huella dactilar, ya que no es destructiva y si se utiliza luz UV de onda larga o ultravioleta (de 350-450 nm) (Hardwick et al., 1990) entonces, la tipificación del ADN también es afectada (Kent, 2004). El uso de ninhidrina, ácido negro 1 ó violeta ácido 17 pueden intensificar aún más el contraste entre la huella dactilar y el fondo mediante al aumentar las propiedades de absorción de luz de la sangre.

El uso de un ácido orgánico fuerte en combinación con peróxido de hidrógeno rompe el grupo hemo de modo que ya no es tan eficaz en la absorción de luz. Entonces, cuando es excitado por luz verde (500-550 nm) será fluorescente en color naranja. Este efecto también se ha señalado como edades de sangre.

El DFO y amarillo ácido 7 producen especies fluorescentes con sangre que pueden ser excitadas por luz verde (510-570 nm) y azul (420-485 nm), respectivamente. Ambos pueden ser menos eficaces en los depósitos pesados de la sangre debido a que el grupo hemo conserva su capacidad de absorber tanto la luz de excitación y la emitida como fluorescencia.

**7.12.5.1 Aplicación.** Actualmente se considera que el examen de fluorescencia, dos reactivos de aminoácido y tres colorantes ácidos son los medios más eficaces para la mejora de las huellas dactilares en la sangre (Sears et al., 2005, pág. 741). Las técnicas más apropiadas a utilizar para eficacia máxima, ya sea individualmente o en orden secuencial, dependen de la porosidad de la superficie a tratar. Esto se aplica tanto para el revelado de huellas dactilares latentes y la mejora de las huellas dactilares contaminadas con sangre.

**FIGURA 7-22**

*Los productos de reacción para la reacción de ninhidrina (izquierda) y DFO (derecha) con aminas.*

Probar la superficie para la fluorescencia siempre debe llevarse a cabo antes de cualquier otra técnica. Las fuentes de luz de alta intensidad con salidas de entre 350 y 450 nm son las más efectivas. Cuando las huellas dactilares contaminadas con sangre o latentes están sobre superficies porosas, la secuencia más eficaz de las técnicas es con DFO, ninhidrina, ya sea ácido negro 1 ó ácido violeta 17 (después de llevar a cabo una prueba de la mancha para ver cuál es la más adecuada) y finalmente revelador físico (Sears et al., 2005, pág. 741).

Cuando las huellas dactilares contaminadas con sangre o latentes están en superficies no porosas, la secuencia más eficaz de las técnicas es por medio de VMD, polvos, amarillo ácido 7, ácido violeta 17 y finalmente, ya sea física revelador físico o solvente negro 3 (negro Sudán). El superpegamento puede utilizarse en lugar del VMD o los polvos, pero esto va a inhibir el proceso de teñido de sangre mediante la prevención de que el colorante llegue a la sangre (Sears et al., 2005, pág. 741).

La solución activa de DFO y ninhidrina debe aplicarse por inmersión o por cepillado con un cepillo suave sobre los artículos más grandes o superficies. Se recomienda que el DFO se caliente a 100°C durante 20 minutos; sin embargo, cuando esto no es posible, pueden ser utilizadas temperaturas tan bajas como 50°C, pero la velocidad de reacción es mucho más lenta (Hardwick et al., 1993, pág. 65). Se recomienda que los artículos o superficies tratados con ninhidrina se calienten a 80°C y humidificados a 65% de humedad relativa. Sin embargo, la reacción procederá a temperatura y humedad ambiente, pero más lentamente.

Las fuentes de luz de alta intensidad capaces de emitir longitudes de onda entre 510 y 570 nm deben ser utilizadas para excitar la fluorescencia de la sangre que ha hecho reacción con DFO. La fluorescencia emitida es de entre 550 y 650 nm. Los beneficios también pueden obtenerse mediante el uso de longitudes de onda más cortas, entre 350 y 450 nm, para excitar la fluorescencia de fondo después del tratamiento con ninhidrina.

Los tres colorantes ácidos recomendados, ácido negro 1 (CI 20470), violeta ácido 17 (CI 42650) y amarillo ácido 7 (CI 56205) deben ser aplicados todos a la sangre fija durante al menos 5 minutos con una solución de ácido 5-sulfosalicílico. El teñido de sangre fija es más eficaz si el área de interés se sumerge en la solución de teñido durante al menos 3 minutos para el ácido negro 1 y violeta ácido 17 y durante al menos 5 minutos en el caso del amarillo ácido 7. Las zonas fuertemente contaminadas con sangre requieren tiempos más largos de teñido. Si no es posible sumergir las huellas dactilares ensangrentadas, entonces la solución de teñido debe ser aplicada por encima de la zona de interés y dejarse fluir hacia abajo sobre ésta, manteniendo el área húmeda durante el tiempo especificado. Un pozo puede construirse alrededor de la zona de interés en superficies horizontales, el cual puede inundarse y drenarse según corresponda.

Las áreas de interés entonces necesitarán ser lavadas o desmanchadas para eliminar el exceso de tinte. La solución más eficaz para hacer esto es la misma composición disolvente que la solución de tinte, lavándola según sea necesario para eliminar el exceso de tinte o desmanchar el fondo.

Las fuentes de luz de alta intensidad capaces de emitir longitudes de onda entre 420 y 485 nm deben ser utilizadas para excitar la fluorescencia de la sangre teñida con amarillo ácido 7. La fluorescencia emitida es de entre 480 y 550 nm. El uso de longitudes de onda más cortas entre 350 y 450 nm, para excitar la fluorescencia de fondo después del tratamiento con negro ácido 1 ó violeta ácido 17, puede ser benéfico.

El trabajo llevado a cabo por el Ministerio del Interior del Reino Unido ha demostrado que la identificación de ADN positivo se puede hacer después del examen de fluorescencia y de cualquier tratamiento químico, siempre que se sigan las pautas simples. Si la técnica de revelado de más de una huella dactilar se utiliza en secuencia, entonces las posibilidades de llevar a cabo con éxito la identificación del ADN serán mucho más reducidas (Kent, 2004).

El trabajo del Reino Unido ha demostrado que la formulación más eficaz para los colorantes ácidos es la siguiente (Sears et al, 2005, pág. 741):

Solución de fijación-46 g de deshidrato de ácido 5-sulfosalicílico disuelto en 1 L de agua.

Solución de tinción-1 g de tinte ácido disuelto en 700 ml de agua destilada, 250 ml de etanol y 50 ml de ácido acético.

Solución de lavado-700 ml de agua, 250 ml de etanol y 50 ml de ácido acético.

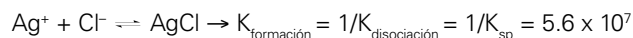
Las soluciones de tinción y lavado son inflamables. Se deben tomar precauciones de seguridad si se utilizan estas soluciones fuera de una campana de extracción con una temperatura ambiente superior a 28°C (Kent, 2004).

## 7.13 Técnicas Acuosa

Esta sección abarca cuatro métodos de deposición acuosa de metal comúnmente utilizados: los que implican reactivos de nitrato de plata, reveladores físicos de plata, procesos de deposición multimetálicos y reactivos de pavonado. Cada uno de estos métodos implica reactivos con sales de metales disueltos en un vehículo acuoso (o un alcohol, como en el caso de algunos reactivos de nitrato de plata). Estos reactivos revelan huellas latentes y resistentes al agua, tales como las impresiones sebáceas (a excepción de los reactivos de nitrato de plata utilizados en superficies porosas que se dirigen a la sal). Aquí, los iones metálicos se reducen a partículas de metal en el residuo de la impresión latente (excepto para el caso de las huellas latentes sobre el metal, donde el residuo de impresión resiste a la deposición).

### 7.13.1 Reactivos de nitrato de plata

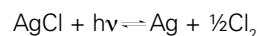
**7.13.1.1 Historia y antecedentes.** Uno de los primeros reactivos utilizados para el revelado de las impresiones latentes sobre superficies porosas fue una solución acuosa al 1-3% de nitrato de plata,  $\text{AgNO}_3$ . Fue utilizada en 1891 para este fin (Forgeot, 1891; Rhodes, 1940, pág. 10). La mayoría de las fórmulas ahora incluyen un alcohol para acelerar el secado y para aumentar la humedad (reducir la tensión superficial) (Lee y Gaensslen, 2001, pág. 105-175). Los iones de plata en el nitrato de plata reaccionan con los iones de cloruro en la sal (cloruro de sodio,  $\text{NaCl}$ ) contenidos en el residuo de la impresión latente para formar cloruro de plata ( $\text{AgCl}$ ), una sal altamente insoluble ( $K_{ps} = 1.8 \times 10^{-10}$ ) (Dean, 1985).



Hay al menos dos razones por las que el tratamiento de nitrato de plata funciona bien en superficies porosas. Una es que el proceso de precipitación es mucho más rápido que el proceso de disolución; es decir, la reacción para formar el  $\text{AgCl}$  insoluble es más rápida que la capacidad del vehículo acuoso para disolver la sal  $\text{NaCl}$  soluble. La segunda razón es que el  $\text{AgCl}$  insoluble queda atrapado dentro de la estructura o de la "micro-rugosidad" de la superficie porosa (Kerr et al, 1981, pág. 209-214); es decir, el residuo de la impresión latente fresca está en una forma acuosa o semiacuosa que penetra en la superficie porosa, llevando sus constituyentes con él.

Un reactivo de nitrato de plata basado en etanol al 3% (w/v) (90% de etanol y 10% de agua) revela impresiones en superficies repelentes al agua tales como papel encerado, cartón con un acabado de cera y la espuma de poliestireno (Trozzi et al., 2000). Aquí, el etanol se utiliza para reducir la disolución del  $\text{NaCl}$  en el residuo de las huellas dactilares, para humedecer mejor la superficie (debido a que estas superficies son generalmente repelentes al agua) y para dar una evaporación más rápida. Como era de esperarse, debido a la baja porosidad de tales superficies, las impresiones reveladas sobre estas superficies son más frágiles que las de superficies porosas como papel y madera.

Bajo luz de una sala común, el cloruro de plata se convierte poco a poco por medio de foto-reducción en plata elemental; sin embargo, esto se acelera con la radiación UV. El revelado más eficiente se produce con la radiación UV de onda corta (254 nm); sin embargo, la radiación UV de onda larga más segura (366 nm) también revela impresiones, pero menos eficientemente (Goode y Morris, 1983).



La plata elemental formada es de color marrón oscuro a negro (no es de color plateado). La razón de esto es que los depósitos de plata son como un agregado de diminutas partículas de plata (de tamaño coloidal), lo que hace que una superficie muy porosa atrape la mayor parte de la luz que incide sobre ella. La formación de la plata oscura que atrapa la luz sucede porque los iones de plata se reducen muy rápidamente.

**7.13.1.2 Aplicación (superficies porosas y repelentes al agua).** El reactivo del nitrato de plata se aplica generalmente a los especímenes por inmersión en la solución o pulverizando la solución sobre las muestras. El FBI (Trozzi



et al., 2000, pág. 38-39) recomienda la formulación al 3% de AgNO con base de agua para superficies porosas y la formulación del AgNO<sub>3</sub> al 3% con base de etanol para superficies repelentes al agua.

Champod et al. (2004, pág. 153-154) recomiendan el reactivo a base de metanol con AgNO<sub>3</sub> al 2% para superficies porosas. Después del secado, las muestras se exponen a una fuente de luz de alta intensidad, luz UV o luz solar para revelar las impresiones. Tan pronto como se revelan las impresiones, son fotografiadas y las muestras se almacenan en la oscuridad. Con el tiempo, el fondo se oscurece debido a la reducción gradual de cualquier nitrato de plata residual en las muestras (esta reducción se acelera si se expone a la luz). Enjuagar las muestras después del revelado y secándolas después en la oscuridad hace poco para frenar el revelado del fondo.

Goode y Morris (1983) reportaron en 1983 que sumergir las muestras en ácido etilendiaminotetraacético disódico (Na<sub>2</sub>EDTA) complementa los iones de plata en exceso, que luego se pueden enjuagar fácilmente con agua. Su procedimiento de nitrato de plata modificado (MSN) utiliza una solución acuosa de nitrato de plata al 1% que contiene también 5% de Na<sub>2</sub>EDTA y 3% de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. El procedimiento del MSN implica (1) el tratamiento de las muestras con este reactivo modificado con el tiempo suficiente para mojar la superficie; (2) transferir a un 1% (w/v) de solución de Na<sub>2</sub>EDTA y dejándolos durante 1 minuto; (3) la eliminación y lavado a fondo con agua destilada y; finalmente, (4) colocándolos en una solución de tiourea al 5% que contenga 1% de KOH durante unos 30 segundos a 2 minutos. El primer paso crea el cloruro de plata de los iones de cloruro en la impresión latente y el último paso lo convierte a sulfuro de plata negra. Más tarde, en 1998, Price y Stow (1998, pág. 107-110) recomiendan sumergir las muestras en una "solución de parada" que consiste en una solución acuosa de metanol al 40%, ácido acético al 20% y 2% de glicerol para suprimir el revelado ulterior del fondo.

**7.13.1.3 Mejora.** Según Lennard y Margot (1988, pág. 197-210), las impresiones débilmente reveladas se podrían mejorar mediante el tratamiento de las muestras con una solución de revelado físico de plata diluida. El factor de dilución es 1:10. Goode y Morris (1983) discuten un método potenciador radiactivo que convierte una impresión de plata impresa en una radioactiva, la impresión de sulfuro de plata con emisores  $\beta$ , que luego es convertida en imagen usando película radiográfica (este proceso de registro de imagen se denomina a veces autorradiografía o radiografía

$\beta$ ). Si el tratamiento original de nitrato de plata no mancha significativamente el fondo con plata, entonces este método dejará ver sólo las impresiones reveladas con poca o ninguna interferencia de fondo. El proceso, descrito por Goode y Morris (1983) y revisado por Cantu (2001, pág. 29-64), implica la conversión de la plata en la imagen de plata al bromuro de plata (AgBr), usando métodos de bromación (blanqueo) y luego el tratamiento de ésta, ya sea con el sulfuro de sodio o tiourea (donde el azufre es radioactivo <sup>35</sup>S) para convertir el AgBr a Ag<sub>2</sub><sup>35</sup>S. El proceso se llama tonificación radiactiva. Si el procedimiento MSN se utiliza, el cual arroja una impresión de sulfuro de plata, entonces se utilizará radioactivo tiourea para formar Ag<sub>2</sub><sup>35</sup>S.

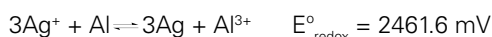
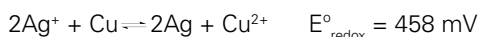
**7.13.1.4 Limitación.** El principal inconveniente del método de nitrato de plata es que los iones de cloruro en el residuo de la impresión latente se difunden a través del tiempo y la humedad acelera esta difusión. Esto afectará a la resolución (detalles de la cresta) de la impresión revelada. Normalmente, las impresiones no mayores de 1 semana se revelarán bien; sin embargo, uno debe tratar de examinar la evidencia tan pronto como sea posible para evitar esta difusión. Según Goode y Morris (1983), en un ambiente interior en el Reino Unido, las impresiones en superficies porosas duran más tiempo (meses) en el invierno que en el verano (días o semanas). Sin embargo, indican que estos efectos dependen de factores tales como el tipo de superficie (las impresiones duran más tiempo en el papel que en la madera en bruto) y, por supuesto, la humedad relativa. Por esta razón, el reactivo de nitrato de plata se utiliza ahora en casos especiales. El revelador físico de plata y los métodos de deposición multimetálicos son más comúnmente utilizados para los componentes insolubles en agua, pero no se dirigen a los iones de cloro.

**7.13.1.5 El uso de nitrato de plata sobre metales.** La discusión hasta ahora ha sido sobre el uso de nitrato de plata en ciertas superficies brillantes (repelente al agua) y porosas para revelar impresiones que soporten cloruro. El nitrato de plata se ha utilizado también en algunas superficies metálicas, tales como los casquillos de bala, para revelar grabados mediante el depósito de plata en todas partes (dando una apariencia metálica gris a negra) excepto donde la huella latente se asienta (Olsen, 1978; Cantú et al, 1998, pág. 294-298). Es decir, el nitrato de plata resalta "impresiones que soportan lípidos," porque tales impresiones protegen la superficie del metal en la que se encuentra que reaccionan con el nitrato de plata. (Si los iones de cloruro están presentes en el residuo de la impresión latente, se forma cloruro de plata; sin embargo, el contraste

de la impresión contra el fondo permanece y puede incluso ser mejorado a través de la reducción de cloruro de plata a plata oscura.) La reacción habitual de los iones de plata (Ag<sup>+</sup>) con la superficie metálica es:



Aquí, M representa el metal y Mn<sup>+</sup> es un ion correspondiente. Se dice que la plata desplaza al metal M. Al observar el emplazamiento de la plata en las series electromotrices (ver la Tabla 7-4), observamos que la plata puede desplazar al cobre, hierro, níquel, zinc, plomo y aluminio.



Aquí, por ejemplo,  $E^{\circ}_{\text{redox}}(\text{Ag}^+/\text{Ag}; \text{Cu}/\text{Cu}^{2+}) = E^{\circ}_{\text{red}}(\text{Ag}^+ + e^- \rightleftharpoons \text{Ag}) + E^{\circ}_{\text{ox}}(\text{Cu} \rightleftharpoons \text{Cu}^{2+} + 2e^-)$  se calcula de los potenciales de reducción estándar (Tabla 7-4) (Dean, 1985; Weast, 1986). Un valor positivo de E<sub>0</sub>redox indica que la reacción de redox es termodinámicamente favorable, pero no dice nada acerca de la tasa o velocidad de la reacción. Otra consideración es que estos metales se oxidan, algunos más fácilmente que otros, y esto crea una película de óxido sobre la superficie metálica. Si una impresión se colocó ante el metal oxidado, la impresión puede mostrarse naturalmente, dado el tiempo suficiente (algunos se refieren a esto como que la impresión ha sido "grabada" en el metal). Sin embargo, si se coloca después de la película de óxido formada, a menudo será difícil para el reactivo de nitrato de plata oxidar adicionalmente el metal en esta película de óxido; por lo tanto, la deposición de la plata y el posterior revelado de la impresión puede ocurrir pero no tan fácilmente. La formación de una capa de óxido protector, impermeable se denomina pasivación (Atkins, 1990, pág. 927).

### 7.13.2 Reveladores Físicos de Plata

**7.13.2.1 Historia y antecedentes.** El revelador físico de plata se originó en la química fotográfica como un método alternativo para el revelador químico para el revelado de la película (Cantu, 2001, pág. 29-64; Bunting, 1987, pág. 85; Cantu y Johnson, 2001, pág. 242-247). La exposición de bromuro de plata o cristales de yoduro de plata a la luz hace motas de plata se formen en la superficie de cristal (Walls y Attridge, 1977, pág. 104-108). Estos se convierten en "centros de revelado" (o "sitios de activación"), ya sea para el revelado químico o físico. Un revelador físico de plata deposita la plata sobre cristales de bromuro de plata expuestos, mientras que un revelador químico reduce el

**Tabla 7-4**

**Potenciales de reducción estándar de muchas especies iónicas y moleculares.**

(E°) en mV	Potencial estándar de reacción media
$\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{H}_2\text{O}$	+ 1776
$\text{Au}^{3+} + 3e^- \rightleftharpoons \text{Au}$	+ 1498
$2\text{Cl}_2 + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{Cl}^-$	+ 1358
$\text{OCl}^- + \text{H}_2\text{O} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Cl}^- + 2\text{OH}^-$	+ 810
$\text{Ag}^+ + e^- \rightleftharpoons \text{Ag}$	+ 799.6
$\text{Fe}^{3+} + e^- \rightleftharpoons \text{Fe}^{2+}$	+ 771
$\text{H}_2\text{SeO}_3 + 4\text{H}^+ + 4e^- \rightleftharpoons \text{Se} + 3\text{H}_2\text{O}$	+ 740
$\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+ + e^- \rightleftharpoons \text{Ag} + 2\text{NH}_3$	+ 373
$\text{Cu}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Cu}$	+ 341.9
$\text{Ag}_2\text{O} + \text{H}_2\text{O} + 2e^- \rightleftharpoons 2\text{Ag} + 2\text{OH}^-$	+ 342
$2\text{H}^+ + 2e^- \rightleftharpoons \text{H}_2$	0.0
$\text{Fe}^{3+} + 3e^- \rightleftharpoons \text{Fe}$	- 37
$\text{Pb}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Pb}$	- 126.2
$\text{Ni}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Ni}$	- 257
$\text{Fe}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Fe}$	- 447
$\text{Zn}^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Zn}$	- 761.8
$\text{Al}^{3+} + 3e^- \rightleftharpoons \text{Al}$	- 1662

bromuro de plata expuesta a plata. El baño fijador, en el primer caso, elimina los cristales de bromuro de plata no expuestos y también los cristales de bromuro de plata expuestos (dejando detrás la plata depositada en ellos), mientras que en este último caso, sólo se elimina el bromuro de plata no expuesto porque el bromuro de plata expuesto ha sido convertido a plata.

Debido a este proceso, el revelador físico de plata pronto se hizo conocido como uno de los reactivos más sensibles para la detección de rastros de plata (Feigl y Anger, 1972, pág. 423-424). Los examinadores de huellas latentes (Collins y Thomas) en el Reino Unido reconocieron éste durante la década de 1970 (Goode y Morris, 1983) y lo aplicaron en primer lugar a las impresiones presentadas para el depósito de metal al vacío. Luego ampliaron su uso a



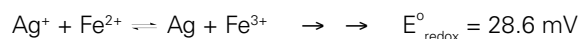


otras sustancias como telas y papel. Se encontró desde el principio que el revelador físico de plata funciona mejor en superficies porosas que no porosas. Además, nadie sabía realmente qué sustancias en los residuos de huellas latentes eran responsables de causar que el revelador físico de plata trabajara. Es decir, nadie sabía lo que había en los residuos de huellas dactilares que actuara como un centro de revelado o un sitio de activación (tal como las motas de plata). No fue sino hasta recientemente que surgieron algunas explicaciones plausibles o razonables.

Un revelador físico de plata es una solución acuosa que contiene iones de plata y un agente reductor que reduce los iones de plata a plata, pero también contiene otros dos conjuntos de productos químicos: un conjunto mantiene el agente reductor de la reducción de los iones de plata a plata elemental a menos que una "sustancia desencadenadora" esté presente (por ejemplo, los cristales expuestos de bromuro de plata en película fotográfica), y el otro conjunto mantiene la solución estable. El primer conjunto suprime la capacidad reductora del agente reductor hasta el punto de que la reducción se produce sólo cuando los sitios de activación están presentes. Esto, por lo tanto, suprime la formación de plata elemental en la solución. Sin embargo, debido a este delicado equilibrio, se produce cierta reducción espontánea mediante la cual las partículas de plata de tamaño coloidal (nanopartículas) se forman en la solución y, debido a que estos son sitios de activación (es decir, son motas de plata) que crecen. Crecen de forma autocatalítica; es decir, la plata que se forma activa la reducción de más plata. Así, el segundo conjunto de productos químicos suprime este crecimiento.

El revelador físico plata utilizado actualmente para el revelado de huellas latentes en superficies porosas contiene iones de plata (nitrato de plata) e iones ferrosos (sulfato ferroso amónico) como los principales componentes; ácido cítrico y iones férricos (nitrato férrico) como el conjunto de los productos químicos que inhiben la formación de partículas de plata coloidal formadas espontáneamente; y tensoactivo catiónico y no iónico como el conjunto de productos químicos que inhiben el crecimiento de tales partículas.

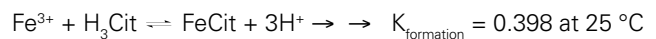
La ecuación neta para la reacción de plata-deposición es:



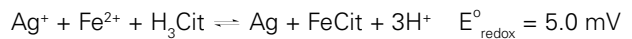
$E_{\text{redox}}^{\circ}$  is computed from Table 7-4.

Agregar ácido cítrico reduce la concentración de los iones ferrosos a través de la formación de citrato férreo y cambia

el equilibrio de  $\text{Ag}^+ + \text{Fe}^{2+} \rightleftharpoons \text{Ag} + \text{Fe}^{3+}$  a la derecha (formando plata elemental).



Sin embargo, por cada molécula de citrato férrico formada, tres protones se liberan y estos orientan el equilibrio a la izquierda (supresión de la formación de plata elemental). La reacción general es:



Por lo tanto, la adición de ácido cítrico reduce el  $E_{\text{redox}}^{\circ}$  de 28.6 mV a 5 mV. Esta reducción facilita el ajuste de las concentraciones de los componentes (ácido cítrico y las sales férrica, ferrosa y de plata), de modo que la reducción de iones de plata a nanopartículas de plata elementales se produce sólo en los sitios de activación y no en solución. Sin embargo, incluso con esta supresión de su tasa de formación, los que sí se forman se convierten en sitios de nucleación (de activación) sitios para su posterior deposición de plata (el proceso es autocatalítico) y, en consecuencia, crecen hasta precipitarse. Esto eventualmente agotará la mayor parte de la solución de iones de plata (dependiendo de la concentración de iones ferrosos inicialmente presentes).

Para dar estabilidad a la solución, las partículas de plata formadas de alguna manera deben haber bloqueado su capacidad de activación. Aquí es donde los tensoactivos se vuelven importantes.

Cuando las nanopartículas de plata se forman espontáneamente, se rodean por iones de citrato (cada uno de los cuales lleva tres cargas negativas) en solución y por lo tanto adquieren una carga negativa. El tensoactivo principal usado para suprimir el crecimiento de las nanopartículas de plata formadas espontáneamente es un tensoactivo catiónico cargado positivamente, acetato de n-dodecilamina. La razón de la elección de un tensoactivo catiónico es que ayuda a suprimir la carga negativa de las nanopartículas de plata formadas. Esto entonces reduce la atracción de los iones de plata positivos hacia las partículas y por lo tanto reduce la posibilidad de su crecimiento (por la reducción de plata en su superficie). El tensoactivo catiónico rodea la partícula de plata cargada negativamente de manera escalonada, con muchos extremos positivos que apuntan hacia la partícula como en dirección opuesta a la misma (Cantu, 2001, pág. 29-64; Cantu y Johnson, 2001, pág. 242-247; Jonker et al., 1969, pág. 38-44). Esta partícula encapsulada de tensoactivo se dice que está encerrada en una

*micela*. Un agente tensioactivo no iónico, Synperonic-N, se utiliza en conjunción con el acetato de n-dodecilamina para ayudar a la disolución de este último.

En la película o papel fotográfico expuesto, el revelador físico de plata actúa reduciendo sus iones de plata en las motas de plata (sitios de nucleación) que se encuentran en la superficie de los cristales de bromuro de plata expuestos y en ningún otro lugar. Siendo un proceso autocatalítico, la deposición de plata en los sitios de nucleación continúa hasta que se detenga, por ejemplo, mediante la eliminación de la muestra de la solución y el enjuague con agua. El revelador físico de plata tensoactivo estabilizado permanece estable y activo durante varias semanas. Si los iones de plata entran en contacto con iones hidroxilo, (AgOH) se forma hidróxido de plata insoluble, que se convierte en óxido de plata marrón-negro de (Ag<sub>2</sub>O). Hoy en día, la mayoría del papel es alcalino (básico), ya que contiene carbonato de calcio (CaCO<sub>3</sub>) como relleno. Cuando está mojado, es básico y se vuelve negro cuando se sumerge en una solución de nitrato de plata y se seca a un color marrón-negro. En consecuencia, el papel alcalino debe ser neutralizado antes de someterlo al revelado físico de plata. Cualquier ácido que no suministre cloruros (que reaccionan con la plata para formar AgCl insoluble) neutralizará el CaCO<sub>3</sub>. La reacción de neutralización implica la liberación de burbujas de dióxido de carbono:



Los siguientes son los rudimentos de algunos conceptos que ayudan a explicar cómo el revelador físico de plata visualiza huellas latentes en superficies porosas.

*La carga de residuos de impresiones latentes (a pH bajo).* Es fortuito que el revelador físico de plata es ácido, con un pH de aproximadamente 1.38 ya que esto ayuda a explicar por qué funciona en el revelado de las huellas latentes sobre superficies porosas. Se sabe (Saunders, 1989) que cuando el residuo de impresión latente (sobre un sustrato poroso o no poroso) se sumerge en una solución de oro coloidal con pH <3, las nanopartículas de oro coloidal se depositan selectivamente sobre el residuo. Esto sugiere que a un pH <3, el residuo de impresión latente adquiere una carga positiva. También se sabe que el oro coloidal a pH bajo se utiliza para "manchar" proteínas y esto ocurre porque, a un pH bajo, los grupos amina en las proteínas (por ejemplo, R-NH<sub>2</sub>) adquieren una carga positiva sobre la protonación (R-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>). Por lo tanto, una posibilidad es que el residuo de la impresión latente contenga proteínas

que inicialmente se dispersaron en residuo de la impresión latente, pero, después del secado, se convirtieron en no dispersables. También se sabe que los alquenos (olefinas) pueden adquirir una carga positiva en un ambiente ácido (se forma, ya sea un ion carbonio o un alcohol protonado). Por lo tanto, otra posibilidad es que el residuo de la impresión latente contenga olefinas.

*El área de superficie de las proteínas en las superficies porosas y su unión a la celulosa.* Se reconoció desde el principio que el revelador físico de plata funciona mejor en superficies porosas, superficies particularmente basadas en celulosa, como el papel y el cartón. Cuando el residuo de impresión latente se coloca sobre tales superficies, las porosidad de las superficies causa que el residuo penetre y por lo tanto cubra una gran área de la superficie; esto entonces expone más sitios de nucleación (de activación) para el revelado físico de plata que si no se extendiera (como en una superficie no porosa). Además, si están presentes aminas (como en las proteínas), pueden formar enlaces de hidrógeno con los grupos de hidroxilo en la celulosa.

*El depósito de partículas de plata en el residuo de impresiones latentes.* En el revelador físico de plata, una nanopartícula de plata recién formada está cargada negativamente (debido a los iones de ácido cítrico adheridos) y atrae la "cabeza" de la amina positiva (RNH<sub>3</sub><sup>+</sup>) de varias moléculas de surfactante, que finalmente envuelven toda la partícula (en la configuración escalonada, mencionada anteriormente). Sin embargo, la nanopartícula también se siente atraída por el residuo de impresión latente con carga positiva. Una vez que una de estas nanopartículas alcanza el residuo, se neutraliza. La avalancha de deposición de partículas de plata se produce en esta partícula inicial (porque cada partícula de plata es ahora un sitio de la nucleación - efecto autocatalítico) y crece. El resultado final es una aglomeración de numerosas partículas "crecidas" (alrededor de 10 a 40 μ de diámetro) a lo largo del resto de la impresión latente.

*Formulación.* La formulación del reactivo revelador físico de plata dispuesto en la Sección 7.14 es la formulación original británica (Kent, 1998), que es muy similar a la formulación holandesa (Jonker et al., 1969, pág. 38-44) utilizada en la foto fabricación de tableros de circuito. El procedimiento para la visualización de las impresiones en superficies porosas; sin embargo, implica tres etapas: una etapa de tratamiento previo, el paso del revelado físico de plata y una etapa de tratamiento posterior.



Existen otras formulaciones para los reveladores físicos de plata (Cantu, 2001, pág. 29-64), pero uno que se utiliza actualmente por muchos se basa en el uso de agua de alta pureza, como la de las unidades de purificación de agua que utilizan tecnologías de ósmosis inversa y desionización (el agua se conoce como agua RO/DI). Mediante el uso de tal agua, se necesita menos detergente (2.8 g de cada uno, en lugar de 4.0 g) (Kent, 1998), aunque el rendimiento se ve afectado adversamente. Sin embargo, Burrow et al. (2003, pág. 1094-1100) demostró que también se puede reducir la cantidad de otros componentes y terminar con un reactivo que funcione tan bien o mejor que el reactivo tradicional (lo hace; sin embargo, implica la adición de ácido málico al reactivo); la reducción de costos es de aproximadamente el 16%. Seifert, Burrow, y Ramotowski (desde el laboratorio forense del Servicio Secreto) mostraron (resultados no publicados) que Tween 20 se puede utilizar en lugar de Synperonic-N.

El paso de hipoclorito es un paso de mejora. Hace dos cosas: ilumina (blanquea) el papel y oscurece la impresión de plata. La impresión se hace más oscura a través de la formación de óxido de plata ( $\text{OCl}^- + 2\text{Ag} \rightarrow \text{Ag}_2\text{O} + \text{Cl}^-$   $E^\circ_{\text{redox}} = 550 \text{ mV}$ ; véase la Tabla 7-4). Otros métodos de mejora son tratados por Cantu (2001, pág. 29-64), así como métodos de blanqueamiento. Un método de blanqueamiento, utilizado con éxito al mostrar una impresión revelada encontrada en una impresión altamente marcada, convierte la impresión de plata en una impresión de yoduro de plata blanquecino y se oscurece el fondo a través de la reacción de almidón-yodo (Cantu et al., 2003, pág. 164-168).

**7.13.2.2 Aplicación.** El procedimiento para utilizar el revelador físico de plata involucra tres tratamientos en secuencia y en la misma bandeja de vidrio. El último punto es importante, ya que simplifica el proceso y ahorra tiempo. Se basa en el hecho de que el reactivo residual de un tratamiento no afecta el rendimiento del siguiente tratamiento. Los tres tratamientos son el pretratamiento con ácido, el tratamiento de revelador físico de plata y el post-tratamiento con hipoclorito. De vez en cuando, un pretratamiento de agua destilada precede a estos para eliminar cualquier suciedad o tierra de los especímenes. Éste, así como los otros tratamientos, elimina cualquier impresión revelada con ninhidrina y la escritura o la impresión con tintas solubles en agua (por ejemplo, algunas tintas de pluma con bola de rodillo y tintas de impresión de inyección de tinta). También, un post-tratamiento de agua del grifo se realiza entre el revelado físico de plata y el post-tratamiento de hipoclorito. Una vez más, todo esto se hace en una bandeja de vidrio.

**Water Pretreatment**—This is designed to remove dirt and soil, if present.

**Pretratamiento ácido**—Éste reacciona con el carbonato de calcio en papel alcalino, causando la liberación de dióxido de carbono en forma de burbujas y neutraliza el papel.

**Tratamiento de revelador físico de plata**—Éste se realiza bajo la luz tenue para evitar la foto-reducción de iones de plata a plata elemental (que se traduce en el revelado de fondo y debilitamiento del reactivo). La bandeja se balancea hacia atrás y hacia adelante; dentro de 10 minutos, las impresiones comienzan a revelarse y continúan con el aumento de contraste. Un buen revelado se produce dentro de 10-30 minutos.

**Post-tratamiento de agua**—Éste se realiza con agua potable del grifo durante unos 5 minutos para eliminar el exceso de revelador físico de plata (y cualquier cloruro de plata que se pueda formar).

**Post-tratamiento de hipoclorito**—El tiempo de tratamiento es de aproximadamente 2-3 minutos. Esto aligera el fondo y oscurece la impresión de plata.

**Lavado y secado**—Las muestras se lavan con agua del grifo y se secan (por ejemplo, mediante el uso de una secadora de fotografías o por secado al aire sobre papel secante).

### 7.13.3 Métodos de Depósito Multimetálico

**7.13.3.1 Historia y antecedentes.** A finales de la década de 1980, el Dr. George Saunders, ya luego con el Laboratorio Nacional de Los Alamos en Los Álamos, Nuevo México, visitó el laboratorio forense del Servicio Secreto para compartir ideas acerca de las técnicas para el revelado de huellas dactilares latentes. Presentó una idea novedosa que inicialmente llamó Proceso Universal para la Detección de Huellas Dactilares y, más tarde, puesto que se trataba del depósito de dos metales, el Método de Depósito Multimetálico (MMD). Él basó su idea en un método existente utilizado para la tinción de proteínas, anticuerpos y otras macromoléculas (por ejemplo, proteínas separadas en las membranas o geles). Este método de tinción involucró la tinción con oro coloidal (por lo que el oro coloidal se une a la macromolécula) y la mejora (o amplificación) esta “señal” de oro o mancha con un revelador físico de plata.

La unión de oro coloidal a las proteínas se observó por primera vez en 1939 por Kausche y Ruska (1939, pág. 21-24). En 1971, Faulk y Taylor (1971, pág. 1081-1083) utilizaron esta

propiedad para unir el antisuero de la anti Salmonella y luego el coloide recubierto resultante se utilizó para etiquetar la superficie de la bacteria Salmonella. El mecanismo de etiquetado era detectable a través de la imagen microscópica de electrones del oro. En 1983, DeMey (1983, pág. 82-112) utilizó el oro sin recubrimiento para teñir directamente proteínas en la superficie de la membrana. También en 1983, Holgate et al. (1983, pág. 938-944) mostró que una mancha de oro se puede intensificar con tinción de plata. Básicamente, reconocieron que los coloides de oro son (1) partículas negativas altamente cargadas que se unen a muchas macromoléculas y (2) sitios de activación para el revelado físico de plata. Las partículas de oro coloidal adquieren su carga negativa a través de la adsorción de iones de citrato (cada uno lleva tres cargas negativas) en su superficie (los iones de citrato provienen del citrato de sodio utilizado en la formulación).

Saunders sabía que los residuos de la huella dactilar contienen macromoléculas como las proteínas y lipoproteínas y, por lo tanto, deberían poder ser visualizados a través de la tinción y la mejora de la capacidad del oro coloidal y la técnica del revelador físico. Formuló su propia solución de oro coloidal utilizando el método de Frens (Frens, 1973, pág. 20-22) y revelador físico de plata. Llamó a este último revelador físico modificado para distinguirlo del revelador físico de plata tradicional utilizado para visualizar las impresiones latentes sobre superficies porosas. Al formular sus propios reactivos, fue capaz de optimizarlos. Se encontró que el proceso visualizaba impresiones latentes en superficies porosas y no porosas; incluyendo superficies como vidrio, metal, cerámica y plástico, ya sean oscuros o claros.

Por lo tanto, el proceso de MMD es básicamente un proceso de revelado físico de plata que está precedido por un tratamiento con oro coloidal; el tratamiento de oro ofrece al residuo de la impresión latente los sitios de nucleación (coloides de oro) para el revelado físico de plata. Al igual que el revelador físico de plata, el proceso de MMD revela los componentes insolubles en agua del residuo de la impresión latente (por ejemplo, la porción sebácea del residuo).

Para visualizar las impresiones latentes en superficies porosas con el proceso de MMD, Saunders proporcionó dos observaciones importantes para los usuarios. Una es que, en superficies porosas, debe hacerse un enjuague extenso después del tratamiento con oro coloidal para reducir el posible revelado de fondo. Este se debe a que partículas de oro coloidal se quedan atrapadas en los poros y se convierten en lugares de activación para el revelado físico

de plata. La otra es que el tratamiento con sal de zinc, a veces hecho después del proceso de ninhidrina, debe ser evitado. Los lones divalentes tales como  $Zn^{2+}$  tienen una tendencia a unirse al oro coloidal y, por lo tanto, los iones divalentes atrapados en los poros de la superficie atraen las partículas de oro coloidal y toda la superficie está sujeta al revelado físico de plata.

**7.13.3.2 Formulación (MMD).** El proceso MMD implica dos reactivos utilizados en secuencia: la solución de oro coloidal y el revelador físico de plata modificado.

Hay dos puntos a considerar con respecto a revelador físico de plata modificado: una es que Tween 20, un tensoactivo no iónico, se utiliza en lugar de un tensoactivo catiónico más estabilizador. Cantu y Johnson (2001, pág. 242-247) especulan que esto puede ser debido a que un agente tensoactivo catiónico rodearía partículas de unión de oro (que todavía llevan algo de carga negativa) y por lo tanto impiden el proceso de revelado físico en ellos. El segundo punto es que la concentración de iones de plata de la solución activa es sólo el 0.2% y esta es suficientemente baja e apariencia para que no ocurra el "ennegrecimiento" (formación de óxido de plata) en la superficie de papel alcalino (básico). Por lo tanto, no se necesita ningún tratamiento previo con ácido para neutralizar dicho papel (que normalmente contiene carbonato de calcio). La solución de oro coloidal tiene un pH de aproximadamente 2.8 y, por lo tanto, causa una cierta neutralización en este tipo de papel, pero los iones de calcio divalente que se generan aparentemente no desestabilizan significativamente la solución de oro (pueden hacerlo en la superficie donde se forman). Ejemplos de impresiones latentes reveladas (en una variedad de superficies) mediante el proceso de MMD se encuentran en la Figura 7-23.

**7.13.3.3 Formulación (MMD II).** En 1993, el Dr. Bernard Schnetz presentó su trabajo, llevado a cabo en el Instituto de Policía Científica y Criminología de la Universidad de Lausana, sobre técnicas bioquímicas para amplificar las impresiones latentes tratadas con oro coloidal. Él trató impresiones latentes con oro coloidal, adjuntó una proteína a las partículas de oro coloidal (ya unidos a residuos de impresión latente) y los amplificó con enzimas o manchas que formarían productos coloreados o fluorescentes (Schnetz, 1993). En 1997, se informó acerca de una actualización de este trabajo y también en su variante del proceso de depósito multimetalico (MMD II) (Schnetz, 1997) y en 2001, él y Margot publicaron su trabajo en su optimización (Schnetz y Margot, 2001, pág. 21-28). Como en el proceso MMD, éste es un proceso de dos pasos,



**FIGURA 7-23**

*Impresiones latentes visualizadas por el proceso de MMD en una variedad de superficies. Superior izquierda: vaina del cartucho de un revólver. Superior media: lado adhesivo de la cinta de Mylar negra. Superior derecha: lado adhesivo de la cinta de flejado de alta resistencia. Media: superficies metálicas de un disco de computadora de plástico. Inferior izquierda: etiqueta de papel de un disco de computadora. Inferior derecha: tarjeta de crédito de plástico. Observe que las impresiones reveladas aparecen oscuras en las superficies de color claro y tenues en las superficies de color oscuro.*

pero utiliza material de vidrio siliconizado, oro coloidal con un tamaño de partícula de 14 nm de diámetro (en comparación con los 30 nm para el oro coloidal de Saunders) y un revelador físico de plata muy diferente del revelador físico de plata modificado de Saunders.

El Dr. John Brennan, recientemente retirado del Servicio de Ciencias Forenses (Londres, Reino Unido), ha utilizado con éxito los procesos de MMD y MMD II sobre varios tipos de pruebas y tiende a favorecer el MMD II (J. Brennan, comunicación privada). La Dra. Naomi Jones presentó en su tesis doctoral varios métodos de depósito de metales; también encontró que el proceso MMD II superó al proceso MMD en el rendimiento (Jones, 2002).

### 7.13.4 Reactivos de pavonado

**7.13.4.1 Historia y antecedentes.** El pavonado se utiliza para repintar los cañones de una pistola con un brillo azulado. Se advierte no dejar huellas dactilares en el cañón debido a que la solución de pavonado no funcionará allí (Angier, 1936, pág. 6). Bundeskriminalamt (BKA) en Alemania descubrió que esto también es cierto en los cartuchos de bala (Cantú et al., 1998, pág. 294-298). Así fue el nacimiento de soluciones de pavonado para visualizar huellas latentes en superficies metálicas, en particular los de los cartuchos de bala.

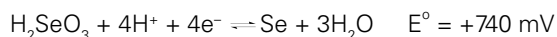
**7.13.4.2 Depósito de metal y grabado.** El pavonado de metales implica la deposición simultánea de dos metales, selenio y cobre, en una superficie de metal. El bimetálico depositado es de color azul-negro.

Como se discutió previamente para el nitrato de plata, la impresión sebácea se resiste a la deposición, y los depósitos de plata (como un metal de gris a negro) en todas partes, excepto cuando existe la huella dactilar. Para ser más precisos acerca de lo que está ocurriendo, debemos señalar que el proceso de depósito siempre se acompaña de un proceso de grabado. Para la plata en cobre, se depositan iones de plata (proceso de deposición o reducción) mientras se remueven los iones cúpricos proceso de grabado u oxidación). Hay, sin embargo, procesos de grabado que no implican la deposición de metales (por ejemplo, el grabado con peróxido de hidrógeno acidificado) (Cantu et al., 1998, pág. 294-298) y estos procesos también se ven obstaculizadas por el material sebáceo.

Otros métodos de depósito de un metal para revelar huellas latentes en los casquillos del cartucho incluyen el uso de paladio (Migron y Mandler, 1997, pág. 986-992) y selenio (Bentsen et al., 1996, pág. 3-8). Además de mostrar que el paladio puede revelar impresiones sebáceas sobre metal, Migron y Mandler hicieron un estudio analítico amplio de cómo funciona el proceso de deposición en las superficies de bronce que contienen grabados sebáceos. El trabajo de Bentsen y sus colegas en la deposición de selenio es similar a lo que hace el pavonado y, por lo tanto, se discute a continuación, junto con el pavonado.

**7.13.4.3 Composición general.** Hay varios fabricantes de soluciones de pavonado y no hay dos soluciones que tengan exactamente la misma formulación, pero todos contienen los tres ingredientes activos necesarios: ácido selenioso, una sal de cobre y un ácido. Una solución

acidificada de ácido selenioso es un reactivo de grabado relativamente fuerte (oxidante), como lo señaló el potencial de oxidación (Tabla 7-4):



Cabe destacar que se necesita ácido (H+) y esta es la razón por la que la solución de pavonado también contiene un ácido. La Tabla 7-4 muestra que una solución ácida de ácido selenioso puede oxidar y grabar cobre, plomo, níquel, zinc y aluminio. Una solución de iones cúpricos es también un fuerte reactivo químico de grabado (oxidante) capaz de oxidar plomo, níquel, zinc y aluminio.

A medida que *cada* uno de estos reactivos graba, los iones de metal se depositan en lo que está grabado. Por ejemplo, en aluminio, la reacción de oxidación y reducción (grabado y depósito) es:



$$E^\circ_{\text{redox}} = 2402 \text{ mV}$$



Si *ambos* reactivos están presentes juntos, como en la solución de pavonado, entonces la relación del Cu al Se que deposita depende de la velocidad (cinética) de cada uno de los dos reactivos en competencia; es posible que una aleación 1:1 de Cu-Se se forme, pero no es seguro. El resultado final es una capa metálica azul-negra (en todo el lugar excepto donde exista una impresión latente sebácea).

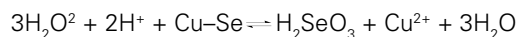
La composición de algunas soluciones de pavonado se da en la Tabla 7-5. Cabe destacar que todas involucran ácido selenioso (uno involucra dióxido de selenio, el cual es la forma anhidra del ácido selenioso), una sal cúprica y un ácido. Curiosamente, Bentsen et al. (1996, pág. 3-8) utilizaron una solución de ácido selenioso al 0.4% (sin iones cúpricos o ácido) para revelar impresiones en superficies metálicas tales como cartuchos de bala usados. Esto deposita metal de selenio en el metal que está siendo tratado y en esta solución, junto con el tratamiento éster de cianoacrilato al vacío, fue categorizado altamente entre otros métodos utilizados.

**7.13.4.4 Formulaciones.** Cantu et al. (1998, pág. 294-298) recomiendan una dilución a 1:80 de una solución de pavonado comercial. Leben y Ramotowski (1996, pág. 8, 10) recomiendan una solución más fuerte (una dilución a 1:40) e indican que una mejora respecto a simplemente utilizar el reactivo de pavonado diluido es tratar a los

especímenes metálicos primero (por ejemplo, los casquillos) con extracción de CA. La Tabla 7-6 es un resumen de sus recomendaciones.

**7.13.4.5 Aplicación.** Desde su introducción por la BKA, el pavonado se utiliza actualmente en varios laboratorios debido a su facilidad. Como se mencionó anteriormente, un tratamiento éster de CA antes del pavonado mejora la detección de huellas latentes sobre metal. Después del tratamiento, hay una tendencia a que la solución de pavonado continúe su deposición y se han propuesto varios métodos de detención (Cantu et al., 1998, pág. 294-298). Estos incluyen la inmersión en una solución de bicarbonato de sodio, la inmersión en barniz transparente (Bentsen et al., 1996, pág. 3-8), la aplicación de un spray de laca (comunicación privada por parte de Anton Theeuwen y Josita Limborgh, Ministerio de Justicia de los Países Bajos, Laboratorio de Ciencias Forenses) y el uso de esmalte de uñas (comunicación privada por parte de Vici Inlow, del laboratorio forense del Servicio Secreto).

Si se produce un revelado excesivo, se recomienda el peróxido de hidrógeno acidificado para eliminar el exceso de depósito pavonado (Cantu et al., 1998, pág. 294-298). Si asumimos que la aleación de cobre de selenio es un aducto 1:1, entonces la reacción neta para su eliminación es.



Una composición sugerida para la solución de peróxido de hidrógeno acidificada es 5 volúmenes de vinagre de uso doméstico (5% de ácido acético) y 7 volúmenes de peróxido de hidrógeno doméstico (peróxido de hidrógeno al 3%). Esto se basa en la estequiometría de la ecuación anterior. Sin embargo, una mezcla 1:1 también funciona bien.

**7.13.4.6 Comentarios sobre el grabado.** El grabado sin deposición de metal también puede revelar huellas en superficies de metal por el contraste entre el fondo grabado formado y la impresión latente sin grabar. De la Tabla 7-4 se puede ver que el ácido puede desplazar al hierro, plomo, níquel, zinc y aluminio. El peróxido de hidrógeno acidificado, sin embargo, también desplazará al cobre. Cantu et al. (1998, pág. 294-298) señalaron que el peróxido de hidrógeno acidificado visualiza impresiones bastante buenas en muchas superficies metálicas. Proporcionan una larga discusión y la explicación de por qué el proceso de grabado debe ser vigilado cuidadosamente: los metales que han quedado grabados en forma de iones pueden volver a depositarse a medida que el proceso continúa.



Tabla 7-5

## Composición de algunas soluciones de pavonado\*

	Fabricante	Birchwood-Casey						Brownells	Outers	E. Kettner
	Nombre comercial	Perma Blue Liquid Gun Blue PB22	Perma Blue Immersion Blue PBIM	Perma Blue Paste Gun Blue SBP 2	Super Blue Extra Strength	Brass Black Metal Touch Up BB2	Aluminum Black PAB 17	Formula 44/40 Instant Gun Blue	Gunslick Gun Blue	Waffen-Brünierung
	Utilizado para	Acero	Acero	Acero	Acero	Latón, Bronce, Cobre	Aluminio	Acero	Acero	Acero
<b>Compuestos de Selenio</b>	Ácido Selenioso	3	4	2	5	3	4	6		
	Dióxido de Selenio								3	
<b>Sal cúprica</b>	Cloruro cúprico			3						
	Nitrato cúprico				4					
	Sulfato cúprico	3	4			4	8	8	2	
<b>Sal de zinc</b>	Sulfato de zinc					5				
<b>Sal de níquel</b>	Sulfato de níquel						1		2	
<b>Ácido</b>	Hidroclórico									
	Nítrico	3	2		4					
	Fosfórico		4	4	4	8	3			
	Fluobórico						2			
	Amido sulfónico							12		
<b>Solución pH (factor de disolución)</b>		2.3 (1/40)	N/A(1/40)	1.5	2.3 (1/80)	2.3 (1/40)	2.3 (1/80)	1.8 (1/80)	3.3 (1/40)	2.3 (1/80)
<b>Other</b>	Polietileno estearil éter			15						
	Octilfenoxi polietoxietanol				1					
	Moldibdato de amonio					4				
	Bifluoruro de amonio			1						

\*Todas las concentraciones están en su máximo porcentaje. Excepto para el pH, toda la información se obtuvo de las hojas de información del Material de Seguridad.

Tabla 7-6

## Resumen de los protocolos recomendados para tratar casquillos de cartuchos.

Cartridge Type	Suggested Treatment After Superglue	Gun Blue (GB) Dilution	Comments
Latón niquelado	Negro latón	1 ml GB en 40 ml de agua destilada	Otras soluciones también funcionaron bien en estos casquillos.
Brass	Formula 44/40 Instant Gun Blue	0.5 mL GB in 40 mL distilled water	Otras soluciones también funcionaron bien en estos casquillos.
Acero lacado	Súper pegamento únicamente		Ninguna de las soluciones de pavonado produjeron detalles identificables.
Aluminum	Aluminum Black	0.5 mL GB in 40 mL distilled water	This is the only solution that worked on this metal.

Schütz et al. (2000, pág. 65-68) compararon el método de grabado y el de pavonado con el método de deposición multimetálico en su capacidad para revelar las huellas latentes sobre cartuchos. Ellos encontraron que (1) el pavonado sobresalió en la visualización de las impresiones sebáceas en los casquillos de latón, (2) para los casquillos de aluminio, el MMD funcionó mejor (el paso del revelador físico modificado realizado después de la etapa de oro coloidal, reveló el contraste de la impresión) y (3) no funcionó bien para los casquillos de acero lacado. Para este último, recomiendan extracción de CA.

### 7.13.5 Negro Sudán B

**7.13.5.1 Historia y antecedentes.** El negro Sudán B (aquí referido como negro Sudán) fue utilizado inicialmente en los laboratorios para pruebas biológicas o cribado químico para los componentes grasos (Figura 7-24). La reacción produce un producto o imagen azul-negra. El negro Sudán se reportó inicialmente para su uso como una técnica de revelado de crestas de fricción en 1980 por Mitsui, Katho, Shimada, y Wakasugi del Laboratorio de Ciencia Criminal en Nagoya-shi, Japón (Mitsui et al, 1980, pág. 9-10; 1981, pág. 84-85).

El negro Sudán es una mancha de colorante utilizada para la detección de componentes sebáceos en residuos de la piel sobre las crestas de fricción en algunos sustratos no porosos y semiporosos (por ejemplo, guantes de látex y algunas cerámicas) (Figura 7-25). Esta mancha de tinte también detecta el detalle de la cresta de fricción en la piel donde ésta o el sustrato que hayan sido contaminados con grasa, residuos de alimentos o depósitos secos de refrescos o bebidas endulzadas (por ejemplo, por fructosa o sacarosa). También se ha usado para incrementar el detalle de la cresta de fricción tratada previamente por la técnica de extracción de CA.

Tendrán que ser considerados el color y la porosidad del sustrato. Los sustratos porosos tienden a absorber el colorante, lo que resulta en una falta de contraste entre el

detalle de las crestas de fricción y el fondo del producto. Debido al color azul-negro de la mancha de tinte, habrá una falta de contraste entre el detalle de las crestas de fricción y los productos de colores oscuros. Se recomienda que otras técnicas de procesamiento se utilicen en estos productos (Stone y Metzger, 1981, pág. 13-14).

Las impresiones procesadas con negro Sudán seco se han levantado utilizando cinta de levantamiento convencional (tal como se utiliza con la técnica de procesamiento de polvo). Se ha tenido éxito en recubiertos de cera, brillosos y sustratos lisos. Sin embargo, ha tenido menos éxito en sustratos fuertemente contaminados, desiguales, y semiporosos.

#### 7.13.5.2 Validación del reactivo y técnica de aplicación.

Como en la aplicación de todos los reactivos y procesos, se sugiere que la solución de negro Sudán sea validada antes de su uso. Para validar la solución, se debe contaminar un sustrato no poroso con la matriz específica (por ejemplo, sebácea-grasa-, fructosa-, sacarosa- o detalles o materiales de las crestas de fricción contaminados con alimentos), a continuación, aplicar la solución de negro Sudán al sustrato en el manera se señala más adelante. Si no se observa reacción, la solución o la matriz de validación requieren una evaluación adicional. Es una buena práctica para familiarizarse con la técnica de aplicación y la reacción o reacciones con el sustrato y la matriz antes de aplicarlos a las pruebas.

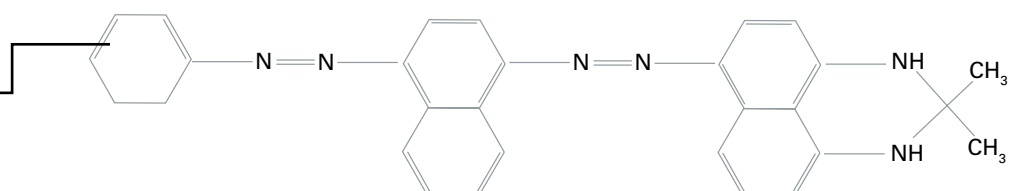
Revisar las fichas de seguridad referentes a la seguridad, manipulación y almacenamiento de información.

**7.13.5.3 Solución de reactivo.** La solución del reactivo consta de 15 g de negro Sudán disueltos en 1 L de etanol o metanol, creando una solución de color azul-negro, la cual se añade a continuación a 500 ml de agua destilada y se agita hasta que esté completamente mezclada. La vida útil de la solución es indefinida.

**7.13.5.4 Metodología secuencial y técnica de procesamiento.** Antes de procesamiento con negro Sudán, se

**FIGURA 7-24**

Estructura química del negro Sudán.







**FIGURA 7-25**

*Detalle de la cresta de fricción sebácea en un sustrato de plástico procesado con negro Sudán.*

debe ver el producto con una fuente de luz forense para detectar cualquier fluorescencia inherente del residuo de las crestas de fricción o del sustrato. Se debe fotografiar cualquier detalle visible.

- Colocar la solución de negro Sudán en un vaso limpio o un plato de metal, verter una cantidad suficiente para sumergir el producto que se está procesando. La solución también se puede aplicar por aspersion. Se recomienda que la técnica de inmersión se utilice para evitar la inhalación de partículas en el aire del aspersor.
- Dejar que el producto se sumerja en la solución durante aproximadamente 2 minutos. Si el producto ha sido previamente procesado utilizando la técnica de extracción de CA, el producto puede requerir mayor tiempo de inmersión en la solución.
- Enjuagar el producto bajo agua potable fresca o fría del grifo de forma lenta, o colocar el producto en un plato limpio que contiene agua fresca o fría hasta que se retire el exceso de tinte del fondo.
- Dejar que se seque producto a temperatura ambiente.
- Ver la imagen azul-negro revelada; las imágenes débiles han sido mejoradas por un segundo tratamiento con la solución de negro Sudán (seguir los pasos anteriores de la aplicación). Se sugiere que el producto se observe con una fuente de luz forense después del procesamiento con negro Sudán debido a que el fondo puede emitir fluorescencia, creando un contraste mejorado.
- Cualquiera de las imágenes reveladas necesitarán ser fotografiadas para propósitos de comparación, documentación y archivo.

## 7.14 Formulaciones para Soluciones Químicas

### 7.14.1 Ninhidrina (Kent, 1998; Champod et al, 2004, pág. 239)

Solución base: 25 g de ninhidrina disuelta en 225 ml de etanol absoluto, 10 ml de acetato de etilo, 25 ml de ácido acético glacial.

Solución activa: 52 ml de solución base diluidos a 1000 ml con HFE 7100.

### 7.14.2 Solución de Cloruro de Zinc (Champod et al., 2004, pág. 240)

Solución base: 8 g de cloruro de zinc disuelto en 180 ml de etanol, 20 ml de ácido acético glacial.

Solución activa: 6 ml de solución base diluida en 100 ml con disolvente portador (por ejemplo, HFE 7100).

### 7.14.3 1,8-Diazafluoreno-9-uno (DFO) (Kent, 1998; Champod et al, 2004, pág. 230)

0.25 g de DFO disuelto en 30 ml de metanol y 20 ml de ácido acético glacial. Agregar esto a 725 ml de HFE 7100 y 275 ml de HFE 71DE.

### 7.14.4 Ninhidrina no Polar (Stimac, 2003a, pág. 185-197)

Solución base: 1.5 g de ninhidrina disueltos en 100 ml de HFE 71IPA (puede requerir reflujo a baja temperatura).

Solución activa: 15 ml de solución base diluida con 100 ml de HFE 7100.

### 7.14.5 1,2-Indanodiona

0.25 g de 1,2-indanodiona disueltos en 90 ml de acetato de etilo y 10 ml de ácido acético glacial. Añadir esto a 1 L de HFE 7100 (Merrick et al., 2002, pág. 595-605).

ó

2 g de 1,2-indanodiona disueltos en 70 ml de acetato de etilo. Añadir esto a 1 L HFE 7100

(Almog et al., 1999, pág. 114-118).

### 7.14.6 5-Metiltioninhidrina (5-MTN) (Wallace-Kunkel et al., 2006, pág. 4-13)

1.7 g de 5-MTN disueltos en 52.5 ml de acetato de etilo, 50 ml de metil tert-butil éter, 12.5 ml de etanol absoluto y 5 ml de ácido acético glacial. Agregar esto a 360 ml de HFE 7100.

### 7.14.7 2-Isononilninhidrina (INON, Thermanin) (Al Mandhri y Khanmy-Vital, 2005)

4-5 g de INON disueltos en 15 ml de acetato de etilo, 5 ml de isopropanol y 980 ml de HFE 7100.

### 7.14.8 Nitrato de Plata (Trozzi et al., 2000, pág. 38-39)

Disolver 30 g de nitrato de plata en 1 L de agua destilada.

ó

Disolver 30 g de nitrato de plata en 100 ml de agua destilada y añadir a 1 L de etanol.

### 7.14.9 Revelador Físico (Kent, 1998)

*Pretratamiento ácido:* se disuelven 30 g de ácido maléico en 1 L de agua destilada. Vida en almacenamiento indefinida.

*Solución base # 1:* 30 g de nitrato férrico nonahidrato disueltos en 900 ml de agua destilada. 80 g de sulfato de amonio ferroso hexahidratado disuelto en esta solución. 20 g de ácido cítrico anhidro disuelto en esta solución. La en almacenamiento puede ser de varios meses.

*Solución base # 2:* 4 g de acetato de n-dodecilamina disueltos en 1 L de agua destilada. 4 g (4 ml) de Synperonic N fueron añadidos a esta solución. Vida en almacenamiento indefinida.

*Solución base #3:* 20 g de nitrato de plata disueltos en 100 ml de agua destilada. Vida en almacenamiento indefinida.

*Solución activa:* 900 ml de solución base # 1. Añadir 40 ml de solución base # 2 y agitar durante 5 minutos. Añadir 50 ml de solución base # 3 y agitar durante 5 minutos. La vida en almacenamiento es de 1-2 semanas.

*Solución de post-tratamiento de hipoclorito:* 100 ml de cloro de uso doméstico (~6% de NaOCl) se mezcla con 100 ml de agua.

### 7.14.10 Depósito Multimetálico (Saunders, 1989, 1996, 1997)

#### **Solución de oro coloidal**

*Solución base # 1:* 10% (p/v) de ácido tetracloroaurico ( $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) en agua de alta pureza (RO/DI).

*Solución base # 2:* 1% (p/v) de citrato trisódico ( $\text{Na}_3\text{Cit} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) en agua de alta pureza.

*Solución base # 3:* 0.5 M (10.5% p/v) de ácido cítrico ( $\text{H}_3\text{Cit} \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) en agua de alta pureza.

*Solución base # 4:* 1% de glicol de polietileno.

*Solución activa:* Añadir 1 ml de solución base # 1 a 1 L de agua de alta pureza y someter a ebullición. Añadir rápidamente 10 ml de solución base # 2 y hervir ligeramente durante 10 minutos. Añadir 5 ml de Tween 20 (o Tween 80) y mezclar bien. Añadir 10 ml de solución base # 4 a la solución enfriada y ajustar el pH a 27 usando solución base # 3. Restaurar un volumen total de 1 L de agua de alta pureza. La vida en almacenamiento es de 3 meses.

#### **Solución modificada del revelador físico de plata**

*Solución base # 1:* Disolver 33 g de nitrato férrico nonahidrato en 1 L de agua de alta pureza. Añadir 89 g de sulfato de amonio ferroso hexahidratado a la solución. Añadir 22 g de ácido cítrico a la solución. Añadir 1 ml de Tween 20 a la solución.

*Solución base # 2:* 20% (p/v) de nitrato de plata en agua de alta pureza.

*Solución activa:* Añadir 1 parte de la solución base # 2 a 99 partes de la solución # 1. Sólo es estable durante 15 minutos.

#### **Aplicación**

*Prelavado:* Los productos porosos se deben lavar varias veces en agua de alta pureza.



*Oro coloidal:* Remojar los productos en la solución de oro coloidal durante 30-120 minutos, pero evitar el revelado excesivo.

*Entre el enjuague:* Enjuagar los productos en agua de alta pureza. Para productos porosos, utilizar varios cambios de agua durante 15 minutos o más.

*Reveladores físicos de plata:* Colocar los productos en la solución recién hecha. La amplificación de plata se produce dentro de 10 a 15 minutos.

*Post-lavado:* Enjuagar con agua del grifo. Deje secar al aire.

### 7.14.11 MMD II (Schnetz y Margot, 2001, pág. 21-28)

#### **Silanización de cristalería**

Sumergir la cristalería durante 8 horas en 10% de Extran MA 01 líquido alcalino (Merck). Enjuagar con agua caliente de alta pureza y luego con agua fría de alta pureza. Secar en un horno a 100 ° C. Remojar durante 5 segundos en 2% (v/v) de 3-aminopropiltrióxido de silano en acetona. Enjuagar dos veces con acetona, después con agua. Secar en un horno a 42°C durante 8 horas.

#### **Solución de oro coloidal**

*Solución base # 1:* 10% (p/v) de ácido tetracloroaurico en agua de alta pureza.

*Solución base # 2:* 1% (w/v) citrato de sodio en agua de alta pureza.

*Solución base # 3:* 0.5 M de ácido cítrico en agua de alta pureza.

*Solución Base # 4:* 1% (p/v) de ácido tánico en agua de alta pureza.

*Solución activa # 1:* Añadir 0.5 ml de solución base # 1 a 400 ml de agua de alta pureza. Calentar a 60°C.

*Solución activa # 2:* Añadir 20 ml de solución base # 2 y 0.1 ml de solución base # 4 a 75 ml de agua de alta pureza. Calentar a 60°C.

Una vez que ambas soluciones alcanzan los 60°C, añadir rápidamente solución activa # 2 para trabajar la solución # 1 y mezclar enérgicamente. Calentar la mezcla hasta la ebullición, enfriar y ajustar a 500 ml con agua de alta pureza. La solución puede ser almacenada en una botella de plástico a

4°C. Antes de usar, llevarla a temperatura ambiente, añadir 0.5 ml de Tween 20 (o Tween 80) y ajustar el pH a 2.7 con solución base # 3.

#### **Solución del revelador físico de plata**

*Solución base # 1:* 24 partes al 25.5% (p / v) de solución de ácido cítrico, 22 partes de solución de citrato de sodio al 23.5% y 50 partes de agua de alta pureza. Ajustar el pH a 3.8 con ácido cítrico adicional o con solución de citrato de sodio.

*Solución base # 2:* 0.2% (p / v) de solución de acetato de plata.

*Solución base # 3:* 0.5% (p / v) hidroquinona en solución base # 1.

*Solución de enjuague:* 0.25% (p / v) hidroquinona (1 parte solución base # 3 y 1 parte de agua de alta pureza).

*Solución activa:* Una parte de solución base # 2 y una parte de solución base # 3. Es inestable, por lo que se debe preparar justo antes de su uso.

#### **Aplicación**

*Prelavado:* Los productos porosos se deben lavar con agua de alta pureza durante 2 minutos. Los productos no porosos necesitan sólo un breve lavado en agua de alta pureza.

*Oro coloidal:* Remojar los productos en solución de oro coloidal durante 5-15 minutos con agitación suave.

*Entre el enjuague:* Enjuagar brevemente en agua de alta pureza.

*Entre el enjuague de hidroquinona:* Enjuagar durante 2-5 minutos en solución de enjuague de hidroquinona.

*Revelador físico de plata:* Colocar los artículos en revelador físico de plata por unos 18 minutos.

*Post-lavado:* Enjuagar con agua de alta pureza.

*Fijación:* Fijar con dilución al 1:9 de fijador fotográfico durante 2-5 minutos, enjuagar con agua del grifo, secar al aire.

## 7.15 Revisores

Los revisores que participaron en este capítulo fueron Christophe Champod, Sue Mancini Coppejans, Christine L.

Craig, Robert J. Garrett, Deborah Leben, Bridget Lewis, Jon T. Stimac, Juliet H. Wood y Rodolfo R. Zamora.

## 7.16 Referencias

Abderhalden, E.; Schmidt, H. Utilization of Triketohydrindene Hydrate for the Detection of Proteins and Their Cleavage Products. *Z. Physiologische Chem.* 1911, 72, 37.

Al Mandhri, A.; Khanmy-Vital, A. Detection of Fingerprints on Paper with 2-Isononyl-Ninhydrin. Presented at the 17th Meeting of the International Association of the Forensic Sciences. Hong Kong, 2005.

Almog, J. Fingerprint Development by Ninhydrin and Its Analogues. In *Advances in Fingerprint Technology*; Lee, H. C., Gaensslen, R. E., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, 2001.

Almog, J.; Hirshfeld, A. 5-Methoxyninhydrin: A Reagent for the Chemical Development of Latent Fingerprints That Is Compatible with the Copper Vapour Laser. *J. Forensic Sci.* 1988, 33 (4), 1027–1030.

Almog, J.; Hirshfeld, A.; Klug, J. T. Reagents for the Chemical Development of Latent Fingerprints: Synthesis and Properties of Some Ninhydrin Analogues. *J. Forensic Sci.* 1982, 27 (4), 912–917.

Almog, J.; Hirshfeld, A.; Frank, A.; Grant, H.; Harel, Z.; Ittah, Y. 5-Methylthio Ninhydrin and Related Compounds: A Novel Class of Fluorogenic Fingerprint Reagents. *J. Forensic Sci.* 1992, 37 (3), 688–694.

Almog, J.; Springer, E.; Wiesner, S.; Frank, A.; Khodzhaev, O.; Lidor, R.; Bahar, E.; Varkony, H.; Dayan, S.; Razen, S. Latent Fingerprint Visualization by 1,2-Indanedione and Related Compounds: Preliminary Results. *J. Forensic Sci.* 1999, 44 (1), 114–118.

Anderson, K. N.; Anderson, L. E.; Glanze, W. D., Eds. *Mosby's Medical, Nursing, and Allied Health Dictionary*, 5th ed.; Mosby, Inc.: St. Louis, MO, 1998.

Angier, R. H. *Firearm Blueing and Browning*; Arms and Armour: London, 1936.

Atkins, P.W. *Physical Chemistry*, 4th ed.; W. H. Freeman and Co.: New York, 1990.

Ballantyne, J. Serology: Overview. In *Encyclopedia of Forensic Science*; Siegel, J., Saukko, P., Knupfer, G., Eds.; Academic Press: London, 2000; pág 1322–1331.

Bandey, H. L. *The Powder Process, Study 1: Evaluation of Fingerprint Brushes for Use with Aluminum Powder*; HOPSDB Report 54/2004; Home Office Police Scientific Development Branch: Sandridge, U.K., 2004.

Bandey, H. L.; Kent, T. *Superglue Treatment of Crime Scenes—A Trial of the Effectiveness of the Mason Vactron SUPERfume Process*; HOPSDB Report 30/2003; Home Office Police Scientific Development Branch: Sandridge, U.K., 2003.

Barnett, K. G.; Bone, R. G.; Hall, P.W.; Ide, R. H. *The Use of Water Soluble Protein Dye for the Enhancement of Footwear Impressions in Blood on Non-Porous Surfaces—Part I*; Technical Note 629; Forensic Science Service: Birmingham, U.K., 1988.

Batey, G.; Copeland, J.; Donnelly, D.; Hill, C.; Laturus, P.; McDiarmid, C.; Miller, K.; Misner, A. H.; Tario, A.; Yamashita, A. B. Metal Deposition for Latent Print Development. *J. Forensic Ident.* 1998, 48 (2), 165–176.

Bayford, F. Sweat. *Fingerprint Whorld* 1976, 1, 42–43.

Bentsen, R. K.; Brown, J. K.; Dinsmore, A.; Harvey, K. K.; Kee, T. G. Post Firing Visualization of Fingerprints on Spent Cartridge Cases. *Sci. Justice* 1996, 36 (1), 3–8.

Bernier, U. R.; Booth, M. M.; Yost, R. A. Analysis of Human Skin Emanations by Gas Chromatography/Mass Spectrometry: 1. Thermal Desorption of Attractants for the Yellow Fever Mosquito (*Aedes Aegypti*) from Handled Glass Beads. *Anal. Chem.* 1999, 71 (1), 1–7.

Bernier, U. R.; Kline, D. L.; Barnard, D. R.; Schreck, C. E.; Yost, R. A. Analysis of Human Skin Emanations by Gas Chromatography/Mass Spectrometry: 2. Identification of Volatile Compounds That Are Candidate Attractants for the Yellow Fever Mosquito (*Aedes Aegypti*). *Anal. Chem.* 2000, 72 (4), 747–756.

Bessman, C. W.; Nelson, E.; Lipert, R. J.; Coldiron, S.; Herrman, T. R. A Comparison of Cyanoacrylate Fuming in a Vacuum Cabinet to a Humidity Fuming Chamber. *J. Forensic Ident.* 2005, 55 (1), 10–27.

Bodziak, W. J. Use of Leuco-Crystal Violet to Enhance Shoeprints in Blood. *Forensic Sci. Int.* 1996, 82 (1), 45–52.



- Bottom, C. B.; Hanna, S. S.; Siehr, D. J. Mechanism of the Ninhydrin Reaction. *Biochem. Educ.* 1978, 6 (1), 4–5.
- Bowman, V., Sears, V., Bandey, H., Hart, A., Bleay, S., Gibson, A., Fitzgerald, L., Eds. What Is the Oldest Fingerprint You Have Developed? In *Fingerprint Development and Imaging Update*. Home Office Scientific Development Branch: Sandridge, U.K., 2003; pág 2–3.
- Boysen, T. C.; Yanagawa, S.; Sato, F.; Sato, K. A Modified Anaerobic Method of Sweat Collection. *J. Applied Physiol.* 1984, 56 (5), 1302–1307.
- Bramble, S. K.; Brennan, J. S. Fingerprints (Dactyloscopy): Chemistry of Print Residue. In *Encyclopedia of Forensic Science*; Siegel, J., Saukko, P., Knupfer, G., Eds.; Academic Press: London, 2000; pág 862–869.
- Bratton, R. M.; Juhala, J. A. DFO-Dry. *J. Forensic Ident.* 1995, 45 (2), 169–172.
- Bratton, R. M.; Gregus, J.; Juhala, J. A. A Black Powder Method to Process Adhesive Tapes. *Fingerprint Whorld* 1996, 22 (83), 28.
- Brusilow, S. W.; Gordes, E. H. Ammonia Secretion in Sweat. *American J. Physiol.* 1968, 214 (3), 513–517.
- Bunting, R. K. *The Chemistry of Photography*; Photoglass Press: Normal, IL, 1987.
- Bureau voor Dactyloscopische Artikelen (BVDA). Product Information for 5-Methylthioninhydrin and Thermanin. <http://www.bvda.com> (accessed Jan 5, 2010).
- Burns, D. S. Sticky-Side Powder: The Japanese Solution. *J. Forensic Ident.* 1994, 44 (2), 133–138.
- Burow, D.; Seifert, D.; Cantu, A. A. Modifications to the Silver Physical Developer. *J. Forensic Sci.* 2003, 48 (5), 1094–1100.
- Campbell, B. M. Vacuum Chamber Cyanoacrylate Technique Evolution. *RCMP Gazette* 1991, 53 (12), 12–16.
- Campbell, B. M. Time-Resolved Photography of Latent Prints on Fluorescent Backgrounds. *J. Forensic Ident.* 1993, 43 (4), 368–377.
- Cantu, A. A. Silver Physical Developers for the Visualization of Latent Prints on Paper. *Forensic Sci. Rev.* 2001, 13 (1), 29–64.
- Cantu, A. A.; Johnson, J. L. Silver Physical Development of Latent Prints. In *Advances in Fingerprint Technology*; Lee, H. C., Gaensslen, R. E., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, 2001; pág 242–247.
- Cantu, A. A.; Leben, D. A.; Joullié, M. M.; Heffner, R. J.; Hark, R. R. A Comparative Examination of Several Amino Acid Reagents for Visualizing Amino Acid (Glycine) on Paper. *J. Forensic Ident.* 1993, 43 (1), 44–66.
- Cantu, A. A.; Leben, D. A.; Ramotowski, R.; Kopera, J.; Simms, J. R. Use of Acidified Hydrogen Peroxide to Remove Excess Gun Blue from Gun Blue-Treated Cartridge Cases and to Develop Latent Prints on Untreated Cartridge Cases. *J. Forensic Sci.* 1998, 43 (2), 294–298.
- Cantu, A. A.; Leben, D. A.; Kelley, W. Some Advances in the Silver Physical Development of Latent Prints on Paper. *Int. Soc. Opt. Eng. (SPIE)* 2003, 5071, 164–168.
- Cava, M. P.; Little, R. L.; Napier, D. R. Condensed Cyclobutane Aromatic Systems: V. The Synthesis of Some a-Diazo-Indanones: Ring Contraction in the Indane Series. *J. Am. Chem. Soc.* 1958, 80 (9), 2257–2263.
- Champod, C.; Lennard, C.; Margot, P.; Stoilovic, M. *Fingerprints and Other Ridge Skin Impressions*; CRC Press: Boca Raton, FL, 2004.
- Cheeseman, R.; DiMeo, L. A. Fluorescein as a Field-Worthy Latent Bloodstain Detection System. *J. Forensic Ident.* 1995, 45 (6), 631–646.
- Christie, R. M.; Mather, R. R.; Wardman, R. H. *The Chemistry of Colour Application*; Blackwell Science, Ltd.: Oxford, 2000.
- Clay, W. E. Fluorisol: The Solvent of Choice for Ninhydrin Detection of Latent Fingerprints. *Ident. News* 1981, 31 (4), 12–13.
- Conn, C.; Ramsay, G.; Roux, C.; Lennard, C. The Effect of Metal Salt Treatment on the Photoluminescence of DFO-Treated Fingerprints. *Forensic Sci. Int.* 2001, 116 (2), 117–123.
- Cowger, J. F. *Friction Ridge Skin, Comparison and Identification of Fingerprints*; Elsevier Science: New York, 1983.
- Crown, D. A. The Development of Latent Fingerprints with Ninhydrin. *J. Crim. Law Criminol. Police Sci.* 1969, 60 (2), 258–264.

Cuthbertson, F. *The Chemistry of Fingerprints*; AWRE Report No. 013/69; United Kingdom Atomic Weapons Establishment: Aldermaston, U.K., 1969.

Dalrymple, B.; Duff, J. M.; Menzel, E. R. Inherent Fingerprint Fluorescence-Detection by Laser. *J. Forensic Sci.* 1977, 22 (1), 106–115.

Davies, P. J.; Kobus, H. J.; Taylor, M. R.; Wainwright, K. P. Synthesis and Structure of the Zinc(II) and Cadmium(II) Complexes Produced in the Photoluminescent Enhancement of Ninhydrin Developed Fingerprints Using Group 12 Metal Salts. *J. Forensic Sci.* 1995a, 40 (4), 565–569.

Davies, P. J.; Taylor, M. R.; Wainwright, K. P.; Kobus, H. J. Zinc(II) Chloride-Methanol Complex of 2-[(1,3-Dihydro-1,3-dioxo-2H-inden-2-ylidene)amino]-1H-indene-1,3(2H)-dionate(1-) Sodium Salt: A Complex of Ruhemann's Purple. *Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun.* 1995b, 51 (9), 1802–1805.

Dayan, S.; Almog, J.; Khodzhaev, O.; Rozen, S. A Novel Synthesis of Indanediones Using the HOFCH<sub>3</sub>CN Complex. *J. Org. Chem.* 1998, 63 (8), 2752–2754.

Dean, J. A. *Lange's Handbook of Chemistry*, 13th ed.; McGraw-Hill: New York, 1985.

Della, E. W.; Janowski, W. K.; Pigou, P. E.; Taylor, B. Synthesis of Fingerprint Reagents: Aromatic Nucleophilic Substitution as a Route to 5-Substituted Ninhydrins. *Synthesis* 1999, 12, 2119–2123.

DeMey, J. Colloidal Gold Probes in Immunocytochemistry. In *Immunohistochemistry: Practical Applications in Pathology and Biology*; Polak, J. M., Van Noorden, S., Eds.; John Wright and Sons Ltd.: London, 1983; pág 82–112.

Didierjean, C.; Debart, M.; Crispino, F. New Formulations of DFO in HFE7100. *Fingerprint Whorld* 1998, 24 (94), 163–167.

Druey, J.; Schmidt, P. Phenanthrolinequinone und Diazfluorene. *Helv. Chim. Acta* 1950, 33 (4), 1080–1087.

Eckert, W. G.; James, S. H. *Interpretation of Bloodstain Evidence at Crime Scenes*; Elsevier Science: New York, 1989.

Elber, R.; Frank, A.; Almog, J. Chemical Development of Latent Fingerprints: Computational Design of Ninhydrin Analogues. *J. Forensic Sci.* 2000, 45 (4), 757–760.

Everse, K. E.; Menzel, E. R. Sensitivity Enhancement of Ninhydrin-Treated Latent Fingerprints by Enzymes and Metal Salts. *J. Forensic Sci.* 1986, 31 (2), 446–454.

Faragher, A.; Summerscales, L. *Fingerprint Enhancement Using the Amido Black Technique after Chemical Fixation*; Technical Note 240; Forensic Science Service: Birmingham, U.K., 1981.

Faulk, W. P.; Taylor, G. M. An Immunocolloid Method for the Electron Microscope. *Immunochemistry* 1971, 8 (11), 1081–1083.

Feigl, F.; Anger, V. *Spot Tests in Inorganic Analysis*; Elsevier: Amsterdam, 1972.

Fitzgerald, L. Development of a GC-MS Method for the Analysis of Latent Fingerprint Components. Presented at the International Fingerprint Research Group Meeting, St. Albans, U.K., 2003.

Forgeot, R. Etude medico-legale des empreintes peu visibles ou invisibles et revelees par des procedes speciaux. *Archives d'anthropologie criminelle et des sciences penales* 1891, 6, 387–404.

Förström, L.; Goldyne, M. E.; Winkelmann, R. K. IgE in Human Eccrine Sweat. *J. Investigative Derm.* 1975, 64 (3), 156–157.

Frank, A.; Almog, J. Modified SPR for Latent Fingerprint Development on Wet, Dark Objects. *J. Forensic Ident.* 1993, 43 (3), 240–244.

Frens, G. Controlled Nucleation for the Regulation of the Particle Size in Monodisperse Gold Suspensions. *Nature* 1973, 241 (105), 20–22.

Friedman, M.; Williams, L. D. Stoichiometry of Formation of Ruhemann's Purple in the Ninhydrin Reaction. *Bioorg. Chem.* 1974, 3, 267–280.

Froude, Jr. J. H. The Super Glue Fuming Wand: A Preliminary Evaluation. *J. Forensic Ident.* 1996, 46 (1), 19–31.

Garner, D. D.; Cano, K. M.; Peimer, R. S.; Yeshion, T. E. An Evaluation of Tetramethylbenzidine as a Presumptive Test for Blood. *J. Forensic Sci.* 1976, 21 (4), 816–821.

Gerber, S. M.; Saferstein, R. Eds. *More Chemistry and Crime: From Marsh Arsenic Test to DNA Profile*; American Chemical Society: Washington, DC, 1997.



- German, E. R. You Are Missing Ninhydrin Developed Prints. *Ident. News* 1981, 31 (9), 3–4.
- German, E. R. Cyanoacrylate (Superglue) Fuming Tips. 2005. <http://www.onin.com/fp> (accessed Jan 5, 2010).
- Godsell, J. Fingerprint Techniques. *J. Forensic Sci. Soc.* 1963, 3 (2), 79.
- Goode, G. C.; Morris, J. R. *Latent Fingerprints: A Review of Their Origin, Composition, and Methods for Detection*; AWRE Report No. 022/83; United Kingdom Atomic Weapons Research Establishment: Aldermaston, U.K., 1983.
- Green, S. C.; Stewart, M. E.; Downing, D. Variation in Sebum Fatty Acid Composition Among Adult Humans. *J. Investigative Dermatol.* 1984, 83 (2), 114–117.
- Grigg, R.; Malone, J. F.; Mongkolaussavaratana, T.; Thianpatanagul, S. Cycloaddition Reactions Relevant to the Mechanism of the Ninhydrin Reaction. X-Ray Crystal Structure of Protonated Ruhemann's Purple, a Stable 1,3-Dipole. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1986, 421–422.
- Grigg, R.; Malone, J. F.; Mongkolaussavaratana, T.; Thianpatanagul, S. X=Y-ZH Compounds as Potential 1,3 Dipoles. Part 23 Mechanisms of the Reactions of Ninhydrin and Phenalene Trione with  $\alpha$ -Amino Acids. X-Ray Crystal Structure of Protonated Ruhemann's Purple, a Stable Azomethine Ylide. *Tetrahedron* 1989, 45 (12), 3849–3862.
- Grigg, R.; Mongkolaussavaratana, T.; Pounds, C. A.; Sivagnanam, S. 1,8-Diazafluorenone and Related Compounds. A New Reagent for the Detection of  $\alpha$ -Amino Acids and Latent Fingerprints. *Tetrahedron Lett.* 1990, 31 (49), 7215–7218.
- Guerrero, M. B. L. The Transparent, Liquid Adhesive, Latent Print Lifter. *J. Forensic Ident.* 1992, 42 (2), 101–105.
- Hadorn, B.; Hanimann, F.; Anders, P.; Curtius, H.; Halverson, R. Free Amino Acids in Human Sweat from Different Parts of the Body. *Nature* 1967, 215 (99), 416–417.
- Hall, M. M. Ridge Detail Through Latex Gloves. *J. Forensic Ident.* 1991, 41 (6), 415–416.
- Hambley, D. S. The Physics of Vacuum Evaporation Development of Latent Fingerprints. Ph.D. Thesis, The Royal Holloway College, University of London, 1972.
- Hamilton, P. B. Amino-Acids on Hands. *Nature* 1965, 205, 284–285.
- Hansen, D. B.; Joullié, M. M. The Development of Novel Ninhydrin Analogues. *Chem. Soc. Rev.* 2005, 34, 408–417.
- Hardwick, S. A.; Kent, T.; Sears, V. *Fingerprint Detection by Fluorescence Examination: A Guide to Operational Implementation*; White Crescent Press, Ltd.: Luton, U.K., 1990.
- Hardwick, S. A.; Kent, T.; Sears, V.; Winfield, P. Improvements to the Formulation of DFO and the Effects of Heat on the Reaction with Latent Fingerprints. *Fingerprint Whorld* 1993, 19 (73), 65–69.
- Harvey, K. K.; Dinsmore, A.; Brown, J. K.; Burns, D. S. Detection of Latent Fingerprints by Vacuum Cyanoacrylate Fuming—An Improved System. *Fingerprint Whorld* 2000, 26, 29–31.
- Hauze, D. B.; Petrovskaia, O.; Taylor, B.; Joullie, M. M.; Ramotowski, R.; Cantu, A. A. 1,2-Indanediones: New Reagents for Visualizing the Amino Acid Components of Latent Prints. *J. Forensic Sci.* 1998, 43 (4), 744–747.
- Hawthorne, J. S.; Wojcik, M. H. Alcohol Measurement: A Review of the Literature. *Can. Soc. Forensic Sci. J.* 2006, 39 (2), 65–71.
- Heffner, R. J.; Joullié, M. M. Synthetic Routes to Ninhydrins. Preparation of Ninhydrin, 5-Methoxyninhydrin, and 5-(Methylthio)ninhydrin. *Synth. Commun.* 1991, 21 (21), 2231–2256.
- Herod, D. W.; Menzel, E. R. Laser Detection of Latent Fingerprints: Ninhydrin. *J. Forensic Sci.* 1982a, 27 (1), 200–204.
- Herod, D. W.; Menzel, E. R. Laser Detection of Latent Fingerprints: Ninhydrin Followed by Zinc Chloride. *J. Forensic Sci.* 1982b, 27 (3), 513–518.
- Hewlett, D. F.; Sears, V.; Suzuki, S. Replacements for CFC113 in the Ninhydrin Process: Part 2. *J. Forensic Ident.* 1997, 47 (3), 300–305.
- Hier, S. W.; Cornbleet, T.; Bergeim, O. The Amino Acids of Human Sweat. *J. Biol. Chem.* 1946, 166 (1), 327–333.
- Holgate, C. S.; Jackson, P.; Cowen, P. N.; Bird, C. C. Immunogold–Silver Staining: New Method of Immunostaining with Enhanced Sensitivity. *J. Histochem. and Cytochem.* 1983, 31 (7), 938–944.

Home Office Scientific Development Branch. Silver VMD. *HOSDB Fingerprint Development and Imaging Newsletter*, Oct 2005, 47/05, 8–9.

Hussain, J. I.; Pounds, C. A. *The Enhancement of Fingerprints in Blood, Part II: A Modified Amido Black Staining Technique*; HOCRE Report 649; Forensic Science Service: Birmingham, U.K., 1989a.

Hussain, J. I.; Pounds, C. A. *The Enhancement of Marks Made in Blood with 3,3',4,4'-Tetraaminobiphenyl*; CRSE Report 653; Forensic Science Service: Birmingham, U.K., 1989b.

Illsley, C. P. Superglue Fuming and Multiple Lifts. *Ident. News* 1984, 34 (1), 6, 15.

Inbau, F. E. Scientific Evidence in Criminal Cases, Part III: Finger-Prints and Palm-Prints. *Sparks From the Anvil* 1934, 2 (12), 4.

Jacquat, A. *Evolution des substances grasses des empreintes digitales au cours du temps. Analyse par TLC et GC-MS*; University of Lausanne: Lausanne, Switzerland, 1999.

James, J. D.; Wilshire, B.; Cleaver, D. Laboratory Simulation of Commercial Brass Flake Manufacture. *Powder Metal*. 1990, 33 (3), 247–252.

James, J. D.; Pounds, C. A.; Wilshire, B. Flake Metal Powders for Revealing Latent Fingerprints. *J. Forensic Sci.* 1991, 36 (5), 1368–1375.

James, J. D.; Pounds, C. A.; Phil, M.; Wilshire, B. Magnetic Flake Powders for Fingerprint Development. *J. Forensic Sci.* 1993, 38 (2), 391–401.

Johnson, H. L.; Maibach, H. I. Drug Excretion in Human Eccrine Sweat. *J. Investigative Dermatol.* 1971, 56 (3), 182–188.

Jones, N. Metal Deposition Techniques for the Detection and Enhancement of Latent Fingerprints on Semi-Porous Surfaces. Ph.D. Thesis, University of Technology, Sydney, NSW, Australia, 2002.

Jones, N. E.; Jickells, S.; Charles, Y.; Elliott, J. *Chemical Analysis of Latent Print Residue*; Forensic Science Service: London, 2001a.

Jones, N.; Mansour, D.; Stoilovic, M.; Lennard, C.; Roux, C. The Influence of Polymer Type, Print Donor and Age on

the Quality of Fingerprints Developed on Plastic Substrates Using Vacuum Metal Deposition. *Forensic Sci. Int.* 2001b, 124 (2–3), 167–177.

Jones, N.; Stoilovic, M.; Lennard, C.; Roux, C. Vacuum Metal Deposition: Factors Affecting Normal and Reverse Development of Latent Fingerprints on Polyethylene Substrates. *Forensic Sci. Int.* 2001c, 115 (1–2), 73–88.

Jones, N.; Stoilovic, M.; Lennard, C.; Roux, C. Vacuum Metal Deposition: Developing Latent Fingerprints on Polyethylene Substrates After the Deposition of Excess Gold. *Forensic Sci. Int.* 2001d, 123 (1), 5–12.

Jonker, H.; Molenaar, A.; Dippel, C. J. Physical Development Recording System: III. Physical Development. *Photographic Sci. and Eng.* 1969, 13 (2), 38–44.

Joullié, M. M. New Reagents for the Development of Latent Fingerprints. U.S. Department of Justice Grant Report 92-IJ-CX-K0154, Jan 17, 2000. <http://www.ncjrs.gov/pdffiles1/nij/grants/179287.pdf>.

Joullié, M. M.; Petrovskaia, O. A Better Way to Develop Fingerprints. *CHEMTECH* 1998, 28 (8), 41–44.

Joullié, M. M.; Thompson, T. R.; Nemeroff, N. H. Ninhydrin and Ninhydrin Analogs: Syntheses and Applications. *Tetrahedron* 1991, 47 (42), 8791–8830.

Jueneman, F. B. Stick It to 'Em. *Ident. News* 1982, 32 (6), 5, 15.

Kaiser, D.; Drack, E. Diminished Excretion of Bicarbonate from the Single Sweat Gland of Patients with Cystic Fibrosis of the Pancreas. *Eur. J. Clin. Investigation* 1974, 4 (4), 261–265.

Kasper, S. P.; Minnillo, D. J.; Rockhold, A. M. Validating IND (1,2-Indanedione). *Forensic Sci. Commun.* 2002, 4 (4).

Kausche, G. A.; Ruska, H. Die Sichtbarmachung der Adsorption von Metallkolloiden an Eiweißkörper: I. Die Reaktion kolloides Gold—Tabakmosaikvirus. *Kolloid-Z.* 1939, 89 (1), 21–26.

Kawerau, E.; Wieland, T. Conservation of Amino-Acid Chromatograms. *Nature* 1951, 168 (4263), 77–78.

Kelly, G.; Bird, D.; Burt, D.; Massey, S.; Morhart, B.; Swiderski, D. Use of Children's Glue as an Aid in Fingerprint Lifting. *Ident. Canada* 2001, 24 (4), 7–12.





Kent, T. Latent Fingerprints and Their Detection. *J. Forensic Sci. Soc.* 1981, 21 (1), 15–22.

Kent, T. *User Guide to the Metal Deposition Process for the Development of Latent Fingerprints*; HOPSDB Publication No. 24; Home Office Police Scientific Development Branch: Sandridge, U.K., 1982.

Kent, T., Ed. *Manual of Fingerprint Development Techniques*, 2nd ed.; Home Office Police Scientific Development Branch: Sandridge, U.K., 1998.

Kent, T., Ed. *Manual of Fingerprint Development Techniques*, 2004 update; Home Office Police Scientific Development Branch: Sandridge, U.K., 2004.

Kent, T. [Letter to the Editor]. A Comparison of Cyanoacrylate Fuming in a Vacuum Cabinet to a Humidity Fuming Chamber. *J. Forensic Ident.* 2005, 55 (6), 681–683.

Kent, T.; Winfield, P. Superglue Fingerprint Development—Atmospheric Pressure and High Humidity, or Vacuum Evaporation? In *Proceedings of the International Symposium on Fingerprint Detection and Identification*; Ne'urim, Israel, 1995.

Kent, T.; Thomas, G. L.; East, H. W. *Application of the Metal Deposition Technique to the Development of Fingerprints on Polythene*; HOPSDB Technical Note; Home Office Scientific Development Branch: Sandridge, U.K., 1975.

Kent, T.; Thomas, G. L.; Reynoldson, T. E.; East, H. W. A Vacuum Coating Technique for the Development of Latent Fingerprints on Polythene. *J. Forensic Sci. Soc.* 1976, 16 (2), 93–101.

Kent, T.; Gillett, P. C.; Lee, D. *A Comparative Study of Three Techniques: Aluminium Powdering, Lead Powdering and Metal Deposition for the Development of Latent Fingerprints on Polythene*; HOPSDB Technical Memo; Home Office Police Scientific Development Branch: Sandridge, U.K., 1978.

Kerr, F. M.; Westland, A. D.; Haque, F. Observations on the Use of Silver Compounds for Fingerprint Visualization. *Forensic Sci. Int.* 1981, 18, 209–214.

Knaap, W.; Adach, E. The Knaap Process: Lifting Two-Dimensional Footwear and Fingerprint Impressions Using Dental Stone. *J. Forensic Ident.* 2002, 52 (5), 561–571.

Knowles, A. M. Aspects of Physicochemical Methods for the Detection of Latent Fingerprints. *J. Phys. E: Sci. Instrum.* 1978, 11 (8), 713–721.

Kobus, H. J.; Stoilovic, M.; Warrenner, R. N. A Simple Luminescent Post-Ninhydrin Treatment for the Improved Visualisation of Fingerprints on Documents in Cases Where Ninhydrin Alone Gives Poor Results. *Forensic Sci. Int.* 1983, 22 (2–3), 161–170.

Kotowski, T. M.; Grieve, M. C. The Use of Microspectrophotometry to Characterize Microscopic Amounts of Blood. *J. Forensic Sci.* 1986, 31 (3), 1079–1085.

Labows, J. N.; Preti, G.; Hoelzle, E.; Leyden, J.; Kligman, A. Steroid Analysis of Human Apocrine Secretion. *Steroids* 1979, 34 (3), 249–258.

Leben, D. A.; Ramotowski, R. Evaluation of Gun Blueing Solutions and Their Ability to Develop Latent Fingerprints on Cartridge Casings. *Chesapeake Examiner* 1996, 34 (2), 8–10.

Lee, H. C.; Gaensslen, R. E. Methods of Latent Fingerprint Development. In *Advances in Fingerprint Technology*, 2nd ed.; Lee, H. C., Gaensslen, R. E., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, 2001; pág 105–175.

Lee, H.C.; Pagliaro, E.M. Serology: Blood Identification. In *Encyclopedia of Forensic Science*; Siegel, J., Saukko, P., Knupfer, G., Eds.; Academic Press: London, 2000; pág 1331–1338.

Lennard, C. J.; Margot, P. A. Sequencing of Reagents for the Improved Visualization of Latent Fingerprints. *J. Forensic Ident.* 1988, 38 (5), 197–210.

Lennard, C. J.; Margot, P.; Stoilovic, M.; Warrenner, R. N. Synthesis of Ninhydrin Analogues and Their Application to Fingerprint Development: Preliminary Results. *J. Forensic Sci. Soc.* 1986, 26 (5), 323–328.

Lennard, C. J.; Margot, P.; Sterns, M.; Warrenner, R. N. Photoluminescent Enhancement of Ninhydrin Developed Fingerprints by Metal Complexation: Structural Studies of Complexes Formed Between Ruhemann's Purple and Group IIB Metal Salts. *J. Forensic Sci.* 1987, 32 (3), 597–605.

Lennard, C. J.; Wallace-Kunkel, C.; Roux, C.; Stoilovic, M. B25: 1,2-Indanedione: Is it a Useful Fingerprint Reagent? In *Proceedings of the 2005 American Academy of Forensic Science Meeting*; New Orleans, LA, 2005; p 43.

- Lewis, L. A.; Smithwick, R.; Devault, G.; Bolinger, B.; Lewis, S. A. Processes Involved in the Development of Latent Fingerprints Using the Cyanoacrylate Fuming Method. *J. Forensic Sci.* 2001, 46 (2), 241–246.
- Lightning Powder Inc. Dusting for Latents. *Minutiae*, Jan–Feb 2002, 70, 2–3.
- Lobitz, W. C.; Mason, H. L. Chemistry of Palmar Sweat: VII. Discussion of Studies on Chloride, Urea, Glucose, Uric Acid, Ammonia–Nitrogen, and Creatinine. *Arch. Dermatol. Syphilol.* 1948, 57, 907–915.
- MacDonell, H. L. Bristleless Brush Development of Latent Fingerprints. *Ident. News* 1961, 11 (3), 7–15.
- Magora, A.; Azoury, M.; Geller, B. Treatment of Cocaine Contaminated Polythene Bags Prior to Fingerprint Development by Cyanoacrylate Fuming. *J. Forensic Ident.* 2002, 52 (2), 159–165.
- Marshall, T. Analysis of Human Sweat Proteins by Two-Dimensional Electrophoresis and Ultrasensitive Silver Staining. *Anal. Biochem.* 1984, 139 (2), 506–509.
- Masters, N. *Safety for the Forensic Identification Specialist*, 2nd ed.; Lightning Powder Inc.: Salem, OR, 2002.
- Masters, N.; DeHaan, J. D. Vacuum Metal Deposition and Cyanoacrylate Detection of Older Latent Prints. *J. Forensic Ident.* 1996, 46 (1), 32–45.
- McCaldin, D. J. The Chemistry of Ninhydrin. *Chem. Rev.* 1960, 60 (1), 39–51.
- McDiarmid, C. Does Haste Make Waste? *RCMP Gazette* 1992, 54 (6), 21–24.
- McMahon, P. Procedure to Develop Latent Prints on Thermal Paper. *Ident. Canada* 1996, 19 (3), 4–5.
- Menzel, E. R. *Fingerprint Detection with Lasers*, 2nd ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1999.
- Menzel, E. R. *Fingerprint Detection with Photoluminescent Nanoparticles*, 2nd ed.; Lee, H. C., Gaensslen, R. E., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, 2001.
- Menzel, E. R.; Duff, J. M. Laser Detection of Latent Fingerprints—Treatment with Fluorescers. *J. Forensic Sci.* 1979, 24 (1), 96–100.
- Merrick, S.; Gardner, S. J.; Sears, V.; Hewlett, D. F. An Operational Trial of Ozone-Friendly DFO and 1,2-Indanedione Formulations for Latent Fingerprint Detection. *J. Forensic Ident.* 2002, 52 (5), 595–605.
- Migron, Y.; Mandler, D. Development of Latent Fingerprints on Unfired Cartridges by Palladium Deposition: A Surface Study. *J. Forensic Sci.* 1997, 42 (6), 986–992.
- Misner, A. Latent Fingerprint Detection on Low Density Polyethylene Comparing Vacuum Metal Deposition to Cyanoacrylate Fuming and Fluorescence. *J. Forensic Ident.* 1992, 42 (1), 26–33.
- Mitchell, H. H.; Hamilton, T. S. The Dermal Excretion under Controlled Environmental Conditions of Nitrogen and Minerals in Human Subjects, with Particular Reference to Calcium and Iron. *J. Biol. Chem.* 1949, 178 (1), 345–361.
- Mitsui, T.; Katho, H.; Shimada, K.; Wakasugi, Y. Development of Latent Prints Using a Sudan Black B Solution. *Ident. News* 1980, 30 (8), 9–10.
- Mitsui, T.; Katho, H.; Shimada, K.; Wakasugi, Y. Development of Latent Prints Using a Sudan Black B Solution. *Fingerprint Whorld* 1981, 6 (24), 84–85.
- Moenssens, A. A. *Fingerprint Techniques*; Chilton Book Company: Philadelphia, 1971.
- Mong, G. M.; Petersen, C. E.; Clauss, T. R. W. *Advanced Fingerprint Analysis Project. Fingerprint Constituents*; PNNL Report No. 3019; Pacific Northwest National Laboratory: Richland, WA, 1999.
- Morris, J. R. *Extensions to the NFN Reagent for the Development of Latent Fingerprints*; AWRE Report; Atomic Weapons Research Establishment: Aldermaston, U.K., February 1978.
- Morris, J. R.; Goode, G. C. NFN an Improved Ninhydrin Reagent for the Detection of Latent Fingerprints. *Police Research Bull.* 1974, 24, 45–53.
- Murphy, M. A Vacuum Metal Identification. *J. Forensic Ident.* 1991, 41 (5), 318–320.
- Naitoh, K.; Inai, Y.; Hirabayashi, T. Direct Temperature-Controlled Trapping System and Its Use for the Gas Chromatographic Determination of Organic Vapor Released from Human Skin. *Anal. Chem.* 2000, 72 (13), 2797–2801.
- Nakayashiki, N. Sweat Protein Components Tested by SDS-Polyacrylamide Gel Electrophoresis Followed by Immunoblotting. *The Tohoku J. Exp. Med.* 1990, 161 (1), 25–31.



- Nicolaides, N.; Ansari, M. N. A. The Dienoic Fatty Acids of Human Skin Surface Lipid. *Lipids* 1968, 4 (1), 79–81.
- Nicolaides, N.; Fu, H. C.; Ansari, M. N. A.; Rice, G. R. The Fatty Acids of Wax Esters and Sterol Esters from Vernix Caseosa and from Human Skin Surface Lipid. *Lipids* 1972, 7 (8), 506–517.
- Norkus, P.; Noppinger, K. New Reagents for the Enhancement of Fingerprints in Blood. *Ident. News* 1986, 36 (4), 5,15.
- Odén, S.; von Hofsten, B. Detection of Fingerprints by the Ninhydrin Reaction. *Nature* 1954, 173 (4401), 449–450.
- Odland, G. F. Structure of the Skin. In *Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology of the Skin*, 2nd ed.; Goldsmith, L., Ed.; Oxford University Press: New York, 1991.
- Olenik, J. Super Glue, A Modified Method. *Ident. News* 1983, 33 (1), 9–10.
- Olenik, J. H. Cyanoacrylate Fuming: An Alternative Non-Heat Method. *J. Forensic Ident.* 1989, 39 (5), 302–304.
- Olsen, Sr., R. D. The Chemical Composition of Palmar Sweat. *Fingerprint and Ident. Magazine* 1972, 3–23.
- Olsen, Sr., R. D. *Scott's Fingerprint Mechanics*; Charles C Thomas: Springfield, IL, 1978.
- Oro, J.; Skewes, H. B. Free Amino-Acids on Human Fingers: The Question of Contamination in Microanalysis. *Nature* 1965, 207 (1), 1042–1045.
- Palenik, S. Microchemistry. In *Encyclopedia of Forensic Science*; Siegel, J., Saukko, P., Knupfer, G., Eds.; Academic Press: London, 2000; pág 1111–1116.
- Perkins, D. G.; Thomas, W. M. Cyanoacrylate Fuming Prior to Submission of Evidence to the Laboratory. *J. Forensic Ident.* 1991, 41 (3), 157–162.
- Petrovskaia, O.; Taylor, B.; Hauze, D. B.; Carroll, P.; Joullié, M. M. Investigations of the Reaction Mechanisms of 1,2-Indanediones with Amino Acids. *J. Org. Chem.* 2001, 66 (23), 7666–7675.
- Pounds, C. A.; Jones, R. J. Physicochemical Techniques in the Development of Latent Fingerprints. *Trends in Anal. Chem.* 1983, 2 (8), 180–183.
- Pounds, C. A.; Grigg, R.; Mongkolaussavaratana, T. The Use of 1,8-Diazafluoren-9-one (DFO) for the Fluorescent Detection of Latent Fingerprints on Paper. A Preliminary Evaluation. *J. Forensic Sci.* 1990, 35 (1), 169–175.
- Price, D.; Stow, K. A Method for Stopping Overdevelopment of Silver Nitrate Treated Finger and Footwear Marks. *Fingerprint Whorld* 1998, 24, 107–110.
- Puhvel, S. M. Esterification of (4-14C) Cholesterol by Cutaneous Bacteria (Staphylococcus Epidermis, Propionibacterium Acnes, and Propionibacterium Granulosum). *J. Investigative Dermatol.* 1975, 64 (6), 397–400.
- Ramasastry, P.; Downing, D.; Pochi, P. E.; Strauss, J. S. Chemical Composition of Human Surface Lipids from Birth to Puberty. *J. Investigative Dermatol.* 1970, 54 (2), 139–144.
- Ramotowski, R. Composition of Latent Print Residue. In *Advances in Fingerprint Technology*, Lee, H. C., Gaensslen, R. E., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, 2001; pág 63–104.
- Ramotowski, R.; Cantu, A. A.; Joullié, M. M.; Petrovskaia, O. 1,2-Indanediones: A Preliminary Evaluation of a New Class of Amino Acid Visualizing Compounds. *Fingerprint Whorld* 1997, 23 (90), 131–139.
- Retinger, J. M. The Mechanism of the Ninhydrin Reaction. A Contribution to the Theory of Color of Salts of Alloxantine-Like Compounds. *J. Am. Chem. Soc.* 1917, 39 (5), 1059–1066.
- Reynoldson, T. E.; Reed, F. A. *Operational Trial Comparing Metal Deposition with Small Particle Reagent for the Development of Latent Prints on Polyethylene*; SRDB Report; Home Office Scientific Development Branch: Sandridge, U.K., 1979.
- Rhodes, H. *Forensic Chemistry*; Chapman & Hall, Ltd.: London, 1940.
- Robertshaw, D. Apocrine Sweat Glands. In *Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology of the Skin*, 2nd ed.; Goldsmith, L., Ed.; Oxford University Press: New York, 1991.
- Rosati, B. B. Does Superglue Hinder Traditional Firearms Identification? *AFTE J.* 2005, 37, 3–6.
- Roux, C.; Jones, N.; Lennard, C.; Stoilovic, M. Evaluation of 1,2-Indanedione and 5,6-Dimethoxy-1,2-Indanedione for

the Detection of Latent Fingerprints on Porous Surfaces. *J. Forensic Sci.* 2000, 45 (4), 761–769.

Ruhemann, S. Cyclic Di- and Tri-Ketones. *J. Chem. Soc. Trans.* 1910a, 97, 1438–1449.

Ruhemann, S. Triketohydrindene Hydrate. *J. Chem. Soc. Trans.* 1910b, 97, 2025–2031.

Ruhemann, S. Triketohydrindene Hydrate, Part III: Its Relation to Alloxan. *J. Chem. Soc. Trans.* 1911a, 99, 792–800.

Ruhemann, S. Triketohydrindene Hydrate, Part IV: Hydrindantin and Its Analogues. *J. Chem. Soc. Trans.* 1911b, 99, 1306–1310.

Ruhemann, S. Triketohydrindene Hydrate, Part V: The Analogues of Uramil and Purpuric Acid. *J. Chem. Soc. Trans.* 1911c, 99, 1486–1492.

Sato, K. The Physiology, Pharmacology, and Biochemistry of the Eccrine Sweat Gland. *Rev. Physiol., Biochem. Pharmacol.* 1979, 79, 51–131.

Saunders, G. Multimetal Deposition Method for Latent Fingerprint Development. Presented at the 74th Conference of the International Association for Identification, Pensacola, FL, 1989.

Saunders, G. *Fingerprint Chemistry I, Final Report to U.S. Secret Service*; U.S. Secret Service: Washington, DC, 1996.

Saunders, G. *Fingerprint Chemistry II, Final Report to the U.S. Secret Service*; U.S. Secret Service: Washington, DC, 1997.

Schertz, T. D.; Reiter, R. C.; Stevenson, C. D. Zwitterion Radicals and Anion Radicals from Electron Transfer and Solvent Condensation with the Fingerprint Developing Agent Ninhydrin. *J. Org. Chem.* 2001, 66 (23), 7596–7603. Schnetz, B. Latent Fingerprint and Colloidal Gold: New Reinforcement Procedures. Abstract for the International Association of Forensic Science Conference, Dusseldorf, Germany, 1993.

Schnetz, B. Latent Fingerprint, Colloidal Gold, and Biochemical Techniques. Abstract for the European Network of Forensic Science Institutes (ENFSI) Meeting, Lausanne, Switzerland, 1997.

Schnetz, B.; Margot, P. Latent Fingerprints, Colloidal Gold and Multimetal Deposition (MMD). Optimisation of the Method. *Forensic Sci. Int.* 2001, 118, 21–28.

Schütz, F.; Bonfanti, M.; Champod, C. La révélation des traces papillaires sur les douilles par les techniques de etching et de blueing et comparaison avec la déposition multimétallique. *Can. Soc. Forensic Sci. J.* 2000, 33 (2), 65–81.

Schwarz, L.; Frerichs, I. Advanced Solvent-Free Application of Ninhydrin for Detection of Latent Fingerprints on Thermal Paper and Other Surfaces. *J. Forensic Sci.* 2002, 47 (6), 1274–1277.

Scruton, B.; Robins, B. W.; Blott, B. H. The Deposition of Fingerprint Films. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 1975, 8 (6), 714–723.

Sears, V.; Prizeman, T. M. The Enhancement of Fingerprints in Blood, Part I: The Optimization of Amido Black. *J. Forensic Ident.* 2000, 50 (5), 470–480.

Sears, V.; Butcher, C.; Prizeman, T. M. The Enhancement of Fingerprints in Blood, Part II: Protein Dyes. *J. Forensic Ident.* 2001, 51 (1), 28–38.

Sears, V.; Butcher, C.; Fitzgerald, L. A. Enhancement of Fingerprints in Blood, Part III: Reactive Techniques, Acid Yellow 7, and Process Sequences. *J. Forensic Ident.* 2005, 55 (6), 741–763.

Shelley, W. B. Apocrine Sweat. *J. Investigative Dermatol.* 1951, 17, 255.

Smith, A. M.; Agiza, A. H. The Determination of Amino-Acids Colorimetrically by the Ninhydrin Reaction. *Analyst* 1951, 76, 623–627.

Söderman, H.; O'Connell, J. J. *Modern Criminal Investigation*; Funk & Wagnalls Co.: New York, 1935.

Sodhi, G. S.; Kaur, J. Powder Method for Detecting Latent Fingerprints: A Review. *Forensic Sci. Int.* 2001, 120 (3), 172–176.

Speaks, H. A. The Use of Ninhydrin in the Development of Latent Fingerprints. *Finger Print and Ident. Magazine* 1964, 45 (3), 11–13, 23.

Speaks, H. A. Ninhydrin Prints from Rubber Gloves. *Finger Print and Ident. Magazine* 1966, 48 (3), 3–5.



- Speaks, H. A. Ninhydrin Development of Latent Prints. *Finger Print and Ident. Magazine* 1970, 52 (2), 14–17.
- St-Amand, F. Fingerprints from Latex Gloves. *Ident. Canada* 1994, 17 (4), 11–13.
- Stimac, J. Thermal and Carbonless Papers—A Fundamental Understanding for Latent Friction Ridge Development. *J. Forensic Ident.* 2003a, 53 (2), 185–197.
- Stimac, J. Thermal Paper: Latent Friction Ridge Development via 1,2-Indanedione. *J. Forensic Ident.* 2003b, 53 (3), 265–271.
- Stoilovic, M. Detection of Semen and Blood Stains Using Polilight as a Light Source. *Forensic Sci. Int.* 1991, 51, 289–296.
- Stoilovic, M. Improved Method for DFO Development of Latent Fingerprints. *Forensic Sci. Int.* 1993, 60 (3), 141–153.
- Stoilovic, M.; Kobus, H. J.; Margot, P.; Warrenner, R. N. Improved Enhancement of Ninhydrin Developed Fingerprints by Cadmium Complexation Using Low Temperature Photoluminescence Techniques. *J. Forensic Sci.* 1986, 31 (2), 432–445.
- Stone, R. S.; Metzger, R. A. Comparison of Development Techniques Sudan Black B Solution/Black Magna Powder for Water-Soaked Porous Items. *Ident. News* 1981, 31 (1), 13–14.
- Stroud, P.T. *Some Comments on Finger Print Development by Vacuum Deposition*; AWRE Nuclear Research Note 5/71; Atomic Weapons Establishment (AWRE): Aldermaston, U.K., 1971.
- Stroud, P.T. *Further Comments on Finger Print Development by Vacuum Deposition*; AWRE Nuclear 10/72; Atomic Weapons Establishment (AWRE): Aldermaston, U.K., 1972.
- Suzuki, S.; Suzuki, Y.; Ohta, H. Detection of Latent Fingerprints on Newly Developed Substances Using the Vacuum Metal Deposition Method. *J. Forensic Ident.* 2002, 52 (5), 573–578.
- Takatsu, M.; Kageyama, H.; Hirata, K.; Akashi, S.; Yoko Ta, T.; Shiitani, M.; Kobayashi, A. Development of a New Method to Detect Latent Fingerprints on Thermal Paper with o-Alkyl Derivative of Ninhydrin. *Rep. Natl. Res. Inst. Police Sci.* 1991, 44 (1), 1–6.
- Theys, P.; Lepareux, A.; Chevet, G.; Ceccaldi, P. F. New Technique for Bringing Out Latent Fingerprints on Paper: Vacuum Metallisation. *Int. Criminal Police Rev.* 1968, 217, 106–109.
- Thomas, G. L. The Physics of Fingerprints and Their Detection. *J. Phys. E: Sci. Instrum.* 1978, 11 (8), 722–730.
- Thornton, J. I. Modification of Fingerprint Powder with Coumarin 6 Laser Dye. *J. Forensic Sci.* 1978, 23 (3), 536–538.
- Thorwald, J. *Crime and Science: The New Frontier in Criminology*; Brace and World, Inc: New York, 1966.
- Toth, I.; Faredin, I. Steroid Excreted by Human Skin: II. C 19-Steroid Sulphates in Human Axillary Sweat. *Acta Medica Hungarica* 1985, 42 (1–2), 21–28.
- Trozzi, T.; Schwartz, R.; Hollars, M. *Processing Guide for Developing Latent Prints*; Federal Bureau of Investigation, Laboratory Division, U.S. Department of Justice, U.S. Government Printing Office: Washington, DC, 2000.
- United Nations Environ Programme. *The Montreal Protocol on Substances That Deplete the Ozone Layer*; United Nations Environ Programme: Nairobi, Kenya, 1999. <http://www.un-documents.net/mpsdol.htm> (accessed Jan 5, 2010).
- Uyttendaele, K.; De Groote, M.; Blaton, V.; Peeters, H. Analysis of the Proteins in Sweat and Urine by Agarose-Gel Isotachopheresis. *J. Chromatogr.* 1977, 132 (2), 261–266.
- Valussi, S. Microfluidics Systems for the Chemical Analysis of Fingerprint Residues. Presented at the International Fingerprint Research Group Meeting, St. Albans, U.K., 2003.
- van Oorschot, R. A. H.; Treadwell, S.; Beaupaire, J.; Holding, N. L.; Mitchell, R. J. Beware of the Possibility of Fingerprinting Techniques Transferring DNA. *J. Forensic Sci.* 2005, 50 (6), 1417–1422.
- Vandenberg, N.; van Oorschot, R. A. H. The Use of Polilight in the Detection of Seminal Fluid, Saliva, and Bloodstains and Comparison with Conventional Chemical-Based Screening Tests. *J. Forensic Sci.* 2006, 51 (2), 361–370.
- Vree, T. B.; Muskens, A.; Van Rossum, J. M. Excretion of Amphetamines in Human Sweat. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie* 1972, 199 (2), 311–317.

- Wade, D. C. Development of Latent Prints with Titanium Dioxide (TiO<sub>2</sub>). *J. Forensic Ident.* 2002, 52 (5), 551–559.
- Wakefield, M. A.; Armitage, S. Canberra Institute of Technology, Canberra, Australia. Unpublished Results, 2005.
- Wallace-Kunkel, C.; Stoilovic, M.; Lennard, C.; Roux, C. A0571: 1,2-Indanedione as a Finger Mark Reagent Optimisation and Characterisation. Presented at the 17th Meeting of the International Association of the Forensic Sciences, Hong Kong, 2005.
- Wallace-Kunkel, C.; Lennard, C. J.; Stoilovic, M.; Roux, C. Evaluation of 5-Methylthioninhydrin for the Detection of Fingermarks on Porous Surfaces and Comparison. *Ident. Canada* 2006, 29 (1), 4–13.
- Walls, H. J.; Attridge, G. G. *Basic Photo Science: How Photography Works*; Focal Press: London, 1977.
- Walter, S. *Latent Print Visualization of Aged Lipid Residues*; Status Report, April 1999; Savannah River Technical Center: Aiken, SC, 1999.
- Wargacki, S.; Dadmun, M. D.; Lewis, L. Identifying the True Initiator in the Cyanoacrylate Fuming Method. Presented at the 2005 International Association for Identification Conference, Dallas, TX, 2005.
- Watkin, J. E.; Wilkinson, D.; Misner, A. H.; Yamashita, A. B. Cyanoacrylate Fuming of Latent Prints: Vacuum Versus Heat/Humidity. *J. Forensic Ident.* 1994, 4 (5), 545–554.
- Watling, W. J.; Smith, K. O. Heptane: An Alternative to the Freon Ninhydrin Mixture. *J. Forensic Ident.* 1993, 43 (2), 131–134.
- Weaver, D. E. Large Scale Cyanoacrylate Fuming. *J. Forensic Ident.* 1993, 43 (2), 135–137.
- Weaver, D. E.; Clary, E. J. A One-Step Fluorescent Cyanoacrylate Fingerprint Development Technology. *J. Forensic Ident.* 1993, 43 (5), 481–492.
- Weast, R. C., Ed. *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 67th ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, 1986.
- Wiesner, S.; Springer, E.; Sasson, Y.; Almog, J. Chemical Development of Latent Fingerprints: 1,2-Indanedione Has Come of Age. *J. Forensic Sci.* 2001, 46 (5), 1082–1084.
- Wilansky, M.; Jomphe, A.; Kovacs, G.; Lawrence, J.; LeBlanc, D.; St-Pierre, M.; Wilkinson, D.; Yamashita, A. B. *A Comparison of Hand-Held Forensic Light Sources*; FIRS Technical Report #16; Royal Canadian Mounted Police: Ottawa, 2006.
- Wilkinson, D. Study of the Reaction Mechanism of 1,8-Diazafluoren-9-one with the Amino Acid, L-Alanine. *Forensic Sci. Int.* 2000a, 109 (2), 87–103.
- Wilkinson, D. Spectroscopic Study of 1,2-Indanedione. *Forensic Sci. Int.* 2000b, 114, 123–132.
- Wilkinson, D.; Watkin, J. E. A Comparison of the Forensic Light Sources: Polilight, Luma-Lite, and Spectrum 9000. *J. Forensic Ident.* 1994, 44 (6), 632–651.
- Wilkinson, D.; Yamashita, A. B.; Annis, K. A Comparison of Forensic Light Sources: Luma-Lite, Mini-Crimescope 400, Omniprint 1000A, Polilight PL500, and Quaser 2000/30. *Ident. Canada* 2002, 25 (1), 5–15.
- Wilkinson, D.; Mackenzie, E.; Leech, C.; Mayowski, D.; Bertrand, S.; Walker, T. The Results from a Canadian National Field Trial Comparing Two Formulations of 1,8-Diazafluoren-9-one (DFO) with 1,2-Indanedione. *Ident. Canada* 2003, 26 (2), 8–18.
- Wilkinson, D.; Rumsby, D.; Babin, B.; Merrit, M.; Marsh, J. *The Results from a Canadian National Field Trial Comparing 1,8-Diazafluoren-9-one (DFO) with Ninhydrin and the Sequence DFO Followed by Ninhydrin*; Technical Report TR-03-2005; Canadian Police Research Centre: Ontario, 2005.
- Willinski, G. Permeation of Fingerprints Through Laboratory Gloves. *J. Forensic Sci.* 1980, 25 (3), 682–685.
- Wilson, J. D.; Darke, D. J. *The Results of Analyses of the Mixtures of Fatty Acids on the Skin: Part I. Commentary*; AERE Report No. G-1154; Atomic Energy Research Establishment: ca 1978.
- Yamashita, A. B. Use of a Benchtop Desiccator for Vacuum Cyanoacrylate Treatment of Latent Prints. *J. Forensic Ident.* 1994, 44 (2), 149–158.
- Yemm, E. W.; Cocking, E. C.; Ricketts, R. E. The Determination of Amino-Acids with Ninhydrin. *Analyst* 1955, 80, 209–214.



## 7.17 Información Adicional

Almog, J.; Gabay, A. A Modified Super Glue Technique—The Use of Polycyanoacrylate for Fingerprint Development. *J. Forensic Sci.* 1986, *31* (1), 250–253.

Beecroft, W. Enhancement of PD Prints. *RCMP Gazette*, 1989, *21*, 17.

Boniforti, L.; Passi, S.; Caprilli, F.; Nazzaro-Porro, M. Skin Surface Lipids. Identification and Determination by Thin-Layer Chromatography and Gas-Liquid Chromatography. *Clin. Chim. Acta* 1973, *47* (2), 223–231.

Burns, T. D.; Brown, J. K.; Dinsmore, A.; Harvey, K. K. Base-Activated Latent Fingerprints Fumed with a Cyanoacrylate Monomer: A Quantitative Study Using Fourier-Transform Infra-Red Spectroscopy. *Anal. Chim. Acta* 1998, *362* (2), 171–176.

Champod, C.; Egli, N.; Margot, P. A. Fingermarks, Shoe-sole and Footprint Impressions, Tire Impressions, Ear Impressions, Toolmarks, Lipmarks, Bitemarks—A Review:

2001 to 2004. In *Proceedings of the 14th Interpol Forensic Science Symposium*; Lyon, France, 2004; pág 227–244.

Forgeot, R. *Des empreintes digitales étudiées au point de vue médico-judiciaire*; A. Storck: Lyon, France, 1891.

Hamm, E. D. Chemical Developers in Footwear Prints. *Fingerprint Whorld* 1984, *9*, 117–118.

Loveridge, F. H. Shoe Print Development by Silver Nitrate. *Fingerprint Whorld* 1984, *10* (38), 58.

Morton, S. Shoe Print Development by PD Treatment. *Fingerprint Whorld* 1983, *9* (34), 60–61.

Siegel, J., Saukko, P., Knupfer, G., Eds.; *Encyclopedia of Forensic Sciences*; Academic Press: London, 2000.

Yong, A. S. J. *Detection of Latent Fingerprints with Cyanoacrylates: New Techniques Involving Coloured and Photoluminescent Compounds*; Australian National University: Canberra, ACT, Australia, 1986.