

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS



Tese de Doutorado

**DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE CORANTES E NOVOS MATERIAIS
MICROESTRUTURADOS FLUORESCENTES NA REVELAÇÃO DE IMPRESSÕES
DIGITAIS LATENTES E NO DIAGNÓSTICO CLÍNICO**

HÉLIO LOPES BARBOSA BARROS

Porto Alegre, Janeiro de 2019

HÉLIO LOPES BARBOSA BARROS

DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE CORANTES E NOVOS MATERIAIS
MICROESTRUTURADOS FLUORESCENTES NA REVELAÇÃO DE IMPRESSÕES
DIGITAIS LATENTES E NO DIAGNÓSTICO CLÍNICO

Tese realizada sob a orientação do Prof. Dr. Valter Stefani, e apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito para obtenção do Título de Doutor em Ciência dos Materiais.

Porto Alegre, Janeiro de 2019

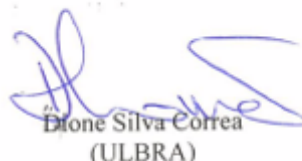
HÉLIO LOPES BARBOSA BARROS

DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE CORANTES E NOVOS MATERIAIS
MICROESTRUTURADOS FLUORESCENTES NA REVELAÇÃO DE IMPRESSÕES
DIGITAIS LATENTES E NO DIAGNÓSTICO CLÍNICO

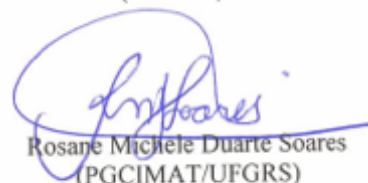
Esta Tese foi desenvolvida entre Março de 2015 e Janeiro de 2019 no Laboratório de Novos Materiais Orgânicos e Química Forense (LNMO-QF), Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (IQ- UFRGS) sob orientação do professor Dr. Valter Stefani. Todo trabalho foi desenvolvido inteiramente pelo autor, salvo colaborações especificadas nos agradecimentos. Esta tese foi julgada adequada para obtenção do Título de “Doutor em Ciência dos Materiais”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais.

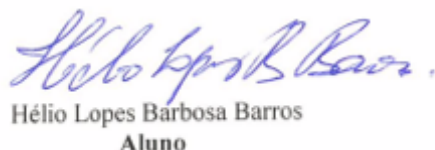
COMISSÃO EXAMINADORA


Fábio dos Santos Grasel
(UFRGS)


Dione Silva Correa
(ULBRA)


Naira Maria Balzaretto
(PGCIMAT/UFRGS)


Rosane Michele Duarte Soares
(PGCIMAT/UFRGS)


Hélio Lopes Barbosa Barros
Aluno


Naira Maria Balzaretto
Presidente da banca

Porto Alegre, Janeiro de 2019

*Dedico esta Tese ao meu mestre e orientador, Prof.
Dr. Valter Stefani (in memoriam).*

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Agílio Juvêncio Barbosa Barros e Maria Menduca Barros Lopes Barros pela educação, e por me propiciar sempre as melhores condições para o meu crescimento pessoal e acadêmico.

Aos meus irmãos, Gilson Barros, Cleuzilena Barros e Cláudia Barros, que mesmo distantes, me apoiaram com carinho, amor e compreensão.

Aos meus tios Mateus Antunes e Isabel Antunes pelo carinho, dedicação, amizade e apoio ao longo de todo meu percurso acadêmico.

Ao meu mestre e orientador, Prof. Dr. Valter Stefani, um agradecimento especial, pela recepção e apoio incondicional durante a execução desse trabalho. Também, por ter compartilhado toda sua sabedoria e experiência de vida que, com certeza, levarei para sempre comigo.

Aos professores da banca de qualificação, Profa. Dra Leandra Campo, Profa. Dra Griselda Galland e Prof. Dra. Ruth Hinrichs, pela contribuição com sugestões que ajudaram a melhorar esse trabalho.

Aos profesoeres da banca de defesa, Profa Dra. Nayra Balzaretto, Profa. Dra. Rosane Soares, Profa Dra. Dione Correa e Dr. Fábio Grasel, por terem aceitado o convite e prontificaram em ler este trabalho, discuti-lo e contribuir para sua concretização.

Aos colegas do laboratório de Novos Materiais Orgânicos e Química Forense (LNMO-QF), Cássio Reis, Leonardo Cerati, Thayse Millesqui, Tiago Campos, Franciela Soares, Marluza Abreu, Ingrid Paczkowski, Leandra Campos, Sandra Marques, pela amizade e excelente convívio durante esses anos de doutorado.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais (PGCimat) e o Instituto de Química, seus funcionários, técnicos de laboratório e professores que sempre foram muito prestativos na resolução de questões acadêmicas.

Aos meus amigos e conterrâneos, Maria Filomena Semedo, Loleny Tavares, António Cardoso, Nilton Cardoso, Demétrio Rendall, Felipe Artuzo, Cristian Foguesatto, Cleverson Moura, Quirino Sanga, Riga Borges, Sérgio, Neiva, pela amizade, apoio e convívio nos momentos de descontração.

Ao Dr. Joaquim Rodrigues (chefe do setor de identificação judiciária), Maria João Caldeira, (chefe de setor de Drogas e Toxicologia), e ao Dr. Carlos Farinha e Dra Alexandra André (Diretores do Laboratório da Polícia Científica de Lisboa/ Polícia Judiciária (LPC-PJ) por terem tornado possível meu estágio nessa prestigiada instituição, fornecendo-me todas as condições para aprendizagem, mobilizando os profissionais em receber-me e ajudar-me na minha formação profissional.

Aos órgãos de fomento, Conselho Nacional para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa de Doutorado.

Ao povo Brasileiro pela recepção e hospitalidade durante estes anos que estive longe de casa.

“A maior recompensa para o trabalho do homem não é o que ele ganha com isso, mas o que ele se torna com isso”.

Jhon Ruskin

RESUMO

Nesta Tese são apresentadas a síntese e a caracterização de cinco corantes benzazóis, dos quais três são inéditos. Os referidos corantes apresentam emissão de fluorescência na região violeta-verde do espectro visível, com grande deslocamento de Stokes devido ao mecanismo de transferência protônica intramolecular no estado excitado (ESIPT). Estudos do efeito de solvente nas propriedades fotofísicas dos corantes foram efetuados por espectroscopia de absorção no UV-visível e emissão de fluorescência em solventes de diferentes polaridades (água, metanol, acetonitrila, diclorometano, e acetato de etila). As propriedades fotofísicas e estruturais também foram investigadas teoricamente, empregando o hamiltoniano de cálculos semi-empíricos PM3 (NDDO) e ZINDO (INDO/STO-6G).

Novos materiais microestruturados fluorescentes à base dos corantes benzazóis, previamente sintetizados, foram desenvolvidos e avaliados na detecção de impressões digitais latentes em diferentes tipos de superfícies (porosas e não porosas) e cores (escuras, brancas e multicoloridas). Os novos materiais microestruturados foram obtidos por incorporação de uma pequena quantidade do corante em matriz de amido ou sílica (razão de massa 1:100 e 1:300), usando solução aquosa ou etanol, em condições ambientais. As propriedades fotofísicas desses materiais foram caracterizadas por absorção no UV-visível e emissão de fluorescência, e sua morfologia por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia óptica e de epifluorescência. Os materiais microestruturados desenvolvidos mostraram uma intensa emissão de fluorescência na região azul-verde e criaram alto contraste com os resíduos de impressões digitais quando expostos à luz ultravioleta de onda longa (365 nm). A fluorescência emitida pelas impressões digitais realçou os detalhes das cristas papilares em todas as superfícies examinadas, permitindo que fossem facilmente visualizados e fotografados. Também foi possível detectar impressões digitais de diferentes idades e depositadas em série, bem como comparar a performance dos reveladores propostos em relação aos reveladores atualmente comercializados (Sirchie®).

Por último, a potencialidade de aplicação de corantes benzazóis fluorescentes na detecção e diagnóstico clínico foi avaliada com sucesso através da marcação e visualização de ovos de *Oxyuris equi* e larvas de *Trichostrongyloidea* infectantes por microscópio de epifluorescência. O método proposto permite um rápido, simples, direto e seletivo diagnóstico clínico de infecções por helmintos (vermes gastrointestinais) em animais.

ABSTRACT

The synthesis and characterization of five dyes (three are unpublished), belonging to the benzazoles class, and new microstructural fluorescent materials are presented in this work. These dyes show an intense emission of fluorescence in the violet-green region of the visible spectrum, with a large Stokes shift due to the excited-state intramolecular proton-transfer (ESIPT) mechanism. Solvent effects on the photophysical properties were performed by UV-visible absorption spectroscopy and fluorescence emission in solvent with different polarities (water, methanol, acetonitrile, dichloromethane, and ethyl acetate). Photophysical and structural properties were also investigated theoretically using semi-empirical calculations with the PM3 (NDDO), ZINDO (INDO/ STO-3G) Hamiltonian.

Microstructured fluorescent materials based on previously synthesized benzazole dyes were developed and evaluated for the detection of latent fingerprints on different types of surfaces (porous and nonporous) and colors (dark, white and multicolored). The novel microstructured materials were obtained by incorporating a small amount of the dye into starch or sílica matrix (1: 100 and 1: 300 mass ratio) using aqueous solution or ethanol under ambient conditions. The photophysical properties were characterized by UV-visible absorption and fluorescence emission spectroscopy, and their morphology by scanning electron microscopy (SEM) and optical and epifluorescence microscopy. Developed microstructured materials showed a intense fluorescence emission in the blue–green region and created high contrast with fingerprint residues when exposed to long-wave ultraviolet light (365 nm). The fluorescence emitted by fingerprints emphasizes details of minutiae on all surfaces examined, allowing them to be easily viewed and photographed. It was also able to detect fingerprints of different ages and deposited in series. It was also possible to detect fingerprints of different ages and deposited in series, as well as to compare the performance of the proposed developers in relation to the commercially available developers (Sirchie®).

Finally, the potentiality of fluorescent dyes in clinical detection and diagnosis was successfully evaluated by labeling and displaying *Oxyuris equi* eggs and infective *Trichostrongyloidea* larvae by epifluorescence microscopy. The proposed method allows a

fast, simple, direct and selective diagnosis of helminth diseases (gastrointestinal worms) in animals.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AFIS - Sistema de Identificação Automatizada de Impressões Digitais (*Automated Fingerprint Identification System*)

APF - ácido polifosfórico

APT - teste de próton ligado (*Attached Proton Test*)

¹³C-RMN - ressonância magnética nuclear de carbono 13

CCD - cromatografia de camada delgada/ dispositivo de carga acoplada (*Charged Coupled Device*)

d - duplete

dd - duplo duplete

DFT - teoria do funcional da densidade (*Density Functional Theory*)

DMSO-*d*₆ - dimetilsulfóxido hexa-deuterado

E1 - confômero *cis*-enol

E1* - confômero *cis*-enol excitado

E2 - confômero *cis*-enol aberto

E3 - confômero *trans*-enol

E4 - confômero *trans*-enol aberto

ESIPT - Transferência de próton intramolecular no estado excitado (*Excited State Intramolecular Proton Transfer*)

ESP - mapa de potencial eletrostática (*Electrostatic Potential*)

ε - coeficiente de absorvidade molar

ε_{max} - coeficiente de absorvidade molar de absorção máxima

GFP – proteína verde fluorescente (*Green Fluorescent Protein*)

¹H-RMN - ressonância magnética nuclear de próton

HOMO - orbital molecular ocupado de mais alta energia (*Highest Occupied Molecular Orbital*)

I - intensidade de fluorescência da amostra

IDs - impressões digitais

INDO - método semi-empírico de química quântica usado em química computacional (*Intermediate Neglect of Differential Overlap*)

I_R - intensidade de fluorescência do padrão de referência

IV - infravermelho

J - constante de acoplamento

K1 - tautômero *cis*-ceto

K1* - tautômero *cis*-ceto excitado

LD - limite de detecção

LNMO-QF - Laboratório de Novos Materiais Orgânicos e Química Forense

LUMO - orbital molecular desocupado de mais baixa energia (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*)

m - multiplete

T_f – temperatura de fusão

MEV - microscopia eletrônica de de varredura

MFF - método de flotação fecal

n² - índice de refração do solvente usado para o corante

n²_R - índice de refração do solvente usado para o padrão de referência

NDDO - método semi-empírico de química quântica usado em química computacional (*Neglect of Diatomic Differential Overlap*)

OD - densidade óptica (absorbância) da amostra

ODR - densidade óptica (absorbância) do padrão de referência

OLED - diodo orgânico emissor de luz (*Organic Light-Emitting Diode*)

m/v - massa por volume

PM3 - método semi-empírico de química quântica usado em química computacional
(*Parameterized Model number 3*)

ppm - parte por milhão

s - singlete

STO-3G - base de função em química quântica (*Slater Type Orbitals - 3 primitive Gaussian functions*)

STO-6G - base de função em química quântica (*Slater Type Orbitals - 6 primitive Gaussian functions*)

t - tempo

t - triplete

TMS - tetrametilsilano

UV-visível - ultravioleta visível

X - heteroátomos (oxigênio, nitrogênio e enxofre)

ZINDO - método semi-empírico de química quântica usado em química computacional
(*Zerner's Intermediate Neglect of Differential Overlap*)

ϵ - constante dielétrica

$\Delta\lambda_{ST}$ - deslocamento de Stokes

λ_{max} - comprimento de onda de absorção ou excitação máxima

π - orbital molecular pi ligante

π^* - orbital molecular pi anti-ligante

ΦF - rendimento quântico de fluorescência da amostra

ΦR - rendimento quântico de fluorescência do padrão de referência

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura de compostos benzazóis.	41
Figura 2. Esquema do mecanismo de transferência protônica intramolecular no estado excitado (ESIPT). Confômero <i>cis</i> -enol (E1), tautômero ceto (K1), confômero <i>cis</i> -enol excitado (E1*) e tautômero ceto excitado ou forma ESIPT (K1*).....	43
Figura 3. Diferentes tipos de confômeros de benzazóis em solução e que competem com aqueles que exibem mecanismo de ESIPT. Confômero <i>cis</i> -enol aberto (E2), confômero <i>trans</i> -enol (E3) e confômero <i>trans</i> -enol aberto (E4).....	43
Figura 4. Síntese de benzazóis mediada por ácido polifosfórico.	44
Figura 5. Síntese de 2-benzoxazóis e 2-benzotiazóis substituídos, sob micro-ondas e mediada por reagente de Lawesson.....	45
Figura 6. Síntese de derivados de benzoxazóis e benzimidazóis catalisados por hidrogenossulfato de sódio suportado com sílica, em condições livre de solvente.	45
Figura 7. Proposta mecanística para formação de compostos benzazóis.....	47
Figura 8. Estrutura química dos corantes 1 e 2.....	58
Figura 9. Atribuição dos sinais no espectro de ¹ H-RMN do corante 1, com ampliação da região aromática. Solvente: CDCl ₃ ; Frequência do aparelho: 300 Mz.....	59
Figura 10. Atribuição dos sinais no espectro de ¹ H-RMN do corante 2, com ampliação da região aromática. Solvente: DMSO- <i>d</i> ₆ ; Frequência do aparelho: 400 Mz.....	60
Figura 11. Estrutura química dos corantes 3 e 4.....	61
Figura 12. Atribuição dos sinais no espectro de ¹ H-RMN do corante 3, com a região aromática ampliada. Solvente: DMSO- <i>d</i> ₆ ; Frequência do aparelho: 300 Mz.....	62
Figura 13. Atribuição dos sinais no espectro de ¹ H-RMN do corante 4, com a região aromática ampliada. Solvente: DMSO- <i>d</i> ₆ ; Frequência do aparelho: 400 Mz.	63
Figura 14. Atribuição dos sinais no espectro de ¹ H-RMN do corante 5, com a região aromática ampliada. Solvente: DMSO- <i>d</i> ₆ ; Frequência do aparelho: 400 Mz.	64

Figura 15. Atribuição dos sinais no espectro de ^{13}C -RMN APT do corante 1. Solvente: CDCl_3 ; Frequência do aparelho: 75 Mz.....	66
Figura 16. Atribuição dos sinais no espectro de ^{13}C -RMN APT do corante 2. Solvente: $\text{DMSO}-d_6$; Frequência do aparelho: 75 Mz.....	67
Figura 17. Atribuição dos sinais no espectro de ^{13}C -RMN APT do corante 3. Solvente: $\text{DMSO}-d_6$; Frequência do aparelho: 75 Mz.....	68
Figura 18. Atribuição dos sinais no espectro de ^{13}C -RMN APT do corante 4. Solvente: $\text{DMSO}-d_6$; Frequência do aparelho: 100 Mz.....	69
Figura 19. Atribuição dos sinais no espectro de ^{13}C -RMN APT do corante 5. Solvente: $\text{DMSO}-d_6$; Frequência do aparelho: 100 Mz.....	70
Figura 20. Espectros de absorção e de emissão de fluorescência normalizados do corante 1, obtidos em solventes de diferentes polaridades.....	72
Figura 21. Espectros de absorção e de emissão de fluorescência normalizados do corante 2, obtidos em solventes de diferentes polaridades.....	73
Figura 22. Espectros de absorção e de emissão de fluorescência normalizados do corante 3, obtidos em solventes de diferentes polaridades.....	75
Figura 23. Espectros de absorção e de emissão de fluorescência normalizados do corante 4, obtidos em solventes de diferentes polaridades.....	76
Figura 24. Espectros de absorção e de emissão de fluorescência normalizados do corante 5, obtidos em solventes de diferentes polaridades.....	77
Figura 25. Orbitais moleculares de fronteira (HOMO e LUMO) obtidos com PM3 (NDDO) /STO 6G (as cores azuis e vermelhas indicam sinais opostos da função de onda) e mapa de potencial eletrostático (ESP) obtido com ZINDO (Vermelho = região de maior densidade eletrônica e branco = região de menor densidade eletrônica), ambos utilizando o <i>software</i> Argus Lab.....	83
Figura 26. Diagrama de energia dos estados eletrônicos dos orbitais de fronteira (HOMO e LUMO). As energias dos outros níveis eletrônicos são meramente ilustrativas.....	85

Figura 27. Curvas termogravimétricas (preto) e termogravimétricas derivada (azul) dos corantes sob atmosfera de nitrogênio.	90
Figura 28. Estrutura dos corantes 3, 4 e 6, utilizados na obtenção dos novos materiais microestruturados fluorescentes.	91
Figura 29. Diagrama de rede com os parâmetros utilizados na incorporação dos corantes fluorescentes na matriz polimérica de amido. As caixas destacadas com a cor verde mostram as designações atribuídas aos novos materiais obtidos.	92
Figura 30. Diagrama de rede com os parâmetros utilizados na incorporação dos corantes fluorescentes na matriz polimérica de sílica. As caixas destacadas com a cor verde mostram as designações atribuídas aos novos materiais obtidos.	93
Figura 31. Espectros de excitação (A), absorção UV-visível (B) e de emissão de fluorescência (C) dos materiais resultantes da incorporação do corante 3 em amido (razão de massa 1:100 ou 1:300 e em solução aquosa ou etanólica).	96
Figura 32. Imagem dos novos materiais microestruturados fluorescentes obtidos pela incorporação do corante 3 em amido, sob luz visível e luz ultravioleta de 365 nm (com e sem uso de filtro).	98
Figura 33. Espectros de excitação (A), absorção UV-visível (B) e de emissão de fluorescência (C) dos materiais resultantes da incorporação do corante 4 em amido (razão de massa 1:100 ou 1:300 e em solução aquosa ou etanólica).	100
Figura 34. Imagem dos novos materiais microestruturados fluorescentes obtidos pela incorporação do corante 4 em amido, sob luz visível e luz ultravioleta 395 nm.	102
Figura 35. Espectros de excitação (A), absorção UV-visível (B) e de emissão de fluorescência (C) dos materiais resultantes da incorporação do corante 6 em amido (razão de massa 1:100 ou 1:300 e em solução aquosa ou etanólica).	104
Figura 36. Imagem dos novos materiais microestruturados fluorescentes obtidos pela incorporação do corante 6 em amido, sob luz visível e luz ultravioleta de 365 nm (com e sem filtro laranja).	106

Figura 37. Espectros de excitação (A), absorção UV-visível (B) e de emissão de fluorescência (C) dos materiais resultantes da incorporação do corante 3 em sílica (razão de massa 1:100 ou 1:300 e em solução aquosa ou etanólica).....	109
Figura 38. Imagem dos novos materiais microestruturados fluorescentes obtidos pela incorporação do corante 3 em sílica, sob luz visível e luz ultravioleta de 365 nm (com e sem filtro laranja).....	111
Figura 39. Espectros de excitação (A), absorção UV-visível (B) e de emissão de fluorescência (C) dos materiais resultantes da incorporação do corante 4 em sílica (razão de massa 1:100 ou 1:300 e em solução aquosa ou etanólica).....	113
Figura 40. Imagem dos novos materiais microestruturados fluorescentes obtidos pela incorporação do corante 4 em sílica, sob luz visível e luz ultravioleta de 365 (com e sem filtro laranja).....	115
Figura 41. Curvas termogravimétricas (TGA) dos materiais microestruturados AC3-E10, AC4-E30, AC6-A10 e amido, sob atmosfera de nitrogênio.....	116
Figura 42. Curvas termogravimétricas derivada (drTGA) dos materiais microestruturados AC3-E10, AC4-E30, AC6-A10 e amido, sob atmosfera de nitrogênio.	117
Figura 43. Imagens de MEV da amostra AC3-A30, com diferentes níveis de magnificação (A: 60X, B: 150X , C: 400X e D: 500X). Intensidade de corrente: 10kV.	118
Figura 44. Imagens de MEV da amostra AC3-E10, com diferentes níveis de magnificação (A: 150X, B: 300X, C: 400X e D: 500X). Intensidade de corrente: 10kV.	119
Figura 45. Imagens de MEV da amostra AC4-A10, com diferentes níveis de magnificação (A: 150X, B: 300X, C: 400X e C: 500X). Intensidade de corrente: 10kV.....	120
Figura 46. Histograma de tamanho de partículas das amostras AC3-E10, AC3-A30 e AC4-A10.	121
Figura 47. Imagens de microscopia de epifluorescência do material microestruturado (AC3-A10), usando objetiva de baixa ampliação (10X) e diferentes tipos de filtros.	122
Figura 48. Imagens de microscopia óptica e de epifluorescência da amostra AC3-A10, usando diferentes ampliações e filtros.....	123

Figura 49. Imagens de microscopia óptica e de epifluorescência da amostra AC4-A10, usando diferentes ampliações e filtros.....	124
Figura 50. Imagens de microscopia óptica e de epifluorescência da amostra AC6-A10, usando diferentes ampliações e filtros.....	125
Figura 51. Imagens de microscopia óptica e de epifluorescência da amostra SC4-E10, usando diferentes ampliações e filtros.....	126
Figura 52. Imagens de microscopia óptica da matriz de amido e sílica sem a incorporação do corante fluorescente.....	127
Figura 53. Representação da anatomia da pele humana [90]......	132
Figura 54. Procedimentos para exame de impressões digitais. AFIS - Sistema de Identificação Automatizada de Impressões Digitais (<i>Automated Fingerprint Identification System</i>). Fonte própria.....	134
Figura 55. Níveis de caracterização de impressões digitais. Modificado da referência [98].	136
Figura 56. Comparação entre uma impressão digital latente (desconhecida - revelada) e impressa (conhecida), e sua identificação pela concordância entre as minúcias. Fonte própria.....	136
Figura 57. Imagens de impressões digitais latentes antes e após revelação com a amostra AC3-E30 em superfícies não porosas (vidro, plástico – garrafa de polietileno, metal- faca de aço inox e alumínio pintado- lata de refrigerante). * Foi colocado um fundo preto por baixo do vidro transparente.	144
Figura 58. Imagens de impressões digitais latentes antes e após revelação com a amostra AC3-E30 em superfícies porosas (madeira pintada, papel pardo e cerâmica).....	144
Figura 59. Imagens de impressões digitais reveladas com a amostra AC3-A30 e AC4-E30 em superfícies de cerâmica e papel pardo, respectivamente, sob luz ultravioleta de 365 nm e capturadas com e sem o uso de filtro laranja.....	145
Figura 60. Imagens de impressões digitais latentes reveladas com a amostra AC3-A30 em superfícies não porosas (vidro, plástico – garrafa de polietileno, metal- faca de aço inox e	

alumínio pintado- lata de refrigerante). *Foi colocado um fundo preto por baixo da garrafa de polietileno.	148
Figura 61. Imagens de impressões digitais latentes reveladas com a amostra AC3-A30 em superfícies porosas (madeira pintada, papel pardo e cerâmica).	149
Figura 62. Imagens de impressões digitais latentes reveladas com a amostra AC4-E30 em superfícies não porosas (vidro, plástico – garrafa de polietileno, faca - aço inox e alumínio pintado - lata de refrigerante).	151
Figura 63. Imagens de impressões digitais latentes reveladas com a amostra AC4-E30 em superfícies porosas (madeira pintada, madeira bruta, papel pardo e cerâmica).	152
Figura 64. Imagens de impressões digitais latentes reveladas com a amostra SC4-E30 em superfícies não porosas (vidro, plástico – garrafa de polietileno, faca - aço inox e alumínio pintado - lata de refrigerante).	154
Figura 65. Imagens de impressões digitais latentes após revelação com a amostra SC4-E30 em superfícies porosas (madeira pintada, papel pardo e cerâmica).	155
Figura 66. Imagens de impressões digitais latentes de diferentes idades (0–30 Dias) reveladas com a amostra AC4-E30 em superfície de metal (alumínio pintado) e plástico (polietileno).	157
Figura 67. Imagens de impressões digitais latentes depositadas em sequência, em superfícies de madeira pintada, cerâmica e alumínio pintado (lata de refrigerante), e reveladas com amostra AC4-E30.	159
Figura 68. Imagens de impressões digitais reveladas em superfícies de metal, madeira e vidro, utilizando diferentes tipos de amostras sintetizadas e observadas sob luz ultravioleta de 365 nm.	160
Figura 69. Imagens de impressões digitais reveladas com SC4-E30 (metade – esquerda) e o pó branco da Sirchie® (metade – direita) em diferentes tipos de superfícies, e fotografadas sob luz visível e ultravioleta de 365 nm.	163

Figura 70. Imagens de impressões digitais reveladas com SC4-E30 (metade – esquerda) e o pó preto da Sirchie® (metade – direita) em diferentes tipos de superfícies, e fotografadas sob luz visível e ultravioleta de 365 nm.	165
Figura 71. Imagens de impressões digitais reveladas com SC4-E30 (metade – esquerda) e o pó fluorescente da Sirchie® (metade – direita) em diferentes tipos de superfícies, e fotografadas sob luz visível e ultravioleta de 365 nm.	168
Figura 72. Imagens de impressões digitais depositadas em sequência (1–5) em superfícies de vidro e madeira pintada e reveladas com SC4-E30 (metade – esquerda) e o pó fluorescente comercial (Sirchie®) (metade – direita). As imagens foram fotografadas sob luz visível e ultravioleta de 365 nm.....	171
Figura 73. Impressões digitais latentes naturais e carregadas de 10 doadores (5 do sexo masculino e 5 do sexo feminino) reveladas com SC4-E30 numa superfície de vidro e fotografadas sob luz ultravioleta de 365 nm.....	173
Figura 74. Impressões digitais reveladas com a amostra AC6-E30 (suspensa em solução aquosa) em superfícies adesivas (A: Tectape® – Fita isolante elétrica preta; B: Scotch tape® – Fita adesiva castanha; C: Duct tape® – Fita adesiva multi-Usos prateada; D: Scotch tape® – Fita adesiva transparente) e fotografadas sob luz ultravioleta de 365 nm.....	175
Figura 75. Estrutura dos corantes benzazóis que foram utilizados como marcadores biológicos.....	184
Figura 76. Espectro de absorção normalizada dos corantes 6, 7 e 8 em água (concentração de $1,10^{-3}$ M), usando comprimento de onda de excitação de 324 nm.....	185
Figura 77. Espectro de emissão de fluorescência normalizada dos corantes 6, 7 e 8 em água (concentração de $1,10^{-3}$ M), usando comprimento de onda de excitação de 324 nm.....	185
Figura 78. Espectros de intensidade de fluorescência dos corantes 6, 7 e 8 em solução aquosa a diferentes concentrações (dados obtidos usando comprimento de onda de excitação de 324 nm e em temperatura ambiente).	188
Figura 79. Gráfico da intensidade de fluorescência <i>versus</i> concentração dos corantes 6, 7 e 8 em solução aquosa (dados obtidos usando comprimento de onda de excitação de 324 nm	

e em temperatura ambiente). O eixo vertical da esquerda se refere à intensidade de fluorescência do corante 7, enquanto o eixo vertical da direita se refere à intensidade dos corantes 6 e 8.	189
Figura 80. Espectros de intensidade de fluorescência dos corantes 6, 7 e 8 em solução aquosa na concentração de $3,2 \times 10^{-5}$ M e a diferentes pHs (dados obtidos usando comprimento de onda de excitação de 324 nm e em temperatura ambiente).	191
Figura 81. Gráfico da intensidade de fluorescência máxima dos corantes 6, 7 e 8 em solução aquosa na concentração de $3,2 \times 10^{-5}$ M <i>versus</i> pH do meio (dados obtidos com o comprimento de onda de excitação de 324 nm e em temperatura ambiente).	192
Figura 82. Espectros de absorção dos corantes 6, 7 e 8 em solução aquosa na concentração de $3,2 \times 10^{-5}$ M e a diferentes pHs (dados obtidos em temperatura ambiente). Inset: Absorbância máxima <i>versus</i> pH.	193
Figura 83. Morfologia de ovos de <i>Oxyuris equi</i> examinada por microscopia óptica (A e C) e por microscopia de epifluorescência (Bel Photonics ®) (B – filtro UV e D – filtro violeta) depois da marcação com o corante 6 na concentração de $1,0 \times 10^{-3}$ M. A imagem C é uma ampliação da região marcada na imagem A.	195
Figura 84. Morfologia de ovos de <i>Oxyuris equi</i> examinada por microscopia óptica (A) e por microscopia de epifluorescência (Bel Photonics ®) (B – filtro verde e C – filtro UV) depois da marcação com o corante 6 na concentração de $1,0 \times 10^{-3}$ M. O tamanho do ovo é de aproximadamente 45 μ m.	195
Figura 85. Imagens de microscopia de epifluorescência de diferentes regiões de larvas marcadas com o corante 8 (na concentração de $3,3 \times 10^{-3}$ M) a diferentes tempos. As imagens superiores foram registradas com objetiva de baixa ampliação (10X) e as imagens inferiores com objetiva de alta ampliação (40X), usando filtro UV. Tempo de incubação: A e D – 1 minuto; B e F – 10 minutos; C e E – 24 horas). As larvas têm 2 a 8 mm de comprimento e 50 a 60 μ m de largura.	198
Figura 86. Comparação de imagens de microscopia óptica (linha superior) e de epifluorescência (linha inferior) de diferentes regiões de larvas marcadas com o corante 8 (na concentração de $3,3 \times 10^{-3}$ M e tempo de incubação de 24 horas). As imagens da primeira coluna foram registradas com objetiva de baixa ampliação (10X) e as outras	

imagens com objetiva de alta ampliação (40X), usando filtro UV. As larvas têm 2 a 8 mm de comprimento e 50 a 60 μm de largura. 198

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Síntese de corantes benzazóis (1–5).	55
Tabela 2. Dados relevantes de frequências observadas para os corantes benzazóis sintetizados.	57
Tabela 3. Dados relevantes do espectro de absorção UV-visível e de emissão de fluorescência dos corantes benzazóis 1–5.	78
Tabela 4. Dados de transições vibracionais calculados pelo método teórico ZINDO (usando software Argus Lab) e obtidos experimentalmente.	80
Tabela 5. Propriedades físico-químicas determinadas pelo método semi-empírico PM3 e ZINDO, usando <i>software</i> Argus Lab.....	86
Tabela 6. Dados termogravimétricos obtidos das curvas termogravimétricas dos corantes sob atmosfera de nitrogênio.....	90
Tabela 7. Dados relevantes do espectro de excitação, absorção UV-visível e de emissão de fluorescência dos novos materiais microestruturados obtidos pela incorporação do corante 3 em matriz de amido.	97
Tabela 8. Dados relevantes do espectro de excitação, absorção UV-visível e de emissão de fluorescência dos novos materiais microestruturados obtidos pela incorporação do corante 4 em matriz de amido.	101
Tabela 9. Dados relevantes do espectro de excitação, absorção UV-visível e de emissão de fluorescência dos novos materiais microestruturados obtidos pela incorporação do corante 6 em matriz de amido.	105
Tabela 10. Dados relevantes do espectro de excitação, absorção UV-visível e de emissão de fluorescência dos novos materiais microestruturados obtidos pela incorporação do corante 3 em matriz de sílica.	110
Tabela 11. Dados relevantes do espectro de excitação, absorção UV-visível e de emissão de fluorescência dos novos materiais microestruturados obtidos pela incorporação do corante 4 em matriz de sílica.	114

Tabela 12. Composição de impressões digitais. Relação entre as glândulas e as respectivas substâncias excretadas pelas mesmas através do suor.....	133
Tabela 13. Classes de superfícies onde podem ser encontradas impressões digitais.....	134
Tabela 14. Performance relativa de revelação de impressões digitais latentes com SC4-E30 e o pó branco comercial (Sirchie®) em diferentes tipos de superfícies.....	164
Tabela 15. Performance relativa de revelação de impressões digitais latentes com SC4-E30 e o pó preto comercial (Sirchie®) em diferentes tipos de superfícies.....	166
Tabela 16. Performance relativa de revelação de impressões digitais latentes com SC4-E30 e o pó fluorescente comercial (Sirchie®) em diferentes tipos de superfícies.	168
Tabela 17. Dados do comprimento de onda de absorção e de emissão de fluorescência máxima, deslocamento de Stokes e o coeficiente de absorvidade molar dos corantes...	186
Tabela 18. Dados de absorbância, intensidade de fluorescência integrada e rendimento quântico de fluorescência do antraceno (padrão de referência) e dos corantes em solução aquosa.....	187

ÍNDICE DE ANEXOS

Espectro 1. ^1H -RMN do corante 1.....	202
Espectro 2. Expansão da região aromática do espectro de ^1H -RMN do corante 1.....	202
Espectro 3. Expansão da região alifática do espectro de ^1H -RMN do corante 1.....	203
Espectro 4. ^1H -RMN do corante 2.....	203
Espectro 5. Expansão da região aromática do espectro de ^1H -RMN do corante 2.....	204
Espectro 6. ^1H -RMN do corante 3.....	204
Espectro 7. Expansão da região aromática do espectro de ^1H -RMN do corante 3.....	205
Espectro 8. ^1H -RMN do corante 4.....	205
Espectro 9. Expansão da região aromática do espectro de ^1H -RMN do corante 4.....	206
Espectro 10. ^1H -RMN do corante 5.....	206
Espectro 11. Expansão da região aromática do espectro de ^1H -RMN do corante 5.....	207
Espectro 12. ^{13}C -RMN APT do corante 1.....	207
Espectro 13. ^{13}C -RMN APT do corante 2.....	208
Espectro 14. ^{13}C -RMN APT do corante 3.....	208
Espectro 15. ^{13}C -RMN APT do corante 4.....	209
Espectro 16. ^{13}C -RMN APT do corante 5.....	209
Espectro 17. HMQC do corante 2.....	210
Espectro 18. Cosy do corante 2.....	210
Espectro 19. HMQC do corante 3.....	211
Espectro 20. Cosy do corante 3.....	211
Espectro 21. HMQC do corante 4.....	212
Espectro 22. Cosy do corante 4.....	212

Espectro 23. Infravermelho do corante 1.....	213
Espectro 24. Infravermelho do corante 2.....	213
Espectro 25. Infravermelho do corante 3.....	214
Espectro 26. Infravermelho do corante 4.....	214
Espectro 27. Infravermelho do corante 5.....	215

Artigos publicados durante o doutorado

H. L. Barros, S. M. T. Marques, V. Stefani, “The use of epifluorescence microscopy and fluorescent dyes for visualization of *Oxyuris equi* eggs,” *Vet. Parasitol.*, vol. 226, no. 15, pp. 162–166, 2016.

H. L. Barros, V. Stefani, “A new methodology for the visualization of latent fingerprints on the sticky side of adhesive tapes using novel fluorescent dyes,” *Forensic Sci. Int.*, vol. 263, pp. 83–91, 2016.

H. L. Barros, T. Mileski, C. Dillenburg, and V. Stefani, “Fluorescent benzazole dyes for bloodstain detection and bloody fingerprint enhancement,” *Forensic Chem.*, vol. 5, pp. 16–25, 2017.

S. M. T. Marques, H. L. Barros, R. Glasenapp, V. Stefani, “Avaliação de corante fluorescente benzazólico para detecção em parasitos diagnosticados por flutuação simples”, *PubVet*, vol.12, no. 4, pp.1-5, 2018.

H. L. Barros, G. Moresco, V. Stefani, “A Simple Protocol for the Isolation, Quantification and Quality Assessment of DNA and RNA”, *Rev. Virtual Quim.* vol. 10, no 5, pp.1119-1126, 2018.

H. Barros, S. M. T. Marques, V. Stefani, “Water-soluble benzazole dyes fluorescent by ESIPT: structural characterization and photophysical properties”, *J Braz Chem Soc.*, vol. 00, no. 00, 1–13, 2018.

H. L. Barros, V. Stefani “Micro-structured Fluorescent Powders for Detecting Latent Fingerprints on Different Types of Surfaces”, *J Photochem Photobiol A Chem.*, vol. 368, pp. 137-146, 2018.

Artigos submetidos para publicação

H. L. Barros, V. Stefani, “Dye-Doped Starch Micro-Particle as a Novel Fluorescent Agent for Visualization of Latent Fingermarks on Porous and Non-Porous Substrates”, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2018.

M. R. Castrillón, H. L. Barros, V. P. Jaramillo -Garcia, J. A. P. Henriques, V. Stefani, M. L. Scroferneker, P. Valente, “Relative quantification of yeast neutral lipids by red Nile fluorescence”, *J Microbiol Methods*, 2018.

H. L. Barros, V. Stefani “Synthesis and Photophysical Behavior of Novel Benzazole Derivatives with Potential Application for Development of Fluorescent Microparticles”, *J. Lumin.*, 2018.

Patentes depositadas

H. L. Barros, V. Stefani. Método de obtenção de derivados benzazólicos fluorescentes e sua aplicação em ciências forenses como reveladores de impressões digitais latentes, Número de depósito da patente: BR 10 2014 030942-0.

M. R. Gastrillon, H. L. Barros, V. P. Garcia, V. Stefani, P. V. Silva. Uso do corante 2-(1,3-benzotiazol-2-il)-5-(N,N-dietilamino)fenol, Número de depósito da patente: BR 10 2018 068090-0.

Participação em congressos

H. Barros, V. Stefani, “Fluorescent dyes for bloodstains detection and bloody fingerprint enhancement on forensic evidence and crime scene, 1st International caparica congresso in translational forensic, de 20 a 23 de Novembro de 2017, Lisboa – Portugal.

H. Barros, V. Stefani, “ Micro-structured Fluorescent Powders for Detecting Latent Fingerprints on Different Types of Surfaces”, XXIV Encontro Luso-Galego de Química (XXIV LGQ), de 21 a 23 de Novembro de 2018, Porto – Portugal.

H. Barros, V. Stefani, “Novos corantes fluorescentes e sua aplicação em ciências forenses como reveladores de impressões digitais latentes em fitas adesivas”, XXIV Jornadas jóvenes investigadores AUGM- Desafios contemporâneos dos jovens investigadores no desenvolvimento da ciência na América Latina, de 24 a 26 de Outubro de 2016, São Pedro-SP, Brasil.

Estágios no Exterior (Protocolo de colaboração)

Foi realizado um período de estágio no Laboratório de Polícia Científica da Polícia Judiciária de Lisboa (Portugal), na área de Lofoscopia, Drogas e Toxicologia, e Balística, com duração de 3 meses (setembro a novembro de 2018) no âmbito de um protocolo assinado entre esta instituição, o estagiário e o Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais/UFRGS.

ÍNDICE GERAL

MOTIVAÇÃO	34
ESTRUTURA DA TESE.....	36
OBJETIVO GERAL	37
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	37
CAPÍTULO I – DESENVOLVIMENTO DE CORANTES E NOVOS MATERIAIS MICROESTRUTURADOS FLUORESCENTES	39
1. INTRODUÇÃO GERAL	39
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	41
1.1. Corantes da Classe dos Benzazóis.....	41
1.2. Mecanismo de ESIPT	42
1.3. Métodos de Síntese de Corantes Benzazóis	44
1.4. Mecanismo de Atuação do Ácido Polifosfórico na Síntese de Compostos Benzazólicos	46
1.5. PARTE EXPERIMENTAL	48
1.5.1. Materiais e Instrumentação	48
1.5.2. Procedimentos Gerais de Síntese dos Corantes Benzazóis	49
1.5.2.1. Síntese de 2-(4 -dietilamino-2-hidroxifenil)benzo[d]tiazol-2-il (1)	49
1.5.2.2. Síntese do ácido 2-(2-hidróxi-5-metilfenil)benzo[d]oxazol-5-sulfônico (2)	50
1.5.2.3. Síntese do ácido 2-(3-hidróxi-2-metil-4-quinolina) benzo[d]oxazol-5 - sulfônico (3).....	50
1.5.2.4. Síntese do ácido 2-(3-hidróxi-2-metil-4-quinolina) 3-(benzo [d] tiazol-2-il)- 5-sulfônico (4)	51
1.5.2.5. Síntese do ácido 2,2',2'',2'''-(benzeno-1,2,4,5-tetra-il)tetraquis (benzo [d] oxazol-5-sulfônico) (5)	52
1.5.4. Cálculos Computacionais.....	53
1.6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	55
1.6.1. Síntese dos Corantes Benzazóis Fluorescentes (1-5)	55
1.6.2. Caracterização Estrutural	56
1.6.2.1. Espectroscopia no Infravermelho	56

1.6.2.2. Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear	58
1.6.3. Caracterização Fotofísica	71
1.6.4. Estudos Teóricos	79
1.6.5. Análise de Orbitais Moleculares de Fronteira (HOMO e LUMO) e da Superfície de Potencial Eletrostática	81
1.6.6. Energia das Geometrias Otimizadas e dos Orbitais de Fronteira (HOMO e LUMO)	84
1.6.7. Caracterização Térmica	87
1.6.8. Obtenção dos Novos Materiais Microestruturados Fluorescentes	91
1.6.9. Caracterização Fotofísica dos Novos Materiais Microestruturados Fluorescentes Baseados em Amido	93
1.6.9.1. Espectroscopia de Absorção UV-visível, Excitação e Emissão de Fluorescência	93
1.6.10. Caracterização Fotofísica dos Novos Materiais Microestruturados Fluorescentes Baseados em Sílica	106
1.6.10.1. Espectroscopia de Absorção UV-Visível, Excitação e Emissão de Fluorescência	106
1.6.11. Caracterização Térmica	115
1.6.12. Caracterização Morfológica dos Novos Materiais Microestruturados Fluorescentes	117
1.6.12.1. Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	117
1.6.12.2. Imagens de Microscopia Óptica e de Epifluorescência	121
1.7. CONCLUSÃO	128
CAPÍTULO II – APLICAÇÃO DOS NOVOS MATERIAIS MICROESTRUTURADOS FLUORESCENTES NA REVELAÇÃO DE IMPRESSÕES DIGITAIS LATENTES	130
2. INTRODUÇÃO GERAL	130
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	132
2.1. Composição das Impressões Digitais e o Tipo de Superfície	132
2.2. Exame de Impressões Digitais	134
2.3. Características das Impressões Digitais	135
2.4. Métodos de Revelação de Impressões Digitais	137

2.5. PARTE EXPERIMENTAL	140
2.5.1. Amostras de Impressões Digitais Latentes.....	140
2.5.2. Características das Superfícies Processadas.....	140
2.5.3. Procedimentos para Revelação de Impressões Digitais Latentes.....	141
2.6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	142
2.6.1. Imagens de Impressões Digitais Reveladas em Diferentes Tipos de Superfícies	142
2.6.2. Comparação de Imagens de Impressões Digitais Capturadas Com e Sem Filtro	145
2.6.3. Avaliação da Influência do Envelhecimento de Impressões Digitais	156
2.6.4. Avaliação da Influência da Quantidade de Resíduos Depositados nas	
Impressões Digitais.....	157
2.6.5. Comparação entre Impressões Digitais Reveladas com Diferentes Materiais	
Microestruturados Fluorescentes Desenvolvidos	159
2.6.6. Comparação entre Impressões Digitais Reveladas com SC4-E30 e Pós	
Comerciais Pretos, Brancos e Fluorescentes (Sirchie®)	160
2.6.7. Estudo Comparativo da Sensibilidade da Amostra SC4-E30 e dos Pós	
Fluorescentes Comerciais (Sirchie®) na Revelação de Impressões Digitais Latentes	
169	
2.7. CONCLUSÃO.....	176
CAPÍTULO III – CORANTES FLUORESCENTES PARA MARCAÇÃO	
BIOLÓGICA E DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE INFECCÕES CAUSADAS POR	
MICROORGANISMOS INFECTANTES	177
3. INTRODUÇÃO GERAL	177
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	179
3.1. <i>Oxyuris equi</i>	179
3.2. Larvas Infectantes de <i>Trichostrongyloidea</i> (tricostrongilídeos)	180
3.3. PARTE EXPERIMENTAL	181
3.3.1. Materiais e Instrumentação	181
3.3.2. Formulação da Solução do Corante para Marcação Biológica	181
3.3.3. Animal Infectado	181

3.3.4. Tratamento e Acompanhamento da Infecção por <i>Oxyuris equi</i>	182
3.3.5. Coleta de Amostra e Procedimento Geral para Marcação de Ovos de <i>Oxyuris equi</i>	182
3.3.6. Procedimento Geral para Marcação de Larvas de <i>Trichostrongyloidea</i>	183
3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	184
3.4.1. Síntese dos Corantes Benzazóis (6–8)	184
3.4.2. Estudos Fotofísicos	184
3.4.3. Rendimento Quântico de Fluorescência	186
3.4.4. Efeito da Concentração na Intensidade de Fluorescência	187
3.4.5. Dependência da Absorção no UV-Vísivel e Intensidade de Fluorescência com o pH	189
3.4.6. Marcação de Ovos de <i>Oxyuris equi</i>	194
3.4.7. Marcação de Larvas Infectantes de Tricostrongilídeos	196
3.5. CONCLUSÃO	200
PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS	201

MOTIVAÇÃO

O Laboratório de Novos Materiais Orgânicos e Química Forense (LNMO-QF) da UFRGS tem investido nos últimos anos na síntese, purificação e caracterização de novos corantes fluorescentes da classe dos benzazóis para o estudo e desenvolvimento de novas metodologias de aplicação, nomeadamente no desenvolvimento de dispositivos ópticos [1], sondas de proteínas [2], sensores ópticos [3], monômeros para síntese de polímeros fluorescentes [4], desenvolvimento de materiais híbridos [5], etc. Com esta Tese pretendemos estudar a potencialidade de aplicação dessa classe de compostos em duas áreas importantes e ainda pouco exploradas pelo nosso grupo de pesquisa, que são a Química Forense e a Área Médica.

A Química Forense é uma área científica que está em constante expansão, tornando-se cada vez mais necessária, tendo em conta o aumento da criminalidade e a atuação cada vez mais sofisticada dos criminosos. Existem diversas áreas de atuação da Química Forense, entre as quais: Documentoscopia, Balística, Toxicologia, Incêndios, Explosivos, Papiloscopia, etc. A papiloscopia tem um papel importante na resolução de crimes, pois se encarrega do estudo das impressões digitais, que são um meio único e imutável na identificação humana. Portanto, o desenvolvimento de novas ferramentas que permitem a revelação de impressões digitais latentes é de extrema importância e tem sido um campo de pesquisa atraente.

A ideia desta Tese surgiu na sequência do meu trabalho de mestrado, onde desenvolvemos novos corantes fluorescentes em solução aquosa para revelação de impressões digitais em superfícies adesivas [6], [7]. A solução do corante se mostrou muito eficiente para esse tipo de superfície. No entanto, quando tentamos aplicar os mesmos para superfícies porosas e não porosas, observamos que não eram tão eficientes. Para superar essa limitação, propusemos desenvolver novos materiais microestruturados fluorescentes que pudessem ser utilizados para revelação de impressões digitais em superfícies de diferentes naturezas, simplesmente alterando a forma como são aplicados. Os reveladores atualmente existentes no mercado são específicos para determinados tipos de superfícies e, portanto, o revelador proposto teria grande diferencial nesse aspecto.

A imagiologia por fluorescência é uma técnica importante em estudo de sistemas biológicos e em diagnósticos clínicos, devido essencialmente a sua elevada sensibilidade [8], [9]. Ela permite evidenciar células, estruturas celulares ou microrganismos que, de outra forma, não seriam possíveis de serem detectados, por terem dimensões minúsculas ou aparência translúcida. Poucas estruturas biológicas apresentam autofluorescência e mesmo aquelas que a possuem, têm um rendimento quântico de fluorescência muito baixo o que dificulta a detecção direta e estudo desses sistemas. Logo, se faz necessário a utilização de corantes fluorescentes que possam, de alguma forma, se ligar às biomoléculas constituintes das células para uma detecção “indireta”, isto é, a detecção da fluorescência do corante e, conseqüentemente, do sistema biológico com o qual o corante esteja ligado [10], [11].

Atualmente existem vários tipos de marcadores disponíveis, mas a maioria apresenta algum tipo de limitação, como baixa solubilidade em solução aquosa, baixa fotostabilidade, toxicidade associada e alto custo de obtenção [12].

Os corantes benzazóis são conhecidos pelas suas excelentes propriedades fotofísicas, como a elevada emissão de fluorescência e grande deslocamento de Stokes. Entretanto, sua aplicação em estudos de sistemas biológicos é limitada devido à sua baixa solubilidade em água. Para ultrapassar essas limitações, desenvolvemos novos corantes benzazóis fluorescentes com grupamentos funcionais que aumentam a solubilidade em água e reatividade com biomoléculas.

O custo de síntese desses corantes em relação a sua potencialidade de aplicação, bem como a parceria com o Instituto Geral de Perícia do Estado do Rio Grande do Sul (IGP-RS), Departamento de Polícia Federal e o Laboratório de Helminologia (Departamento de Patologia Clínica Veterinária) da Faculdade de Veterinária da UFRGS, Laboratório da Polícia Científica de Lisboa/ Polícia Judiciária (Portugal) faz com que este trabalho se torne altamente atrativo do ponto de vista de aplicação científica e tecnológica.

ESTRUTURA DA TESE

Esta Tese se encontra dividida em três capítulos. No primeiro capítulo, apresentamos a síntese de corantes benzazóis e o desenvolvimento de novos materiais microestruturados fluorescentes. Esses novos materiais são obtidos pela incorporação de corantes fluorescentes em matrizes poliméricas de amido e sílica, ambas biodegradáveis, biocompatíveis, não tóxicas e que possuem boa interação com moléculas hospedeiras.

No segundo capítulo, relatamos a aplicação dos materiais microestruturados fluorescentes desenvolvidos na revelação de impressões digitais em superfícies porosas e não porosas. Com esse estudo, esperamos obter reveladores mais sensíveis, seletivos e ambientalmente mais amigáveis.

No terceiro capítulo, direcionamos a pesquisa para o estudo da potencialidade de aplicação dos corantes fluorescentes no desenvolvimento de uma nova metodologia de detecção e diagnóstico clínico de doenças causadas por microrganismos infectantes, através da marcação e visualização por microscopia de epifluorescência. Se espera que o método proposto seja simples, preciso, rápido, seletivo e de baixo custo.

