

Université de Montréal

Imagerie moléculaire d'empreintes digitales par spectrométrie de masse:
potentiels et applications en science forensique

Par Nidia Lauzon

Département de chimie

Faculté des arts et des sciences

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures et postdoctorales en vue de l'obtention
du grade de Philosophiae Doctor (Ph.D.) en chimie

Avril 2018

©Nidia Lauzon, 2018

Résumé

La spectrométrie de masse est une technique en chimie analytique qui contribue énormément dans tous les domaines de recherche par l'apport d'informations qualitatives et quantitatives sur la composition moléculaire. Encore aujourd'hui, le développement de nouvelles technologies et de nouvelles méthodes pour l'amélioration de la spécificité et de la sensibilité de détection fait de cette technologie un outil qui ne cesse de grandir en intérêt.

En science forensique, la spectrométrie de masse permet d'analyser des composés au niveau de trace comme éléments de preuve dans une enquête policière. L'interprétation scientifique des résultats contribue à un apport essentiel d'informations afin de soutenir les enquêtes policières et les processus judiciaires. Depuis son introduction dans le domaine de la science forensique, la spectrométrie de masse a permis d'identifier diverses substances trouvées sur les lieux de l'événement, telles que des explosifs, des résidus d'arme à feu, des débris d'incendie, des stupéfiants, des poisons, des médicaments, des traces de sang, et bien d'autres. Cette branche de la science est en développement constant afin de contrer les nouveaux stratagèmes résultant de l'ingéniosité de certains hors-la-loi.

Le prélèvement des empreintes digitales latentes sur une scène de crime est une des méthodes les plus importantes et communément utilisées pour l'identification des criminels. La modernisation des technologies en chimie analytique a permis de déterminer la composition moléculaire de la trace latente laissée par le suspect sur la scène de crime, et possiblement d'identifier des substances exogènes avec lesquelles il aurait été en contact. Ces informations peuvent grandement contribuer par l'apport d'informations circonstanciées dans une enquête criminelle, surtout lorsque le motif de l'empreinte digitale trouvé est flou, sale ou incomplet ne permettant pas une identification formelle. À cet égard, l'imagerie par spectrométrie de masse s'avère être très utile pour l'étude des traces latentes trouvées sur une scène de crime. En fait, elle permet d'identifier des substances dans la trace latente tout en générant une image moléculaire de l'empreinte digitale du suspect.

En 2009, le laboratoire du professeur Simona Francese a développé une méthode pour l'imagerie par spectrométrie de masse (IMS) de traces latentes utilisant la désorption/ionisation laser assistée par matrice (MALDI). Cette méthode s'est avérée très robuste comparativement aux différentes techniques de révélation utilisées par les techniciens en identification criminelle. Depuis, leur laboratoire a démontré la possibilité de détecter plusieurs substances endogènes et exogènes pouvant contribuer à une enquête policière. Tout récemment, leur méthode a été implémentée auprès des autorités britanniques comme complément aux techniques traditionnelles de révélation d'empreintes digitales.

En revanche, l'utilisation des matrices MALDI comporte plusieurs désavantages pour l'analyse IMS, tels que la génération de fragments en source qui contaminent le spectre en basses masses et augmentent considérablement le bruit de fond, ainsi que son mode de déposition qui peut mener à une délocalisation de certaines molécules dans l'échantillon. Dans le but de s'affranchir de ces contraintes, de nouveaux horizons ont été explorés pour le développement d'une méthode d'IMS alternative, tels que la sublimation de matrice MALDI et l'utilisation de métaux comme agents de désorption/ionisation.

L'objectif premier consiste à évaluer diverses méthodes IMS par désorption/ionisation laser (LDI) assistée par matrice ou par métal permettant la détection et l'imagerie de molécules contenues dans une trace latente. Des méthodes de déposition dites « sans solvant » ont été utilisées dues à la fragilité du motif de l'empreinte digitale dans la trace. Le choix de la meilleure méthode a été évalué en fonction du nombre de composés observés, l'intensité du signal, du bruit de fond et des avantages pour l'analyse de traces latentes sur le plan pratique. Dans cette perspective, la déposition par pulvérisation d'argent a mené à la détection de plusieurs substances endogènes et exogènes. De plus, la méthode LDI assistée par argent (AgLDI) permet de générer des images moléculaires de l'empreinte digitale à haute résolution spatiale ($\sim 10 \mu\text{m}$) pour des fins d'identification criminelle.

L'avantage majeur de cette méthode réside dans son pouvoir de rendre une surface conductrice, une propriété essentielle à l'analyse MS par LDI-TOF. Grâce aux propriétés conductrices de l'argent, un deuxième objectif de recherche a pu être considéré, c'est-à-dire

l'évaluation de la capacité de l'AgLDI-TOF IMS à être implémentée en complément des techniques de révélation forensique des empreintes digitales employées par les techniciens en identification criminelle. Grâce à une collaboration avec le spécialiste des empreintes digitales de la Sûreté du Québec, Alexandre Beaudoin, nous avons pu démontrer la possibilité de produire des images moléculaires de traces latentes révélées dans leur laboratoire sur diverses surfaces non-conductrices, incluant le papier, le carton plastifié, le plastique, ainsi que prélevées par du ruban adhésif spécialement conçu pour les traces digitales. De ce fait, l'analyse de traces latentes par AgLDI IMS permet, en autres, de contrer plusieurs problèmes de contraste fréquemment rencontrés lors de l'utilisation de techniques de révélation forensique sur plusieurs surfaces multicolores.

L'utilité première de la spectrométrie de masse en science forensique est néanmoins d'identifier des substances pouvant contribuer à l'avancement d'une enquête criminelle. Dans cette optique, nous avons démontré le potentiel de l'AgLDI IMS pour la détection de stupéfiants (THC, cocaïne et héroïne) dans les traces latentes, ainsi que divers produits cosmétiques et d'hygiène personnelle en lien avec le mode de vie du suspect. Une autre substance hautement intéressante pour la reconstruction chronologique des événements sur la scène de crime est la détection de sang dans les traces latentes. Grâce à une collaboration avec des techniciens en identification criminelle du Service de Police de la Ville de Montréal (SPVM), nous avons démontré la possibilité de produire des images moléculaires d'empreintes ensanglantées révélées par des techniques spécifiques au sang dans leur laboratoire sur plusieurs surfaces non-conductrices.

Mots clés: Imagerie par spectrométrie de masse, désorption/ionisation par argent, science forensique, empreinte digitale, trace latente, surfaces non-conductrices, stupéfiants, trace de sang, produits d'hygiène personnelle et cosmétique.

Abstract

Mass spectrometry is an analytical chemistry technique that significantly contributes in many areas of research by providing qualitative and quantitative information on molecular composition. The ongoing development of new technologies and new methods to improve the specificity and sensitivity of detection makes this technology a tool that continues to grow in interest.

In forensic science, mass spectrometry is used to analyze trace level species as evidence in a police investigation. The scientific interpretation of results contributes to an essential input of information to support police investigations and judicial processes. Since its introduction in forensic science, mass spectrometry has identified various substances found at the crime scene, such as explosives, firearm residues, fire debris, illicit drugs, poisons, pharmaceutical compounds, traces of blood, and many more. This area of science is in constant development to counter new stratagems resulting from the ingenuity of criminals.

The recovery of latent fingerprints from crime scenes has been one of the most important and common methods in forensic investigation. The modernization of chemical analysis technologies led scientists to explore new possibilities to further analyze fingermarks sampled from a crime scene. Indeed, the detection of chemicals a suspect has been in contact with before or during the crime can provide valuable insights in criminal investigations. This information can positively contribute to forensic investigations, especially when fingermarks found at the crime scene are blurred, dirty or incomplete and do not allow for formal identification. In this regard, imaging mass spectrometry (IMS) has shown to be a powerful tool for the analysis of fingermarks by combining the suspect identification and the detection of numerous endogenous and exogenous compounds.

In 2009, the laboratory of Professor Simona Francese developed an IMS method for the analysis of fingermarks based on matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI). This method proved its robustness in conjunction with forensic enhancement techniques (FETs) used by technicians in criminal identification. Since then, their laboratory has demonstrated

the capability to detect several endogenous and exogenous substances in fingermarks that can contribute to forensic investigations. Most recently, their method has been implemented by the UK authorities as a complement to forensic standard operational procedures.

However, the use of MALDI matrices has several disadvantages for IMS analysis, such as the generation of in-source fragments and clusters that contaminate spectra at low masses and considerably increase background noise. Further, its mode of deposition can lead to specific molecule delocalization in the sample. In order to overcome these issues, new horizons have been explored for the development of alternative IMS methods in contrast to those proposed by Francese et al., such as MALDI matrix sublimation and the use of metals as desorption/ionization agents.

The primary objective is to evaluate various IMS laser desorption/ionization (LDI) assisted by matrix or metal methods for the detection and imaging of molecules contained in a fingermark. Due to the fragility of the fingerprint pattern, solvent-free deposition methods were explored. The choice of the best method was evaluated according to the number of compounds observed, the signal intensity, the background noise and other practical advantages for the analysis of fingermarks. In this regard, the deposition of metallic silver by sputtering has led to the detection of several endogenous and exogenous substances. In addition, the silver assisted LDI (AgLDI) method generates molecular images at high spatial resolution ($\sim 10 \mu\text{m}$) useful for criminal identification purposes.

Thanks to the conductive properties of silver, a second research objective was considered, that is to evaluate the capability of AgLDI-TOF IMS to be implemented in complement to FETs used by crime scene technicians. Indeed, the major advantage of this method lies in its ability to render a surface conductive, an essential criterion for MS analysis by LDI-TOF. Through a collaboration with the fingerprint specialist of the *Sûreté du Québec*, Alexandre Beaudoin, we have been able to demonstrate the possibility of generating molecular images of fingermarks revealed in their laboratory on various nonconductive surfaces, including paper, plasticized cardboard, plastic, as well as collected using forensic lifting tape. In this context, the analysis of fingermarks by AgLDI IMS also makes it possible to counter several contrast issues frequently encountered when using FETs on multicolor surfaces.

The primary purpose of forensic science in MS is nevertheless to identify substances that can contribute to criminal investigations. In this regard, we have demonstrated the potential of AgLDI IMS for the detection in fingerprints of several commonly found illicit drugs (THC, cocaine and heroin), as well as various cosmetic and personal care products linked to the lifestyle of the suspect. Another highly interesting substance for chronological reconstruction of events at the crime scene is the detection of blood in fingerprints. Through a collaboration with the criminal identification technicians from the *Service de Police de la Ville de Montréal (SPVM)*, we have demonstrated the possibility of generating molecular images of bloody fingerprints first revealed by blood-specific enhancement techniques in their laboratory on several nonconductive surfaces.

Key words: Mass spectrometry imaging, silver assisted laser desorption/ionization, forensic science, fingerprint, fingerprint, nonconductive surfaces, illicit drugs, blood traces, personal care products and cosmetics.

Table des matières

Résumé.....	i
Abstract.....	iv
Liste des figures.....	xi
Liste des sigles et abréviations.....	xiv
Remerciements.....	xvii
Chapitre 1. Introduction.....	1
1.1 L’empreinte digitale au fil du temps.....	1
1.1.1 La classification des empreintes digitales en identification judiciaire.....	2
1.1.2 Les lois sous-jacentes à l’identification des empreintes digitales.....	5
1.2 La trace digitale.....	7
1.2.1 La peau.....	9
1.2.2 La composition moléculaire endogène d’une trace latente.....	11
1.2.3 L’utilisation du contenu endogène en science forensique.....	13
1.2.4 La composition moléculaire exogène d’une trace latente.....	21
1.3 La spectrométrie de masse.....	21
1.3.1 L’ionisation par désorption laser.....	22
1.3.2 L’analyseur en masse par temps de vol.....	24
1.3.3 La spectrométrie de masse en tandem TOF/TOF (MS/MS).....	28
1.3.4 Les instruments hybrides.....	29
1.4 L’imagerie moléculaire par spectrométrie de masse.....	30
1.4.1 L’imagerie par spectrométrie de masse MALDI.....	31
1.4.2 L’imagerie moléculaire d’empreintes latentes par spectrométrie de masse ...	35
1.5 Objectifs de recherche.....	41

Chapitre 2. Development of laser desorption imaging mass spectrometry methods to investigate the molecular composition of latent fingerprints	44
2.1 Résumé du Chapitre 2.....	45
2.2 Abstract	47
2.3 Introduction.....	47
2.4 Experimental.....	50
2.4.1 Chemicals and Materials	50
2.4.2 Fingerprint preparation	50
2.4.3 Matrix deposition.....	50
2.4.4 Silver sputter Coating.....	51
2.4.5 IMS of fingerprints on paper.....	51
2.4.6 Mass Spectrometry Instrumentation	51
2.5 Results and Discussion.....	52
2.5.1 Evaluation of matrix candidates for sublimation and IMS	52
2.5.2 Fingerprint IMS after Silver Sputtering.....	56
2.6 Conclusions.....	61
2.7 Acknowledgements.....	62
2.8 Supporting Informations.....	63
Chapitre 3. Forensic analysis of latent fingerprints by silver-assisted LDI imaging MS on nonconductive surfaces.....	72
3.1 Résumé du Chapitre 3.....	73
3.2 Abstract	75
3.3 Introduction.....	75
3.4 Experimental.....	77
3.4.1 Chemical and Materials	77

3.4.2	Fingerprint preparation on nonconductive surfaces	78
3.4.3	IMS of fingerprints on nonconductive surfaces.....	78
3.5	Results and Discussion.....	79
3.5.1	Latent fingerprints on porous surfaces	79
3.5.2	Latent fingerprints on semiporous surfaces.....	83
3.5.3	Latent fingerprints on nonporous surfaces	85
3.5.4	Latent fingerprints on forensic lifting tape	85
3.5.5	Perspectives.....	87
3.6	Conclusions.....	89
3.7	Acknowledgements.....	89
3.8	Supporting Informations.....	90
Chapitre 4. Detection of exogenous substances in latent fingerprints by silver-assisted LDI imaging MS: perspectives in forensic sciences.....		100
4.1	Résumé du Chapitre 4.....	101
4.2	Abstract	102
4.3	Introduction.....	102
4.4	Experimental.....	104
4.4.1	Chemicals and Materials	104
4.4.2	Preparation of fingerprints	105
4.4.3	Limit of detection (LOD) of illicit drugs by AgLDI IMS.....	105
4.4.4	Limit of detection (LOD) of heme after amido black or leuco crystal violet treatments by AgLDI IMS	106
4.4.5	IMS of fingerprints on nonconductive surfaces.....	106
4.4.6	Sputter Coating.....	106
4.4.7	AgLDI IMS of fingerprints	106

4.5	Results and discussion.....	107
4.5.1	The fingerprint: a chemical signature of our lifestyles.....	107
4.5.2	Detection and imaging of illicit drugs in fingerprints	109
4.5.3	Detection and imaging of traces of blood in fingerprints	113
4.6	Conclusion	117
4.7	Acknowledgements.....	117
4.8	Supporting Informations	118
Chapitre 5. Conclusion et perspectives		126
5.1	Conclusion	126
5.2	Perspectives de recherche	128
Bibliographie		129
Annexe I.....		139

Liste des figures

Figure 1.1.1 Les neufs dessins d’empreinte proposés par Purkinje dans Dissertation on Physical Examination of the Organ of Sight.....	2
Figure 1.1.2 Les caractéristiques des crêtes papillaires proposées par Galton.....	3
Figure 1.1.3 Les différents niveaux d’identification des empreintes digitales et leurs caractéristiques	7
Figure 1.2.1 Diagramme schématique de la peau.....	9
Figure 1.2.2 Diagramme schématique des cinq couches qui composent l’épiderme.	10
Figure 1.2.3 Diagramme schématique des trois principales glandes sécrétrices de la peau.	12
Figure 1.2.4 Technique de révélation ORO d’une main entière sur papier.	18
Figure 1.2.5 Technique de révélation de traces latentes par fumigation de cyanoacrylate sur un carton de cigarette.	18
Figure 1.2.6 Une brosse « <i>Zephyr</i> » contenant une poudre fluorescente.	20
Figure 1.3.1 Composantes principales d’un spectromètre de masse.....	22
Figure 1.3.2 Principe de la désorption/ionisation laser assistée par matrice (MALDI).....	23
Figure 1.3.3 Schéma de la configuration de base d’un analyseur TOF en mode linéaire pour trois ions de m/z différents.....	25
Figure 1.3.4 Schéma de la configuration de base d’un analyseur TOF en mode réflectron pour deux ions de même m/z avec des énergies cinétiques différentes.....	27
Figure 1.3.5 Schéma de la configuration de base d’un analyseur TOF avec une source à extraction retardée pour des ions de même m/z	28
Figure 1.3.6 Principe de fragmentation d’ions par MALDI-TOF/TOF utilisant une cellule de collision de type LIFT.	29
Figure 1.4.1 Principe d’ionisation simplifié pour le SIMS et le DESI.....	30
Figure 1.4.2 Représentation schématique des étapes de base de l’imagerie MALDI.	32
Figure 1.4.3 IMS à haute résolution spatiale (10 μm) de lipides dans le cérébellum d’une souris après sublimation de la matrice DAN	33

Figure 1.4.4 IMS à haute résolution spatiale (5 μm) du cholestérol et d'un lipide dans le cérébellum d'une souris après pulvérisation d'argent métallique	34
Figure 1.4.5 Processus de révélation d'une trace latente par MALDI IMS utilisant la méthode « <i>Dry-Wet</i> »	36
Figure 1.4.6 Séparation de deux traces latentes par MALDI IMS.	37
Figure 1.4.7 MALDI IMS de traces latentes sur diverses surfaces après révélation	39
Figure 1.4.8 Différenciation de la taxonomie bovine et équine par MALDI MS du sang	40
Figure 2.5.1 Typical MALDI-TOF mass spectra acquired after 2-MBT deposition by sublimation on ungroomed fingermarks in the positive ionization mode.	55
Figure 2.5.2 MALDI-TOF IMS analysis of a latent fingermark acquired at 75 μm spatial resolution after 2-MBT matrix deposition by sublimation and recrystallization.....	56
Figure 2.5.3 AgLDI-TOF IMS of a latent fingermark acquired at 75 μm spatial resolution...	57
Figure 2.5.4 AgLDI FT-ICR MS spectrum acquired from a latent fingermark.	58
Figure 2.5.5 AgLDI-FTICR IMS of a latent fingermark after silver deposition acquired at 75 μm spatial resolution.....	59
Figure 2.5.6 AgLDI-TOF IMS of a latent fingermark on a piece of paper acquired at 75 μm spatial resolution.	60
Figure 3.5.1 AgLDI MS spectra from latent fingermarks deposited on several nonconductive surfaces acquired after revealing by the appropriate forensic developer	81
Figure 3.5.2 AgLDI IMS of latent fingermarks on paper first revealed by different developers.	82
Figure 3.5.3 AgLDI IMS of a latent fingermark revealed by cyanoacrylate fuming on a cigarette cardboard.....	84
Figure 3.5.4 AgLDI IMS of latent fingermarks first revealed by cyanoacrylate fuming and a solution of rhodamine 6G on a sealable plastic and garbage bags	86
Figure 3.5.5 AgLDI IMS of a latent fingermark on a lifting tape after dusting with green fluorescent powder.	87
Figure 4.5.1 AgLDI MS of intact and blurred fingermarks from three different individuals deposited on ITO-coated glass slides.	108
Figure 4.5.2 AgLDI IMS of a fingermark spiked with illicit drugs after retrieving with forensic lifting tape.....	111

Figure 4.5.3 AgLDI MS & IMS of fingerprints doped with street cocaine provided by the Quebec Police (<i>Sûreté du Québec</i>).....	112
Figure 4.5.4 AgLDI IMS of human bloody fingerprints on nonconductive surfaces after chemical enhancements.	114

Liste des sigles et abréviations

2-MBT	2-mercaptobenzothiazole
ACN	Acétonitrile
ADN	Acide désoxyribonucléique
Ag	Argent
AgLDI	Désorption/ionisation laser assistée par argent
Au	Or
CA	Cyanoacrylate
CAF	Fumigation de CA
CHCA	Acide α -cyano-4-hydroxycinnamique
COC	Cocaïne
CV+	Crystal Violet
DAG	Diacylglycérol
DAN	1,5-Diaminonaphthalène
DESI	Désorption/ionisation par électronébulisation
DFO	1,8-Diazafluoren-9-one
ESI	Ionisation par électronébulisation (<< <i>Electrospray Ionization</i> >>)
FA	Acide gras (<< <i>Fatty Acid</i> >>)
Fe	Fer
FTIR	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
FT-ICR	Résonance cyclotronique d'ion par transformée de Fourier
GC-MS	Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
HER	Héroïne
IND-Zn	1,2-Indanedione-Zinc
IR	Infrarouge
ITO	Oxyde d'indium-étain (<< <i>Indium Tin Oxide</i> >>)

LCV	Leuco Crystal Violet
LDI	Désorption/ionisation laser
LOD	Limite de détection
<i>m/z</i>	Rapport masse sur charge
MALDI	Désorption/ionisation laser assistée par matrice
MM	Masse moléculaire
MS	Spectrométrie de masse
MS/MS	Spectrométrie de masse en tandem
ORO	Oil Red O
PEG	Polyéthylène glycol
PPG	Polypropylène glycol
PSD	Dissociation post-source
Q-TOF	Quadripôle couplé à un TOF
SIMS	Spectrométrie de masse d'ions secondaires
SPVM	Service de police de la ville de Montréal
SQ	Sûreté du Québec
TAG	Triacylglycérol
TFA	Acide trifluoroacétique
THC	Tétrahydrocannabinol
TIC	Total ion current
TOF	Temps de vol (<< <i>Time of Flight</i> >>)
UV	Ultraviolet
WE	Céride (<< <i>Wax Ester</i> >>)

« What one man can invent another can discover. »

- *Sir Arthur Conan Doyle*

Remerciements

C'est à ce moment où l'on réalise qu'un long cheminement prend fin. Cinq années de ma vie défilent dans ma tête et je me demande pourquoi être allée aussi loin ! C'est sans aucun doute relié à une combinaison entre un projet de recherche très captivant et un directeur de recherche très passionné. Cet alliage m'a poussé au-delà de l'imaginable.

Je commencerai donc en remerciant mon directeur de recherche, le professeur Pierre Chaurand, qui sans lequel, je n'aurais jamais été aussi loin. Merci pour toutes les conférences auxquelles j'ai pu assister, incluant le château du Lac Louise, San Antonio au Texas et le voyage exceptionnel en Pologne. Pierre m'a constamment soutenu, encouragé et il m'a fait confiance dans mes buts en science forensique, un tout nouveau domaine encore inexploré au sein du groupe de recherche.

J'aimerais remercier mes collègues de groupe, anciens et présent, avec qui j'ai vécu autant d'émotions fortes, par exemples quand le MALDI ne fonctionne plus et quand on doit faire une présentation orale, ainsi que de grands moments de plaisir, par exemples quand le MALDI fonctionne à nouveau et lorsque la présentation orale est terminée ! Alors un gros merci à Martin Dufresne, qui a eu la patience de me former sur le MALDI et à Ethan Yang, mon unique collègue actuel qui m'a été d'un grand soutien pour la correction de mon anglais et pour sa grande zénitude. Merci aussi à Elizabeth-Ann Kranjec, Érik Fournaise et Nathan Heath Patterson qui ont tous contribué à ma formation et avec qui j'ai passé d'agréables moments, autant à l'Université, qu'en conférence.

J'aimerais remercier certains professeurs et personnels du département de chimie qui ont été d'un grand soutien dans ma recherche. Le professeur Jean-François Masson qui m'a apporté plusieurs idées intéressantes et qui m'a donné un accès illimité au système de pulvérisation des métaux pour mon projet. Merci aux professeurs Pierre Thibault et Karen Waldron, les membres du jury d'évaluation de mes études doctorales, qui m'ont suivi, conseillé et soutenu durant quatre années. Les techniciennes/technicien des laboratoires d'enseignement Sylvie Marceau, Amira Khoury et Denis Deschênes.

Pour toutes les connaissances dans le domaine de la criminaliste et de la science forensique, j'aimerais dire un gros merci à Alexandre Beaudoin, spécialiste des empreintes digitales à la *Sûreté du Québec* et aux techniciens en identification criminelle du *SPVM*, Ian St-Laurent et Stephan Nadeau.

La dernière partie, je la dédie à ma famille et mes amis, ceux qui m'aiment et me soutiennent toujours après toutes ces années d'absence. Merci à Martine Leblanc, Sylvain Lauzon, Carl Lauzon, Josée Darveau, Sébastien Corbeil, Christian Corbeil, Patricia St-Jean, Cécile Carrière et mes nièces Camille St-Jean Lauzon et Zoé Corbeil qui grandissent si vite. Merci à mes chums de fille, Josée Beaulieu, Julie Thibert, Véronique Grenier et Eve Brien Boucher, qui m'attendent impatiemment pour aller prendre un drink sur une terrasse. Et pour terminer, merci à tous mes confrères, mes instructeurs et mon Maître de Kung Fu. Leurs précieux enseignements m'ont apporté la santé tout au long de mes études graduées et donné le courage d'aller au bout de mes objectifs personnels.

Chapitre 1. Introduction

1.1 L’empreinte digitale au fil du temps

L’utilisation des empreintes digitales remonte à plusieurs millénaires, voire même jusqu’à la préhistoire. Au fil du temps, des marques d’empreintes digitales ont été retrouvées dans de nombreuses régions de la planète, telles que sur les parois de cavernes paléolithiques, les murs de tombes égyptiennes, des vases néolithiques, des poteries grecques, ainsi que des tuiles romaines. Certaines empreintes ont été apposées de façon involontaire, telle la conséquence naturelle d’un métier, et d’autres apposés de façon volontaire, soit en guise de décoration ou comme signature, afin de se protéger de la contrefaçon. À titre d’exemples, l’on peut citer, à l’époque de l’ancienne Égypte, la présence d’empreintes digitales sur toutes les briques utilisées dans la construction de plusieurs bâtiments royaux. Peu après, à l’an 2000 avant J.-C., les empreintes digitales étaient apposées dans les tablettes d’argile babyloniennes sur lesquelles étaient rédigées des contrats ¹. Ces documents sont en effet les premières archives à l’origine des bibliothèques. Plus tard, vers la dynastie Qin, dans le but d’authentifier leur identité, les Chinois imprimaient leur empreinte digitale dans l’argile utilisée pour sceller des lettres ou documents.

Ce n’est qu’au 17^e siècle après J.-C. que l’empreinte digitale commença à être étudiée d’un point de vue scientifique. En 1684, Nehemiah Grew, un botaniste et morphologiste anglais, publie la première étude sur le dessin formé par la structure des crêtes et des sillons à la surface des mains et des pieds humains, ainsi que l’arrangement des pores le long de ces crêtes ¹.

En 1686, Marcello Malpighi, un médecin et biologiste italien, publie la première étude sur les fonctions de la peau humaine. Grâce à ses compétences en microscopie, il a pu observer les diverses couches de tissus de l’épiderme ².

Près de deux siècles passèrent avant que l’empreinte digitale soit introduite à la science forensique.

1.1.1 La classification des empreintes digitales en identification judiciaire

En 1823, Joannes Evanelista Purkinje, un physiologiste tchèque, publie dans sa thèse une étude sur la construction des sillons de la peau dans la main, ainsi que l'observation de neuf dessins d'empreinte basés sur l'arrangement géométrique des crêtes papillaires (Figure 1.1.1) ³. Il nota aussi plusieurs observations fortes intéressantes sur les quatre dessins de base de la dactyloscopie : l'arc, la boucle et le verticille. Il est à noter que Purkinje n'a jamais fait référence dans sa thèse à l'utilisation des empreintes digitales comme méthode d'identification. Malgré tout, les neuf dessins qu'il a observés sont considérés aujourd'hui comme étant le premier modèle de classification et ils ont inspiré plusieurs scientifiques dans le développement d'une méthode de classification à des fins d'identification judiciaire.

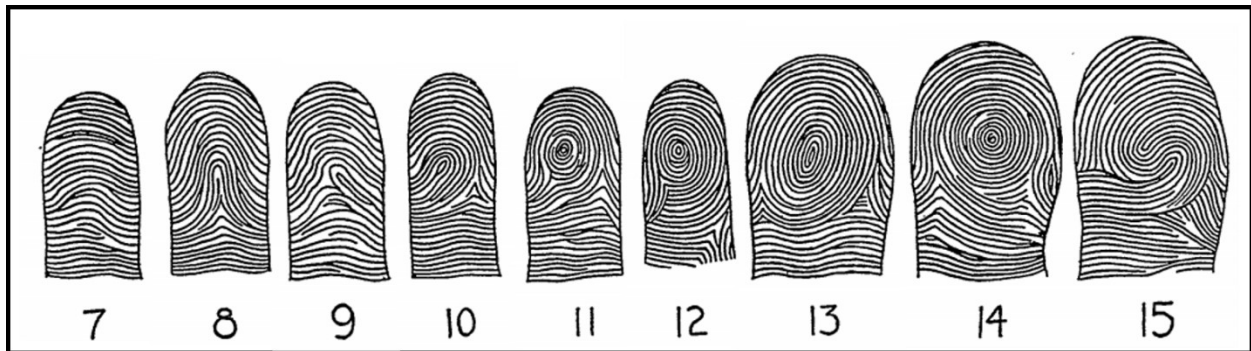


Figure 1.1.1 Les neuf dessins d'empreinte proposés par Purkinje dans *Dissertation on Physical Examination of the Organ of Sight* ⁴.

En 1858, Sir William Herschel, un officier britannique, est reconnu comme étant le premier à utiliser les empreintes digitales à des fins d'identification. Alors qu'il était officier au Bengale, en Inde, Herschel se mit à étudier ses propres empreintes digitales, ainsi que celles d'autres personnes. Au bout d'un certain temps, il arriva à la conclusion que ces marques étaient persistantes et propres à chaque individu et décida de les utiliser dans son travail, notamment pour contrer la fraude en les utilisant comme une signature sur des contrats ⁵.

Henry Faulds, un médecin et missionnaire Écossais, travaillait au Japon lorsqu'il aperçut des empreintes digitales délicatement apposées sur d'anciennes pièces d'argile. Intrigué, il se mit à observer ses empreintes, ainsi que celles de ses amis et vint rapidement à la conclusion que

le dessin digital est unique à chaque individu. En 1880, il publia un article dans la revue *Nature* dans lequel il démontre son intérêt pour l'utilisation de l'encre d'imprimerie pour l'enregistrement des empreintes digitales afin d'identifier des criminelles ⁶. Dans le but de promouvoir ses idées, Faulds adressa une lettre au naturaliste Charles Darwin pour lui demander de participer aux recherches. Ce dernier refusa, mais transmis la lettre à son cousin, Francis Galton, un statisticien et anthropologue anglais passionné par la mensuration du corps humain. Galton accepta de poursuivre les recherches uniquement après la publication de Faulds dans *Nature* ³.

Pendant plusieurs années, Francis Galton collecta à travers le monde des empreintes digitales et étudia leurs dessins. En 1892, avec 8000 échantillons, il publia un livre, nommé *Finger prints* ⁷, dans lequel il présente un système de classification, inspiré des recherches de Purkinje, où l'on retrouve les principaux types de dessins digitaux. Il est aussi le premier à décrire les différentes caractéristiques présentes sur les crêtes papillaires, communément appelées les minuties, c'est-à-dire les détails visibles à la loupe le long des crêtes, comme les bifurcations, les arrêts de ligne et les lacs (Figure 1.1.2).

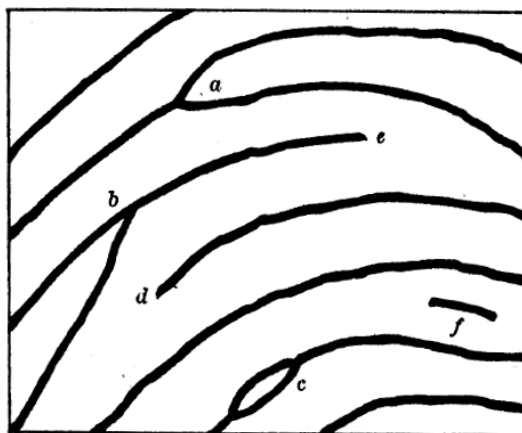


Figure 1.1.2 Les caractéristiques des crêtes papillaires proposées par Galton. a-b) bifurcations, c) lac, d) arrêt de ligne et f) île ⁷.

Galton affirme aussi dans *Finger prints* que les crêtes papillaires ne changent pas au courant d'une vie, et que la possibilité de répétition d'une crête est estimée à 1 sur 64 milliards d'individus, ce qui démontra à l'époque l'unicité et la permanence des empreintes digitales.

En 1892, après une étude approfondie des recherches de Galton, Juan Vucetich, un statisticien de la police argentine, créa son propre système de classification d'empreintes digitales⁸. En utilisant sa méthode, il prouva qu'une femme était responsable d'avoir tué ses deux enfants, en trouvant une empreinte ensanglantée qui lui appartenait sur le lieu du crime. Il s'agit du premier meurtre élucidé grâce à l'utilisation des empreintes digitales. Après cet événement, la méthode de Vucetich fut adoptée par la police argentine et par plusieurs pays à proximité. En 1904, il publia sa méthode, ses théories et ses découvertes, un travail qu'il intitula *Dactilospia Comparada*⁹.

En 1896, Edward Henry, un officier de police londonien, devint extrêmement intéressé par les travaux de Galton et se mit à élargir sa classification. Le système de classification Henry est basé sur la catégorisation des empreintes digitales par leur dessin digital de base, ainsi que leurs caractéristiques physiologiques brutes, c'est-à-dire la direction des lignes papillaires. Ce genre de système permit de réduire considérablement l'effort nécessaire pour la recherche de comparaison à travers un grand nombre d'empreintes enregistrées, d'où la raison pour laquelle il fut adopté par la suite à l'échelle mondiale.

L'utilisation de l'empreinte digitale comme moyen d'identification remplaça rapidement le système d'anthropométrie judiciaire mis en place en 1883 par le criminologue français Alphonse Bertillon. Cette méthode d'identification consistait en l'enregistrement de onze mesures anatomiques de la tête et du corps, ainsi que des signes particuliers du criminel (poids, couleur des yeux, cicatrices), le tout accompagné de photographies du visage¹⁰. À grande échelle, ce système présentait malheureusement plusieurs limitations, notamment en termes d'identification absolue et pratique. Un siècle plus tard, les progrès effectués dans le domaine de l'informatique menèrent à la création de banques de données automatisées par une expansion sans précédent des solutions biométriques¹¹. Rapidement, un registre maintenu par le FBI fut créé aux États-Unis, *the Integrated Automated Fingerprint Identification System*, suivi par la base de données de l'Union Européenne, *Eurodac*.

1.1.2 Les lois sous-jacentes à l'identification des empreintes digitales

Deux lois étaient invoquées à l'époque comme fondement de l'identification des empreintes digitales :

- 1- Les empreintes digitales ne changent pas, à l'exception d'abrasion temporaire et de cicatrices permanentes.
- 2- Il n'existe pas deux empreintes digitales identiques.

Récemment, ces lois furent développées d'une manière plus formelle en quatre prémisses ¹ :

- 1- L'immutabilité : la forme du dessin est définitive, et cela bien avant la naissance.
- 2- L'inaltérabilité : elle ne change pas au courant de la vie, à l'exception de cicatrices.
- 3- L'individualité : les crêtes et les minuties sont uniques et ne se répètent jamais.
- 4- L'empreinte est classifiable et elle peut être utilisée à des fins d'identification si elle contient suffisamment de détails au niveau des crêtes papillaires.

L'immutabilité

La formation des crêtes papillaires qui forment l'empreinte digitale, ou dermatoglyphes, a fait l'objet de nombreuses études, mais pourtant aucun mécanisme n'a encore été accepté par la communauté scientifique ^{12, 13}. Les hypothèses divergent grandement d'un chercheur à l'autre, mais elles semblent toutes en accord sur la formation des crêtes aux alentours du deuxième mois de grossesse et de l'adoption d'une morphologie finale vers le sixième mois ^{14, 15}. Après la naissance, les crêtes et les creux s'espaceront, mais le dessin digital ne change pas, il vous accompagne tout au long de votre vie.

L'inaltérabilité

Il est extrêmement difficile d'altérer une empreinte digitale, mais depuis quelques années, certains cas ont été répertoriés. Par exemple, la pratique de certains métiers, comme le briquetage-maçonnerie, peut créer de l'usure au niveau des empreintes digitales par la manipulation excessive de briques, ou de matériaux lourds et rugueux. Néanmoins, les crêtes papillaires réapparaissent lorsque l'activité cesse. Plus récemment, quelques cas extrêmes

furent recensés par les policiers où des criminels iraient jusqu'à mutiler leurs propres empreintes. Les façons dont ils les modifient vont de la basse technologie accompagnée d'atroces douleurs, c'est-à-dire sabler, brûler, tremper dans un acide fort ou une base forte, ainsi que l'automutilation à l'aide d'un rasoir, jusqu'à la chirurgie de haute technologie. Néanmoins, la technologie dans le domaine de la biométrie évolue rapidement et elle peut dans certains cas faire la distinction entre une empreinte modifiée ou intacte.

L'individualité

Le premier modèle sur le degré d'individualité des empreintes digitales fut proposé en 1892 par Francis Galton. Selon ses calculs, la probabilité de trouver deux empreintes identiques serait de 1 chance sur 64 milliards ⁷. Depuis, plus d'une dizaine d'approches probabilistes furent proposées et s'avèrent plus juste que celle proposée par Galton. Cependant, aucune n'a encore été soumise à des tests. Malgré tout, il n'a jamais été observé dans l'histoire que deux empreintes soient identiques. Même des jumeaux identiques possèdent des empreintes différentes, contrairement à l'ADN qui est identique dans ce cas particulier.

La classification des empreintes digitales

À la suite de ces résultats, une quatrième prémisse fut ajoutée en réponse aux procès juridiques, soit que les empreintes digitales sont classifiables, c'est-à-dire que les empreintes sont classifiables selon le premier niveau et que l'identification s'effectue aux 2^e et 3^e niveaux (Figure 1.1.3).

Donc, le caractère unique est pris en compte à condition de satisfaire aux différents critères lors de la comparaison :

- 1- L'étendue de l'empreinte
- 2- La clarté de l'empreinte
- 3- La présence ou l'absence de discordance entre les empreintes
- 4- La formation, l'expérience, les compétences et l'éthique de l'examineur

L'étendue et la clarté réfèrent au nombre de points caractéristiques présents dans le dessin. Le niveau 1 est celui qui est perçu à l'œil nu, le type de dessin général (arc, boucle ou

verticille). Il permet de classifier l’empreinte digitale, mais ne permet pas à lui seul d’identifier un individu. Le niveau 2 correspond aux minuties et peut être observé à l’aide d’une loupe. C’est à partir de ce niveau de détails qu’un individu peut être identifié. Pour sa part, le niveau 3 correspond à la forme des crêtes, à la localisation des pores sur la crête, ainsi que la distance entre les pores. Ce niveau de détail est extrêmement utile lorsque le nombre de crêtes papillaires est insuffisant pour identifier le suspect.

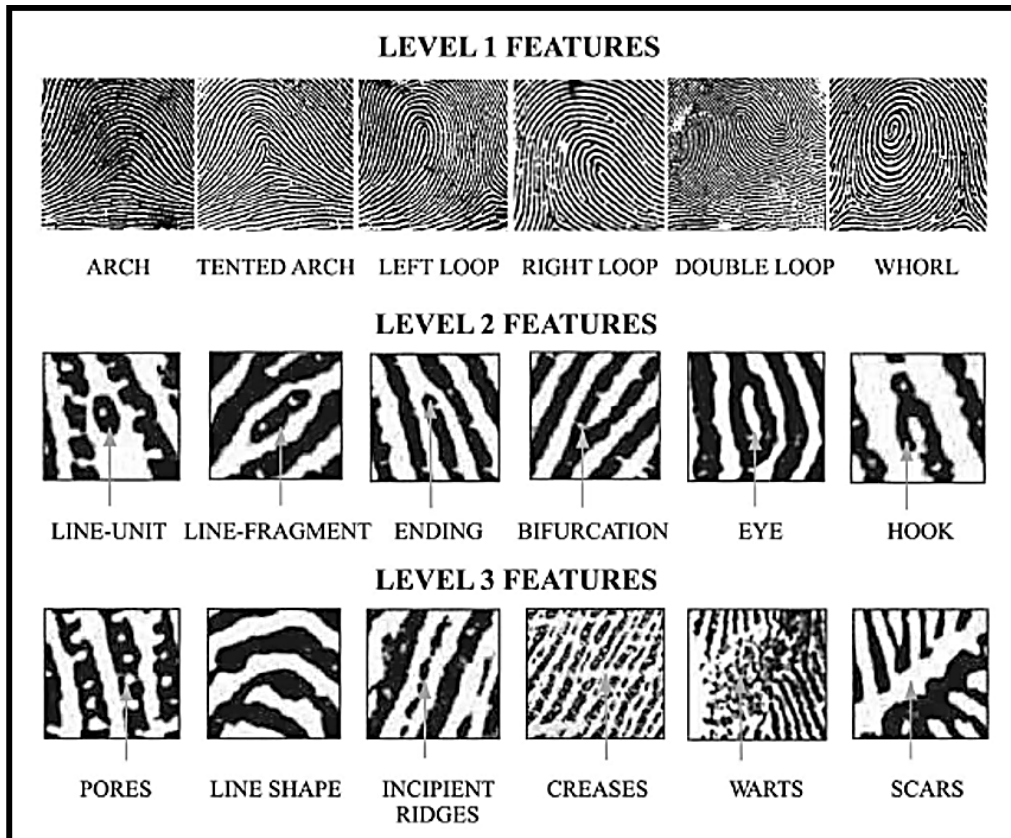


Figure 1.1.3 Les différents niveaux d’identification des empreintes digitales et leurs caractéristiques ¹⁶.

1.2 La trace digitale

Durant une enquête criminelle, l’identification du suspect s’effectue en comparant la trace digitale qu’il a laissée sur la scène de crime à toutes les empreintes digitales enregistrées dans la base de données de la police. L’empreinte digitale (*fingerprint*, en anglais) réfère au dessin formé par l’arrangement tridimensionnelle des crêtes, des sillons et des pores au bout

du doigt d'un individu. Pour sa part, la trace digitale (*fingermark*, en anglais) résulte d'un transfert des substances du doigt vers la surface, accompagné d'un retrait des substances de la surface vers le doigt. Le principe d'échange de traces, aussi appelé principe de Locard, stipule que « tout contact laisse une trace », c'est-à-dire que le suspect laisse des traces de son passage sur la scène de crime et il emporte avec lui des traces de la scène de crime ¹⁷. Même si ce principe est contesté depuis 2001, il est tout de même accepté comme vrai dans la communauté forensique ^{18, 19}. Il existe trois types de traces digitales, notamment retrouvées sur une scène de crime : la trace moulée, visible et latente.

La trace moulée est le résultat tridimensionnel de la déposition du doigt dans une surface malléable, comme la cire d'une bougie.

La trace visible est la conséquence d'un dépôt de matière colorée sur une surface, par exemple le sang. Dans ce cas, on dit qu'il s'agit d'une trace positive. L'autre possibilité est le retrait de matière présente sur la surface, par exemple la poussière. Il s'agit alors d'une trace négative.

La trace latente est le résultat d'un dépôt de matière incolore sur une surface provenant d'une source, soit endogène, telle que la sécrétion de la sueur et/ou exogène, c'est-à-dire toutes substances d'origine extérieure. Afin de trouver ces traces transparentes, les techniciens en identification criminelle doivent utiliser des techniques de révélation spécifiques au type de surface et à sa couleur. La trace latente est le type d'évidence le plus communément trouvé sur une scène de crime, d'où l'intérêt d'analyser son contenu moléculaire.

Au fil du temps, plusieurs recherches ont été effectuées afin de développer de nouvelles techniques permettant de révéler les traces latentes, c'est-à-dire une méthode qui permettrait de la rendre visible. Pour ce faire, la composition moléculaire de la trace latente fut grandement investiguée. Mais afin de mieux comprendre l'origine de sa composition, quelques notions supplémentaires seront abordées.

1.2.1 La peau

Auparavant, la peau était essentiellement considérée comme une simple barrière contre l'environnement. Aujourd'hui, grâce à de nombreuses recherches dans le domaine de l'anatomie et de la physiologie, la peau est aussi considérée comme un organe ayant une fonction secondaire endocrinienne, tout comme le cœur, le foie, les reins, l'estomac et l'intestin grêle ²⁰. Elle est aussi le siège de plusieurs autres fonctions, telles que la thermorégulation, la stimulation sensorielle et l'activité métabolique. La peau est composée de trois compartiments superposés (Figure 1.2.1).

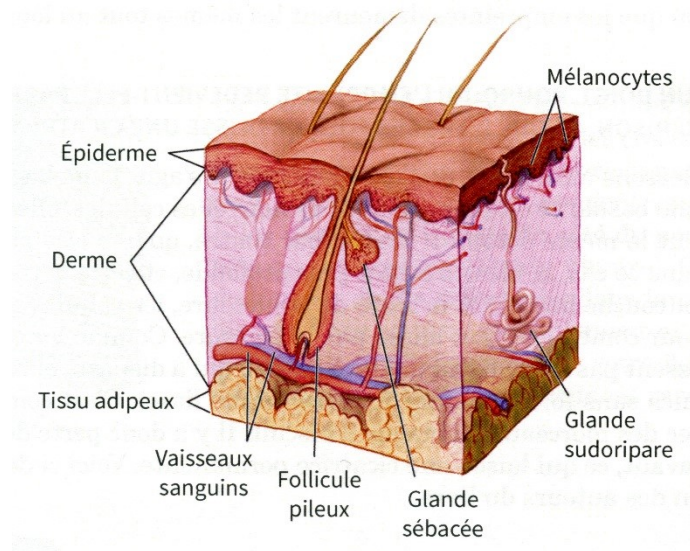


Figure 1.2.1 Diagramme schématisique de la peau, *National Cancer Institute* – Artiste : Don Bliss, traduction française ²¹.

L'épiderme

L'épiderme est la partie superficielle de la peau composée de cinq couches maintenues entre elles par des structures intercellulaires : cornée, lisse, granuleuse, épineuse et basale (Figure 1.2.2) ²². Sa fonction principale est liée à la protection de l'organisme contre les agressions extérieures, mais c'est aussi la partie de la peau responsable du renouvellement constant de l'empreinte digitale. En fait, les cellules de l'épiderme se divisent au niveau de la couche

basale, où le moule de l’empreinte s’est formé avant notre naissance ²¹. C’est pour cette raison que l’empreinte digitale ne change pas tout au long de notre vie.

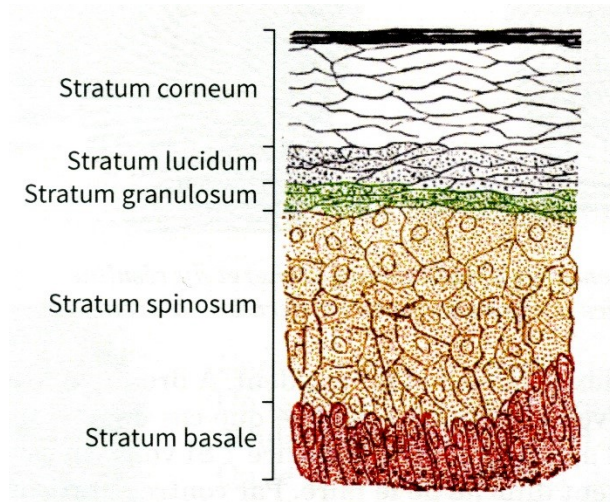


Figure 1.2.2 Diagramme schématisique des cinq couches qui composent l'épiderme ²¹.

Le derme

Quatre fois plus épais que l'épiderme et principalement composé de collagène, le derme permet de protéger et réparer les tissus endommagés. Outre son rôle de soutien, il est composé d'un grand nombre de vaisseaux sanguins afin d'accomplir son important rôle nutritif. Il est aussi l'hôte des vaisseaux lymphatiques, des nerfs, des glandes spécialisées (sébacées et sudoripares) et des récepteurs sensitifs.

L'hypoderme

Couche composée de tissu conjonctif lâche et de tissu adipeux à certains endroits, l'hypoderme sert principalement à relier la peau aux structures sous-jacentes. Les adipocytes présents dans cette zone permettent un amortissement mécanique lorsqu'une pression est exercée sur la peau, tout en y renfermant une grande réserve énergétique qui sert aussi d'isolant thermique.

1.2.2 La composition moléculaire endogène d'une trace latente

Depuis le début des années 20, un nombre considérable de recherches ont été effectuées sur la composition moléculaire des sécrétions en provenance des différentes glandes cutanées, dans l'espoir de diagnostiquer certaines maladies d'ordre médicale et dermatologique ²³⁻²⁵. Encore aujourd'hui, plusieurs analyses sur la sueur sont effectuées afin d'obtenir rapidement un diagnostic médical. Ces recherches ont grandement contribué à l'étude de la composition moléculaire d'une trace latente. En voici un résumé :

L'épiderme

Le frottement de la peau, contre elle-même ou sur un objet, induit l'expulsion des cellules épidermiques à la surface de la peau. Même si ce résidu représente une faible proportion de la composition moléculaire d'une trace latente en comparaison à la contribution du derme, il est néanmoins composé d'une substance extrêmement intéressante pour une enquête criminelle, l'ADN. D'autre part, des composantes protéiques furent observées dans le résidu, telles que la kératine, majeur constituant de l'épiderme, ainsi que la cathépsine D, une protéine exprimée durant le processus de desquamation ²⁶. D'ailleurs, plusieurs composantes lipidiques de la couche cornée de l'épiderme qui, entraînées par la sécrétion de sébum, se retrouveront à la surface de la peau, telles que le cholestérol, les stérides, les acides gras et les glycérides ²⁷.

Le derme

Les sécrétions au niveau du derme proviennent de trois types de glandes : sébacée, eccrine et apocrine (Figure 1.2.3). Chaque glande possède des fonctions spécifiques, menant à la sécrétion de différentes substances à la surface de la peau.

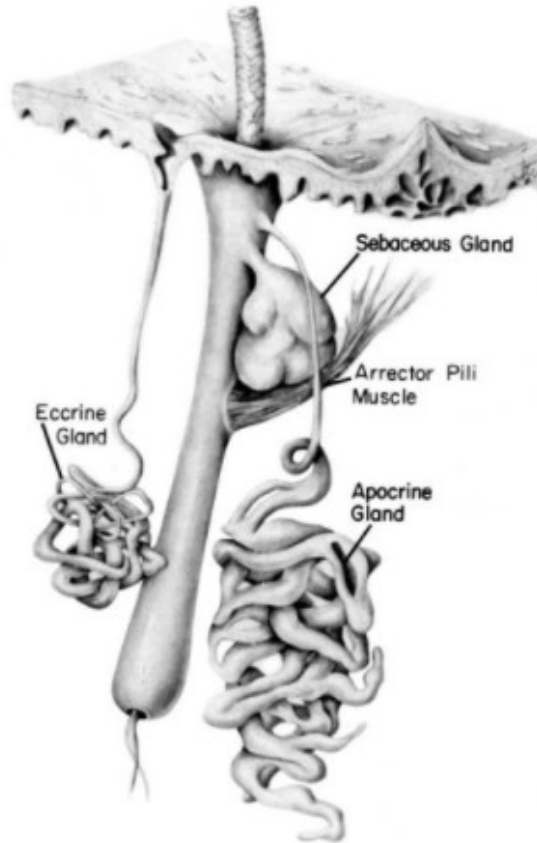


Figure 1.2.3 Diagramme schématisique des trois principales glandes sécrétrices de la peau ²⁸.

Les glandes sébacées sont généralement situées près des follicules pileux, du cuir chevelu et du visage. Elles sécrètent le liquide visqueux, appelé sébum, qui a pour but de rendre imperméable, ainsi que de lubrifier la peau et les poils. Le sébum est composé d'une grande variété de substances organiques, variant d'un individu à l'autre en raison de leur génétique et leur diète. Due à cette variation, la composition du sébum est à l'origine de la signature odorante individuelle, un moyen d'identification utilisé par de nombreuses espèces animales. Les substances majoritaires en provenance des glandes sébacées sont les triglycérides (30-40%), les acides gras libres (15-25%), les cérides (20-25%), le squalène (10-12%), le cholestérol (1-3%) et les esters de cholestérol (2-3%) ¹.

Les glandes sudoripares sont très sensibles aux stimuli de la chaleur et du travail, d'où la raison de leur fonction de régulation de la température corporelle via la sécrétion de la sueur ²⁹. Il existe deux types de glandes sudoripares : eccrine et apocrine. Les glandes eccrines se

trouvent sur l'ensemble du corps. Elles sont moins abondantes au niveau du dos et plus abondantes au niveau de la paume des mains et de la plante des pieds ¹. La sueur en provenance des glandes eccrines est composée d'eau, de nombreux composés organiques (acides aminés, protéines, glucose, lactate, urée, créatine, créatinine et vitamines) et inorganiques (sodium, potassium, calcium, fer, chlorure, fluorure, bromure, iodure, phosphate, sulfate et ammoniac) ¹. Les glandes apocrines sont situées particulièrement dans les régions axillaires, telles que les creux de l'aisselle, les zones génitales et mammaires. Selon quelques études, ces glandes sécrèteraient principalement des protéines, du cholestérol, des hydrocarbures, du fer ³⁰, des phéromones ³¹, des stéroïdes et ses dérivés sulfatés ^{32,33}.

1.2.3 L'utilisation du contenu endogène en science forensique

Les premières études scientifiques sur la composition moléculaire endogène d'une trace latente remontent à la fin des années 60. Depuis, de nombreuses approches analytiques ont été utilisées, telles que la photométrie, la spectrophotométrie, la spectroscopie et la spectrométrie de masse ^{1, 34-38}. Grâce à ces techniques, il a été possible d'identifier et de quantifier plusieurs substances endogènes dans la trace latente, ce qui a permis l'exploration de plusieurs stratégies afin d'extraire le plus d'informations à partir de celle-ci :

- La datation de la trace latente
- La différenciation des individus selon leurs traits caractéristiques
- Le développement et l'amélioration des techniques de révélation

Le développement de techniques de datation de la trace latente

Une grande différence peut être observée dans le contenu moléculaire d'une trace latente après sa déposition sur une surface. La variabilité de la composition de la trace latente dépend entre autres de la composition initiale de la trace latente, de la nature du substrat (la surface) et des conditions environnementales. Dans le but d'évaluer le temps écoulé entre sa déposition et sa révélation, plusieurs recherches ont été effectuées afin d'évaluer les différences moléculaires entre la composition initiale et âgée de la trace latente ³⁹⁻⁴³.

Dès les premières secondes suivant la déposition, une partie de l'eau contenue dans le résidu commence à s'évaporer. Après deux semaines, la trace latente a perdu plus de 85% de son poids initial dû à la perte d'eau et d'autres substances volatiles. Les autres substances en provenance des glandes eccrines, telles que les acides aminés, les sels inorganiques et certaines protéines, sont reconnues comme étant plus stables dans les premières semaines suivant la déposition. Cependant, une dégradation plus rapide est observée lorsqu'il y a augmentation de la température ambiante. Pour leur part, les substances en provenance des glandes sébacées se dégradent rapidement en fonction du temps. En fait, toutes les molécules contenant des chaînes d'hydrocarbures insaturés seront oxydées et dégradées, notamment par des bactéries et par exposition à la lumière. Par exemple, la concentration en squalène, un triterpène, diminue extrêmement rapidement durant la première journée après déposition, formant ainsi plusieurs acides gras à courte chaîne et des hydroperoxydes. Par contre, si la trace est déposée sur une surface de verre, le squalène ne sera plus détectable au bout de sept jours, en comparaison à trente jours pour une feuille de papier ⁴⁰. La même observation a été observée pour le cholestérol. Le contenu en acides gras diffère légèrement par la présence d'acides gras saturés et insaturés. Les acides gras insaturés se dégradent plus rapidement que les saturés, et cela dès leur déposition sur une surface. Des études ont en fait démontré une augmentation du contenu en acides gras saturés après déposition, suivi d'une diminution au fil du temps ⁴¹.

Toutes ces études ont tout de même grandement contribué à une meilleure compréhension de la nature d'une trace latente et des modifications qu'elle subit en fonction du temps. En revanche, il est extrêmement difficile d'utiliser ces informations pour déduire précisément la datation de la trace, si l'on prend en considération toutes les variables qui peuvent affecter son vieillissement, ainsi que les sources exogènes potentielles. En effet, plusieurs aliments, produits cosmétiques ou d'hygiène personnelle contiennent des lipides qui peuvent fausser les résultats. Encore aujourd'hui, aucune méthode de datation des traces latentes n'a été validée par la communauté scientifique ⁴⁴.

Différenciation selon les caractéristiques individuelles

Dans le but d'obtenir des indices ou des pistes à l'enquête, plusieurs caractéristiques individuelles à partir d'une trace latente ont été étudiées, incluant l'âge, le sexe, la médication et le métabolisme.

Les différences dans le contenu sécrété par les glandes eccrines et sébacées en fonction de l'âge de l'individu ont été étudiées notamment en dermatologie ^{45, 46}, mais surtout pour ses applications en science forensique ⁴⁷⁻⁵¹. Ces études ont été effectuées en grande majorité par les techniques de chromatographie gazeuse par spectrométrie de masse (GC-MS) et de spectroscopie FTIR. En général, il a été observé que le contenu en sébum est beaucoup plus abondant chez l'adulte que chez l'enfant et que les chaînes aliphatiques des cérides sont plus longues chez les adultes que chez les enfants. Ces raisons expliquent pourquoi la trace latente d'un enfant disparaît plus rapidement que celle d'un adulte. Plusieurs modèles ont été proposés dans la littérature pour calculer l'âge de l'individu, mais comme la datation de la trace latente, aucune méthode ne permet de confirmer cette information due à une très grande variabilité entre chaque individu et la possibilité de contamination externe.

La détermination du sexe à partir d'une trace latente est un autre axe de recherche qui suscite beaucoup d'intérêt dans la communauté forensique ⁵²⁻⁵⁴. Une première étude a comparé par GC-MS le contenu en lipides entre des traces latentes provenant de femmes et d'hommes, mais les résultats ont démontré qu'il n'y avait pas de différence significative ⁵². Une autre approche a comparé par MALDI MS les différents peptides endogènes présents dans la trace latente ⁵³. Avec un échantillonnage de 80 donneurs (40 femmes et 40 hommes), ils ont réussi à identifier le sexe avec une exactitude de 85%, dans des conditions dites idéales, c'est-à-dire, sans contamination externe, ni ajout de techniques de révélation. Récemment, la détection d'acides aminés dans des traces latentes a été effectuée et comparée entre femmes et hommes en utilisant un système de catalyse enzymatique couplé à un détecteur spectrophotométrique ⁵⁴. Avec un échantillonnage de 50 donneurs (25 femmes et 25 hommes), les auteurs proclament que leur technique permet d'identifier le sexe. Par contre, lorsque l'on observe leur résultat, plusieurs questions se posent sur l'exactitude de

cette méthode. Encore une fois, aucune méthode n'a encore été acceptée par la communauté forensique.

En général, lorsqu'un médicament ou une drogue est consommé, il est métabolisé par des processus enzymatiques, ou par simple hydrolyse, afin d'en favoriser l'élimination. Les métabolites issus de cette biotransformation peuvent se retrouver dans différents biofluides, tels que le sang, l'urine, la salive et la sueur. Leur détection peut donc confirmer la consommation d'une substance particulière par l'individu. La sueur est une matrice biologique disons moins conventionnelle, mais très appropriée pour le dépistage de certaines maladies ⁵⁵. Il en est de même pour le dépistage de drogues et de leurs métabolites, tels que la cocaïne, l'héroïne, la morphine, le fentanyl, la méthadone et le THC ⁵⁶⁻⁶⁰. Si ces substances peuvent être détectées dans la sueur, elles ont une chance de se retrouver dans le résidu d'une trace latente. Par exemple, la cotinine, un métabolite de la nicotine, a pu être détectée dans une trace latente de fumeur ⁶¹.

Développement et amélioration des techniques de révélation des traces latentes et visibles

Depuis plus d'un siècle, des centaines de techniques de révélation et de visualisation des traces latentes ont été rapportées dans la littérature. Chacune d'entre elles possède des avantages qui leur sont propres et ont la capacité de performer dans certaines conditions. Le choix de la technique utilisée est primordial. Dans certains cas, plusieurs méthodes peuvent être utilisées successivement. Dans tous les cas, la méthode idéale doit être choisie par un expert en révélation de trace latente afin d'éviter de détruire la preuve. La révélation des traces latentes peut être effectuée en utilisant plusieurs méthodes dites optique, physique et chimique. En premier lieu, une inspection visuelle est faite à l'aide d'une source lumineuse blanche, judiciaire (filtre couleur orange, jaune ou rouge) ou laser. Si nécessaire, des photographies sont prises. Par la suite, une ou plusieurs techniques de révélation physiques ou chimiques sont effectuées, suivies par la prise de photographies en utilisant au besoin les diverses sources lumineuses énumérées ci-dessus ⁸. Toutes ces techniques ont été développées en fonction du contenu endogène de la trace latente, dans le but de la rendre visible. La surface sur laquelle la trace latente est apposée peut grandement affecter l'efficacité de certaines techniques de révélation. Leur développement a donc été optimisé

en fonction du contenu endogène de la trace latente et du type de surface : poreuse, semi-poreuse et non-poreuse.

Les surfaces poreuses, telles que le papier, le carton et le bois, ont la fâcheuse caractéristique d'absorber la plupart des solutions de coloration. Donc, il est nécessaire pour ce type de surface d'utiliser une molécule spécifique qui réagira ou qui s'adsorbera aux molécules présentes dans le résidu de la trace latente. Cibler les acides aminés est particulièrement intéressant dû au fait qu'ils sont très abondants dans la trace latente. Les révélateurs les plus communément utilisés par les services de police à travers le monde sont : la ninhydrine, le DFO et le IND-Zn ^{62, 63}. En revanche, ces techniques sont complètement inutiles si la surface poreuse est mouillée, dues à une délocalisation des molécules solubles dans l'eau, telles que les acides aminés. Pour contrer ce problème, il est nécessaire de cibler les composés insolubles dans la trace latente, comme les lipides. Le révélateur physique (Silver Physical Developer, Ag-PD) a été développé sur des concepts de base de la photographie, c'est-à-dire qu'il vise la précipitation d'argent métallique couplée à l'oxydation du Fe²⁺ ⁶⁴. La révélation sur la trace latente permet de rendre les crêtes d'une couleur grise/noire sur le papier. En revanche, cette technique est plutôt dispendieuse, laborieuse et dite destructive envers l'échantillon. Pour toutes ces raisons, elle sera toujours utilisée en dernier ressort, c'est-à-dire uniquement si les autres techniques ne permettent pas de visualiser la trace latente. Une autre technique de révélation des traces latentes sur papier est l'ORO. Développée ici au Québec par Alexandre Beaudoin, cette technique est basée sur une méthode très utilisée en histologie pour la coloration des lipides neutres dans des coupes tissulaires ^{65, 66}. Lorsqu'appliquée sur la trace latente, elle permet de visualiser les crêtes de l'empreinte d'une couleur rose/rouge (Figure 1.2.4). Elle est aussi très efficace lorsque combinée à d'autres techniques de révélation, telles que la ninhydrine, le DFO et l'Ag-PD ⁶⁷. Cette méthode a rapidement été adoptée par plusieurs spécialistes du milieu en raison de sa simplicité, de son efficacité et de sa robustesse ²¹.

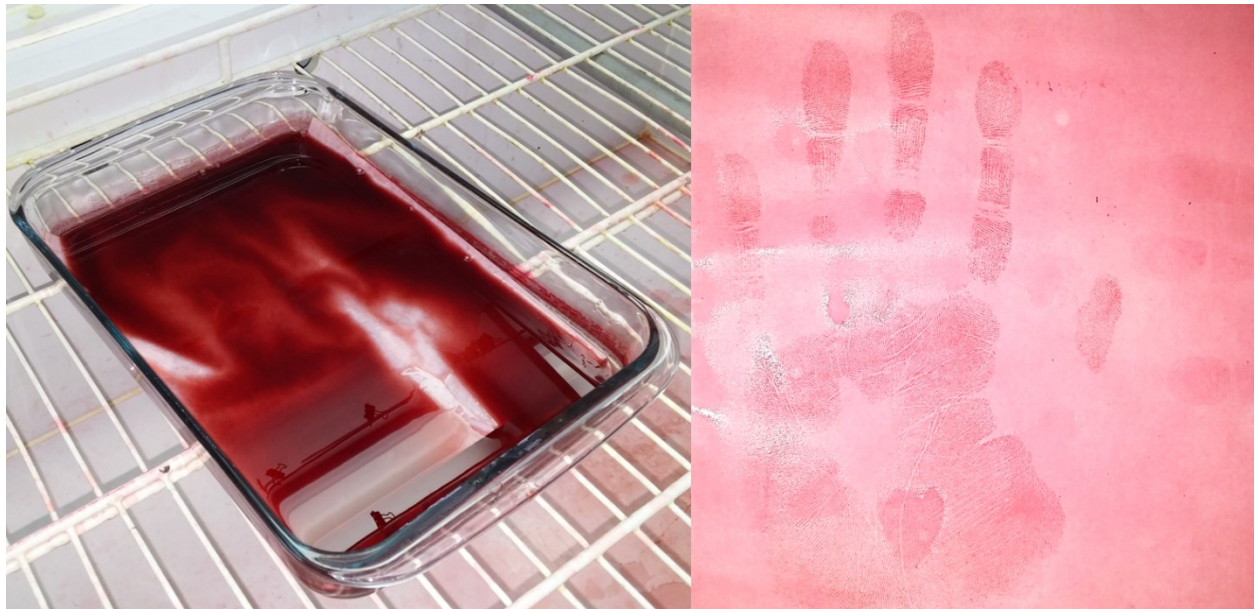


Figure 1.2.4 Technique de révélation ORO d'une main entière sur papier.

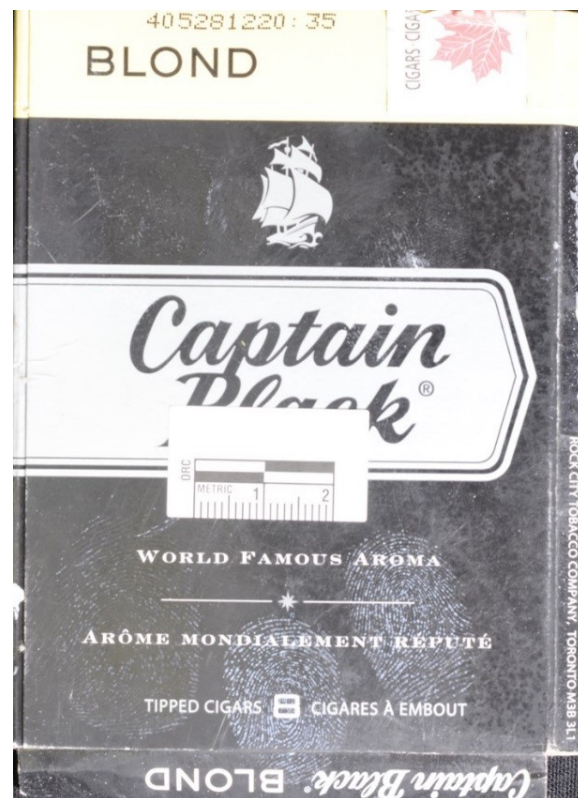


Figure 1.2.5 Technique de révélation de traces latentes par fumigation de CA sur un carton de cigarette.

Les surfaces semi-poreuses sont par définition des types de substrat qui absorbent et résistent au résidu de la trace latente, telles que le papier/carton glacé, le bois traité, un gant en latex ou du cuir souple non-traité. Une des techniques de révélation les plus communément utilisées sur les surfaces semi-poreuses est la fumigation de CA (Figure 1.2.5). Versatile, simple et peu dispendieuse, cette technique permet de produire des images d'empreinte digitale de haute qualité ^{8, 68}. En fait, le procédé produit un polymère blanchâtre sur la crête de la trace latente, idéale pour toutes surfaces de couleurs foncées. Pour contrer le manque de contraste sur les surfaces pâles, une poudre colorée peut être ajoutée ⁸. Il a aussi été démontré qu'une fois la trace latente fumigée et révélée à la poudre, il est possible de la prélever avec un ruban adhésif, « *forensic lifting tape* », et la repoudrer afin d'obtenir un meilleur contraste ⁶⁹.

Les surfaces non-poreuses, incluent le plastique, le verre, le bois peint et le métal. Les traces latentes déposées sur les surfaces non-poreuses ont tendance à être très fragiles. Si l'objet contenant la trace latente peut être déplacé et mis dans la chambre à fumigation, le CA sera préférentiellement utilisé comme révélateur. Puisque la surface non-poreuse n'absorbe pas les liquides, contrairement aux surfaces poreuses et semi-poreuses, il est possible d'utiliser après la déposition de CA une solution colorée ou fluorescente dans le but de rehausser le contraste avec la surface, telle que la rhodamine 6G, le brillant jaune 40 et le cristal violet ^{70, 71}. Dans le cas contraire, si l'objet est statique à la scène de crime, la technique la plus simple, efficace et communément utilisée est l'application de poudre par brossage, c'est-à-dire en utilisant une brosse pour révéler la présence de la trace latente (Figure 1.2.6). Cette technique est dite physique, car elle repose sur le principe d'adhésion capillaire. En fait, les forces de Coulomb permettent d'attirer la poudre vers les composantes chargées en surface de la trace latente ²¹. En général, il existe quatre types de poudres ¹ :

- Régulière : composée d'un polymère résineux (adhésion) et d'un colorant (contraste)
- Luminescente : fluorescente/phosphorescente sous l'excitation par une source lumineuse
- Métallique : au plomb fin et flocon de laiton
- Thermoplastique : encre à photocopieuse ou encre sèche

Le choix de la poudre sera fait par le spécialiste en fonction du type de trace, du type de surface et d'une approximation de la datation de la trace. Après le brossage, la trace latente est prélevée par un ruban adhésif pour améliorer le contraste durant l'étape de photographie et sera conservée aux archives.



Figure 1.2.6 Une brosse « *Zephyr* » contenant une poudre fluorescente.

La trace ensanglantée est une trace visible communément trouvée sur une scène de crime. Elle possède ses propres révélateurs, due à sa composition moléculaire particulière, c'est-à-dire qu'elle est principalement composée de protéines, d'acides aminés libres, de glucose, de lipides, de vitamines et de minéraux. Il existe trois grandes catégories de révélateurs des traces de sang ⁷² :

- Réactif aux acides aminés : ninhydrine, DFO et IND-Zn
- Colorant à protéines : noir de naphthalène, le rouge de Hongrie et le bleu de Coomassie
- Réactif à l'hème : la phénolphtaléine, le leuco malachite et le LCV

Dans aucun cas ces révélateurs ne permettent de confirmer la présence de sang. Les réactifs à l'hème sont dits des tests présomptifs, c'est-à-dire qu'ils sous-tendent la présence de sang, accompagné d'un faible risque de faux-positifs.

1.2.4 La composition moléculaire exogène d'une trace latente

Chaque individu possède au bout de ses doigts une signature moléculaire bien précise, presque unique si l'on considère la grande variété du contenu endogène, la présence de bactéries et de tout ce que l'on a touché depuis le dernier lavage de mains. Connaître les substances avec lesquelles le suspect est entré en contact avant, pendant ou après le crime peut potentiellement contribuer à une enquête criminelle. Un grand nombre de substances exogènes peuvent se retrouver dans une trace latente, telles que des stupéfiants, des explosifs, des résidus d'armes à feu, du sang, des résidus de préservatif, des composés pharmaceutiques, des cosmétiques et des produits de soins personnels ⁷³⁻⁸⁴.

Cependant, lorsque l'on détecte et identifie des substances exogènes dans une trace latente, il est important de prendre en considération que ces substances peuvent provenir d'une manipulation intentionnelle du suspect, mais aussi d'une contamination croisée. Par exemple, le fait de détecter de la cocaïne ne veut pas dire légalement que la personne en a consommé. En fait, quelques études ont démontré que plus de 75% de la monnaie en papier américaine est contaminée par des traces de cocaïne ou autres stupéfiants ⁸⁵. En revanche, la concentration à laquelle ces substances sont détectées peut contribuer à évaluer s'il s'agit d'une possible contamination croisée ou bien d'une manipulation directe. De plus, pour confirmer la consommation de ces substances, la détection des métabolites est nécessaire.

1.3 La spectrométrie de masse

Parmi les nombreuses techniques de chimie analytique, la spectrométrie de masse occupe une grande place due à ses caractéristiques techniques qui permettent d'obtenir des informations qualitatives et quantitatives sur la composition moléculaire. Au fil des années, cette puissante technologie est devenue indispensable grâce à une sensibilité et à des limites de détection inégalées pour diverses molécules dans tous les domaines de recherches : biomédicale, pharmaceutique, environnementale, alimentaire, physique nucléaire, astronomie, sciences forensiques et médico-légales, et bien d'autres encore. Des progrès marquants ont été réalisés au niveau de l'instrumentation, accompagnée par le

développement de méthodes hautement spécifiques, afin d'analyser tous types d'échantillons.

Le principe général d'une analyse par spectrométrie de masse est séparé en différentes composantes (Figure 1.3.1). Suite à l'introduction de l'échantillon dans l'instrument, la première étape consiste à ioniser les molécules afin de les entraîner à l'aide d'un champ électrostatique vers l'analyseur. Ce dernier sépare les différents ions en fonction de leur rapport m/z . Lorsque ces ions arrivent au détecteur, ils induisent un courant électrique qui sera par la suite convertit en une valeur arbitraire par un système informatique. Chaque composante offre une variété de technologies en fonction du type d'échantillon (gazeux, liquide ou solide), du type de molécules à analyser et de la possible présence d'interférents dans l'échantillon ⁸⁶.

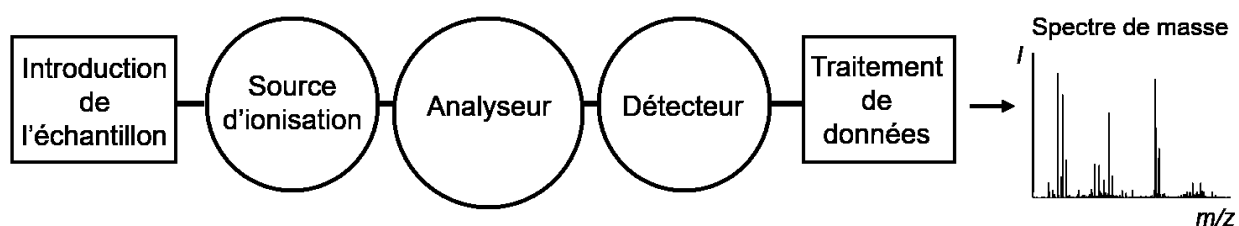


Figure 1.3.1 Composantes principales d'un spectromètre de masse.

1.3.1 L'ionisation par désorption laser

Parmi les nombreuses techniques d'ionisation disponibles, la désorption laser est particulièrement intéressante pour l'analyse d'échantillons solides immobilisés sur une surface. Son principe est basé sur la focalisation d'impulsions laser de l'ordre de $10^6 - 10^{10}$ W/cm² directement sur l'échantillon provoquant la sublimation de différents ions et molécules neutres par absorption des photons ⁸⁷. Dans cette phase gazeuse, différents processus de transfert réactionnels et/ou de fragmentation moléculaire peuvent prendre place. La désorption laser est liée aux propriétés physico-chimiques de l'analyte : sa photoabsorption en fonction de la longueur d'onde du laser utilisée (UV ou IR), ainsi que sa volatilité. Cette technique est notamment limitée aux petites molécules (MM < 1000 Da), due

à la grande énergie déployée par le laser. Afin de contrer cette limitation, différentes alternatives furent proposées au courant des trois dernières décennies.

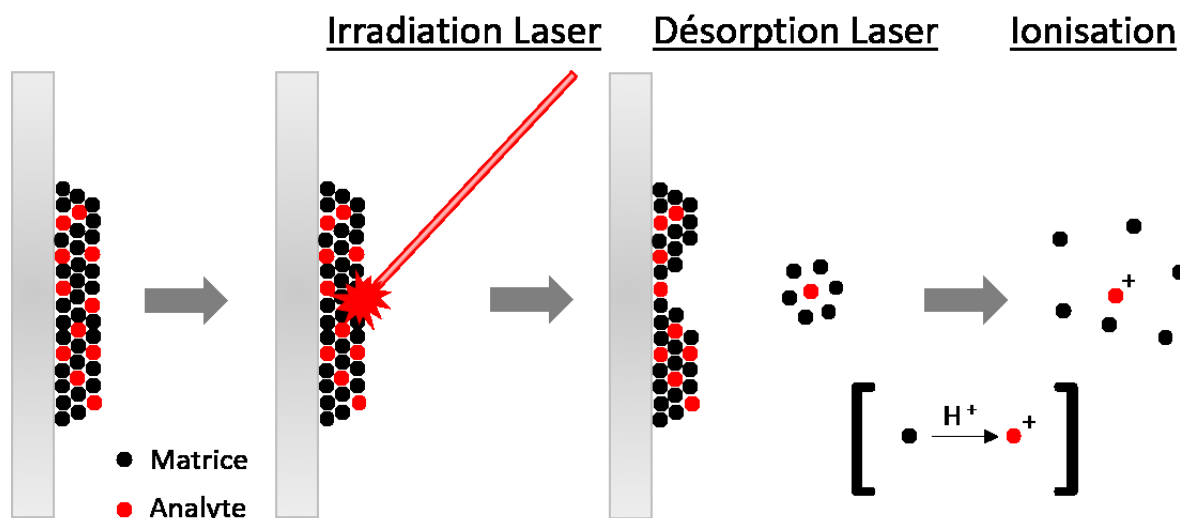


Figure 1.3.2 Principe de la désorption/ionisation laser assistée par matrice (MALDI).

En 1988, le MALDI fait son introduction grâce aux chercheurs Karas et Hillenkamp⁸⁸. Cette technique d'ionisation se distingue par sa préparation rapide des échantillons, sa capacité à détecter des molécules de hautes masses moléculaires et sa tolérance à la présence de sels, détergents et tampons^{89, 90}. Le principe repose sur l'ajout en excès de petites molécules organiques, appelées matrice, à un échantillon. La matrice a pour but d'absorber l'énergie émise par le laser et de la transférer partiellement aux analytes pour ainsi éviter la dégradation de ces derniers sous l'impact laser. Cet apport d'énergie mène alors à la sublimation des cristaux de matrice et des analytes co-cristallisés de l'échantillon. Selon la matrice utilisée, différents processus d'ionisation peuvent se produire. Un des modèles le plus acceptés est le transfert de proton matrice-analyte (Figure 1.3.2). La plupart du temps, la technique MALDI favorise la formation d'ions simplement chargés de type $[M+H]^+$. Plusieurs molécules organiques ont démontré être de bonnes matrices MALDI⁸⁷. Il est à noter que chacune d'entre elles possède une certaine affinité qui lui est propre envers certaines classes de molécules. Il n'y a actuellement toujours pas d'explication valable qui explique ces observations. Un autre aspect à considérer est le mode de déposition de la

matrice MALDI. La méthode conventionnelle « *dried-droplet method* » consiste à mélanger en solution la matrice et l'analyte typiquement dans un rapport moléculaire $\sim 5000/1$, respectivement. Le solvant est choisi en fonction de la solubilité de la matrice et de l'analyte d'intérêt. Un petit volume (1-2 μL) du mélange est déposé sur une cible (surface métallique ou électriquement conductrice) et laissé sécher. Il en résulte une co-cristallisation de la matrice et de l'analyte. D'autres méthodes de déposition ont été développées, mais elles réfèrent à l'imagerie MALDI qui sera discutée au chapitre 1.4. Un des désavantages de l'utilisation des matrices MALDI est que leur fragmentation en source ainsi que la formation d'agrégats contaminent les spectres dans la région des basses masses (<1000 Da). Ces signaux peuvent donc interférer avec la détection de certains ions d'intérêts et/ou augmenter le bruit de fond, affectant la sensibilité de l'analyse. Au fil des années, différentes méthodes furent développées dans le but de remplacer la matrice organique, telles que le SALDI, le SELDI et le DIOS⁹¹⁻⁹⁵.

Pour sa part, la technique LDI assistée par argent s'est avérée très intéressante pour la détection de plusieurs classes de molécules⁹⁶⁻⁹⁸. Afin d'être mieux adaptée à l'IMS, un ancien étudiant du même groupe de recherche, Martin Dufresne, a développé une méthode qui consiste à déposer une mince couche d'argent métallique par pulvérisation sur l'échantillon^{99, 100}. Cette technique permet, entre autres, de s'affranchir des signaux en basses masses de la matrice et de produire des d'agrégats d'argent (Ag_{2-9}^+) qui permettent l'étalonnage interne du spectre de masse. C'est aussi une méthode dite plus sélective, car les cations d'argent qui dans ce cas servent à l'ionisation (formation d'ions de type $[\text{M}+\text{Ag}]^+$), ont une affinité pour les molécules contenant divers types d'oléfine.

1.3.2 L'analyseur en masse par temps de vol

Chaque type d'analyseur possède un principe de fonctionnement et une géométrie bien distincte afin de séparer les ions en fonction de leur rapport m/z . Pour sa part, l'analyseur TOF sépare les ions selon leur temps de vol, c'est-à-dire le temps nécessaire pour parcourir un tube de vol exempté de champ (électrique ou magnétique). Les ions issus du processus d'ionisation sont pulsés de la source par paquet afin de pouvoir être séparés par l'analyseur TOF (Figure 1.3.3), d'où l'intérêt de coupler une source d'ionisation pulsée, comme la LDI,

avec ce type d'analyseur. Le temps de vol (t) d'un ion est relié à son rapport m/z par l'équation 1. La distance (L) et le potentiel d'accélération en source (V_s) sont des paramètres constants pour un instrument donné. On observe par cette équation que lorsque le rapport m/z augmente, le temps de vol de l'ion augmente.

$$\frac{m}{z} = \left(\frac{2eV_s}{L^2} \right) t^2 \quad [1]$$

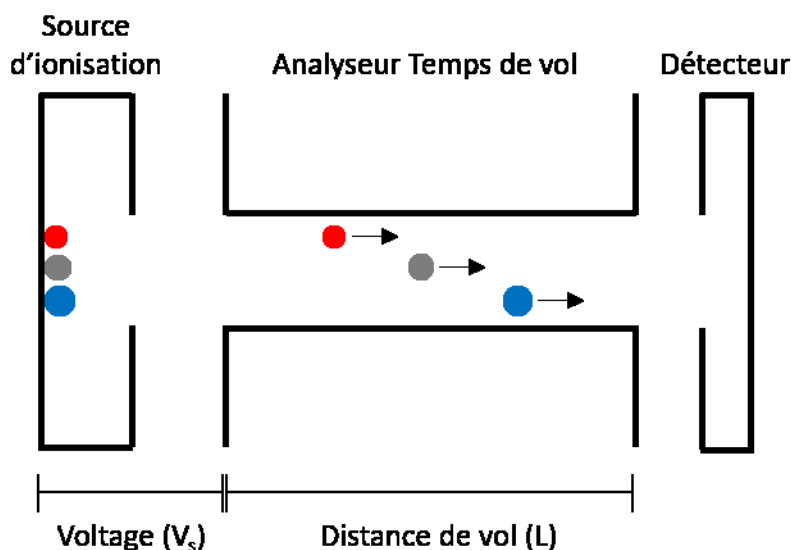


Figure 1.3.3 Schéma de la configuration de base d'un analyseur TOF en mode linéaire pour trois ions de m/z différents.

Le domaine de masse analysable d'un analyseur TOF n'a quasiment aucune limite théorique lorsque celui-ci est couplé de façon axiale avec une source MALDI. En fait, des molécules dépassant 300 000 Da ont déjà été détectées utilisant cette géométrie ¹⁰¹. De plus, c'est un analyseur extrêmement rapide pouvant produire des milliers de spectres de masse par seconde, et cela sur une large gamme de masse ⁸⁷. Puisque le temps de vol est relié au rapport m/z , un étalonnage en masse de l'instrument est nécessaire. En général, trois ou quatre molécules étalons sont utilisées pour étalonner une certaine gamme de masse. Deux types d'étalonnage peuvent être utilisés. L'étalonnage externe est préalable à l'analyse. Dans ce

cas, les étalons n'interfèrent pas avec l'analyse. Pour sa part, l'étalonnage interne consiste à ajouter les étalons dans l'échantillon. Ce mode permet d'obtenir une meilleure précision en masse, mais avec un risque d'interférer avec les analytes d'intérêt.

L'inconvénient de travailler avec un analyseur TOF en mode linéaire est que cette géométrie offre un faible pouvoir de résolution en masse, surtout dans la gamme de haute masse (≥ 5000 Da). Plusieurs facteurs sont à la source de ce désavantage ¹⁰² : la distribution temporelle, spatiale et en énergie cinétique.

La distribution temporelle provient en partie de la durée de l'impulsion laser durant le processus d'ionisation. Les ions de même m/z étant ionisés à un temps différent auront des temps de vol différents. Ce phénomène est moins important lors de l'ionisation par LDI.

La distribution spatiale provient d'une dispersion dans l'espace des ions lors de l'impulsion laser. Ce phénomène est plus accentué lors de l'ionisation MALDI due aux irrégularités de la surface d'analyse, c'est-à-dire une cible contenant l'échantillon et la matrice cristallisée.

La distribution en énergie cinétique provient de la variation de la vitesse initiale des ions lors de leur désorption. Cette variation de vitesse induit une dispersion en énergie cinétique qui par la suite induit une dispersion temporelle des ions de même m/z .

Grâce à la recherche et aux développements technologiques dans ce domaine, deux techniques ont apporté d'importantes améliorations sur la résolution en masse des ions analysés par TOF : le réflectron et l'extraction retardée.

Le réflectron est la première avancée technologique qui mena à une importante amélioration de la résolution en masse des ions ^{103, 104}. Ce dispositif est composé de plusieurs électrodes permettant de générer un champ électrostatique retardateur (miroir électrostatique) qui a pour but de diminuer la dispersion en énergie cinétique des ions. Après l'impulsion laser, une légère variation de la vitesse initiale des ions provoque une différence d'énergie cinétique chez les ions de même m/z . Lorsque ces paquets d'ions entrent dans le réflectron, ceux ayant une plus grande énergie pénétreront plus profondément avant d'être redirigés

vers le détecteur, allongeant ainsi leur distance de vol (Figure 1.3.4). Ce dispositif permet une meilleure focalisation des ions de même m/z sur le détecteur qui se traduit par une amélioration de la résolution en masse des ions. La géométrie co-axiale des TOF permet une analyse rapide de mélanges moléculaires complexes sur une gamme de masse presque illimitée avec une transmission proche de 100% des ions produits en source. Par contre, il est limité par la résolution en masse des ions produits. Le développement du temps de vol à injection orthogonale a notamment permis d'améliorer cette résolution. Cependant, cette géométrie a le désavantage de diminuer la transmission des ions dans le TOF.

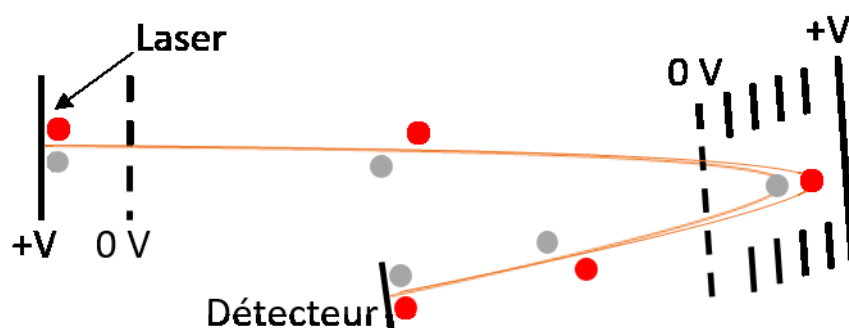


Figure 1.3.4 Schéma de la configuration de base d'un analyseur TOF en mode réflectron pour deux ions de même m/z avec des énergies cinétiques différentes.

L'extraction retardée est la deuxième invention qui mena à une augmentation de la résolution en masse des ions ^{105, 106}. Ce principe repose sur une focalisation simultanée de la dispersion en énergie cinétique des ions formés et de leur distribution spatiale. Après l'impulsion laser, un temps de retard de l'ordre de quelques centaines de nanosecondes est imposé dans le premier étage de la source ionique avant l'extraction des ions (Figure 1.3.5). Durant ce temps, les ions ayant une plus grande vitesse acquise lors de la désorption vont se retrouver à une plus grande distance de l'électrode d'accélération. Lorsque le potentiel d'extraction de quelques kilovolts est appliqué, les ions lointains recevront alors moins d'énergie que les ions ayant une plus petite vitesse se trouvant plus près de la plaque échantillon. Afin que cette compensation en énergie soit optimale, le temps de retard et la tension appliquée doivent être optimisés en fonction de la masse des ions d'intérêts. En général, plus le m/z de l'ion est petit, plus la tension est basse et plus le temps de retard est court. La combinaison

de ces deux innovations permet dans les systèmes MALDI-TOF MS modernes d'atteindre des résolutions en masse > 30 000.

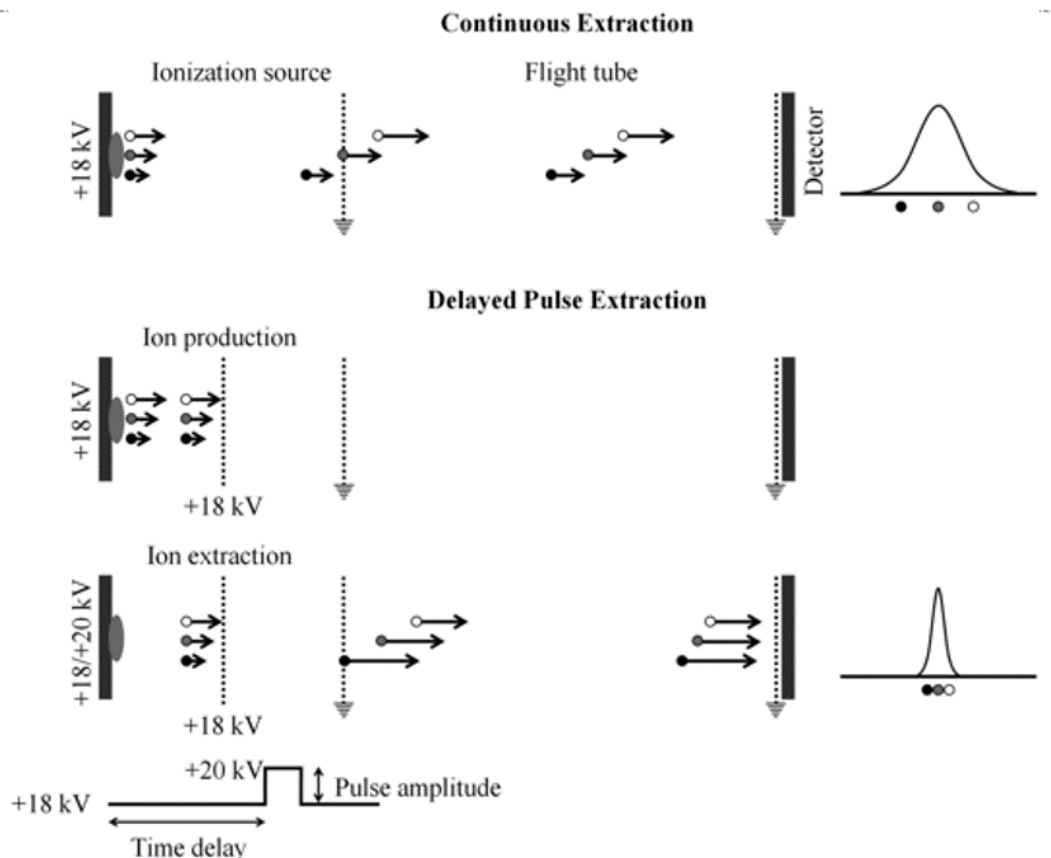


Figure 1.3.5 Schéma de la configuration de base d'un analyseur TOF avec une source à extraction retardée pour des ions de même m/z . (<http://nptel.ac.in/courses/102103044/module2/lec12/3.html>)

1.3.3 La spectrométrie de masse en tandem TOF/TOF (MS/MS)

La spectrométrie de masse en tandem consiste à coupler deux analyseurs en masse, soit par un système électrostatique, ou par l'intermédiaire d'une cellule de collision. Dans le cas d'un système TOF/TOF, le premier analyseur permet d'isoler un ion d'intérêt (ion précurseur) parmi l'ensemble produit grâce à une porte ionique électrostatique située à l'extrémité du TOF. Le deuxième analyseur va permettre l'analyse en masse de l'ensemble des ions fragments en provenance de l'ion précurseur en mode réflectron. Dans le cas d'un couplage

par l'intermédiaire d'un système électrostatique, la fragmentation de l'ion précurseur est induite par l'accroissement de son instabilité suite à l'excès d'énergie laser lors du processus de désorption/ionisation ¹⁰⁷. Dans ce cas, quand la fragmentation se produit dans le premier analyseur TOF, les ions fragments produits possèdent alors la même vitesse que l'ion précurseur et seront sélectionnés en même temps que celui-ci par la porte ionique pour leur analyse en masse dans le deuxième TOF (Figure 1.3.6). La MS/MS est extrêmement utile pour l'élucidation structurale d'une molécule à des fins d'identification. Par contre, certaines limitations s'imposent pour l'analyse de molécules de faible masse moléculaire (< 200 Da), causé par la faible résolution de la porte ionique et par la stabilité des petites molécules en général. Il en est de même pour les molécules de plus haute masse moléculaire (> 4000 Da), dont la fragmentation métastable à partir d'ions simplement chargés est limitée.

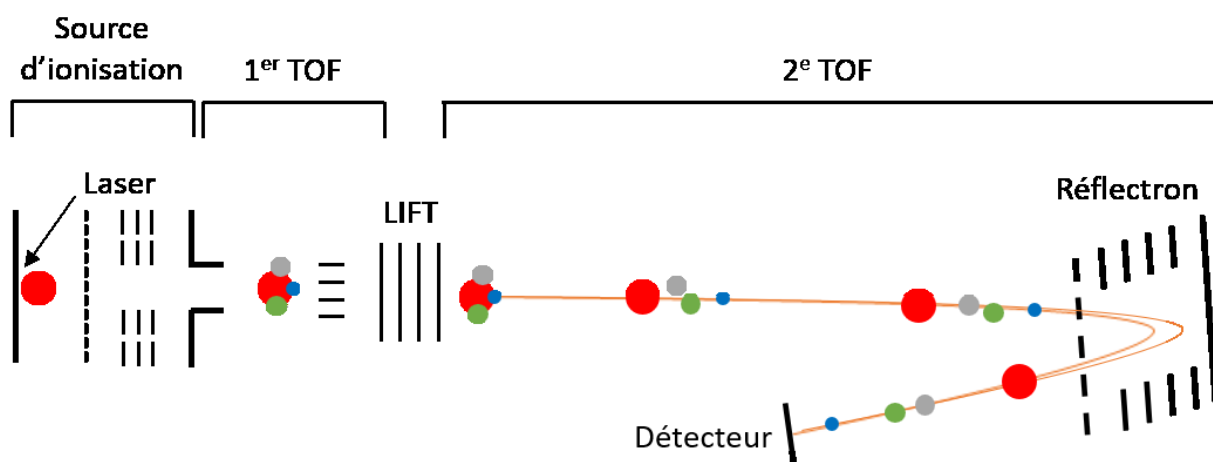


Figure 1.3.6 Principe de fragmentation d'ions par MALDI-TOF/TOF utilisant une cellule de collision de type LIFT.

1.3.4 Les instruments hybrides

Le but de développer des spectromètres de masse dits hybrides est en fait de combiner les forces de plusieurs analyseurs en masse, tout en évitant une combinaison de leurs faiblesses pour améliorer l'efficacité de fragmentation et la transmission des ions. Au fil du temps, différents instruments ont été développés en combinant l'analyseur TOF à d'autres analyseurs, tels que le quadripôle ou la trappe ionique. Ces couplages offrent un meilleur

pouvoir de résolution en masse selon leur géométrie distincte. L'un des avantages de ces combinaisons en comparaison au système co-axial TOF/TOF est que le support sur lequel l'échantillon est déposé n'a pas besoin d'être électriquement conducteur.

1.4 L'imagerie moléculaire par spectrométrie de masse

L'imagerie moléculaire par spectrométrie de masse est une technique extrêmement versatile qui permet la cartographie de plusieurs centaines de molécules à partir de plusieurs types d'échantillons. Afin de produire une image moléculaire par spectrométrie de masse, il est nécessaire avant tout d'immobiliser l'échantillon sur une surface plane. Différentes sources MS autres que le MALDI sont adaptées pour l'acquisition d'images moléculaires, telles que le SIMS et le DESI (Figure 1.4.1) ¹⁰⁸⁻¹¹¹.

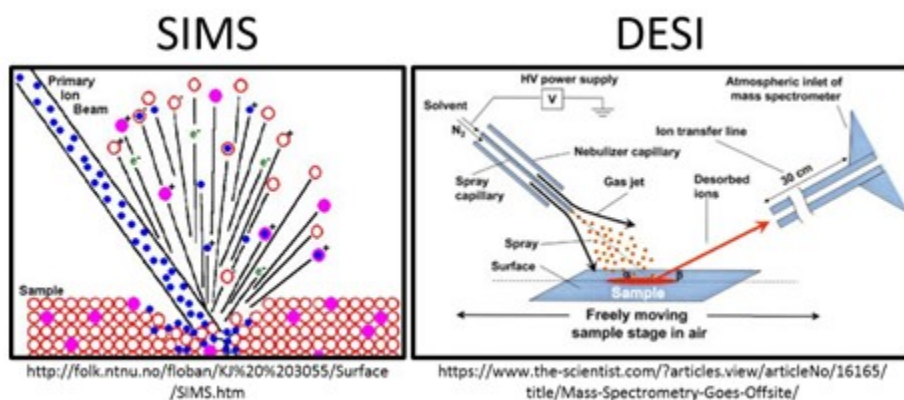


Figure 1.4.1 Principes d'ionisation simplifiés pour le SIMS et le DESI.

Le SIMS consiste en un bombardement d'ions primaires sur une surface dans le but de former des ions secondaires qui seront éjectés et séparés par un analyseur. Tout comme le MALDI, le SIMS se couple bien au TOF. Le SIMS offre une résolution spatiale élevée (< 200 nm), mais il est limité dans sa gamme de masse analysable (< 2000 Da) ¹¹².

Le DESI est une technique d'ionisation à pression atmosphérique qui repose essentiellement sur les concepts de l'ESI. Dans le cas du DESI, l'aérosol est dirigé vers l'échantillon en appliquant une grande différence de potentiel entre l'embout du faisceau et la surface. Le

bombardement de fines gouttelettes chargées mène à une désorption des analytes à la surface de l'échantillon. Le plus grand avantage du DESI est qu'il n'y a pas de préparation d'échantillon. En revanche, cette technique n'offre pas une grande résolution spatiale, due au diamètre de l'aérosol et à son mouvement en continu sur la surface ¹¹³.

1.4.1 L'imagerie par spectrométrie de masse MALDI

En 1997, l'imagerie par spectrométrie de masse MALDI a fait son apparition dans le domaine de la recherche biomédicale en fournissant des avantages uniques pour l'analyse directe de tissus biologiques ¹¹¹. Aujourd'hui, l'utilisation de cette technologie a mené à de grands progrès dans plusieurs sphères de recherche ¹¹⁴⁻¹¹⁶.

Afin d'effectuer une analyse par MALDI IMS, la zone d'imagerie est d'abord sélectionnée et une résolution spatiale est choisie. Ces paramètres sont déterminés en fonction de la dimension de l'échantillon et du détail nécessaire à l'étude. Tout comme en photographie, la résolution d'une image est proportionnelle au nombre de pixels. Plus le pixel est petit, plus nombreux ils seront dans la zone sélectionnée sur l'échantillon. En MALDI IMS, la résolution spatiale est limitée par la taille minimale du laser (Nd-YAG > 10 μm), le pas de déplacement minimum du porte-échantillon dans la source du spectromètre et par la taille des cristaux de matrice (fonction du mode de déposition). Durant le processus d'imagerie, la position du laser demeure fixe et l'échantillon se déplace d'un pas constant dans un système cartésien en enregistrant des données MS à chaque coordonnée (x,y) de la surface à analyser. Par la suite, un logiciel de traitement de données génère une carte de densité ionique pour chacune des molécules détectées en intégrant l'intensité du signal MS en fonction de la coordonnée d'acquisition. Chaque carte ionique est représentée par un code de couleur en fonction de l'intensité relative de l'ion à chaque coordonnée de la zone d'imagerie (Figure 1.4.2).

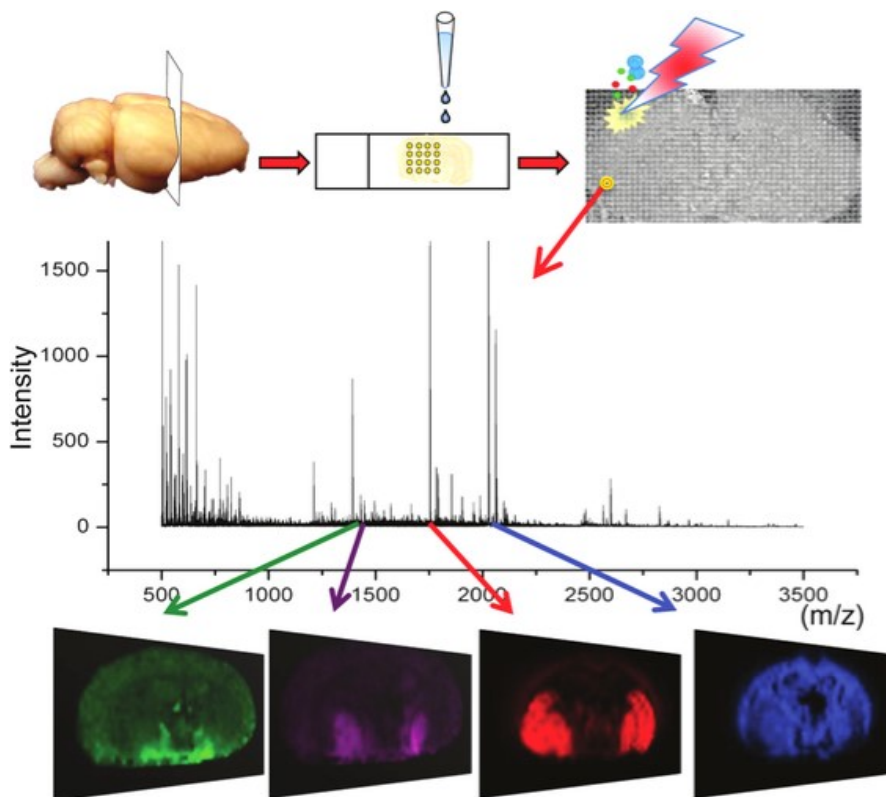


Figure 1.4.2 Représentation schématique des étapes de base de l'imagerie MALDI ¹¹⁷.

L'efficacité d'une analyse MALDI repose avant tout sur la déposition uniforme de la matrice sur l'échantillon tout en minimisant la délocalisation moléculaire à la surface de l'échantillon. La préparation de l'échantillon est donc cruciale afin de générer des images moléculaires justes. L'efficacité de la désorption/ionisation est proportionnelle à la quantité de matrice déposée. Donc, il est primordial d'avoir une déposition homogène de matrice sur toute la surface de l'échantillon à analyser. Le mode de dépôt le plus populaire est le recouvrement par nébulisation (« *spray coating* »). Cette technique consiste à déposer à l'aide d'un aérosol plusieurs couches de matrice en solution, espacées par des temps de séchage. L'interface liquide permet une co-cristallisation de la matrice et des analytes solubles dans le solvant utilisé permettant la détection par MALDI de molécules appartenant à toutes les gammes de masses. Par contre, une surabondance de liquide peut mener à une délocalisation des molécules, générant une perte de résolution spatiale. Pour cette raison, d'autres modes de déposition sans solvant ont été développés.

La sublimation de la matrice MALDI est une approche élégante permettant des dépôts uniformes de quelques micromètres d'épaisseur ¹¹⁸⁻¹²¹. Dans une cloche à sublimation maintenue sous vide ($\sim 10^{-2}$ mbar) et chauffée ($\sim 150^\circ\text{C}$), cette technique permet un passage de la matrice de l'état solide à gazeux qui se redépose directement sur l'échantillon mis en contact avec une source froide. Lorsqu'utilisé avec la matrice DAN, ce mode de déposition permet une détection de plusieurs molécules de faible masse moléculaire, notamment des lipides, et l'IMS à haute résolution spatiale est alors possible (Figure 1.4.3). Comme mentionné ci-dessus, la présence de pics contaminants en provenance de la matrice MALDI peut dans certain cas devenir problématique. D'où l'intérêt grandissant de développer des méthodes alternatives de désorption/ionisation, telles que l'utilisation d'un métal à la place d'une matrice organique.

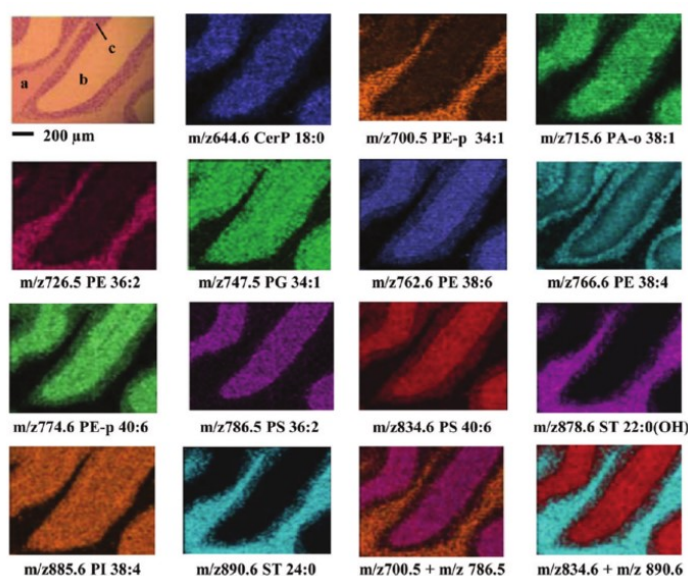


Figure 1.4.3 IMS à haute résolution spatiale (10 μm) de lipides dans le cérébellum d'une souris après sublimation de la matrice DAN ¹²⁰.

L'utilisation des métaux en LDI-TOF n'a rien de nouveau. En 1988, Tanaka *et al.* publièrent un article qui lui a valu un prix Nobel pour la détection de protéines et de polymères de plus de 100 000 Da en utilisant une poudre de cobalt mélangé à du glycérol ¹²². Pour qu'un métal soit utilisable en LDI, il est nécessaire qu'il participe à la désorption (Au, Co, Pt...) et/ou à l'ionisation (Na, Li, K, Ce, Ag...) des analytes. De plus, un autre avantage de l'utilisation de

métaux est que leur présence en basse masse, souvent sous forme d'agrégats, peut-être extrêmement utile pour effectuer un étalonnage interne des spectres MS ⁹⁹. Ces signaux sont typiquement bien définis et beaucoup moins abondants que les fragments/adduits issus de la dégradation de la matrice MALDI. Pour l'IMS, le mode privilégié de déposition de ces métaux est effectué par pulvérisation métallique (« *metal sputtering* ») ou par électro-évaporation. Ces modes permettent d'atteindre une résolution spatiale possiblement meilleure qu'après la sublimation des matrices organiques, due à la très petite taille des agrégats métalliques (Figure 1.4.4). La méthode LDI assistée par argent (AgLDI) IMS a récemment été développée dans notre laboratoire ⁹⁹. Cette méthode est dite plus sélective, car elle cible certaines classes de composés. L'avantage de l'argent provient de sa capacité à se lier aux molécules contenant une ou plusieurs oléfines, telles que certains acides gras et le cholestérol. Dans ce cas, des ions pseudo-moléculaires de type $[M+Ag]^+$ sont formés de manière privilégiée. Néanmoins, la présence de sels dans l'échantillon, peut aussi mener à la détection d'adduits de sodium ou de potassium. Un autre métal intéressant est l'Au. Ce dernier a comme avantage d'absorber l'énergie UV en provenance du laser, facilitant la désorption des molécules à la surface de l'échantillon. N'étant pas un agent d'ionisation, ce dernier doit être accompagné d'un autre métal, tel que le sodium ou le potassium. La déposition d'Au a démontré des résultats très prometteurs pour la détection de triglycérides sur tissus par LDI en comparaison aux matrices classiques ^{123,124}.

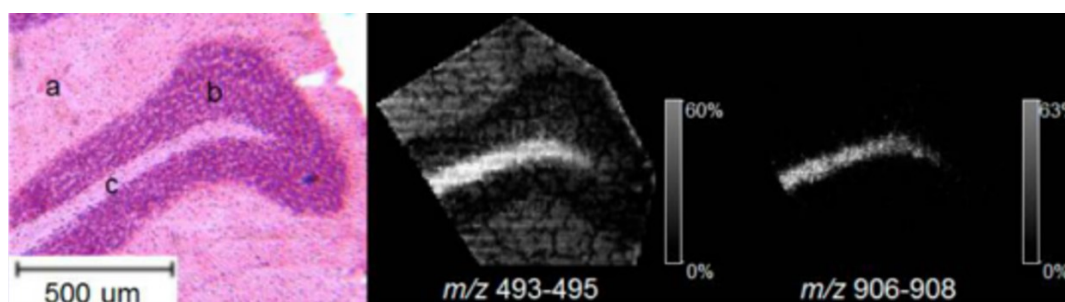


Figure 1.4.4 IMS à haute résolution spatiale (5 µm) du cholestérol et d'un lipide dans le cérébellum d'une souris après pulvérisation d'argent métallique ⁹⁹.

1.4.2 L'imagerie moléculaire de traces latentes par spectrométrie de masse

La première image moléculaire d'une trace latente a été exécutée par le professeur Demian R. Iba en 2008. En utilisant le mode d'ionisation DESI, il a démontré qu'il était possible de générer une image moléculaire de l'empreinte digitale d'un individu suite à la détection de cocaïne présente dans sa trace latente ¹²⁵. Sa publication a dès lors suscité un grand intérêt dans la communauté scientifique, autant dans le domaine de la MS, qu'en science forensique. En 2009, une première publication du groupe de recherche du professeur Simona Francese introduisit une méthode par MALDI-Q-TOF IMS pour la détection et l'imagerie de plusieurs substances endogènes et exogènes dans la trace latente. Aujourd'hui, le professeur Simona Francese est considérée comme une pionnière dans ce domaine par l'intégration de sa technique auprès des autorités britanniques.

Plusieurs critères doivent être pris en compte lors du développement de méthode pour l'analyse de traces latentes découvertes sur une scène de crime :

- La fragilité et la faible quantité de substances présentes dans l'échantillon
- L'analyse sur des surfaces non idéales
- La présence de révélateurs physiques ou chimiques sur la trace

Avec plus d'une vingtaine d'articles publiés, Francese *et al.* ont clairement démontré à la communauté scientifique la robustesse et l'efficacité de leur méthode afin d'apporter des informations supplémentaires à une enquête policière. Les prochaines lignes résument en quelque sorte leur recherche.

2009 – Développement d'une méthode pour l'analyse IMS par MALDI-Q-TOF ¹¹⁶.

Le dépôt de la matrice CHCA par nébulisation sur une trace latente préalablement déposée sur une cible métallique a permis de détecter certains lipides endogènes en provenance de traces latentes fraîches et vieilles. Par la suite, la dégradation de l'acide oléique dans la trace latente a été observée sur une période de sept jours suivant sa déposition.

2011 – Développement d'un mode de déposition de matrice inspiré des poudres forensiques ¹²⁶.

Afin d'adapter leur méthode aux techniques de révélation utilisées par les techniciens en identification criminelle, les auteurs proposent l'utilisation de la matrice CHCA comme poudre de révélation des traces latentes due à son absorbance dans l'UV. La méthode « *Dry-Wet* » consiste à saupoudrer par brossage le CHCA sur la scène de crime pour le recouvrement des traces latentes. Par la suite, elles sont transportées dans le laboratoire où un solvant (ACN/H₂O) est déposé par nébulisation afin d'induire une co-cristallisation des analytes pour la détection par MALDI IMS (Figure 1.4.5). Cette technique permet la détection de plusieurs substances endogènes et exogènes dans la trace latente, telles que les acides aminés, des acides organiques, le cholestérol déshydraté, la vitamine E, le squalène, des diglycérides et triglycérides. Par contre, la résolution de l'IMS est limitée par la taille des cristaux de matrice déposés sous forme de poudre ¹²⁷.

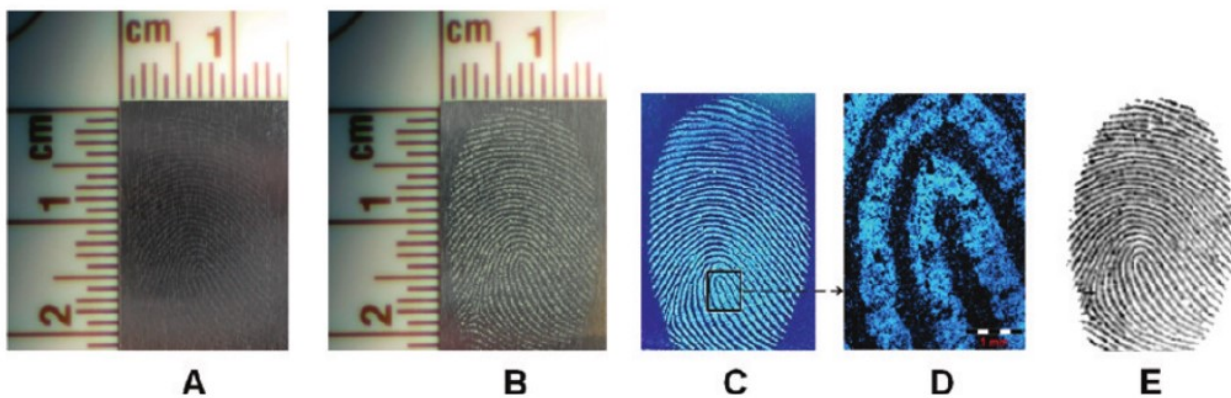


Figure 1.4.5 Processus de révélation d'une trace latente par MALDI IMS utilisant la méthode « *Dry-Wet* » (résolution spatiale de 100-150 μm). A) La trace latente avant saupoudrage au CHCA, B) après saupoudrage au CHCA, C-D) suivie d'une photographie en présence d'une lampe à ultraviolets et E) de l'IMS (m/z 304) ¹²⁶.

2011 – Utilisation de la matrice dithranol pour les cas d'agressions sexuelles ⁷⁶.

L'utilisation d'un préservatif durant une agression sexuelle a grandement augmenté due à la possibilité de transmission de maladies sexuelles et pour éviter de laisser des traces de matériel génétique durant l'acte. Diverses substances entrent dans la composition de chaque marque de préservatif, telles que des polymères et différents spermicides. Ces substances

peuvent être détectées dans la trace latente afin de relier le suspect à son acte. Dans les cas d'agression sexuelle, une matrice MALDI, appelée dithranol, peut être utilisée pour augmenter la spécificité de la détection de ses substances et pour l'analyse par IMS.

2012 – Visualisation de traces latentes superposées par MALDI IMS ¹²⁸.

Un des grands avantages de l'IMS est qu'elle génère une image moléculaire pour chaque ion détecté. Dans les cas où une trace latente est déposée sur une seconde trace, en provenance de deux individus, les techniques de révélation colorimétrique utilisées par la police ne permettent pas d'individualiser ces traces. Si le contenu moléculaire des traces latentes diffère entre les deux individus en question, l'IMS peut les individualiser en générant des images moléculaires distinctes en fonction des différences moléculaires observées (Figure 1.4.6).

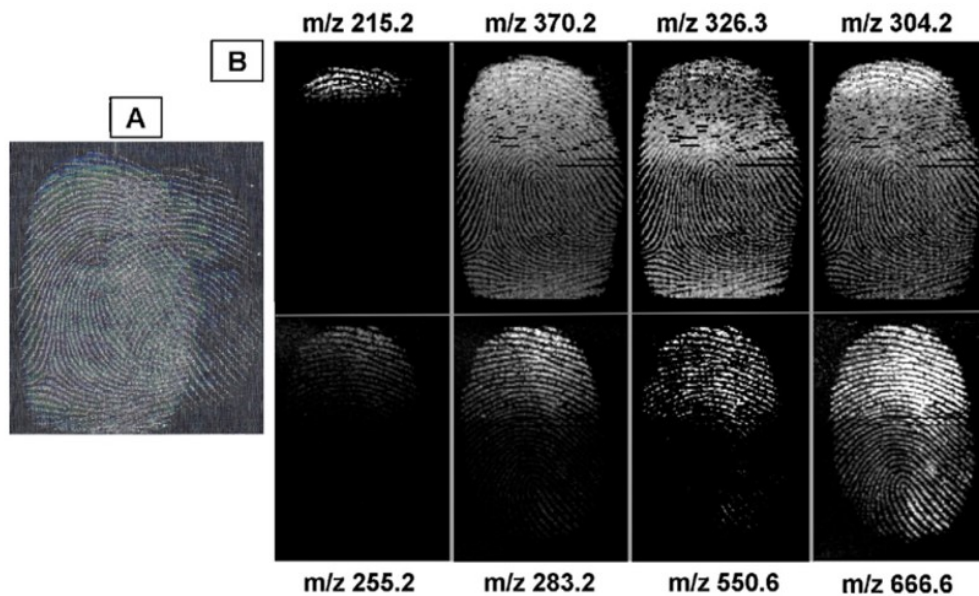


Figure 1.4.6 Séparation de deux traces latentes par MALDI IMS. A) Photographie après saupoudrage du CHCA, B) images moléculaires permettant de différencier les deux traces ¹²⁸.

2012 – Détermination avec une certitude de 85% du sexe suite à l'analyse peptidique d'une trace latente ⁵³.

Comme mentionnée précédemment, la détermination du sexe d'un individu à partir de sa trace latente est d'un grand intérêt pour l'avancement d'une enquête policière. La variation dans le contenu endogène a été très étudiée pour les lipides et les acides aminés. Une étude réalisée par MALDI MS par Ferguson *et al.* a démontré qu'il y avait une différence significative entre le contenu peptidique endogène d'une femme et d'un homme en utilisant la matrice CHCA. Sur un échantillonnage de 40 femmes et 40 hommes, ils ont démontré qu'il était possible de déterminer le sexe à partir d'une trace latente avec une certitude de 85%. Ces études ont certes été effectuées dans des conditions idéales, c'est-à-dire que la trace latente est déposée sur une cible métallique et qu'aucune technique de révélation n'a été utilisée au préalable. Néanmoins, ces résultats sont prometteurs, même s'ils ne peuvent être utilisés en cour.

2013 – MALDI IMS de traces latentes sur des surfaces non-conductrices après diverses techniques de révélation ¹²⁹.

Le développement de méthode s'effectue typiquement dans des conditions idéales. Par la suite, lorsque la méthode a démontré son efficacité, il est nécessaire d'évaluer la détection de la trace latente déposée sur différentes surfaces communément trouvées durant une enquête policière. De plus, puisque les traces latentes sont invisibles à l'œil nu, il est nécessaire d'évaluer la technique de révélation appropriée. Comme discuté précédemment, le choix du révélateur dépend du type de surface où la trace latente se trouve. Pour cette étude, Francese *et al.* ont clairement démontré la capacité de leur méthode pour les différents aspects discutés ci-dessus (Figure 1.4.7). C'est à partir de ce moment qu'ils ont pu entreprendre des collaborations avec les autorités britanniques pour la mise en place d'un protocole détaillé pour l'utilisation de la méthodologie après les techniques de révélation utilisés par les corps policiers ¹³⁰.

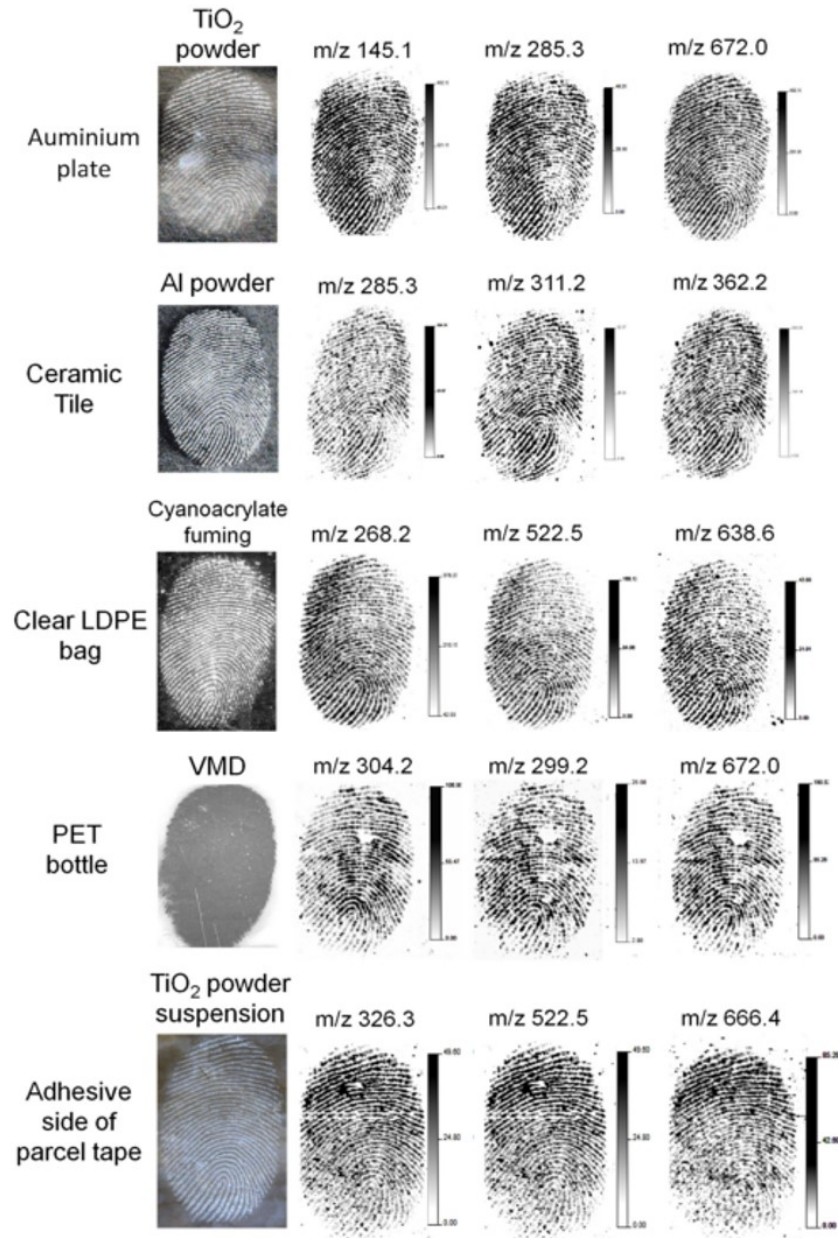


Figure 1.4.7 MALDI IMS de traces latentes sur diverses surfaces après révélation ¹²⁹.

2014 – Détection directe de sang dans une trace digitale visible ⁸⁴.

La détection de sang dans une trace visible permet aux enquêteurs de reconstruire la chronologie des évènements qui se sont produits à la scène de crime. Plusieurs méthodes ont été développées afin d'augmenter la visibilité de la trace ensanglantée, pour confirmer la présence ou non de sang et pour en déterminer la taxonomie (humaine ou animale).

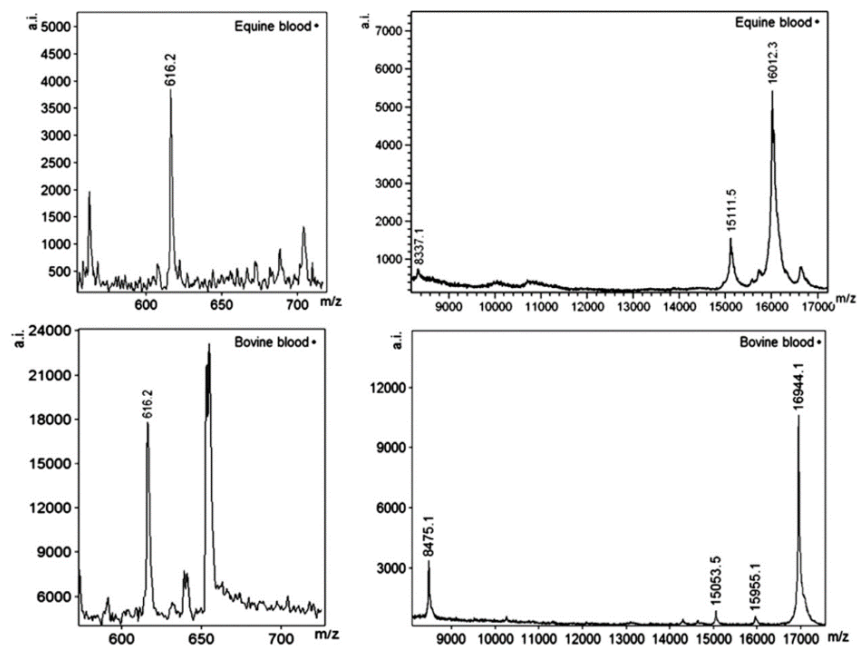


Figure 1.4.8 Différenciation de la taxonomie bovine et équine par MALDI MS du sang ⁸⁴.

L'utilisation de la matrice CHCA permet de détecter et d'imager par IMS l'hème présent dans l'hémoglobine, ainsi que la protéine hémoglobine. La détection de l'hémoglobine permet d'établir l'origine du sang par la spécificité de son poids moléculaire, car sa structure diffère légèrement d'une espèce à l'autre (Figure 1.4.8). Donc, cette méthode est dite confirmative, plutôt que présomptive, et elle peut être utilisée après la révélation au noir de naphtalène, « *amido black* », un révélateur très utilisé par les techniciens en identification criminelle.

2015 – Détection de stupéfiants et de leurs métabolites dans une trace latente ⁷⁵.

Comme mentionné précédemment, la détection de stupéfiants et de leurs métabolites dans une trace latente peut contribuer à l'apport d'informations circonstanciées dans une enquête policière. La détection directe de ces substances permet de prédire un contact avec le stupéfiant et les métabolites permettent de confirmer leur consommation. Cet article présente une étude exhaustive réalisée sur la détection de 17 substances (stupéfiants et métabolites inclus), et de l'impact de diverses techniques de révélation sur leur détection.

En général, la méthode possède une bonne sensibilité pour l'ensemble des stupéfiants et de leurs métabolites. Cependant, il a été démontré que l'ajout de certains révélateurs peut grandement diminuer la sensibilité de la technique.

Dans l'ensemble, les recherches présentées par les professeurs Ifa et Francese ont suscité un grand intérêt dans l'exploration de techniques alternatives permettant l'apport d'informations supplémentaires à une enquête policière. Depuis 2008, plusieurs idées de recherche ont été explorées, différentes techniques ont été développées, présentant diverses forces et faiblesses qui leurs sont propres.

Dans le but d'effectuer l'analyse de traces latentes par IMS ici au Québec, une méthode alternative doit être développée, entre autres causée par l'absence d'un instrument de configuration MALDI-Q-TOF dans la province. Comme mentionné ci-dessus, ces instruments n'ont pas besoin d'échantillons conducteurs pour la réalisation de mesures par IMS, contrairement aux systèmes MALDI-TOF MS. Au Québec, plus précisément à Montréal, plusieurs systèmes MALDI-TOF MS sont disponibles pour réaliser des mesures par IMS. Il serait donc intéressant de développer une méthode qui permettrait de pouvoir utiliser ce type d'instrument pour l'analyse de traces latentes à partir de surfaces non-conductrices. L'option d'acheter un instrument de type MALDI-Q-TOF ne pourrait actuellement être envisagée par les différents corps policiers de la province.

1.5 Objectifs de recherche

Le premier objectif de recherche est d'évaluer les diverses méthodes MALDI-TOF et LDI-TOF IMS permettant la détection et l'imagerie d'une trace latente. La matrice ou le métal utilisé, ainsi que le mode de déposition sont des étapes critiques pour la détection et l'imagerie MS. Due à la fragilité de la trace latente, diverses méthodes de déposition dites « sans solvant », telles que la sublimation de matrice MALDI et la déposition d'argent par pulvérisation, seront testées pour l'IMS. Les protocoles expérimentaux des diverses méthodes sont présentés en annexe I. Le potentiel de chaque méthode sera évalué en fonction du nombre de composés

observés, l'intensité du signal, du bruit de fond et des avantages pour l'analyse de traces latentes sur le plan pratique.

Le deuxième objectif de recherche a pour but d'évaluer la capacité de l'AgLDI-TOF IMS à être implémentée en complément des procédures d'analyse de traces latentes employées par la Sûreté du Québec. Pour ce faire, deux critères doivent être évalués : l'analyse IMS de traces latentes sur diverses surfaces communément trouvées durant une enquête policière et la performance de l'analyse IMS après l'utilisation des diverses techniques de révélation des traces latentes.

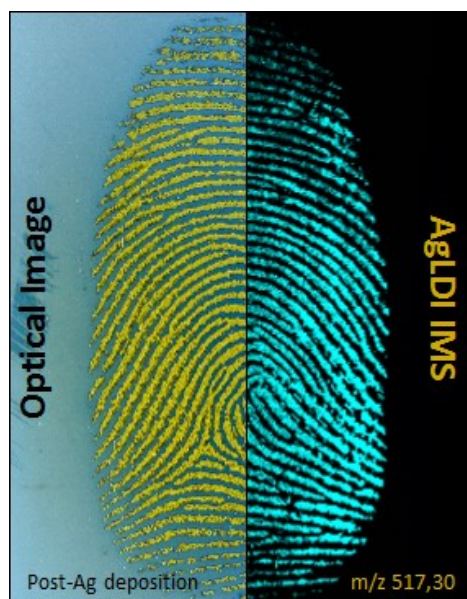
En premier lieu, durant le développement d'une méthode pour l'analyse IMS, les traces latentes sont déposées dans des conditions contrôlées, c'est-à-dire sur des lames recouvertes d'une mince couche conductrice à base d'ITO. En revanche, durant une enquête criminelle, les traces latentes sont généralement trouvées sur une variété de surfaces non-conductrices. En utilisant la méthode de pulvérisation d'argent métallique, la surface contenant la trace latente devient conductrice, ce qui permet alors une analyse directe par LDI-TOF MS. En second lieu, la trace latente, invisible à l'œil nu, doit être révélée par des techniques de révélation forensique usuelles afin d'être localisée. Selon le type de trace latente, le type de surface et sa couleur, diverses techniques de révélation peuvent être utilisées par les techniciens en identification criminelle. L'utilisation de ces techniques chimiques ou physiques peut cependant interférer avec les analyses MS.

Dans le but d'évaluer le potentiel de l'AgLDI IMS, des traces latentes seront déposées sur diverses surfaces non-conductrices, incluant le papier, le carton plastifié, le plastique et prélevées par du ruban adhésif. Par la suite, les traces seront révélées par la Sûreté du Québec en utilisant des techniques adaptées à chaque type de surface, pour finalement être analysées par AgLDI IMS.

Le troisième objectif de recherche vise à détecter par AgLDI IMS diverses substances exogènes contenues dans les traces latentes ou visibles pouvant contribuer à une enquête criminelle par l'apport d'informations circonstanciées.

En premier lieu, la spécificité d'une signature moléculaire reliée à un individu sera évaluée en se basant sur la détection de certaines substances exogènes en lien avec son mode de vie, c'est-à-dire par l'usage de divers produits cosmétiques et d'hygiène personnelle. Par la suite, le potentiel de détection dans les traces latentes de stupéfiants communément trouvées durant une enquête criminelle, incluant le THC, la cocaïne et l'héroïne, sera évalué sur diverses surfaces non-conductrices. Finalement, en collaboration avec le SPVM, la détection de sang dans une trace visible sera évaluée après différentes techniques de révélation usuelles, telles que le traitement par l'IND-Zn, le noir de naphthalène et le LCV, sur diverses surfaces non-conductrices.

Chapitre 2. Development of laser desorption imaging mass spectrometry methods to investigate the molecular composition of latent fingerprints



Published in:

J. Am. Soc. Mass Spectrom. **2015**, 26(6), 878-886.

Nidia Lauzon¹, Martin Dufresne¹, Vinita Chauhan² and Pierre Chaurand¹

¹ Department of Chemistry, Université de Montréal, Montreal, QC, Canada

² Health Canada, Ottawa, ON, Canada

2.1 Résumé du Chapitre 2

Cet article a pour but d'évaluer les diverses méthodes MALDI-TOF et LDI-TOF IMS permettant la détection et l'imagerie d'une trace latente. Il a été observé que la déposition de matrice par nébulisation crée une délocalisation des molécules sur les crêtes de la trace latente, diminuant ainsi la résolution de l'image obtenue par IMS. En revanche, en utilisant le mode de déposition de matrice par sublimation suivie par une recristallisation, aucune délocalisation n'a été observée. En comparant les diverses matrices par sublimation, le 2-MBT a démontré une bonne performance en termes de substances détectées et de la faible intensité du signal de bruit de fond. Pour sa part, la déposition par pulvérisation d'argent métallique a démontré une grande capacité à détecter plusieurs substances endogènes et exogènes dans la trace latente par IMS. La spécificité de la méthode pour les molécules contenant une ou plusieurs oléfines permet de diminuer considérablement le signal du bruit de fond. De plus, la présence des adduits d'argent permet l'étalonnage interne des spectres MS, améliorant la précision en masse pour une meilleure identification des ions détectés. D'autant plus que sa déposition permet d'atteindre une résolution spatiale jusqu'à 10 μm , permettant de visualiser les détails de niveau 2 dans l'empreinte digitale pour l'identification de l'individu. Le plus grand avantage de la déposition d'argent métallique est l'apport d'une bonne conductivité électrique à l'échantillon pour l'analyse par LDI-TOF IMS. À la fin de ce chapitre, nous explorons le potentiel de l'AgLDI-TOF IMS d'analyser une trace latente présente sur une surface non-conductrice, le papier. En effet, les traces trouvées sur une scène de crime sont souvent localisées sur diverses surfaces non-conductrices et l'opportunité de détecter et d'imager une trace latente sur ce type de surface est très intéressante.

Contribution des auteurs :

Nidia Lauzon a contribué à l'élaboration et la réalisation de l'ensemble des expériences, ainsi qu'à la rédaction du manuscrit.

Martin Dufresne a aidé au développement de la méthode AgLDI IMS pour l'analyse de traces latentes.

Vinita Chauhan est à l'origine du projet d'analyse de la composition moléculaire de traces latentes par IMS. Elle a participé à la rédaction et la correction du manuscrit.

Pierre Chaurand a contribué à l'élaboration des expériences, à la rédaction et la correction du manuscrit.

2.2 Abstract

For a century, fingerprint analysis has been one of the most important and common methods in forensic investigations. Modern chemical analysis technologies have added the potential to determine the molecular composition of fingerprints and possibly identify chemicals a suspect may have come into contact with. Improvements in analytical detection of the molecular composition of fingerprints is therefore of great importance. In this regard, matrix-assisted laser desorption ionization (MALDI) and laser desorption ionization (LDI) imaging mass spectrometry (IMS) have proven to be useful technologies for fingerprint analysis. In these analyses, the choice of ionizing agent and its mode of deposition are critical steps for the identification of molecular markers. Here we propose two novel and complementary IMS approaches for endogenous and exogenous substance detection in fingerprints: sublimation of 2-MBT matrix and silver sputtering.

2.3 Introduction

Fingerprint evidence is one of the most common methods of biometric identification. There are a variety of techniques for the visualization of latent fingerprints on porous (paper, cotton, wood), semi-porous (plastic, waxy surfaces) and non-porous (glass, metal) surfaces, including powder methods ¹³¹, chemical methods (ninhydrin, DFO) ¹³², spectroscopic imaging approaches (FTIR, Raman) ^{68, 133} and nanotechnology-based technologies ¹³⁴. Interestingly, the molecular composition of a latent fingerprint can lead to additional forensic evidence and may assist law enforcers in the case of fingerprint matching process failure. ^{83, 125}. The detection of latent fingerprints is a considerably challenging analytical problem. Fingerprints are complex composed of a mixture of contaminants derived from the environment, secretion of metabolites from external uptake and natural secretions from the body including proteins, peptides, amino acids, vitamins, salts, fatty acids, wax esters, diglycerides (DAG), triglycerides (TAG), cholesterol, squalene and more ^{1, 30, 82}. Further, latent fingerprint deposits behave differently on different substrate types. In this regard, mass spectrometry (MS) has proven to be a useful technology to monitor the molecular

composition of fingermarks. Much of the prior research for the detection and identification of endogenous substances in fingermarks has been carried out using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Despite the fact that this technique is destructive and limited to a small class of compounds (<500 Da), it allows the detection of endogenous substances, such as amino acids, fatty acids, wax esters, squalene and cholesterol, as well as the detection of some exogenous substances coming from like hair product, perfume residue, cosmetics and skin lotion ^{34, 39-41, 43, 135}. Since, many non-destructive MS techniques have been developed for the detection of endogenous and exogenous substances from fingermarks. As an example, desorption electrospray ionization (DESI) MS has been successfully applied to several exogenous substances and external uptake detection ¹³⁶. Surface-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (SALDI-TOF) MS has been carried out for the detection of some fatty acids, dehydrated cholesterol, squalene, as well as the identification of explosives, drugs and nicotine residues ^{77, 79, 82}. More recently, matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI) TOF MS has been reported for the detection of endogenous substances, such as amino acids, fatty acids, peptides, dehydrated cholesterol, squalene, DAGs and TAGs, as well as surfactants, polymers, drugs, pharmaceuticals and explosives ^{78, 81, 130}.

Imaging mass spectrometry (IMS) ¹³⁷⁻¹³⁹ is particularly well suited to investigate fingermarks because it combines suspect identification by visualizing the ridge pattern defined by the molecular images, and the chemical composition for further forensic evidence. Despite proven capabilities in fingermark analysis, for the detection and mapping of endogenous and exogenous markers, MALDI IMS critically relies on the nature of the matrix and its mode of deposition that may need tailoring to the chemistry of the interested species. In this regard, extensive researches have been performed to improve the analytical detection for numerous samples by minimizing the analyte delocalization, to improve the sensitivity and the imaging spatial resolution. The first application of IMS has been reported by Ifa *et al.* for the detection of drugs of abuse and explosives on latent fingermark by DESI ¹²⁵. MALDI IMS introduced by Francese *et al.* has also proven to be a powerful tool for fingermark analysis. Initially, fingermark IMS has been performed by depositing the MALDI matrix, α -cyano-4-hydroxycinnamic acid (CHCA) by spray-coating ¹¹⁶. This procedure allows both

visual and chemical information to be obtained in one analysis. Subsequently, the search for more efficient protocols for matrix deposition has resulted in the development of a novel two-step procedure, named "*dry-wet*" which consist of dusting the MALDI matrix CHCA onto the fingerprint followed by solvent spray deposition ¹²⁶. This method has proven to be more efficient on fingerprints by improving the imaging spatial resolution and increasing the ion abundance and intensity. Moreover, they demonstrated the versatility and the robustness of fingerprint IMS methods for different forensic situations contributing to additional evidences ¹²⁹, including the determination of the presence of blood for criminal investigation ⁸⁴.

In this paper, we demonstrate the potential of two novel MALDI and LDI based imaging methods for the detection of endogenous and exogenous substances from fingerprints. Recently, matrix sublimation has demonstrated to be a powerful approach for very homogeneous matrix deposition that allows for the detection and IMS of small molecules and proteins with high sensitivity and high-spatial resolution ^{118, 119, 140}. In the first approach proposed herein, we provide an alternative to the "*dry-wet*" method using sublimation for homogeneous matrix deposition followed by automated solvent spray deposition. To this end, we screened several matrix candidates and found that 2-MBT offered similar and complementary results to this method. In the second approach, we tested the potential of silver-assisted laser desorption/ionization (AgLDI) for IMS of fingerprints. Previous research has demonstrated the potential of metal sputtering such as gold for the detection of deprotonated fatty acids and hazardous substrates ¹⁴¹ and the use of silver nanoparticles for the detection of exogenous drug compounds ¹⁴² from fingerprints. AgLDI IMS was recently proposed by our laboratory and allows the imaging of cholesterol, fatty acids and other olefin-containing molecules from thinly cut tissue sections with high specificity and sensitivity ⁹⁹. Surprisingly, AgLDI has demonstrated to be a powerful tool for fingerprint analysis. The deposition of metallic silver by sputtering on fingerprint allows high-resolution IMS and higher sensitivity of several class of biomolecules and some exogenous substances. Ultimately, we found that both approaches provide complementary results that could significantly contribute to forensic investigations.

2.4 Experimental

2.4.1 Chemicals and Materials

1,5-diaminonaphtalene (DAN), 2,5-dihydroxybenzoic acid (DHB), α -cyano-4-hydroxycinnamic acid (CHCA), 2',4',6'-trihydroxyacetophenone (THAP), 2-mercaptobenzothiazole (2-MBT), L-amino acids kit, squalene, dimethyldioctadecylammonium bromide, oleic acid, stearic acid, 1,2-dioleoyl-sn-glycerol, trifluoroacetic acid (TFA) and liquid chromatography grade solvents were purchased from Sigma-Aldrich (St-Louis, MO, U.S.A.). 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphate was purchased from Avanti Polar Lipids (Alabaster, AL, U.S.A.). 1-palmitoyl-2-oleoyl-3-linoleoyl-rac-glycerol was purchased from Cayman Chemical (Orlando, FL, U.S.A.). 9-aminoacridine (9-AA) was purchased from Acros Organics (Morris Plains, NJ). Ethanol (EtOH) was purchased from Greenfield Ethanol Inc. (Boucherville, QC). Double sided carbon conductive tape was purchased from Ted Pella, Inc. (Redding, CA).

2.4.2 Fingerprint preparation

The slides were washed in acetone to ensure complete cleanest prior to fingerprint deposition. Latent groomed and ungroomed fingerprints were prepared on ITO coated slides (Delta Technologies, Loveland, CO) according to published preparation methods¹¹⁶. The same procedure was followed for fingerprint deposition on sheets of paper. Fingerprints were obtained in a de-identified manner. All procedures were approved by the Health Canada Research Ethics Board and comply with the Ethical Principles set out in Tri-Council Policy Statement: Ethical Conduct for Research Involving Humans guidelines.

2.4.3 Matrix deposition

Solvent-free matrix deposition on fingerprints was carried out in a sublimation apparatus (Chemglass Life Science, Vineland, NJ) as previously described¹¹⁸. The temperature and the time of sublimation were optimized for each matrix to ensure the best coverage and MALDI efficiency (number of signals detected and signal-to-noise ratio). To enhance MS signals, recrystallization of the matrix was performed by spraying the surface with a solution of

70:30 EtOH:water at 30°C using a TM-Sprayer (HTX LC-Transform). Ten passes of solvent over the surface of fingerprints were deposited on the sublimated 2-MBT matrix with a lateral travel velocity and flow rate of 1.2 m/min and 13.5 mL/min, respectively. Each solvent pass was separated by 5 mm and for every even numbered pass an offset of 2.5 mm was applied leading to a homogenous solvent layer deposition. Recrystallization of the sublimated matrix CHCA and DHB have also been performed by spraying the surface with a solution of 70:30 ACN:water and 70:30 MeOH:water at 30°C respectively using the same instrument parameters.

Matrix was also deposited on fingerprints using the ImagePrep spray system (Bruker Daltonics) starting from the default CHCA method and optimized for each matrix studied. 2-MBT was prepared at a concentration of 20 mg/mL in 70:30 EtOH: water, CHCA was prepared at 7 mg/mL in 50:50 acetonitrile:water, DAN was prepared at 5 mg/mL in 70:30 EtOH:water, DHB was prepared at 25 mg/mL and THAP at 10 mg/mL, both in 50:50 MeOH:water. Finally, 9-AA was prepared at 10 mg/mL in 50:50 EtOH:water. For fingerprints analyzed in positive ionization mode, 0.1 % of TFA was added to the matrix solution.

2.4.4 Silver sputter Coating

Metallic silver was sputtered on top of fingerprints using a Cressington 308R sputter coater (Ted Pella, Inc. Redding, CA) as previously described⁹⁹. For optimal results, the deposited silver layer thickness was optimized at 14±2 nm corresponding to 30 seconds of deposition.

2.4.5 IMS of fingerprints on paper

Double-sided carbon conductive (DSCC) tape was first applied to a glass slide (Suppl. Fig. 2.8). The piece of paper containing the fingerprint was then mounted on the tape using an aluminum sheet to press down on the piece of paper to minimize alteration of the fingerprint. Subsequent silver deposition was performed as described above.

2.4.6 Mass Spectrometry Instrumentation

Profiling and IMS of fingerprints were performed on either a MALDI TOF/TOF Ultraflex extreme mass spectrometer or a MALDI FT-ICR Solarix XR 7T mass spectrometer both

equipped with SmartBeam II Nd:YAG 355 nm lasers operating at 1000 Hz or at 250 Hz for porous surface analyses (Bruker Daltonics, Billerica, MA). For IMS data acquisition, 200 shots were summed per array position with a lateral resolution of 75 μm using the "medium" focus setting or with a lateral resolution of 10 μm using the "minimum" focus setting. Using these parameters, we achieved imaging speeds of ~ 70 pixels/min. For a whole fingermark at 75 μm of spatial resolution, IMS acquisition required approximately 5 hours. Profiling and IMS data from the Ultraflex extreme were performed in reflectron geometry under optimized delayed extraction conditions with a source accelerating voltage of +25 kV, in a mass range of 100-1100 Da. For MALDI IMS, external calibration was performed using a homemade mix of standards (lysine, stearic acid, 1,2-dioleoyl-*sn*-glycerol and 1-palmitoyl-2-oleoyl-3-linoleoyl-*rac*-glycerol). Subsequently, internal calibration was performed with known species including $[M+H]^+$ and $[2M+H]^+$ matrix signals (m/z 168.00 and m/z 332.96 respectively) and the $[M]^+$ DTDMAC ion at m/z 550.63 (see below). For AgLDI IMS, internal calibration was carried out in quadratic mode using the silver clusters (Ag_2 to Ag_9 , see Figure 2.5.4) present in all the spectra. IMS data were reconstructed and visualized without normalization using the FlexImaging 3.0 software (Bruker Daltonics). Lipid identification was performed by MALDI/AgLDI tandem MS on the Ultraflex extreme mass spectrometer in combination with the LIPID MAPS prediction tool by comparing accurate mass measurements (www.lipidmaps.org/tools/index.html).

2.5 Results and Discussion

2.5.1 Evaluation of matrix candidates for sublimation and IMS

Initial sample preparation tests were performed with several MALDI matrices using two different modes of deposition; direct matrix spray coating (Image Prep system) or sublimation followed by solvent spray deposition. The solvent system employed in matrix spray coating enables a better co-crystallization of some analytes, enhancing their signal. However, depending on the matrix and solvent used, we found that this mode of deposition produces some analyte delocalization, which in many cases prevented the proper

visualization of the fingerprint motif (Suppl. Fig. 2.3). Similar comparisons between the “dry-wet” method and spray coating were performed leading to the conclusion that the initial dry deposition on fingermarks allowed higher ion signal intensity and enhanced clarity of the ridge details ¹²⁷. Sublimation is an interesting approach for matrix deposition on fingermarks because of its high reproducibility, the absence of analyte delocalization and capability to detect numerous small molecules by MALDI IMS. Six MALDI matrices that were previously investigated by sublimation for lipid IMS analyses from tissue sections were tested on latent fingermarks ¹²⁰. IMS analyses were performed in positive and negative ionization modes. As shown in Table 2.1, for each matrix tested, the sublimation time and temperature were optimized to obtain the best MS signals. Their performance was evaluated using the following analytical criteria: 1) MS signal quality: intensity and number of compounds detected based on existing literature for fingerprint analysis, 2) uniformity and crystal size for optimal IMS spatial resolution (Suppl. Fig. 2.4), and 3) number of background signals.

Table 2.1. Potential and experiment settings of investigated matrices for imaging the molecular composition of latent fingermarks after sublimation deposition.

matrix	positive polarity α	negative polarity α	sublimation temperature (°C)	sublimation time (min)	deposited amount ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) ^{β}
CHCA	***	*	180	5.0	200
DAN	*	*	140	4.0	220
DHB	**	*	180	4.0	220
2-MBT	****	*	180	3.5	200
THAP	*	*	150	2.0	180
9-AA	*	*	180	7.0	180

^{α} The number of stars indicates the observed performance of the matrix according to the polarity with *, **, ***, **** representing low, medium, high and very high performances respectively. ^{β} The deposited amount was calculated by subtracting the weight of the ITO slide containing the fingerprint after the sublimation from the weight before, divided by the covered area.

Overall, 2-MBT showed the best performance and reproducibility for fingerprint IMS analysis in positive ionization mode, when considering the sum of MS signals observed from fingerprints and the intensity of background signals (Suppl. Fig. 2.5-2.6). More importantly, its sublimation on latent fingerprints allows the detection of numerous exogenous and endogenous substances, possibly making 2-MBT a valuable matrix for forensic screening (Figure 2.5.1). For example, the ions detected at m/z 494.6, 522.6 and 550.6 have previously been identified as a ditallowdimethylammonium ions (DTDMAC) and originate from personal care and domestic products ¹⁴³. In previous publication, polymer analysis by MALDI MS has been performed on fingerprints using dithranol, instead of CHCA, allowing a better detection efficiency ⁷⁶. Polymeric substances such as polyethylene glycol (PEG) and polypropylene glycol (PPG) can also be easily observed on groomed fingerprints using the matrix 2-MBT and often originate from hand lotions and other beauty products (Figure 2.5.1). For endogenous substance detection, previous studies have demonstrated the efficiency of 2-MBT as a MALDI matrix for tissue analysis of lipids after application by spray deposition ¹⁴⁴. Its deposition by sublimation on fingerprints allows the detection of amino acids, sodiated wax esters, diglycerides (DAGs), triglycerides (TAGs) and some fatty acids, such as oleic and stearic acids (Suppl. Tab. 2.1). Figure 2.5.2 shows IMS results of the most abundant exogenous and endogenous substances detected in fingerprints. With data acquisition at a spatial resolution of 75 μm , the fingerprint ridge pattern is clearly visible when comparing the relative intensities of the displayed ions and is more clearly observed when looking at the TIC image (sum of signal intensities between m/z 300 and 1100).

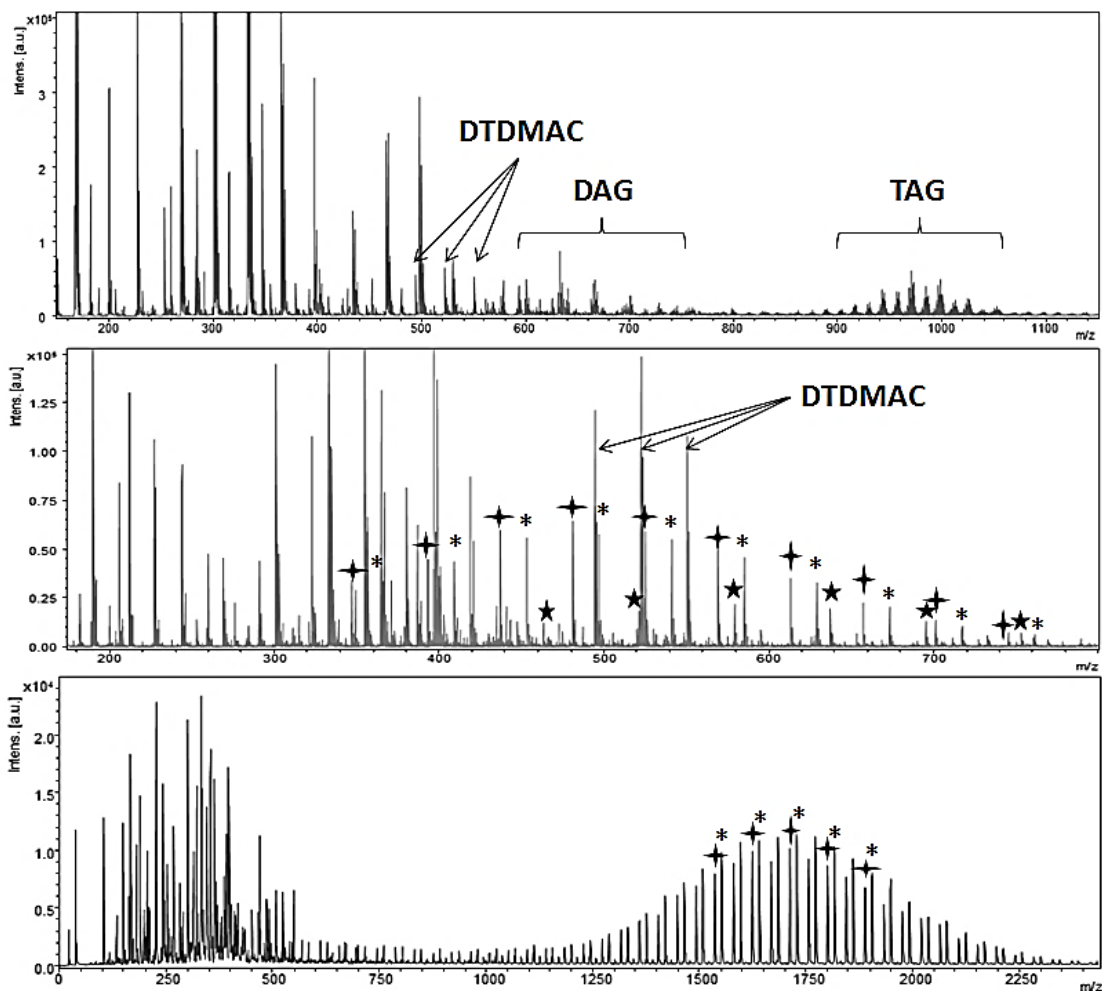


Figure 2.5.1 Typical MALDI-TOF mass spectra acquired after 2-MBT deposition by sublimation on ungroomed fingermarks in the positive ionization mode. Numerous endogenous compounds such as DAGs and TAGs can be observed along with exogenous compounds such as DTDMAC. In some cases, polypropylene glycol (PPG) differing by 58 mass units as potassium adducts (★) and polyethylene glycol (PEG) differing by 44 mass units for sodium (♣) and potassium (*) adducts respectively can be observed.

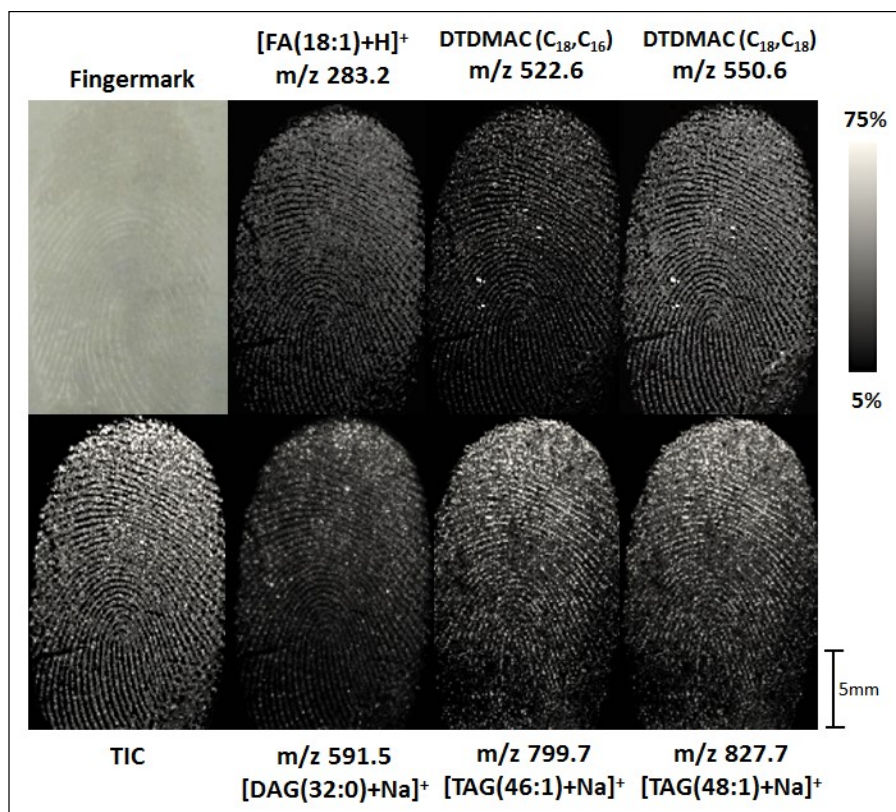


Figure 2.5.2 MALDI-TOF IMS analysis of a latent fingerprint acquired at 75 μm spatial resolution after 2-MBT matrix deposition by sublimation and recrystallization. Top left corner, photomicrograph of the fingerprint after matrix deposition. TIC (sum of all MS signal intensities between m/z 300 and 1100).

2.5.2 Fingerprint IMS after Silver Sputtering

Silver sputter deposition is a novel method developed for IMS that allows the specific detection of olefin-containing molecules observed as $[M+\text{Ag}]^+$ ions directly from tissue sections⁹⁹. Silver adducts are easily determined by the presence of the ^{107}Ag and ^{109}Ag isotopic pattern, with relative abundances of 52% and 48%, respectively. After silver layer deposition on fingerprints and analysis by LDI-TOF MS, numerous $[M+\text{Ag}]^+$ ions have been detected such as cholesterol, squalene, wax esters, fatty acids and TAGs (Suppl. Tab. 2.2). In addition, the presence of Na^+ and K^+ in fingerprint residues allow us to detect sodium and potassium adducts of DAGs and TAGs. Some exogenous substances were also observed including DTDMAC and polymeric substances, such as PEG (Suppl. Fig. 2.7).

Figure 2.5.3, A shows some endogenous and exogenous ion images acquired from a latent fingerprint by AgLDI-TOF IMS. The whole fingerprint was imaged again with a lateral resolution of 75 μm allowing a good definition of the fingerprint pattern. As expected, most of the compounds were detected from the ridge of the fingerprint. Silver sputter deposition, however, also allows IMS acquisition at high spatial resolution ⁹⁹. As demonstrated in Figure 2.5.3, B, a small area of a fingerprint was imaged at 10 μm of lateral resolution, revealing information such as the *minutiae* points, pores and ridge shape. The optical image after silver deposition is enough to provide this forensic information, but it is interesting to look at the molecular distribution of compounds such as oleic acid (OA) at m/z 391.2 and the [TAG(50:1)+Na]⁺ at m/z 855.7 with the latter displaying some correlation with the fingerprint pores.

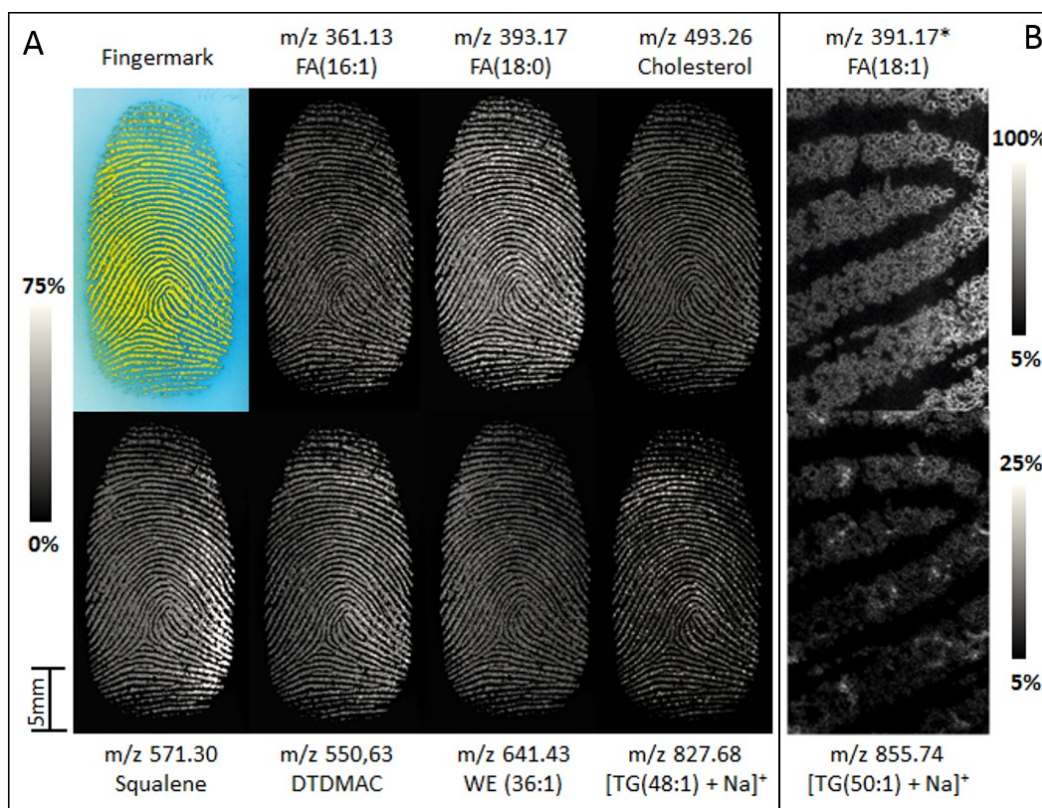


Figure 2.5.3 (A) AgLDI-TOF IMS of a latent fingerprint acquired at 75 μm spatial resolution. Top left corner, photomicrograph of the fingerprint after silver sputter deposition. (B) AgLDI-TOF IMS of a small area from a latent fingerprint acquired at 10 μm spatial resolution. (Top) Oleic acid [OA+¹⁰⁹Ag]⁺ at m/z 391.17 and (Bottom) [TAG(50:1)+Na]⁺ at m/z 855.74. *Composite image of both oleic acid [OA+¹⁰⁹Ag]⁺ and stearic acid [SA+¹⁰⁷Ag]⁺. Stearic acid (SA) is typically observed in much lower intensity than oleic acid in fingerprints.

Fingerprint IMS after silver sputter deposition was also performed using a MALDI FT-ICR mass spectrometer, providing higher mass resolving power and increased sensitivity compared to the TOF MS instrument. The high mass resolution scan provides an exact mass measurement for compound identification. As a result, the detection of even more endogenous compounds including fatty acids, wax esters, DAGs and TAGs was possible (Figure 2.5.4).

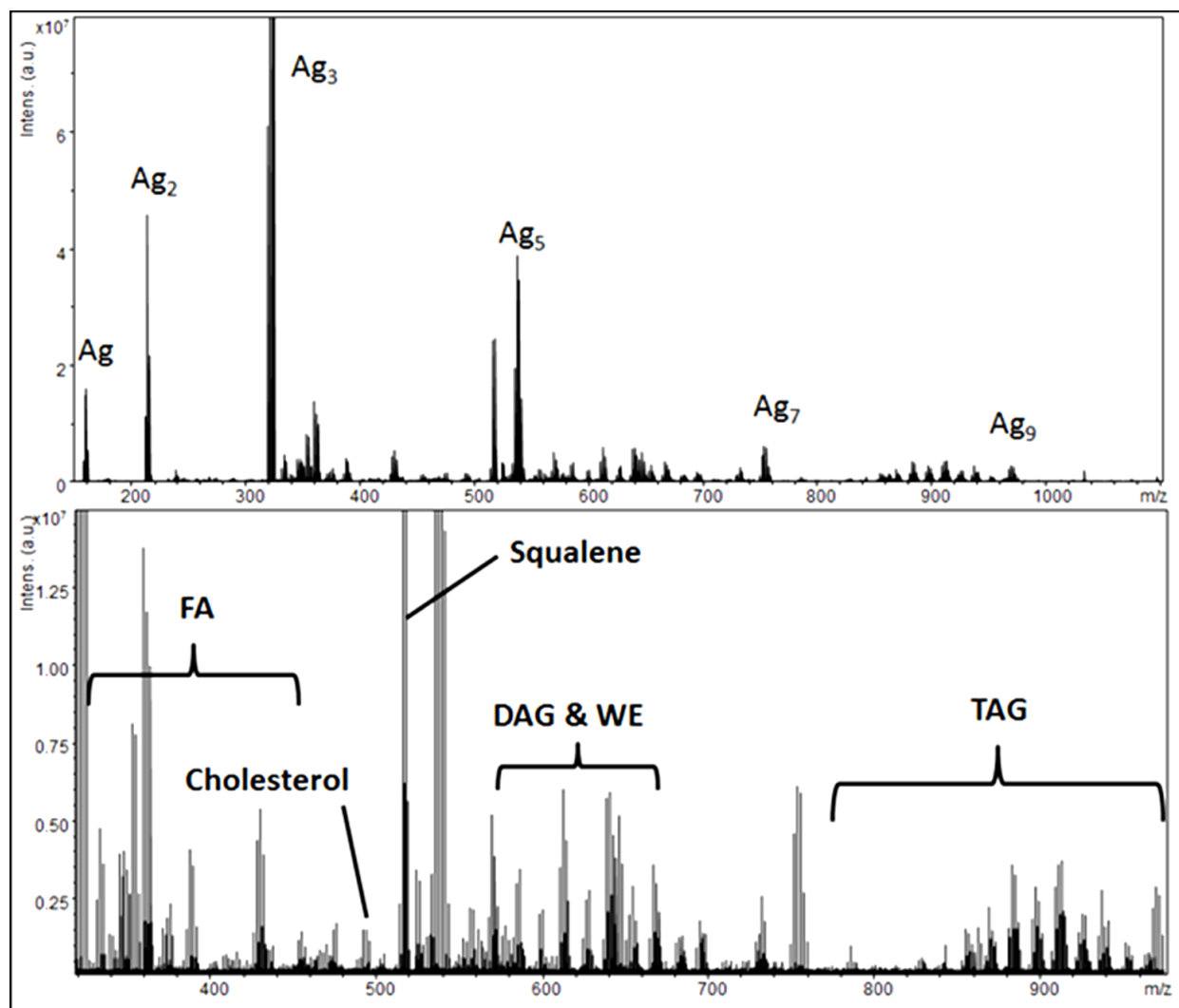


Figure 2.5.4 AgLDI FT-ICR MS spectrum acquired from a latent fingerprint. (Top) Full mass spectrum. (Bottom) Zoom and intensity expansion in the mass range from m/z 300 to 1000 to better visualize the fatty acid, wax ester (WE), DAGs and TAGs mass ranges.

Moreover, with the high sensitivity of the FT-ICR MS instrument, small fatty acids with odd numbers of carbons were also observed and imaged (Figure 2.5.5). Such species are likely to come from bacteria since the human body typically produces fatty acids with even numbers of carbons. It is also interesting to note that odd number fatty acids were predominately observed in the valley of the fingermarks. The fingerprint valleys being less prone to friction with respect to the ridges may create a better environment for bacterial proliferation. This observation opens the possibility of identifying pathogens or other biological agents carried or manipulated by suspects directly from fingermarks.

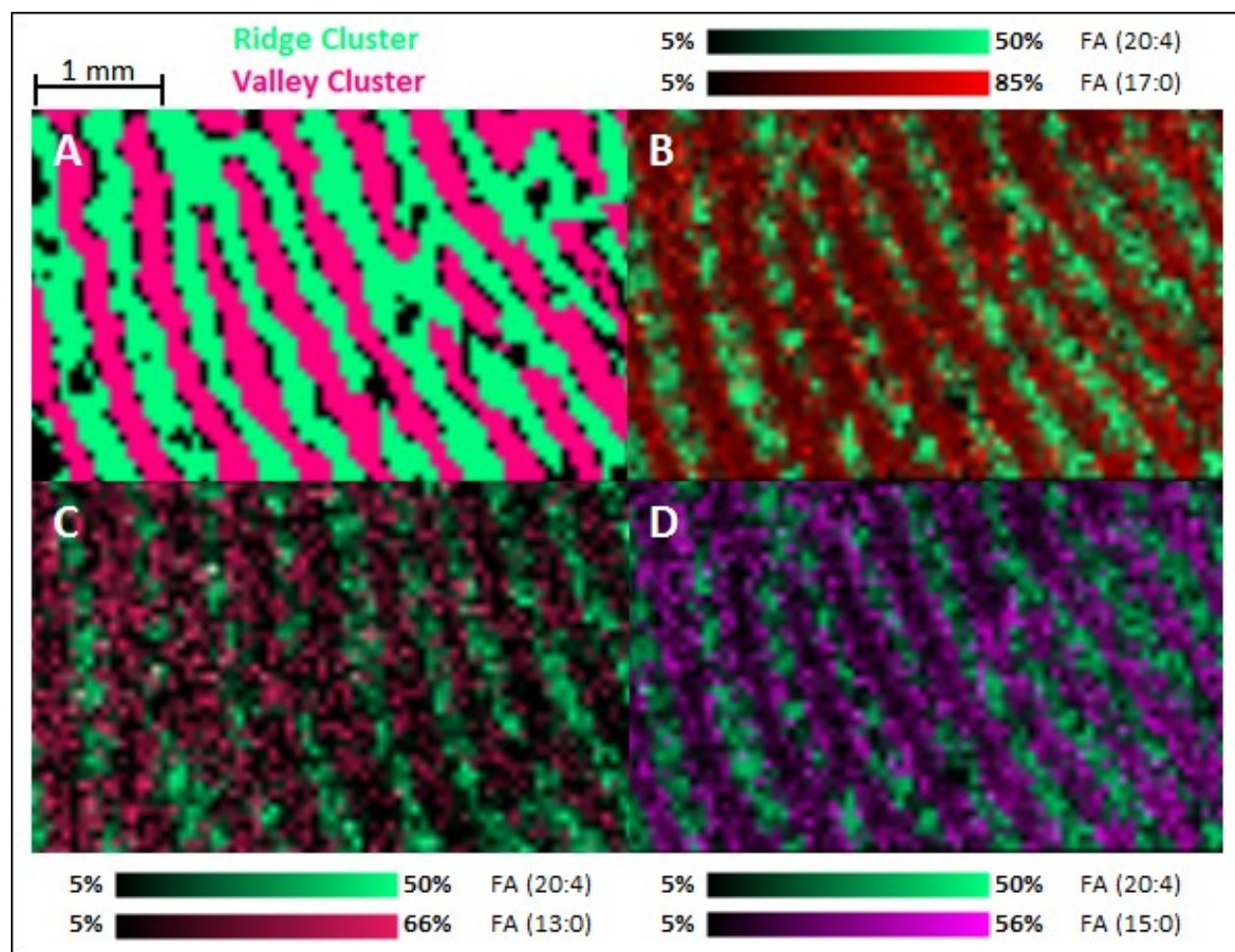


Figure 2.5.5 AgLDI-FTICR IMS of a latent fingerprint after silver deposition acquired at 75 μm spatial resolution. (A) Hierarchical clustering using ClinPro Tool (Bruker Daltonics). Composite images of the distribution of Arachidonic Acid [FA(20:4)+107Ag]⁺ with (B) Margaric Acid [FA(17:0)+107Ag]⁺, (C) Tridecylic Acid [FA(13:0)+107Ag]⁺ and (D) Pentadecylic Acid [FA(15:0)+107Ag]⁺.

Ideally, for IMS analyses the fingerprints are deposited under controlled conditions on (ITO-coated conductive) glass slides. However, in forensic investigations, fingerprints can potentially be found on a variety of nonconductive surfaces. By using layers of sputtered silver, the target surface is rendered conductive which then allows analyses of latent fingerprints made on nonconductive surfaces by TOF IMS. To demonstrate this potential, AgLDI IMS of fingerprints deposited on a sheet of paper was investigated. Interestingly, the fingerprint motif was clearly observed on the paper after silver deposition and numerous compounds such as squalene, wax esters, fatty acids, TAGs as well as polymeric substances were detected by IMS (Figure 2.5.6). However, many sample preparation issues remain for IMS of latent fingerprints on porous surfaces such as paper. First, the paper needs to be properly applied on the DSCC tape without damaging the fingerprint. Secondly, the ideal amount of silver deposited will vary depending on the amount of fingerprint residue on the surface. Nevertheless, this method opens the opportunity to use silver sputtering on many nonconductive surfaces, such as cardboard, plastic and to analyze lifted fingerprints directly from the tape.

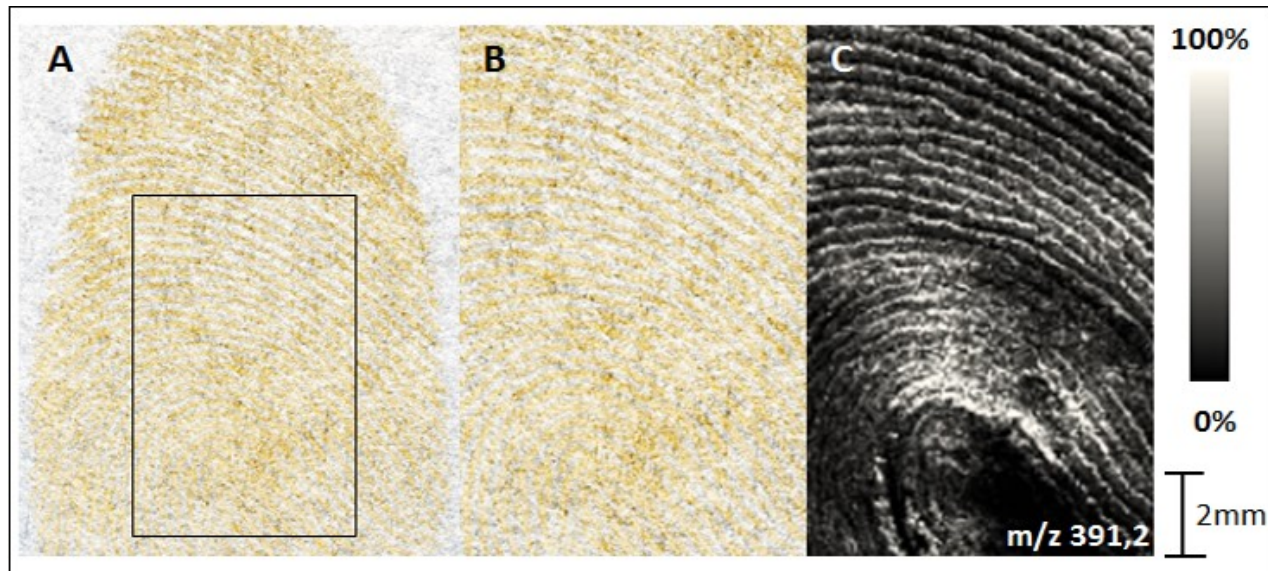


Figure 2.5.6 AgLDI-TOF IMS of a latent fingerprint on a piece of paper acquired at 75 μm spatial resolution. (A) and (B) Photomicrograph of the fingerprint after silver sputter deposition. The Box in panel A (enlarged in panel B) represents the area analyzed by IMS. (C) Ion image of oleic acid $[\text{OA}+^{109}\text{Ag}]^+$ at m/z 391.2.

2.6 Conclusions

We propose herein two novel and alternative means of preparation to investigate the molecular composition of fingerprints by IMS. The first approach is an extension of the “*dry-wet*” method proposed by the Francese laboratory where finely crushed dry matrix is manually deposited on the fingerprints using a specialized brush¹²⁶. Based on the matrix crystal size, such an approach may not achieve 100% surface coverage and may also be limiting when used to investigate lower abundance fingerprint residues¹²⁷. We however chose here to deposit the matrix by sublimation, since it allows controlled deposition of very homogeneous matrix coatings without analyte delocalization. Indeed, no direct contact is made with the fingerprint during the sublimation process. Automated solvent spray deposition is then performed to locally dissolve the matrix and allow sample co-crystallization. Several different matrices were tested and 2-MBT was found to be the most efficient matrix for IMS of exogenous (DTDMAC and polymers) and endogenous (some fatty acids, amino acids, sodiated wax esters and TAGs) substances from latent fingerprints. The second approach investigated is AgLDI IMS. In this case, a nanometer thin layer of silver is deposited on the fingerprints which allows the detection and imaging of numerous endogenous compounds such as cholesterol, squalene, wax esters, TAGs, fatty acids, as well as other exogenous substances. With AgLDI IMS, odd carbon number fatty acids presumably coming from skin bacteria were also detected and localized to the fingerprint valley. This opens the possibility to detect biological agents carried or manipulated by suspects directly from fingerprints. We also demonstrated that AgLDI IMS of fingerprints can also be performed on nonconductive surfaces such as paper. Ultimately, both IMS approaches give complementary information on the molecular composition of fingerprints, which could be of use in forensic science.

2.7 Acknowledgements

The authors would like to acknowledge Professor Jean-François Masson (Dept. of Chemistry, Université de Montréal) for giving us unlimited access to the silver sputter system. The authors would also like to acknowledge Bruker Daltonics (Billerica, MA) for giving us access to the FT-ICR MS instrument and Katherine Kellersberger for her help with profiling and IMS data acquisition. The authors also acknowledge funding from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC), and the Canadian Foundation for Innovation (CFI).

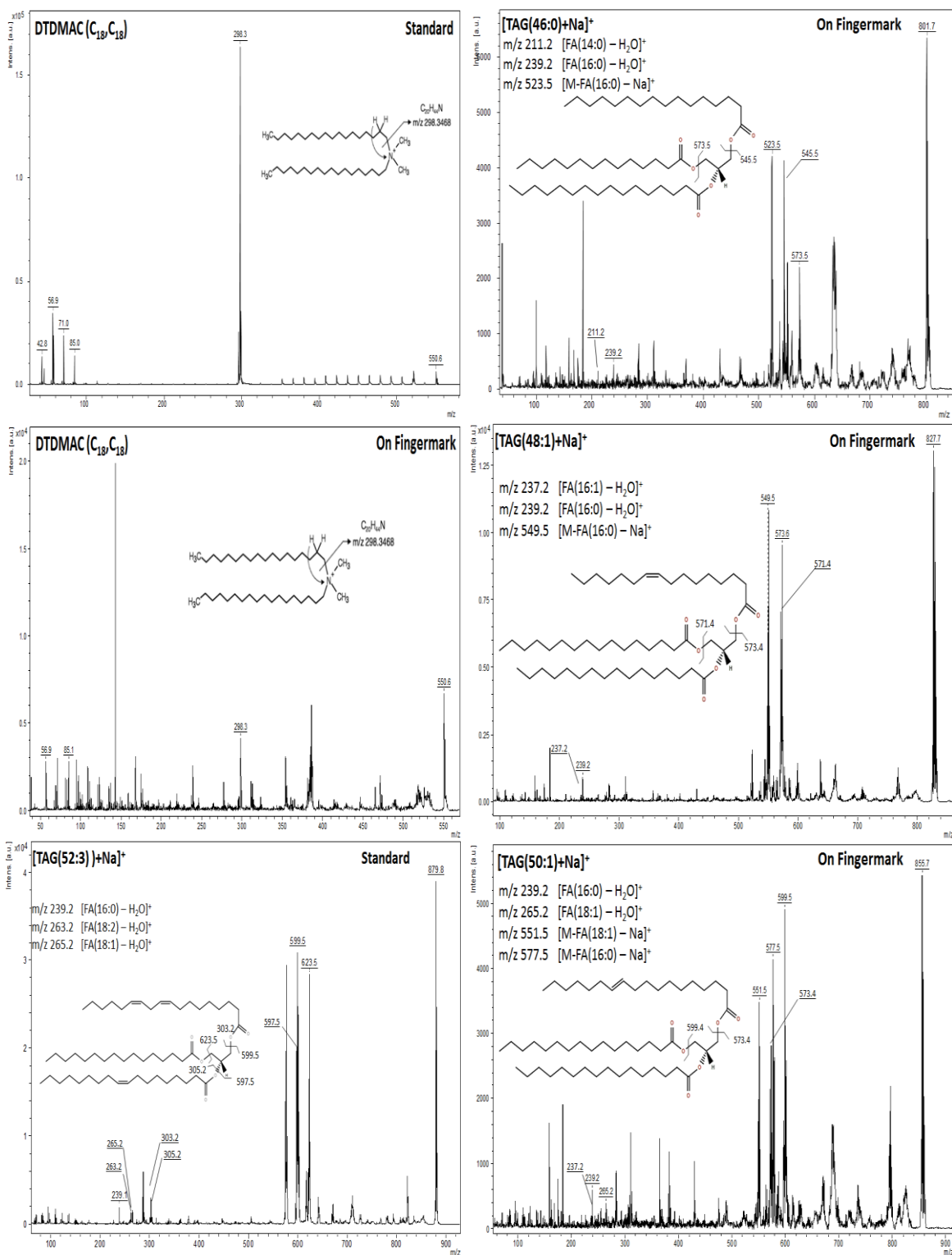
2.8 Supporting Informations

Suppl. Table 2.1. Compound identification from fingerprints after 2-MBT sublimation and recrystallization by MALDI-TOF and MALDI-FT-ICR MS. ^a MS/MS Spectra presented in Suppl. Figure 2.1.

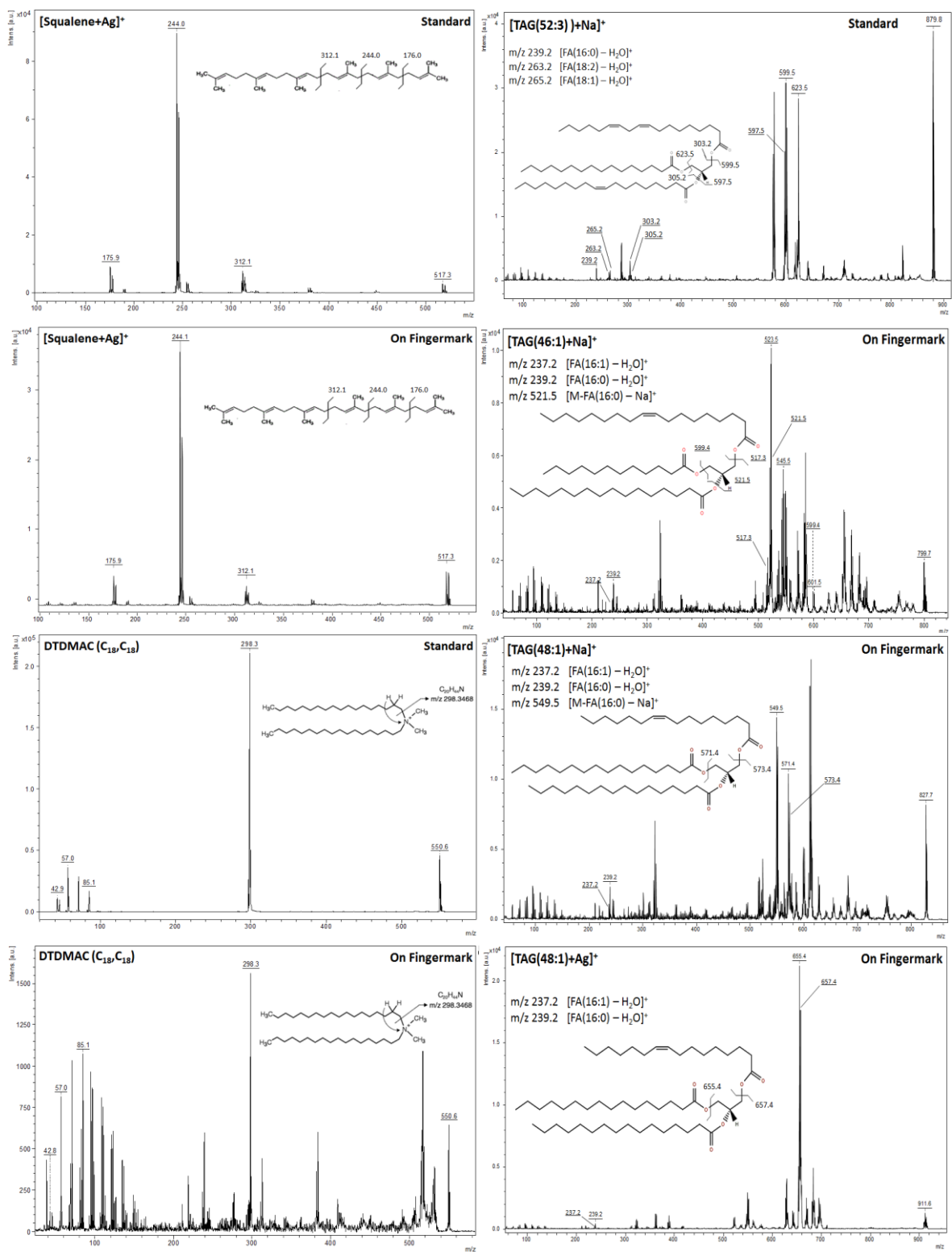
Name	Formula	Calculated m/z	MALDI-TOF		MALDI-ICR		MS/MS ^a	STD
			Measured m/z	Mass accuracy (ppm)	Measured m/z	Mass accuracy (ppm)		
Lysine	C ₆ H ₁₄ N ₂ O ₂	147,112804	147,115	-15	-	-		Y
Histidine	C ₆ H ₉ N ₃ O ₂	156,076753	156,079	-14	-	-		Y
Arginine	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	175,118952	175,121	-12	-	-		
Oleic acid	C ₁₈ H ₃₅ O ₂	283,263157	283,267	-14	283,26328	-0,4		Y
Stearic acid	C ₁₈ H ₃₇ O ₂	285,278807	285,281	-8	285,27895	-0,5		Y
DTDMAC (C ₁₆ ,C ₁₆)	C ₃₄ H ₇₂ N	494,565928	494,577	-22	494,56573	0,4		
WE (32:1)	C ₃₂ H ₆₂ O ₂ Na	501,464202	-	-	501,46343	2		
DTDMAC (C ₁₆ ,C ₁₈)	C ₃₆ H ₇₆ N	522,597228	522,603	-11	522,59689	1		
WE (34:2)	C ₃₄ H ₆₄ O ₂ Na	527,479852	-	-	527,47948	1		
WE (34:1)	C ₃₄ H ₆₆ O ₂ Na	529,495502	-	-	529,49509	1		
DTDMAC (C ₁₈ ,C ₁₈)	C ₃₈ H ₈₀ N	550,628528	550,629	-1	550,62839	0,3	Y	Y
WE (36:2)	C ₃₆ H ₇₀ O ₂ Na	555,511152	-	-	555,51118	-0,1		
WE (36:1)	C ₃₆ H ₇₀ O ₂ Na	557,526802	-	-	557,52640	1		
DAG (30:1)	C ₃₀ H ₆₂ O ₃ Na	561,448946	-	-	561,44837	1		
DAG (30:0)	C ₃₀ H ₆₄ O ₃ Na	563,464596	563,469	-8	563,46418	1		
DAG (32:2)	C ₃₂ H ₆₄ O ₃ Na	587,464596	587,462	4	587,46483	-0,4		
DAG (32:1)	C ₃₂ H ₆₆ O ₃ Na	589,480246	589,477	6	589,47981	1		
DAG (32:0)	C ₃₂ H ₆₈ O ₃ Na	591,495896	591,493	5	591,49600	-0,2		
DAG (34:2)	C ₃₄ H ₆₈ O ₃ Na	615,495896	615,491	8	615,49542	0,8		
DAG (34:1)	C ₃₄ H ₇₀ O ₃ Na	617,511546	617,508	6	617,51146	0,1		
DAG (34:0)	C ₃₄ H ₇₂ O ₃ Na	619,527196	619,517	16	619,52747	-0,4		
TAG (44:2)	C ₄₄ H ₈₆ O ₆ Na	769,633090	769,625	11	769,63126	2		
TAG (44:1)	C ₄₄ H ₈₈ O ₆ Na	771,648810	771,640	11	771,64710	2		
TAG (44:0)	C ₄₄ H ₉₀ O ₆ Na	773,664210	773,654	13	773,66246	2		
TAG (45:2)	C ₄₈ H ₈₈ O ₆ Na	783,647311	783,638	12	783,64690	1		
TAG (45:1)	C ₄₈ H ₉₀ O ₆ Na	785,664390	785,653	14	785,66275	2		
TAG (45:0)	C ₄₈ H ₉₂ O ₆ Na	787,679830	787,673	9	787,67813	2		
TAG (46:2)	C ₄₆ H ₉₀ O ₆ Na	797,662961	797,655	10	797,66279	0,2		
TAG (46:1)	C ₄₆ H ₉₂ O ₆ Na	799,680010	799,671	11	799,67813	2		
TAG (46:0)	C ₄₆ H ₉₄ O ₆ Na	801,695830	801,688	10	801,69406	2	Y	
TAG (47:2)	C ₅₀ H ₉₂ O ₆ Na	811,678611	811,673	7	811,67814	1		
TAG (47:1)	C ₅₀ H ₉₄ O ₆ Na	813,695960	813,686	12	813,69412	2		
TAG (47:0)	C ₅₀ H ₉₆ O ₆ Na	815,711510	815,707	6	815,70940	3		
TAG (48:2)	C ₅₁ H ₉₄ O ₆ Na	825,696030	825,689	9	825,69402	2		
TAG (48:1)	C ₅₁ H ₉₆ O ₆ Na	827,711590	827,705	8	827,70969	2	Y	
TAG (48:0)	C ₅₁ H ₉₈ O ₆ Na	829,727210	829,720	9	829,72522	2		
TAG (49:2)	C ₅₂ H ₉₆ O ₆ Na	839,711470	839,703	10	839,70974	2		
TAG (49:1)	C ₅₂ H ₉₈ O ₆ Na	841,727410	841,720	9	841,72531	2		
TAG (49:0)	C ₅₂ H ₁₀₀ O ₆ Na	843,741212	843,732	11	843,74094	0,3		
TAG (50:3)	C ₅₃ H ₉₆ O ₆ Na	851,711620	851,705	8	851,70968	2		
TAG (50:2)	C ₅₃ H ₉₈ O ₆ Na	853,727380	853,722	6	853,72512	3		
TAG (50:1)	C ₅₃ H ₁₀₀ O ₆ Na	855,743130	855,736	8	855,74117	2	Y	
TAG (50:0)	C ₅₃ H ₁₀₂ O ₆ Na	857,756862	857,751	7	857,75656	0,4		
TAG (51:3)	C ₅₄ H ₉₈ O ₆ Na	865,725562	865,720	6	865,72546	0,1		
TAG (51:2)	C ₅₄ H ₁₀₀ O ₆ Na	867,741212	867,734	8	867,74107	0,2		
TAG (51:1)	C ₅₄ H ₁₀₂ O ₆ Na	869,756862	869,752	6	869,75645	0,5		
TAG (51:0)	C ₅₄ H ₁₀₄ O ₆ Na	871,772512	871,765	9	871,77250	0,01		
TAG (52:3)	C ₅₅ H ₁₀₀ O ₆ Na	879,741212	879,738	4	879,74092	0,3		Y
TAG (52:2)	C ₅₅ H ₁₀₂ O ₆ Na	881,756862	881,749	9	881,75648	0,4		
TAG (52:1)	C ₅₅ H ₁₀₄ O ₆ Na	883,772512	883,768	5	883,77255	-0,04		

Suppl. Table 2.2. Compound identification from fingerprints after silver sputtering by LDI-TOF and LDI-FT-ICR MS. ^b MS/MS Spectra presented in Suppl. Figure 2.2.

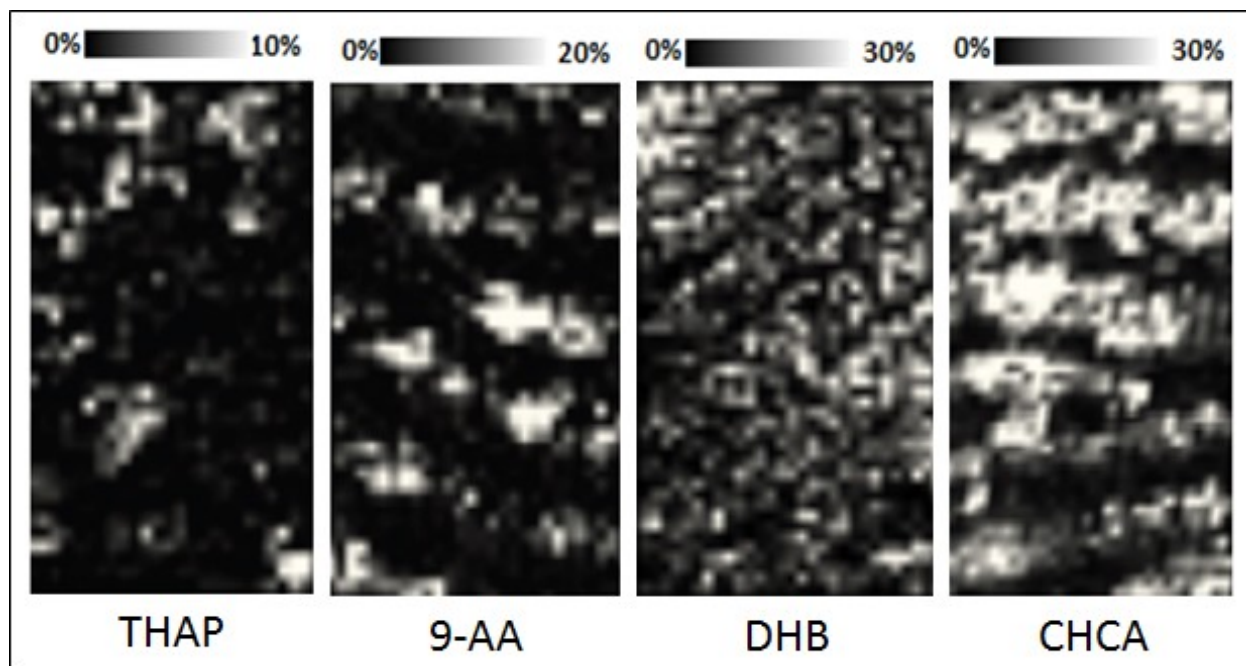
Name	Formula	Calculated m/z	LDI-TOF		LDI-ICR		MS/MS	STD
			Measured m/z	Mass accuracy (ppm)	Measured m/z	Mass accuracy (ppm)		
FA (13:1)	C ₁₃ H ₂₄ O ₂ Ag	319,082178	-	-	319,08293	2		
Tridecanoic acid (13:0)	C ₁₃ H ₂₄ O ₂ Ag	321,097828	-	-	321,09833	2		
FA (14:1)	C ₁₄ H ₂₆ O ₂ Ag	333,097828	-	-	333,09785	0,1		
Myristic acid (14:0)	C ₁₄ H ₂₆ O ₂ Ag	335,113479	-	-	335,11349	0,03		
FA (15:1)	C ₁₅ H ₂₈ O ₂ Ag	347,113479	-	-	347,11358	0,3		
Pentadecanoic acid (15:0)	C ₁₅ H ₃₀ O ₂ Ag	349,129129	-	-	349,12966	2		
Palmitoleic acid (16:1)	C ₁₆ H ₃₀ O ₂ Ag	361,129129	361,132	8	361,12922	0,3		
Palmitic acid (16:0)	C ₁₆ H ₃₂ O ₂ Ag	363,144779	363,145	1	363,14536	2		
Margaric acid (17:0)	C ₁₇ H ₃₄ O ₂ Ag	377,160429	-	-	377,1606	0,5		
Linoleic acid (18:2)	C ₁₈ H ₃₂ O ₂ Ag	387,144779	387,140	-12	387,14488	0,3		
Oleic acid (18:1)	C ₁₈ H ₃₄ O ₂ Ag	389,160429	389,162	4	389,1605	0,2		Y
Stearic acid (18:0)	C ₁₈ H ₃₆ O ₂ Ag	391,176079	391,169	-18	391,17614	0,2		Y
Arachidonic acid (20:4)	C ₂₀ H ₃₂ O ₂ Ag	411,144779	411,151	15	411,14513	1	[35]	Y
Cholesterol	C ₂₇ H ₄₆ OAg	493,259415	493,26	1	493,25969	1	[35]	Y
DTDMAC (C ₁₆ ,C ₁₅)	C ₃₁ H ₇₂ N	494,565928	494,565	-2	494,56670	2		
Squalene	C ₃₀ H ₅₀ Ag	517,295800	517,299	6	517,2961	1	Y	Y
DTDMAC (C ₁₆ ,C ₁₈)	C ₃₄ H ₇₈ N	522,597228	522,595	-4	522,59853	2		
DTDMAC (C ₁₈ ,C ₁₈)	C ₃₆ H ₈₀ N	550,628528	550,627	-3	550,62893	1	Y	Y
WE (30:1)	C ₃₀ H ₅₈ O ₂ Ag	557,348230	557,350	3	557,34871	1		
WE (30:0)	C ₃₀ H ₆₀ O ₂ Ag	559,363880	559,355	-16	559,36431	1		
DAG (30:2)	C ₃₁ H ₆₀ O ₂ Na	559,433296	-	-	559,43392	1		
DAG (30:1)	C ₃₁ H ₆₂ O ₂ Na	561,448946	561,453	7	561,44906	0,2		
DAG (30:0)	C ₃₁ H ₆₄ O ₂ Na	563,464596	563,461	-6	563,46468	0,1		
WE (32:1)	C ₃₂ H ₆₂ O ₂ Ag	585,379530	585,379	-1	585,37995	1		
WE (32:0)	C ₃₂ H ₆₄ O ₂ Ag	587,395180	587,383	-21	587,3957	1		
DAG (32:2)	C ₃₃ H ₆₄ O ₂ Na	587,464596	587,468	6	587,46496	1		
DAG (32:1)	C ₃₃ H ₆₆ O ₂ Na	589,480246	589,482	3	589,48053	0,5		
DAG (33:1)	C ₃₄ H ₆₈ O ₂ Na	603,495896	603,492	-6	603,49634	1		
DAG (33:0)	C ₃₄ H ₇₀ O ₂ Na	605,511546	605,506	-9	605,51228	1		
WE (34:1)	C ₃₄ H ₆₈ O ₂ Ag	613,410830	613,405	-10	613,41136	1		
DAG (34:3)	C ₃₇ H ₆₆ O ₂ Na	613,480246	-	-	613,47959	-1		
WE (34:0)	C ₃₄ H ₇₀ O ₂ Ag	615,426480	615,417	-15	615,42702	1		
DAG (34:2)	C ₃₇ H ₆₈ O ₂ Na	615,495896	615,496	0,2	615,49675	1		
DAG (34:1)	C ₃₇ H ₇₀ O ₂ Na	617,511546	617,512	1	617,51197	1		
WE (35:0)	C ₃₅ H ₆₈ O ₂ Ag	625,410830	625,410	-1	625,41132	1		
WE (35:1)	C ₃₅ H ₇₀ O ₂ Ag	627,426480	627,426	-1	627,42711	1		
WE (36:1)	C ₃₆ H ₇₀ O ₂ Ag	641,442130	641,437	-8	641,44289	1		
WE (36:0)	C ₃₆ H ₇₂ O ₂ Ag	643,457780	643,448	-15	643,45845	1		
WE (37:1)	C ₃₇ H ₇₂ O ₂ Ag	655,457780	655,456	-3	655,45839	1		
WE (37:0)	C ₃₇ H ₇₄ O ₂ Ag	657,473430	657,463	-16	657,47396	1		
WE (38:1)	C ₃₈ H ₇₂ O ₂ Ag	669,473430	669,471	-4	669,47422	1		
WE (38:0)	C ₃₈ H ₇₄ O ₂ Ag	671,489080	671,483	-9	671,48994	1		
TAG (44:2)	C ₄₇ H ₈₆ O ₂ Na	769,631661	769,640	11	769,63309	2		
TAG (44:1)	C ₄₇ H ₈₈ O ₂ Na	771,647311	771,655	10	771,64881	2		
TAG (44:0)	C ₄₇ H ₉₀ O ₂ Na	773,662961	773,669	8	773,66421	2		
TAG (45:2)	C ₄₈ H ₈₈ O ₂ Na	783,647311	783,653	7	783,64854	2		
TAG (45:1)	C ₄₈ H ₉₀ O ₂ Na	785,662961	785,672	12	785,66439	2		
TAG (45:0)	C ₄₈ H ₉₂ O ₂ Na	787,678611	787,689	13	787,67983	2		
TAG (46:2)	C ₄₉ H ₈₆ O ₂ Na	797,662961	797,670	9	797,66447	2		
TAG (46:1)	C ₄₉ H ₈₈ O ₂ Na	799,678611	799,686	9	799,68001	2	Y	
TAG (46:0)	C ₄₉ H ₉₀ O ₂ Na	801,694261	801,700	7	801,69583	2		
TAG (47:2)	C ₅₀ H ₈₂ O ₂ Na	811,678611	811,691	15	811,68018	2		
TAG (47:1)	C ₅₀ H ₈₄ O ₂ Na	813,694261	813,705	13	813,69596	2	Y	
TAG (47:0)	C ₅₀ H ₈₆ O ₂ Na	815,709911	815,718	10	815,71151	2		
TAG (48:2)	C ₅₁ H ₈₄ O ₂ Na	825,694261	825,706	14	825,69603	2		
TAG (48:1)	C ₅₁ H ₈₆ O ₂ Na	827,709911	827,716	7	827,71159	2	Y	
TAG (48:0)	C ₅₁ H ₈₈ O ₂ Na	829,725562	829,73	5	829,72721	2		
TAG (49:2)	C ₅₂ H ₈₆ O ₂ Na	839,709911	839,719	11	839,71147	2		
TAG (49:1)	C ₅₂ H ₈₈ O ₂ Na	841,725562	841,736	12	841,72741	2	Y	
TAG (49:0)	C ₅₂ H ₉₀ O ₂ Na	843,741212	843,75	10	843,7429	2		
TAG (50:3)	C ₅₁ H ₈₆ O ₂ Na	851,709911	851,718	9	851,71162	2		
TAG (50:2)	C ₅₁ H ₈₈ O ₂ Na	853,725562	853,735	11	853,72738	2		
TAG (50:1)	C ₅₁ H ₉₀ O ₂ Na	855,741212	855,753	14	855,74313	2		
TAG (50:0)	C ₅₁ H ₉₂ O ₂ Na	857,756862	857,763	7	857,75881	2		
TAG (46:2)	C ₄₉ H ₈₆ O ₂ Ag	881,578289	881,582	4	881,58021	2		
TAG (46:1)	C ₄₉ H ₈₈ O ₂ Ag	883,593939	883,598	5	883,59595	2		
TAG (46:0)	C ₄₉ H ₉₀ O ₂ Ag	885,609589	885,616	7	885,61162	2		
TAG (48:2)	C ₅₁ H ₈₄ O ₂ Ag	909,609589	909,617	8	909,61194	3		
TAG (48:1)	C ₅₁ H ₈₆ O ₂ Ag	911,625239	911,626	1	911,62744	2	Y	
TAG (48:0)	C ₅₁ H ₈₈ O ₂ Ag	913,640889	913,637	-4	913,64297	2		
TAG (49:1)	C ₅₂ H ₈₆ O ₂ Ag	925,640889	925,653	13	925,64323	3		
TAG (49:0)	C ₅₂ H ₈₈ O ₂ Ag	927,656539	927,651	-6	927,65894	3	Y	



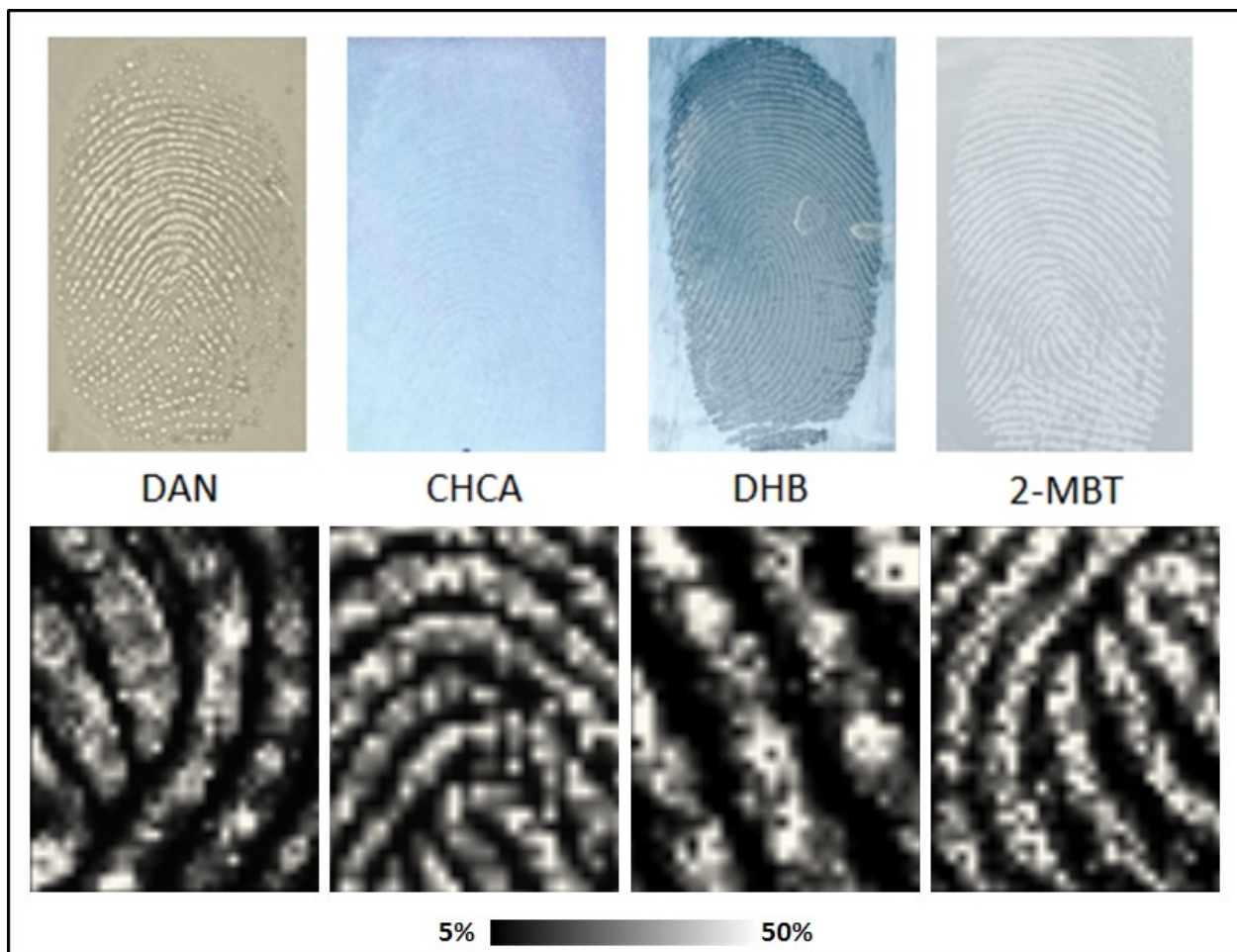
Suppl. Figure 2.1. MALDI MS/MS spectra of specified ions after sublimation and recrystallization of 2-MBT on fingerprints. Fragmentation pathways are proposed for each molecule.



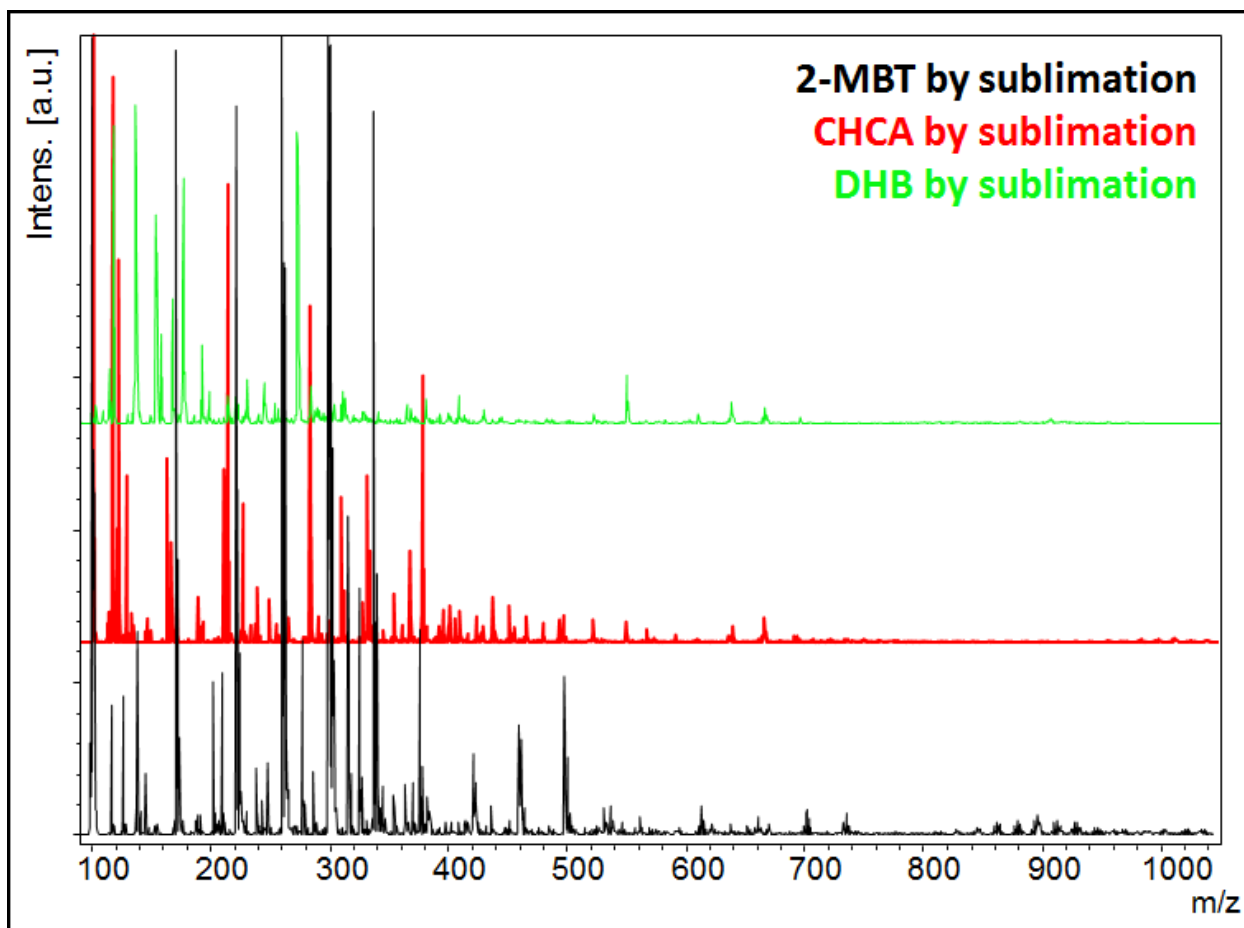
Suppl. Figure 2.2. AgLDI MS/MS spectra of specified ions after silver sputtering. Fragmentation pathways are proposed for each molecule.



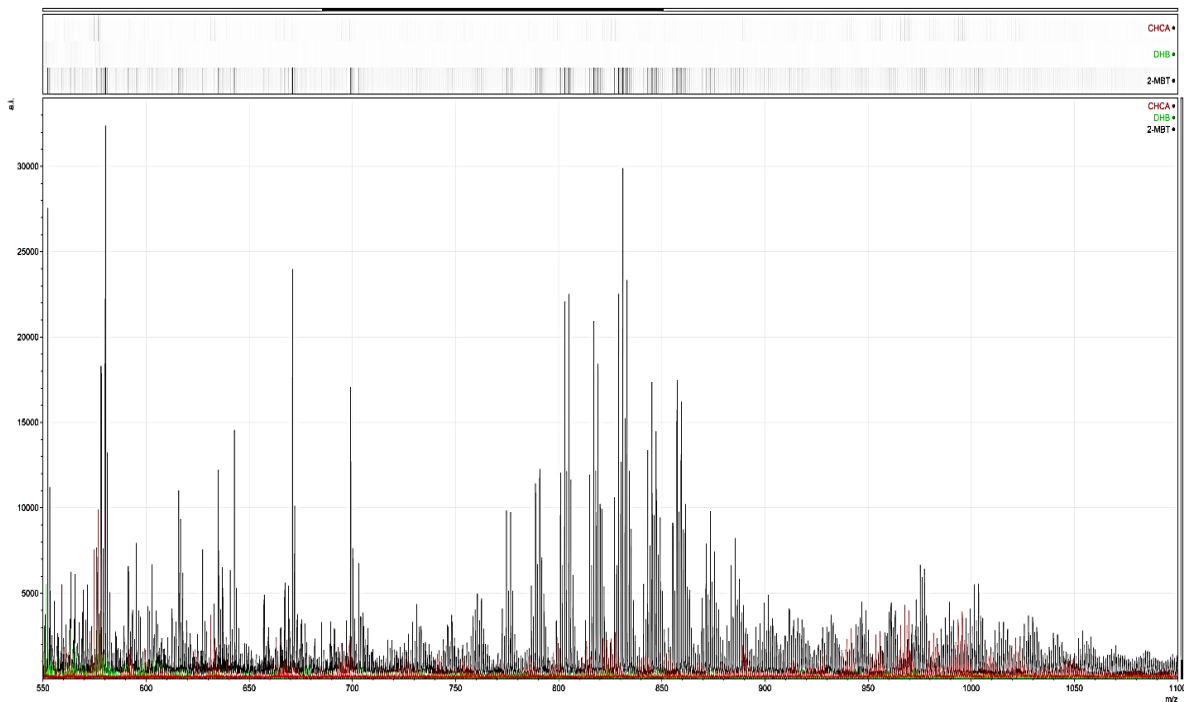
Suppl. Figure 2.3. MALDI IMS of partial latent fingerprints acquired at 75 μm spatial resolution after spray coating with different matrices. Ion image of DTDMAC at m/z 550.6.



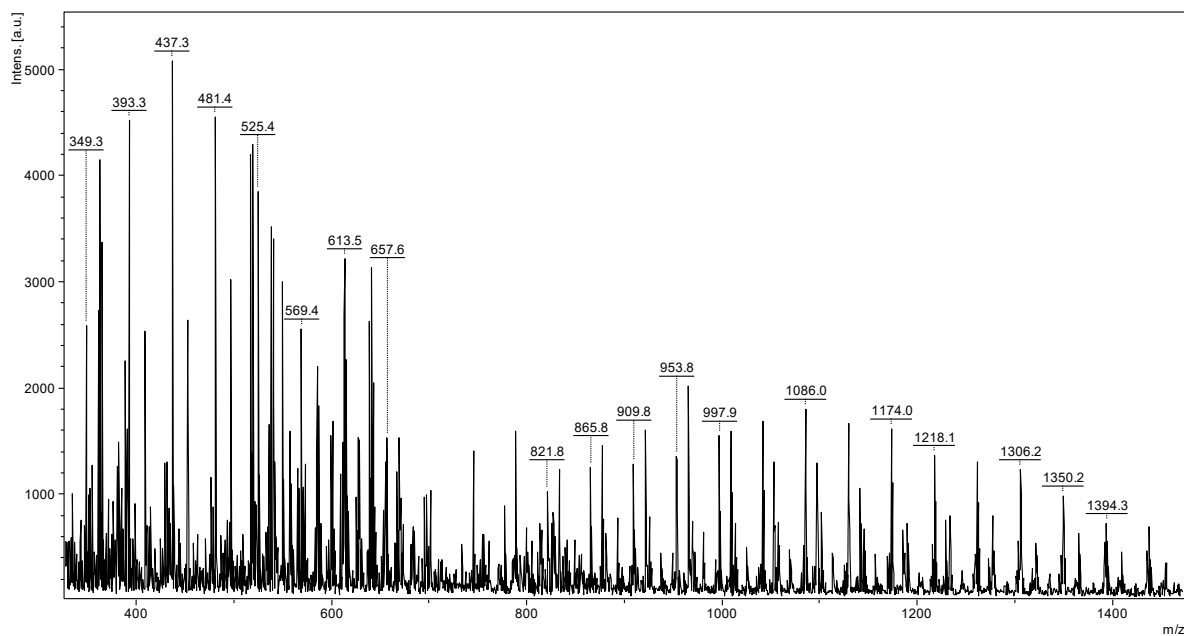
Suppl. Figure 2.4. MALDI IMS of partial latent fingerprints acquired at 75 μm spatial resolution after matrix sublimation and recrystallization. (Top) Photomicrographs of the fingerprints after matrix sublimation. (Down) Corresponding ion images of DTDMAC at m/z 550.6.



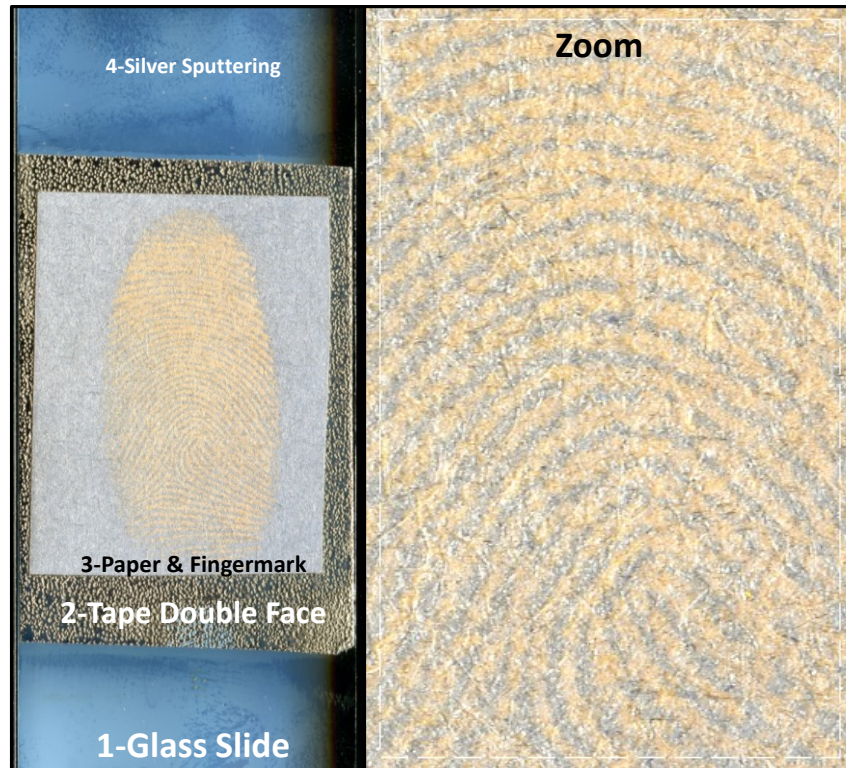
Suppl. Figure 2.5. MALDI MS of a latent fingerprint after matrix sublimation and recrystallization; (Black) 2-MBT, (Red) CHCA and (Green) DHB.



Suppl. Figure 2.6. MALDI MS of a latent fingerprint after matrix sublimation; (Black) 2-MBT, (Red) CHCA and (Green) DHB. Zoom and intensity expansion in the mass range from m/z 550 to 1100 to better visualize the TAGs mass ranges.

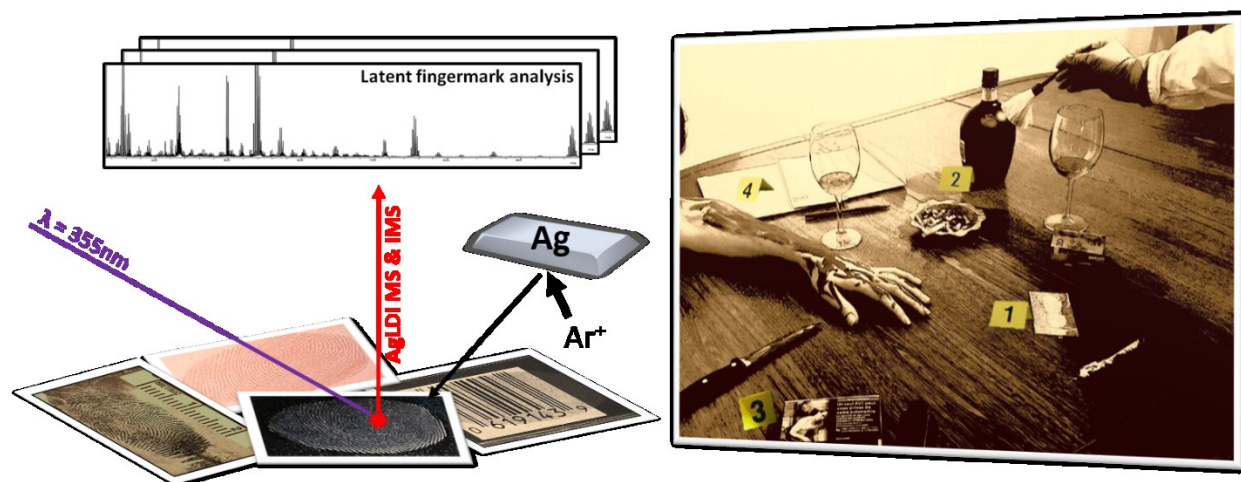


Suppl. Figure 2.7. AgLDI MS of a latent ungroomed fingerprint after silver sputtering. Two different PEG species differing by 44 mass units for sodium and potassium adduct can be observed.



Suppl. Figure 2.8. Visualization of a latent fingerprint on a piece of paper after silver sputtering. See text for details.

Chapitre 3. Forensic analysis of latent fingermarks by silver-assisted LDI imaging MS on nonconductive surfaces



Published in:

J. Mass Spectrom. **2017**, 52(6), 397-404.

Nidia Lauzon¹, Martin Dufresne¹, Alexandre Beaudoin^{2,3} and Pierre Chaurand¹

¹ Department of Chemistry, Université de Montréal, Montreal, QC, Canada

² La Sûreté du Québec, Montreal, QC, Canada

³ Department of Chemistry, Biochemistry and Physics, Université du Québec à Trois-Rivières, Trois-Rivières, QC, Canada

3.1 Résumé du Chapitre 3

Nous démontrons dans ce chapitre que l'AgLDI-TOF IMS est une technique qui peut être complémentée aux diverses techniques de révélation des traces latentes communément utilisées par les techniciens en identification criminelle. Pour ce faire, nous avons évalué deux critères : la possibilité d'analyse de traces latentes par IMS sur diverses surfaces communément trouvées durant une enquête policière et la performance de l'analyse IMS après l'utilisation des diverses techniques de révélation des traces latentes. En premier lieu, le potentiel d'analyser directement par TOF IMS des traces latentes sur divers types de surface a été démontré. Il a été possible d'analyser sur des surfaces poreuses (papier, carton), semi-poreuses (papier et carton plastifié), non-poreuses (plastique) et sur du ruban adhésif spécialement conçu pour le prélèvement des traces latentes issues d'une scène de crime. En second lieu, nous avons évalué la compatibilité de l'AgLDI IMS avec les diverses techniques de révélation utilisées par la Sûreté du Québec en fonction du type de surface et de sa couleur. Comme résultats, nous avons généré des images moléculaires de traces latentes et détecté des substances endogènes et exogènes communément présentes dans le résidu. Certains révélateurs, comme la fumigation de CA (CAF) diminue grandement la sensibilité de la détection. Nous avons aussi démontré l'utilité de l'AgLDI IMS pour contrer certains problèmes de contraste entre la surface et les révélateurs, particulièrement sur les surfaces multicolores, comme les cartons de cigarettes. L'apport original de ce chapitre est que pour la première fois nous démontrons qu'une méthode par TOF IMS peut être appliquée à l'analyse de traces latentes révélées sur diverses surfaces non-conductrices. De ce fait, il est possible d'utiliser cette méthode pour l'apport d'informations circonstanciées à une enquête criminelle ici au Québec.

Contribution des auteurs :

Nidia Lauzon a contribué à l'élaboration et la réalisation de l'ensemble des expériences, ainsi qu'à la rédaction du manuscrit.

Martin Dufresne a aidé au développement et à l'optimisation de la méthode AgLDI IMS pour l'analyse de traces latentes sur des surfaces non-conductrices.

Alexandre Beaudoin a réalisé la révélation des traces latentes par diverses techniques forensiques utilisées dans les laboratoires de la Sûreté du Québec sur l'ensemble des surfaces analysées. Il a aussi participé à la rédaction et la correction du manuscrit.

Pierre Chaurand a contribué à l'élaboration des expériences, la rédaction et la correction du manuscrit.

3.2 Abstract

Silver-assisted laser desorption/ionization (AgLDI) imaging mass spectrometry (IMS) has been demonstrated to be a useful technology for fingerprint analysis allowing for the detection of several classes of endogenous as well as exogenous compounds. Ideally, in IMS analyses, the fingerprints are deposited under controlled conditions on metallized conductive target slides. However, in forensic investigations, fingerprints are often found on a variety of nonconductive surfaces. A sputtered silver layer renders the target surface conductive, which allows the analyses of insulating surfaces by time-of-flight (TOF) IMS. Ultimately, the major consideration when developing analytical methods for the analysis of latent fingerprints is their capability to be incorporated within forensic standard operational procedures. To demonstrate the potential of AgLDI IMS for forensic applications, fingerprints deposited on nonconductive surfaces commonly found during an investigation, including paper, plasticized cardboard, plastic bags and lifting tape were first revealed by the *Sûreté du Québec* by using forensic enhancement techniques (FETs) prior to the IMS analyses. Numerous endogenous compounds including fatty acids, cholesterol, squalene, wax esters, triglycerides, as well as several exogenous substances were detected and imaged. Here we show that silver sputtering can provide visual enhancements of fingerprint patterns after FETs procedures through different scenarios in which AgLDI IMS can contribute to forensic investigations.

3.3 Introduction

For over a century, the recovery of latent fingerprints (LFP) from crime scenes has been one of the most important and common methods in forensic investigation¹⁴⁵⁻¹⁴⁷. LFP evidences are located and collected from several surfaces by law enforcement officers and fingerprint patterns are revealed and visualized by experienced LFP experts using a variety of forensic enhancement techniques (FETs). Over time, many avenues have been explored to improve these techniques for the recovery of LFP based on the type of surface (porous, semiporous and nonporous) and their color^{38, 65-67, 148, 149}. In addition, new computational technologies

have also been developed, such as the automated fingerprint identification system (AFIS) that significantly improves the chances of suspect identification during criminal investigations⁸. However, LFP evidences remain unexploitable to identify a suspect if they are smeared, blurred or partial, and more importantly if the intact fingerprint pattern is absent from the police databases. Therefore, in the last decade, analytical technologies have been developed to increase the amount of information recovered during an investigation by providing additional circumstantial evidences^{68, 150-153}. Indeed, the residue transferred from the fingertip to a surface, called the fingermark, can provide additional chemical information related to the suspect. The residue is composed of many endogenous substances, such as proteins, amino acids, salts and lipids, but also many exogenous substances such as any chemical a suspect may have been in contact with³⁹.

In this context, mass spectrometry has proven to be a powerful tool for chemical identification of fingermark residues^{35, 41, 52, 73, 77, 80}. Traditionally, mass spectrometry analysis of fingermarks has been heavily studied using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) for qualitative and quantitative analyses in ideal conditions. In these experiments, the residue on the finger must be extracted (sometimes derivatized), dried and concentrated prior to analysis. To the extent of our knowledge, there is no reported literature on using chromatography upstream to MS for LFPs analysis from lifting tape or from any other surfaces first revealed by FETs, most likely due to the difficulty of extraction and the high levels of background noise. Therefore, imaging mass spectrometry (IMS) has the potential to provide molecular information without extraction and loss of their spatial location in the fingermark, allowing for the generation of an image of the fingerprint pattern towards the identification of a suspect.

The first IMS of fingermarks has been reported by Ifa et al. for the detection of drugs of abuse and explosives using desorption electrospray ionization (DESI)¹²⁵. Over time, many other technologies have been successfully used to image numerous endogenous and exogenous compounds from fingermarks, such as secondary ion mass spectrometry (SIMS), surface-assisted laser desorption/ionization (SALDI) and matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI)^{76, 78, 79, 116, 154}. In particular, the group of Simona Francese has made considerable contributions to the IMS forensic literature using MALDI. By applying

the MALDI matrix α -cyano-4-hydroxycinnamic acid (CHCA) by spray deposition on fingerprints, they were able to detect endogenous peptides and small proteins that enabled the determination of sex with 85% accuracy⁵³ and the presence of blood^{84, 155}. This methodology also allowed for the detection of illicit drugs and some of their metabolites⁷⁵.

Recently, we published a report comparing different methodologies for the analysis of fingerprints by time-of-flight (TOF) IMS using several sublimated matrices and a novel approach developed in our laboratory named silver-assisted laser desorption/ionization (AgLDI)¹⁵⁶. Not only did we demonstrate that AgLDI IMS allows for the detection of several endogenous and exogenous substances, we were able to render the target surface conductive due to the sputtered silver layer. This enabled AgLDI TOF IMS analysis of latent fingerprints left on nonconductive surfaces such as paper. Since in forensic investigations fingerprints are often found on these types of surfaces, AgLDI IMS is potentially well adapted to forensic investigations. However, in our opinion, the major aspect to consider when developing analytical methods for the analysis of LFPs is their capability to be incorporated within standard FETs. To demonstrate the potential of AgLDI IMS in the forensic setting, fingerprints deposited on several nonconductive surfaces commonly found during an investigation, including paper, plasticized cardboard, plastic bags and forensic lifting tape were first revealed by the *Sûreté du Québec* (police force of the province of Quebec) using conventional FETs prior to IMS analyses. Ultimately, we found that AgLDI IMS can provide additional molecular information not revealed by conventional FETs that have the potential to positively contribute to forensic investigations.

3.4 Experimental

3.4.1 Chemical and Materials

Clear 3M fingerprint lifting tape and green fluorescent LFP powder were purchased from Arrowhead Scientific, Inc. (Lenexa, KS, USA). All remaining FET reagents were provided and deposited on several nonconductive surfaces by the *Sûreté du Québec*¹⁵⁷. ITO-coated slides were purchased from Delta Technologies (Loveland, CO, USA). The silver sputter target 3N5

(99.95% purity) was purchased from ESPI Metals (Ashland, OR, USA). Double-sided carbon conductive (DSCC) tape was purchased from Ted Pella, Inc. (Redding, CA, USA). All common nonconductive surfaces were locally purchased. Squalene, dimethyldioctadecylammonium bromide and oleic acid were purchased from Sigma-Aldrich (St-Louis, MO, USA).

3.4.2 Fingerprint preparation on nonconductive surfaces

Latent groomed fingerprints were prepared on several nonconductive surfaces according to published preparation methods ¹¹⁶. Fingerprints were obtained in a de-identified manner ¹⁵⁶. All procedures were approved by the Health Canada Research Ethics Board and comply with the Ethical Principles set out in Tri-Council Policy Statement: Ethical Conduct for Research Involving Humans guidelines.

3.4.3 IMS of fingerprints on nonconductive surfaces

DSCC tape was first applied to ITO-coated slides. All nonconductive surfaces (excluding the lifting tape) containing the fingerprints were then mounted on DSCC tape using an aluminum sheet to flatten the surfaces onto the tape. This step provided better electrical conductivity after silver deposition.

Metallic silver was sputtered on top of fingerprints using a Cressington 308R sputter coater (Ted Pella, Inc. Redding, CA, USA) as previously described ¹⁵⁶. For optimal results, the deposited silver layer thickness was optimized at 14 ± 2 nm, corresponding to 30 seconds of deposition.

Profiling and IMS of fingerprints were performed on a MALDI TOF/TOF Ultraflextreme mass spectrometer equipped with a SmartBeam II Nd:YAG 355 nm laser operating at 250 Hz for the analysis of nonconductive surface analyses (Bruker Daltonics, Billerica, MA). For IMS data acquisition, 500 shots were summed per array position with a lateral resolution of 75 μm using the "medium" focus setting. Profiling and IMS were acquired in reflectron TOF geometry under optimized delayed extraction conditions with a source acceleration voltage of +25 kV in the 100-1100 Da mass range. For AgLDI IMS, internal calibration was carried out in quadratic mode using the exact mass of the silver clusters present in all spectra as

previously described ¹⁵⁶. IMS data were reconstructed and visualized without normalization using the FlexImaging 4.1 software (Bruker Daltonics).

Compound identification was performed by comparing accurate mass measurements to previously published results ¹⁵⁶. The identity of some compounds was further confirmed by AgLDI MS/MS measurements acquired in LIFT-TOF/TOF mode from latent fingerprints deposited on paper (see Suppl. Figures 3.10-3.13).

3.5 Results and Discussion

3.5.1 *Latent fingerprints on porous surfaces*

The fingerprint residue is mainly composed of external contaminants and numerous substances originating from the secretory glands present in the dermis, such as water, salts, inorganic compounds, amino acids, proteins, triglycerides, squalene, cholesterol, wax esters and free fatty acids ¹. Based on this information, several chemical reagents have been developed for the detection of LFPs on porous surfaces by targeting specific endogenous substances. Ninhydrin, 1,2-diazafluoren-9-one (DFO) and 1,2-indanedione (IND) have been proven to be highly effective for the visualization of the water-soluble portion of the fingerprint residue on porous surfaces due to their reactivity with amino acids ^{62, 63}. Nevertheless, these methods are not useful if the porous surface containing the mark has been exposed to water, as it will delocalize the amino acid content. In this case, the silver physical developer (Ag-PD) is used. Ag-PD is a technique widely used to reveal fingerprints from wet or soiled surfaces due to the adsorption of colloidal silver particles to the lipid matrix in the print residue producing a silver-gray deposit ^{1, 64}. However, the use of Ag-PD on LFP is destructive (meaning that no other FET can be serially applied), expensive, cumbersome and time-consuming, rendering this technique a last resort after unsuccessful LFP treatment by ninhydrin, DFO or IND ⁶⁵. To overcome these issues, Oil Red O (ORO), a lipophilic stain well known in histopathology, was first introduced in 2004 by Beaudoin for the recovery of dry and wet latent fingerprints on paper ⁶⁶. This technique allows for the efficient and selective coloration of neutral lipids on LFP and, compared to Ag-PD, is less

expensive, simpler and non-destructive. In this regard, ORO has been sequentially incorporated with other LFP methods as follows: DFO → Ninhydrin → ORO → Ag-PD⁶⁷. More recently, IND solution mixed with zinc chloride (IND-Zn) has been demonstrated to show a greater laser-induced fluorescence enhancement on fingerprints compared to DFO¹⁵⁸. Currently, the sequence used by the LFP specialists at the *Sûreté du Québec* is as follows: IND-Zn → Ninhydrin → ORO → Ag-PD. In practice, before the LFP revelation, the porous surface is first investigated under different laser lights, which sometimes is enough to reveal the LFP. Then the surface is treated with IND-Zn and a laser-induced fluorescence image ($\lambda = 532 \text{ nm}$) is obtained. If more ridge detail is needed, ninhydrin and ORO treatments can be respectively carried out on the surface. As a last resort, Ag-PD will be used solely to solve major criminal investigation cases.

For the work presented herein, the *Sûreté du Québec* revealed in their laboratory several sets of groomed fingerprints on paper using different single FETs (IND-Zn, ninhydrin, ORO and Ag-PD) and in one case performed the IND-Zn → Ninhydrin → ORO sequence. After these processes, silver was deposited on the paper by metal sputtering to evaluate the potential of AgLDI MS in detecting endogenous and exogenous substances from the fingerprints (Figure 3.5.1, A-F). IND-Zn was the first FET used for the visualization of LFPs on paper and has demonstrated good compatibility with AgLDI MS (Figure 3.5.1, B). The results show that the methodology enables the detection of fatty acids, cholesterol, squalene, wax esters, triglycerides and some exogenous substances, such as ditallowdimethylammonium compounds (DTDMAC) which are contaminants with different alkyl-chain lengths present in most personal healthcare and household products (Suppl. Figure 3.1). Interestingly, we still observed unsaturated fatty acids after the IND-Zn process, which consists of heating the revealed paper on a hot plate at 125 °C for 20 seconds (Suppl. Figure 3.2). Unsaturated fatty acids are easily oxidized by atmospheric oxygen and can potentially be used to determine the age of the LFP (time period between fingerprint deposition and analysis) using mass spectrometry or other technologies^{1, 41, 42, 116}. In this regard, the age determination of the LFP can be studied after IND-Zn process, but also after any other serially performed FETs.

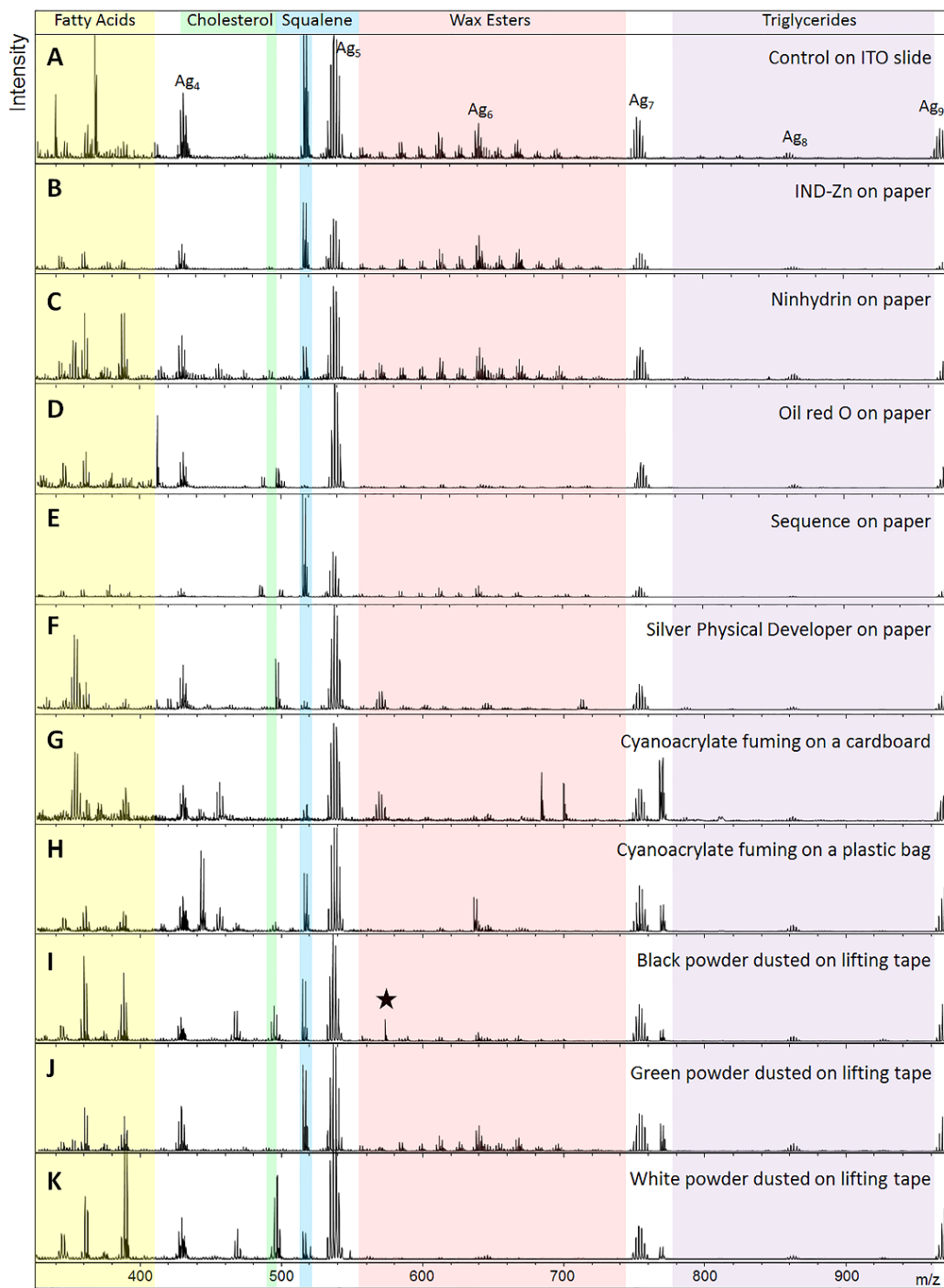


Figure 3.5.1 AgLDI MS spectra from latent fingermarks deposited on several nonconductive surfaces acquired after revealing by the appropriate forensic developer. (A) Control on ITO slide; (B) IND-Zn on paper; (C) Ninhydrin on paper; (D) ORO on paper; (E) IND-Zn → Ninhydrin → ORO sequence on paper; (F) Ag-PD on paper; (G) CAF on a cigarette cardboard; (H) CAF on a plastic bag; lifting tape containing a fingermark dusted by (I) black powder, (J) green fluorescent powder and (K) white powder. The star (★) points to the signal at m/z 575.3 resulting from the LDI MS analysis of black dusting power.

Ninhydrin also demonstrated a good compatibility with AgLDI MS (Figure 3.5.1, C) compared to the ORO process, which removes many lipids from the surface of the paper (Figure 3.5.1, D). Lastly, when the sequence IND-Zn → Ninhydrin → ORO is performed, fatty acids, squalene, wax esters and some triglycerides were still well detected on the paper (Figure 3.5.1, E and Suppl. Figure 3.3). The potential of AgLDI IMS on revealed papers was also investigated, and as expected, the imaging resolution is lower than the photomicrographs taken after the IND-Zn process (Figure 3.5.2, A-B) and the IND-Zn → Ninhydrin → ORO sequence (Figure 3.5.2, C-D). Indeed, some lipid delocalization induced by the FET sequence is suspected to occur, leading to some IMS image degradation.

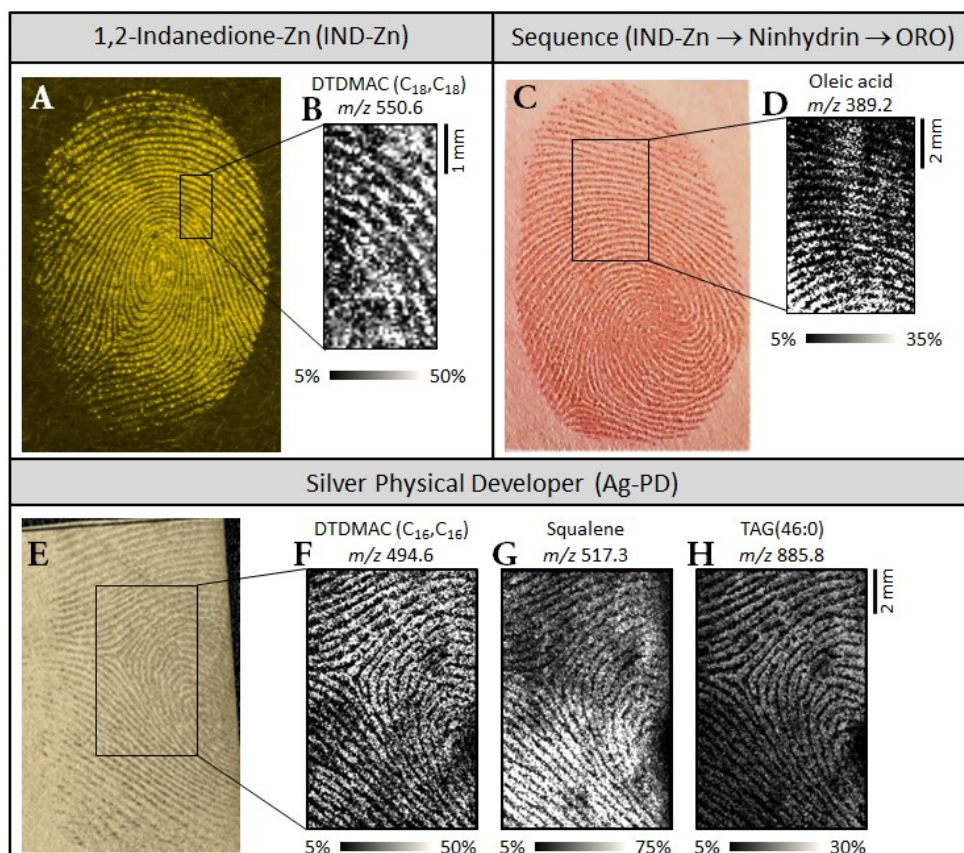


Figure 3.5.2 AgLDI IMS of latent fingerprints on paper first revealed by different developers. (A) photomicrograph under monochromatic light at 532 nm after the IND-Zn process; (B) ion image of dimethyldioctadecylammonium (m/z 550.6); (C) photomicrograph after the IND-Zn → Ninhydrin → ORO sequence process; (D) ion image of oleic acid (m/z 389.2); (E) photomicrograph after the Ag-PD process; and ion images of (F) dimethyldihexadecylammonium (m/z 494.6); (G) squalene (m/z 517.3) and (H) TAG[46:0] (m/z 885.8).

The Ag-PD process seems to be readily adapted for IMS. In fact, the presence of silver nitrate in the solution allows for AgLDI MS directly after the FET process without any extra manipulation. However, the IMS data obtained after adding silver by sputtering on the print allowed for a much higher MS signal sensitivity (Figure 3.5.1, F and Suppl. Figure 3.4). Compared with other FETs, the 100% aqueous Ag-PD does not delocalize any hydrophobic compounds on the paper, leading to a higher image quality of the fingerprint pattern generated by IMS (Figure 3.5.2, F-H). Unfortunately, in Quebec, Ag-PD is only used as a last resort for criminal investigations. For this reason, it was not possible to test Ag-PD after the IND-Zn → Ninhydrin → ORO sequence because the *Sûreté du Québec* only prepares this solution when a murder is investigated. Interestingly, the Ag-PD sample provided was revealed 9 months before AgLDI IMS and we were still able to detect numerous compounds on the paper. This opens the possibility to reinvestigate evidence in the event of a new investigation. Overall, the potential for obtaining molecular information of LFPs by AgLDI MS and IMS after processing by several FETs is demonstrated.

3.5.2 Latent fingerprints on semiporous surfaces

By definition, a semiporous surface is a type of substrate that both resists and absorbs LFP residues, such as glossy cardboard or paper, latex gloves, untreated soft leathers and some types of cellophane. One of the most widely used FET for the recovery of LFPs on semiporous surfaces is the cyanoacrylate fuming (CAF) process because it is simple, inexpensive and produces high quality print images. The mechanism of the cyanoacrylate polymerization on LFPs has been misunderstood for quite some time. It is now known that the water-soluble amines and carboxylic groups in the LFP are the primary polymerization initiators⁸. The CAF process produces a white polymer on the ridges of the print, making it visible against the background substrate. Since the resulting fingerprint is white, there is some difficulties with certain colored surfaces to establish a good contrast and visualize the whole fingerprint pattern. For this reason, several methods have been reported for the enhancement of LFPs revealed with CAF, such as fluorescent dye staining.

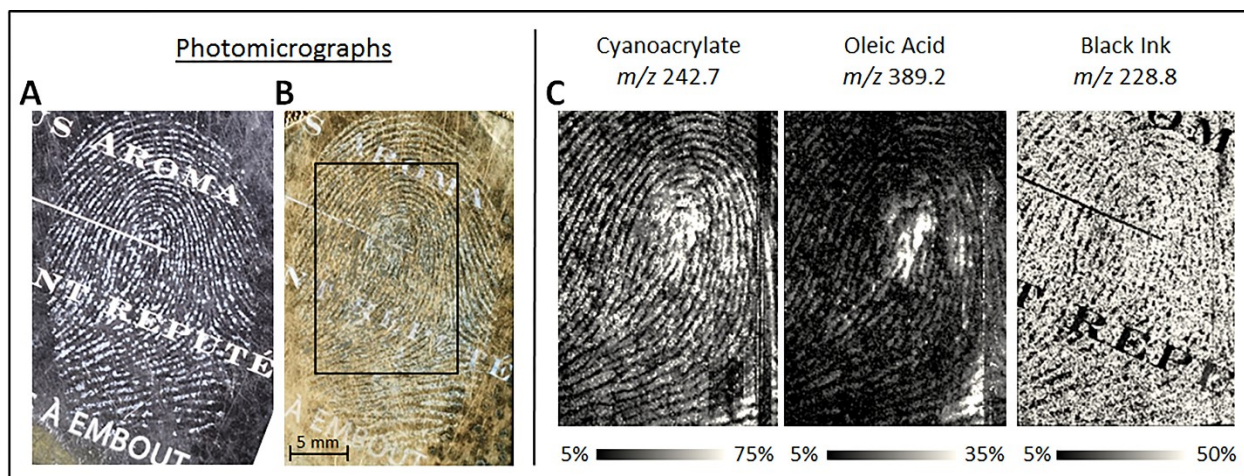


Figure 3.5.3 AgLDI IMS of a latent fingerprint revealed by cyanoacrylate fuming on a cigarette cardboard. (A) Photomicrograph after cyanoacrylate fuming; (B) photomicrograph after cyanoacrylate fuming and silver sputtering; and (C) ion images of one signal from the cyanoacrylate deposit (m/z 242.7), oleic acid (m/z 389.2) and one signal from the black ink of the cardboard (m/z 228.8).

Unfortunately, this procedure is exclusive to nonporous surfaces revealed by CAF and cannot be performed on semiporous surfaces, since the substrate will also absorb the staining solution, rendering the enhancement procedure useless. In this regard, colored powders can be dusted on LFPs found on this type of surfaces to enhance their contrast according to the surface color. Nonetheless, multicolored surfaces, such as cigarette packages, can still be problematic. In this context, IMS can be useful when performed after FETs, because this methodology produces molecular images based on their mass-to-charge ratio (m/z) which bypasses any contrast issues. Figure 3.5.3 shows an example where CAF performed onto a black cigarette cardboard produced a good LFP contrast with the black colored background but with some loss of information on the white writings. By AgLDI IMS, we were able to complete the fingerprint pattern using one of the cyanoacrylate MS signals, obtain molecular information about the donor and even image the writing on the cardboard. This latter point opens the possibility for the detection of falsified documents by AgLDI IMS. Another example is given in Suppl. Figure 3.5. AgLDI MS after CAF allows for the detection of both endogenous and exogenous substances, but compared to the results after FETs on paper, the sensitivity is lower due to the increased insulating effects coming from the thicker nonconductive substrates (Figure 3.5.1, G). Nevertheless, AgLDI IMS could prove useful for the forensic

investigation of thicker substrates where FETs are less effective or inapplicable. Finally, the addition of silver by sputtering on the surface can also be used solely as a FET after CAF and dusted powder deposition, as shown in Suppl. Figure 3.6.

3.5.3 Latent fingerprints on nonporous surfaces

LFPs on nonporous surfaces, such as glass, plastics and metal, tend to be fragile and need to be preserved and analyzed as soon as possible. If the object containing the LFP is of smaller dimension and can be transported to a forensic laboratory, the primary FET used will be CAF. The nonporous surface can then be treated with a fluorescent dye stain such as rhodamine 6G and then examined under monochromatic (laser) or visible light. Figure 3.5.4 demonstrates the potential of AgLDI IMS after FETs for two types of plastic surfaces (sealable and garbage bags) from which pieces can be easily cut and mounted onto an ITO-coated slide using DSCC tape. In both cases, we were able to detect endogenous and exogenous substances with a better sensitivity than after CAF on cardboard (Figure 3.5.1, G and Suppl. Figure 3.7). As expected, after IMS analyses, oleic acid was readily detected on the sealable bag and its ion image was used to reveal the LFP pattern. Interestingly, the oleic acid IMS image on the garbage bag was not detected from the LFP revealed by the CAF, but seems to belong to another print most probably deposited on the bag below the CAF revealed print(s). As previously demonstrated by other publications, IMS could be a useful methodology for the detection of overlapping LFPs ^{128, 141, 159}.

3.5.4 Latent fingerprints on forensic lifting tape

In a scenario where the nonporous surface containing the LFP is fixed at the crime scene, powdering will be used first to locate the LFP, which will then be lifted for better examination. Since numerous LFPs can be found on fixed surfaces, the possibility to directly detect and image dusted prints on lifting tape is of great interest to forensic investigators.

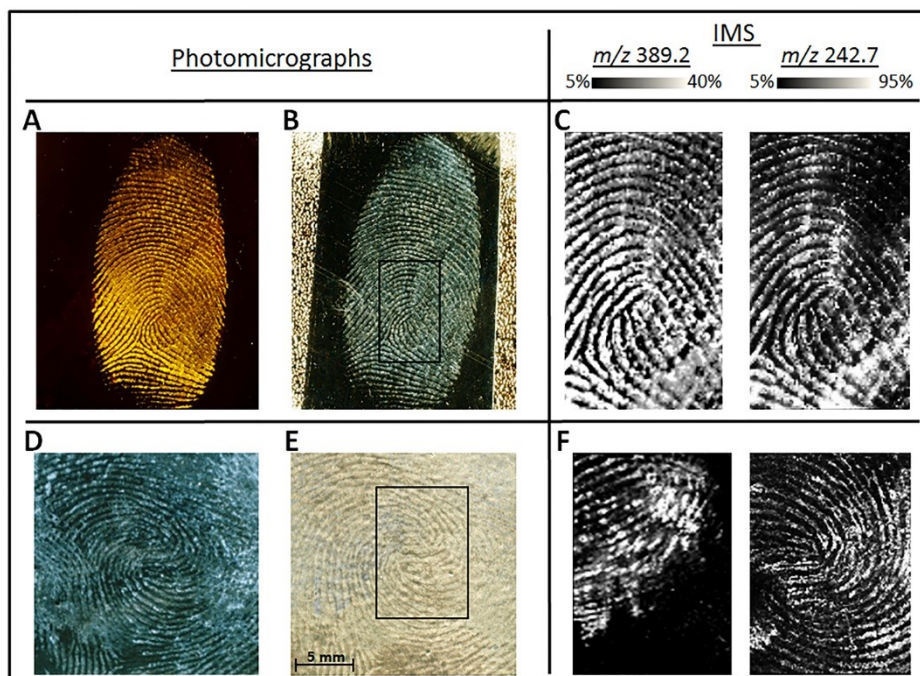


Figure 3.5.4 AgLDI IMS of latent fingerprints first revealed by cyanoacrylate fuming and a solution of rhodamine 6G on a sealable plastic bag (top row) and a garbage bag (bottom row). (A, D) Photomicrographs of the revealed fingerprints under monochromatic light at 532 nm and visible light respectively; (B, E) photomicrographs of the revealed fingerprints after silver sputtering; and (C, F) ion images of oleic acid (m/z 389.2) and of one signal from the cyanoacrylate deposit (m/z 242.7).

For this purpose, LFPs were dusted using three different powders (black, white and green fluorescent), lifted and the lifting tape mounted on ITO-coated slides using DSCC tape. In all cases, fatty acids, squalene, wax esters and some exogenous substances were detected after silver sputtering and AgLDI MS (Figure 3.5.1, I-K). Triglycerides were only observed when using black (Figure 3.5.1, I) and green fluorescent powders (Figure 3.5.1, J and Suppl. Figure 3.8), where overall spectra clearly showed a higher intensity for all species detected from the LFPs. This observation is probably due to a better absorption of the TOF MS laser wavelength (355 nm), whereby the dusting powders act as a MALDI matrix without the formation of contaminant peaks. Indeed, only one signal at m/z 575.3 was observed in the MS spectrum acquired after black powder dusting (Figure 3.5.1, I). We also demonstrated the potential of AgLDI IMS to be performed directly on lifting tape after green fluorescent powder dusting (Figure 3.5.5) as well as from other forensic dusting powders (Suppl. Figure

3.9). In all cases, the fingerprint pattern could be reconstructed from several substances detected on the lifting tape.

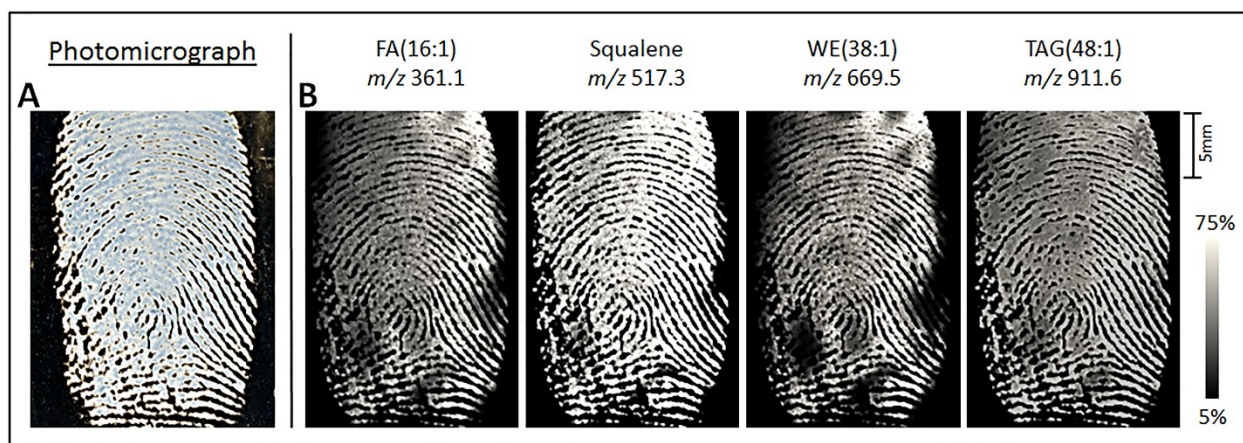


Figure 3.5.5 AgLDI IMS of a latent fingerprint on a lifting tape after dusting with green fluorescent powder. (A) Photomicrograph of the lifting tape after silver sputtering and (B) ion images of palmitoleic acid (m/z 361.1), squalene (m/z 517.3), WE[38:1] (m/z 669.5) and TAG[48:1] (m/z 911.6).

3.5.5 Perspectives

The analysis of the endogenous content of fingerprints is still extensively studied with the hopes of providing additional information on personal traits from a suspect linked to a crime scene, more importantly when the mark is unexploitable for identification purposes by conventional FETs. Several publications have shown interesting and promising fingerprint analysis approaches to determine the gender or the average age of a person, information that in some cases could greatly reduce the number of potential suspects^{49,52,53}. However, to date no method has demonstrated enough robustness for such data to be accepted at a court scrutiny. In this regard, new molecular methods and approaches still need to be developed. Alternatively, the detection of exogenous substances, such as illicit drugs, explosives, gunshot residues, pharmaceuticals or traces of blood, can provide circumstantial evidences that could be beneficial for criminal investigations^{35,73,77,78,80,84}. We are currently evaluating the potential of AgLDI IMS to detect such residues present in fingerprints.

The present study demonstrates the compatibility of fingerprint AgLDI IMS with conventional police procedures. However, the analysis of fingerprints detected on various

surfaces sampled from crime scenes remains challenging. In fact, the mounting of nonconductive surfaces on ITO slides without degrading the fingerprint is the major source of non-reproducibility. More specifically, the formation of trapped air bubbles can cause potential vacuum, conductivity and flatness issues. Although deposition skills can be developed and mastered, an automated approach for the proper handling and mounting of samples would minimize potential cross-contamination and analytical variability.

Once the sample is mounted, the deposition of silver by sputtering is a simple, robust and reproducible method that can be performed in within 15 minutes. Also, while we have demonstrated the potential of AgLDI-TOF IMS for the analysis of fingerprints deposited on nonconductive surfaces, there was no reason to believe that this approach would not be performant with other IMS instrumentation which do not require the use of conductive surfaces, such as ion trap, Q-TOF or FT-ICR.

When conventional FETs allow the complete visualization of the fingerprint pattern, MS profiling can be used to provide additional molecular information in relation with the crime scene. However, the direct overlap between the optical and the generated IMS images leave very little ambiguity that both are linked. In this context, we foresee that IMS analyses will only be useful and required in cases where incomplete fingerprint patterns are recovered from conventional FETs (such as overlapping prints, smearing or background contrast issues) or when a specific molecular information (illicit drugs, explosives, gunshot residues, blood...) is required for the progress of the investigation. In these events, even if IMS data acquisition can be perceived to be long (up to 12 h for a full fingerprint analysis under our current IMS conditions), the molecular information associated with the fingerprint may be worth the wait for crime elucidation. In this regard, IMS of only a smaller surface from fingerprint may only be required, thus greatly reducing analysis time.

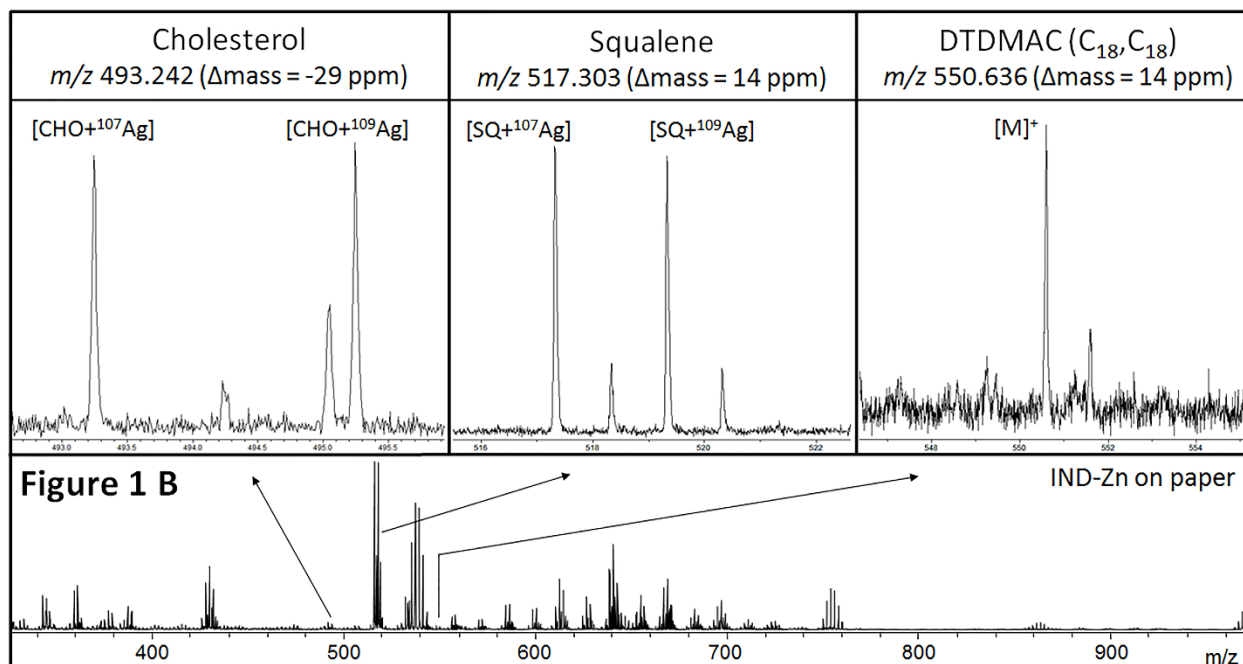
3.6 Conclusions

We demonstrated here the potential of AgLDI IMS for the detection of numerous endogenous and exogenous substances from LFPs first revealed by conventional FETs used by the *Sûreté du Québec*, most of which are also widely used by numerous police forces worldwide. For the first time, we show that TOF MS & IMS methodologies and instrumentation can be applied to the analysis of common porous, semiporous and nonporous surfaces sampled during criminal investigations and revealed by FETs. Indeed, AgLDI IMS could be an interesting fingerprint revealing approach when contrast issues occurred on surfaces such as multicolored substrates using common FETs. We also demonstrated the potential of analyzing fingerprints previously dusted and sampled at a crime scene using forensic lifting tape. Overall, we have found that AgLDI IMS is a fairly simple procedure compatible with numerous conventional FETs. We felt that when it was performed on revealed nonconductive surfaces it could positively contribute to forensic investigations, allowing the full visualization of LFPs with added molecular specificity.

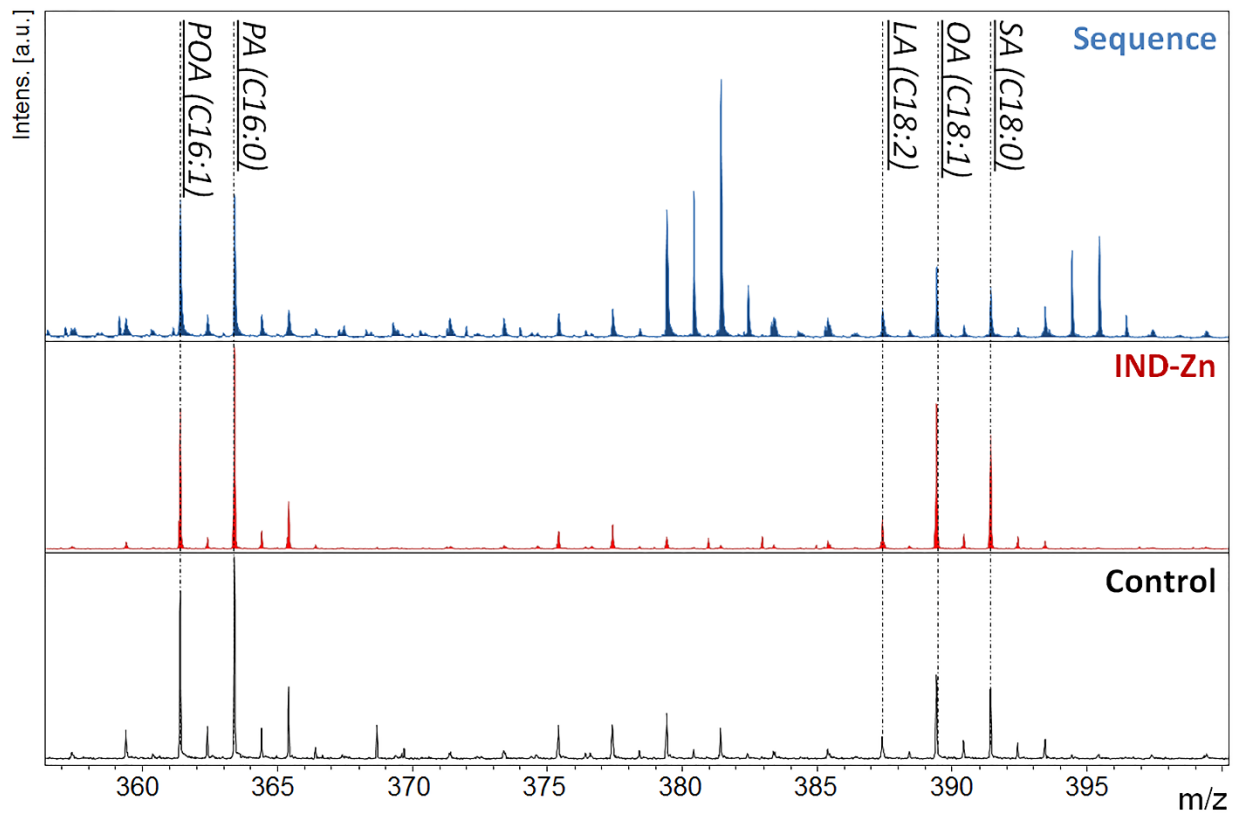
3.7 Acknowledgements

The authors would like to acknowledge Professor Jean-François Masson (Department of Chemistry, *Université de Montréal*) for giving us unlimited access to the silver sputter system. The authors would also like to acknowledge Marie-Eve Gagné and Roxanne Létourneau from the *Sûreté du Québec* for performing FETs on nonconductive surfaces. The authors also acknowledge funding from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC), and the Canadian Foundation for Innovation (CFI).

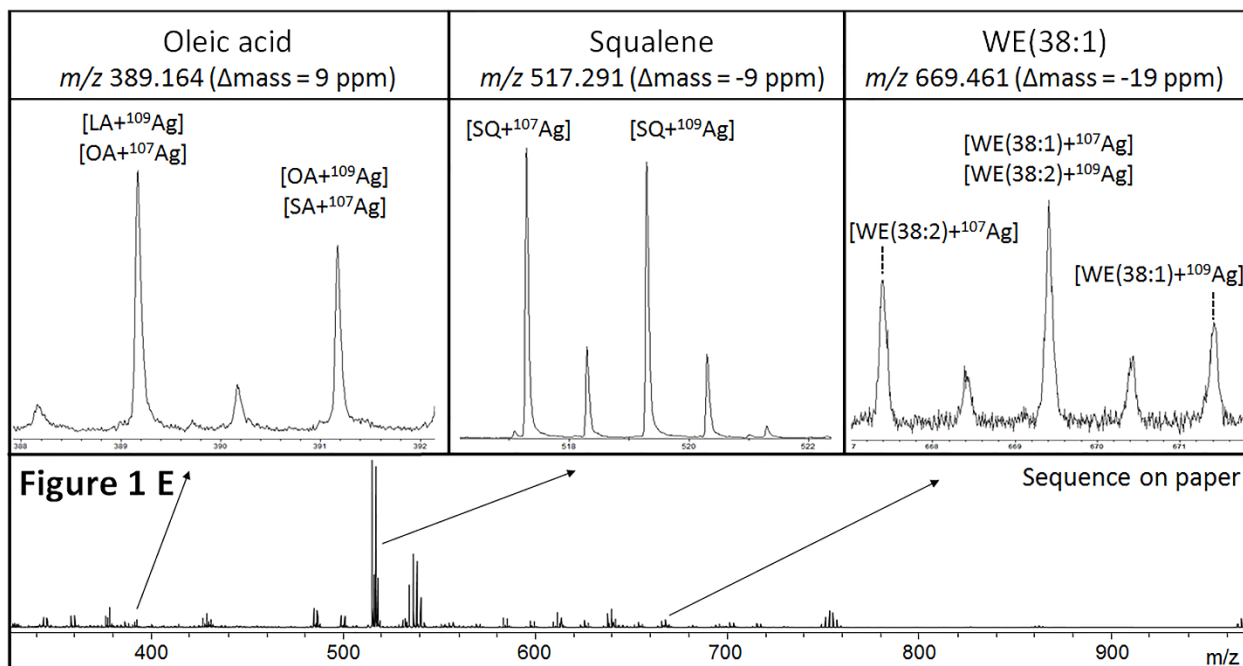
3.8 Supporting Informations



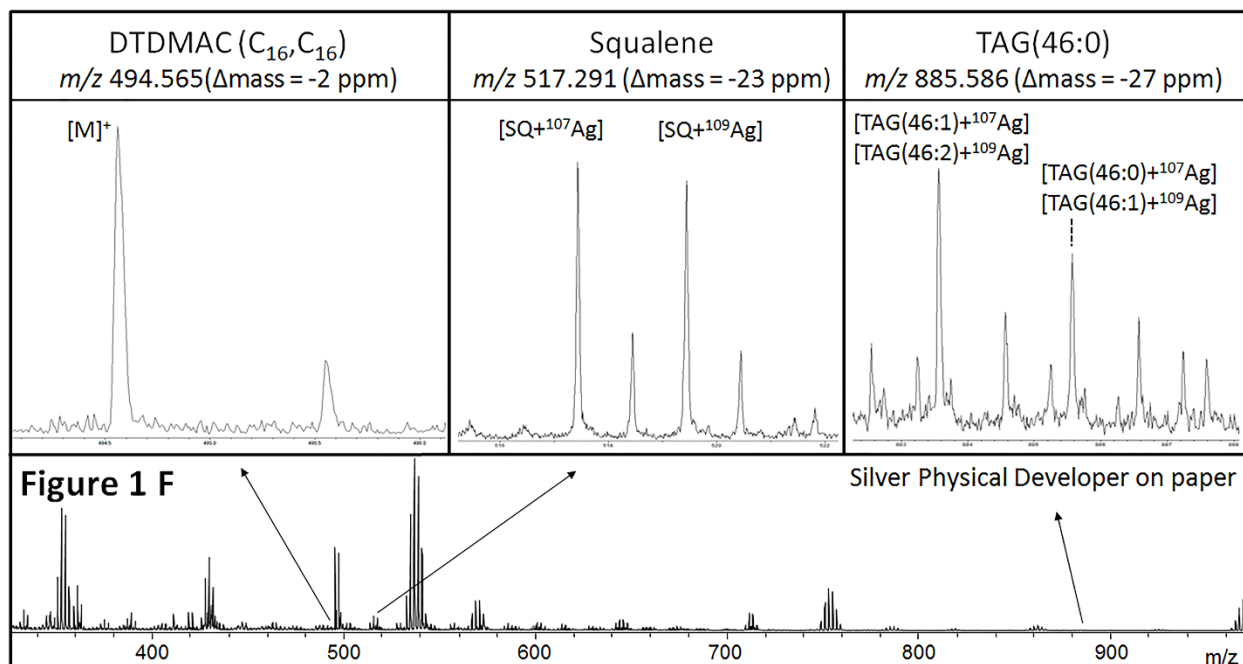
Suppl. Figure 3.1. AgLDI MS spectrum of a latent fingerprint acquired from paper after the IND-Zn process (IND-Zn), zooms of Figure 3.1, B showing signal intensity and mass accuracy of cholesterol, squalene and DTDMAC (C_{18}, C_{18}) respectively.



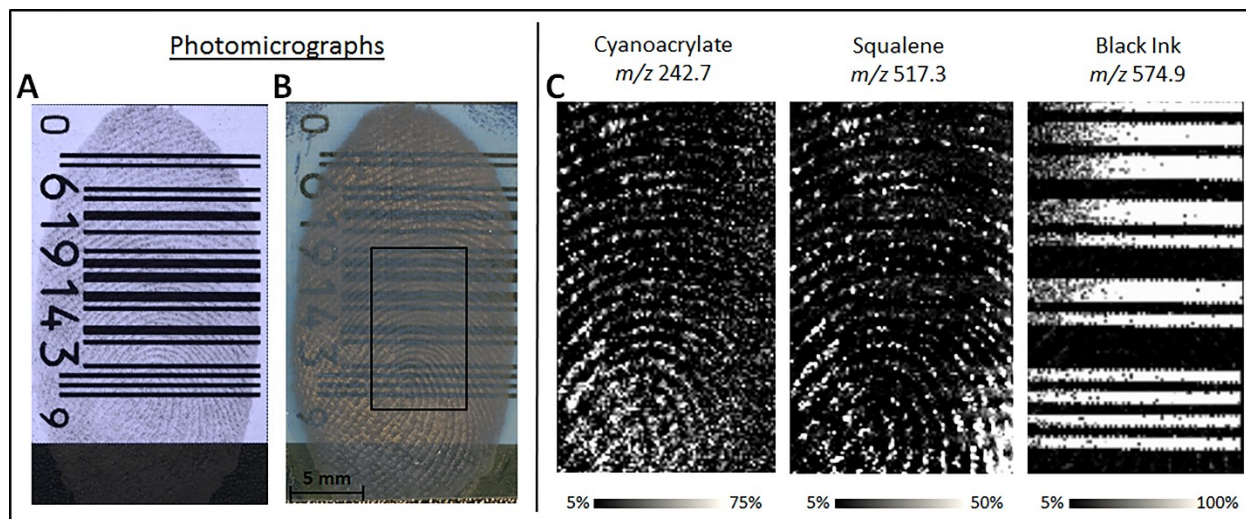
Suppl. Figure 3.2. AgLDI MS spectra of latent fingermarks acquired from paper in the m/z 355-400 range without any FET (Control), after the IND-Zn process (IND-Zn) and after the IND-Zn \rightarrow Ninhydrin \rightarrow ORO sequence (Sequence). Signal intensity comparison of several detected fatty acids: palmitoleic acid (POA), palmitic acid (PA), linoleic acid (LA), oleic acid (OA) and stearic acid (SA).



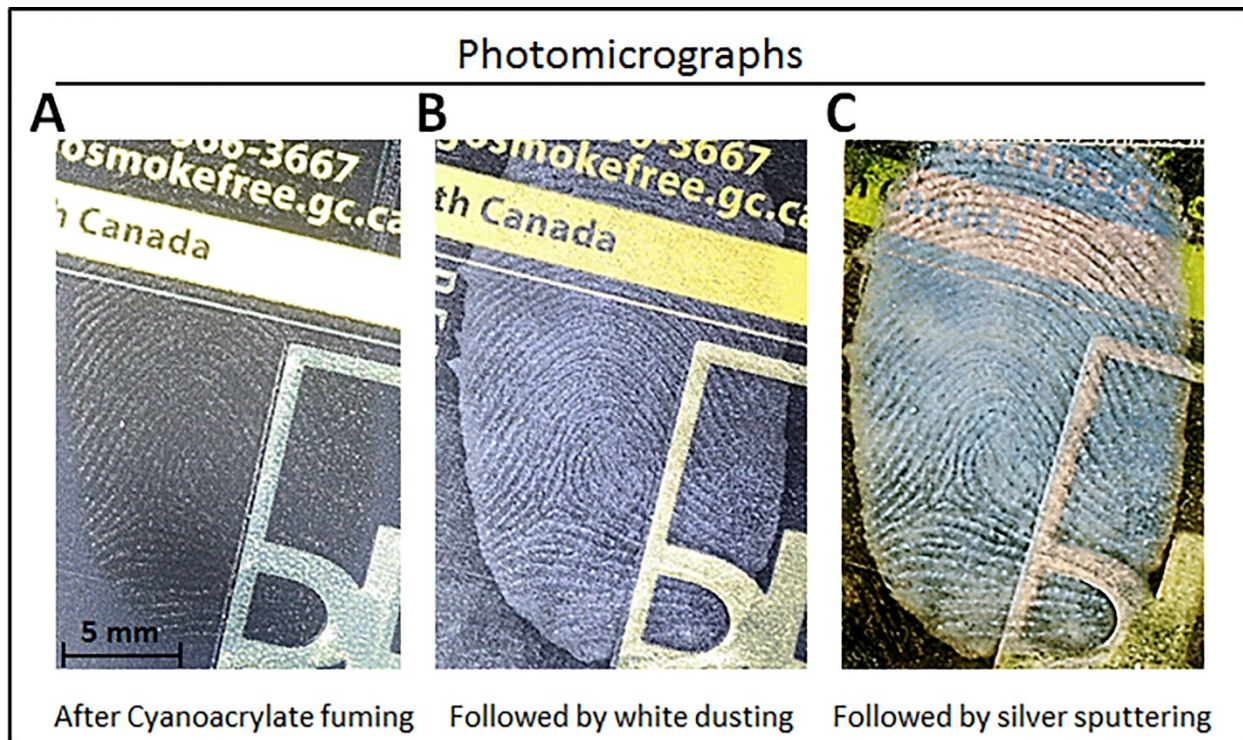
Suppl. Figure 3.3. AgLDI MS spectrum of a latent fingerprint acquired from paper after the sequence process (IND-Zn → Ninhydrin → ORO), zooms of Figure 3.1, E showing signal intensity and mass accuracy of oleic acid, squalene and WE[38:1] respectively.



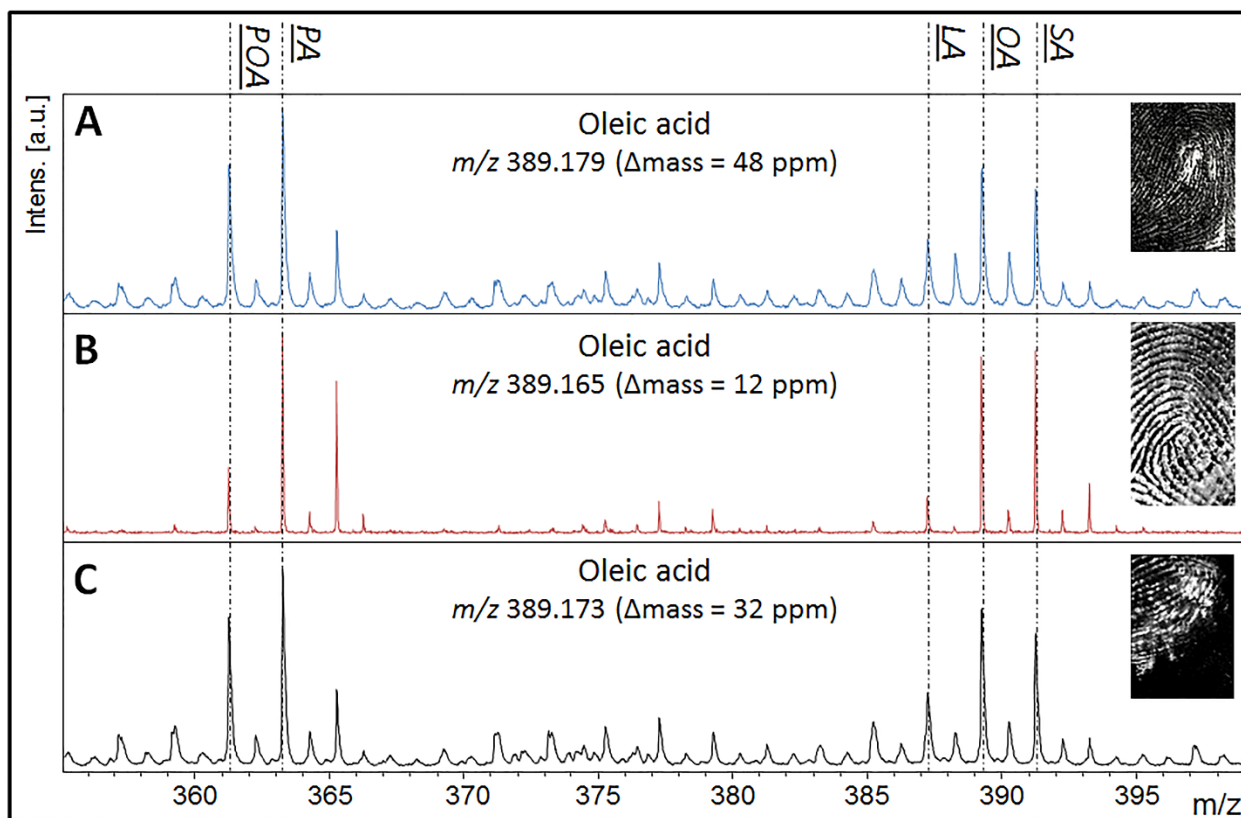
Suppl. Figure 3.4. AgLDI MS spectrum of a latent fingerprint acquired from paper after silver the physical developer process (Ag-PD), zooms of Figure 3.1, F showing signal intensity and mass accuracy of DTDMAC (C₁₆,C₁₆), squalene and TAG[46:0] respectively.



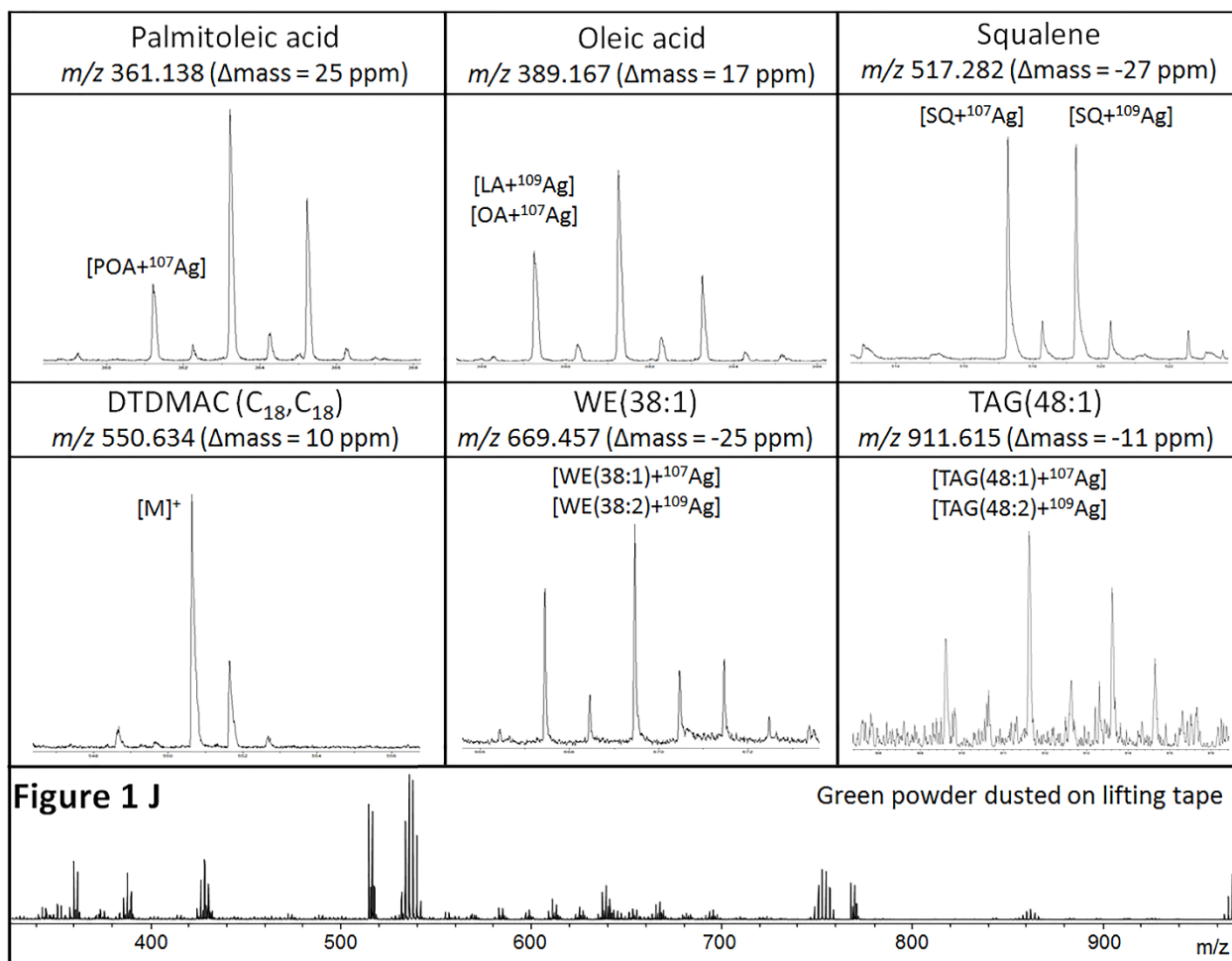
Suppl. Figure 3.5. AgLDI IMS of a latent fingerprint first revealed by cyanoacrylate fuming followed by black powder dusting of a cigarette cardboard. (A) Photomicrograph after cyanoacrylate fuming, (B) Photomicrograph after cyanoacrylate fuming and silver sputtering, and (C) Ion images of *m/z* 242.7 originating from the cyanoacrylate deposit, squalene at *m/z* 517.3 and one signal at *m/z* 574.9 originating from the black ink on the cardboard.



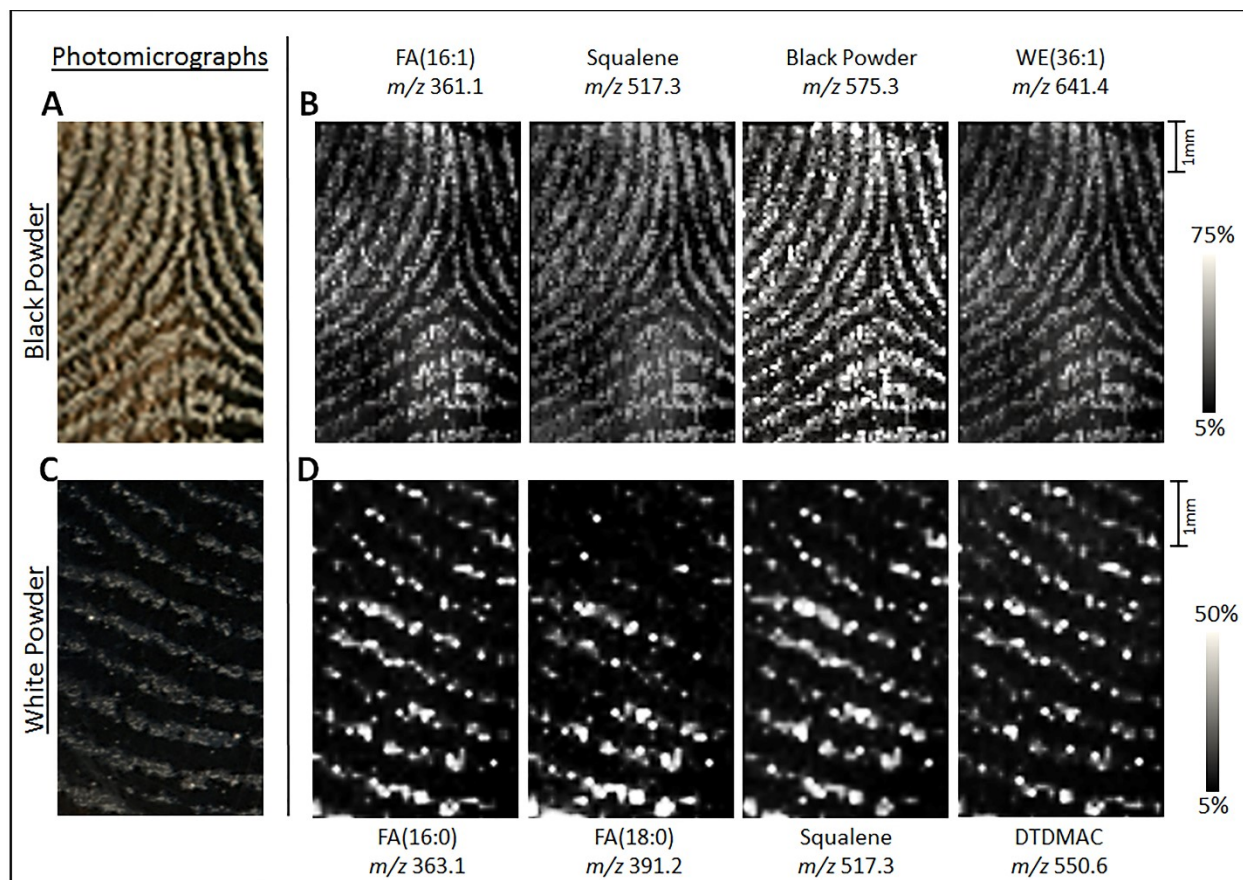
Suppl. Figure 3.6. Photomicrographs of a latent fingerprint on a cigarette cardboard after serial revealing with (A) CAF, (B) white powder dusting and (C) after silver sputtering.



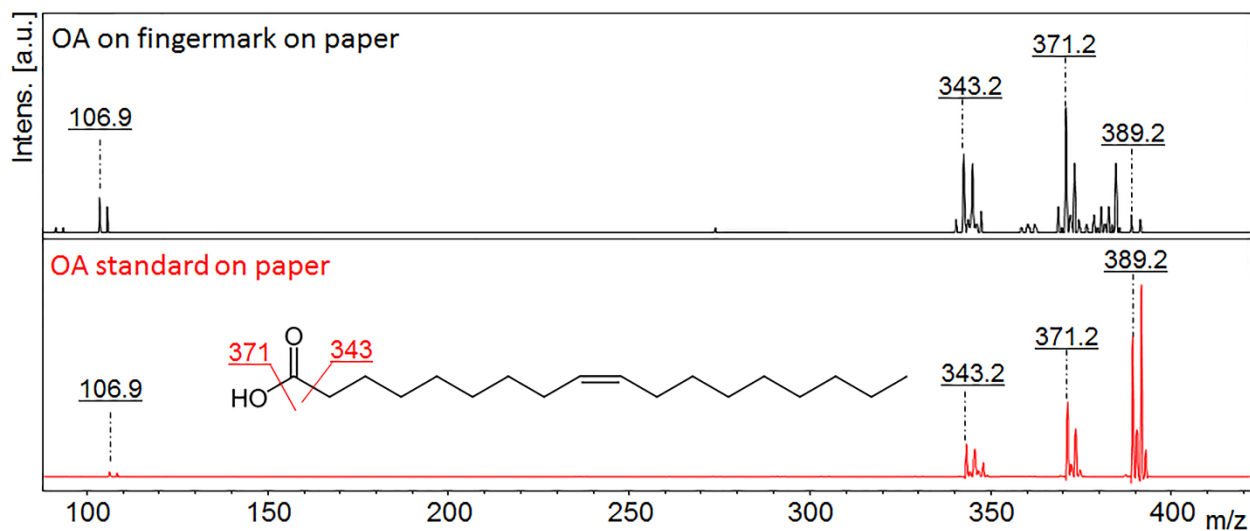
Suppl. Figure 3.7. AgLDI MS spectra of latent fingerprints in the m/z 355-400 range acquired from A) a cigarette cardboard after CAF process, from Figure 3.3, C, B) a plastic bag after CAF and rhodamine 6G processes, from Figure 3.4, C and C) a garbage bag after CAF and rhodamine 6G processes, from Figure 3.4, F. Signal intensity comparison of several detected fatty acids: palmitoleic acid (POA), palmitic acid (PA), linoleic acid (LA), oleic acid (OA) and stearic acid (SA). Mass accuracy for oleic acid detected from each nonconductive surface.



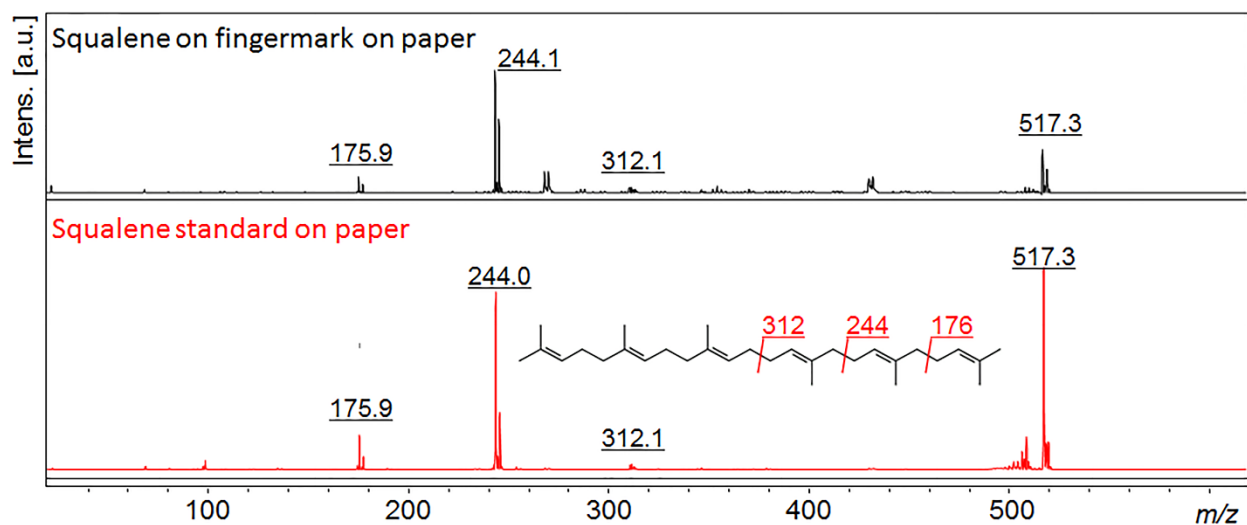
Suppl. Figure 3.8. AgLDI MS spectrum of a latent fingerprint acquired from lifting tape dusted with green fluorescent powder, zooms of Figure 3.1, J showing signal intensity and mass accuracy of palmitoleic acid, oleic acid, squalene, DTDMAC (C₁₈,C₁₈), WE[38:1] and TAG[48:1] respectively.



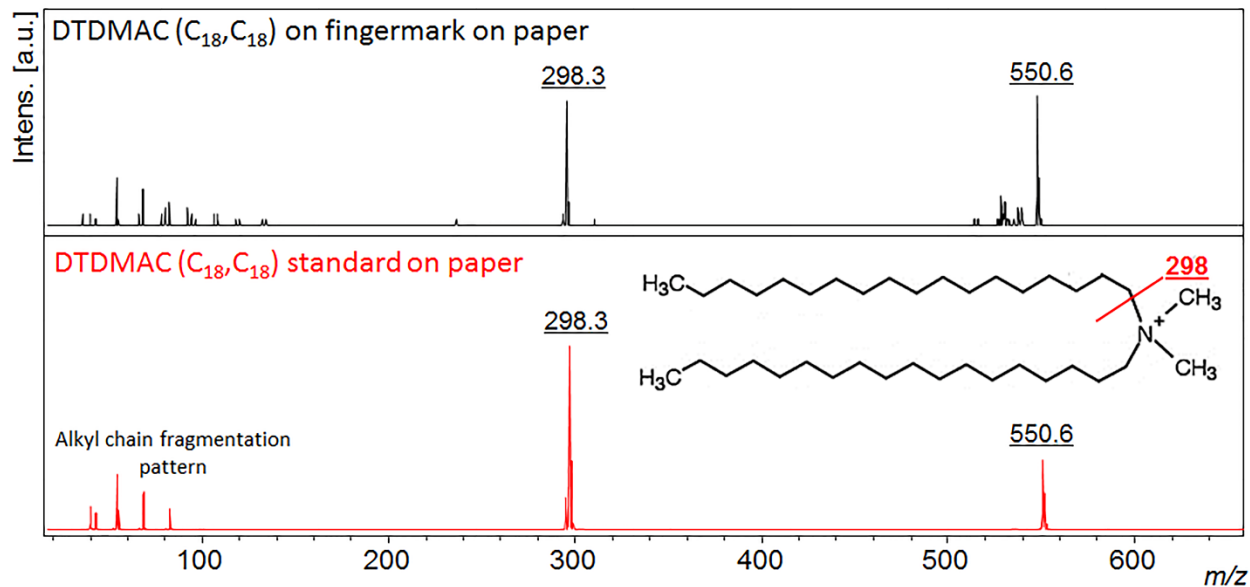
Suppl. Figure 3.9. AgLDI IMS of latent fingerprints acquired from lifting tape dusted with black (top row) or white powder (bottom row). (A, C) Photomicrographs of the lifting tape after dusting and silver sputtering. (B) ion images of palmitoleic acid (m/z 361.1), squalene (m/z 517.3), a signal from the black dusting powder (m/z 575.3) and a wax ester (m/z 641.4). (D) ion images of palmitic acid (m/z 363.1), stearic acid (m/z 391.2), squalene (m/z 517.3) and DTDMAC (C₁₈,C₁₈) (m/z 550.6).



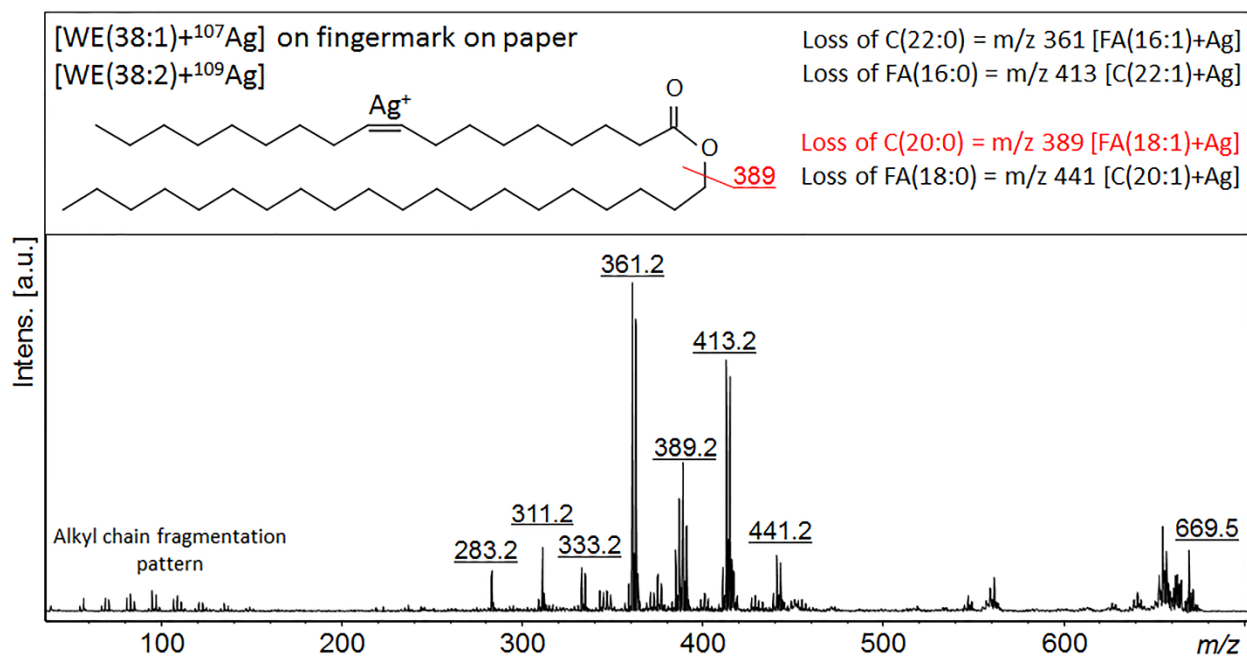
Suppl. Figure 3.10. AgLDI MS/MS spectra of oleic acid (OA). Comparison between the endogenous signal from a fingermark deposited on paper (black) and an OA standard deposited on paper (red).



Suppl. Figure 3.11. AgLDI MS/MS spectra of squalene. Comparison between the endogenous signal from a fingermark deposited on paper (black) and a squalene standard deposited on paper (red).

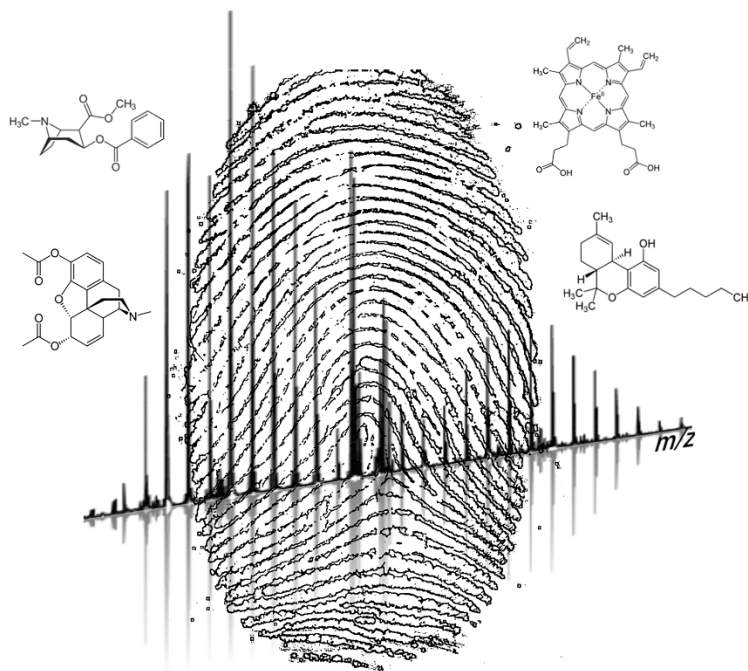


Suppl. Figure 3.12. AgLDI MS/MS spectra of DTDMAC (C_{18}, C_{18}). Comparison between the endogenous signal from a fingermark deposited on paper (black) and a DTDMAC (C_{18}, C_{18}) standard deposited on paper (red).



Suppl. Figure 3.13. AgLDI MS/MS spectrum of m/z 669.5 corresponding to the endogenous WE[38:1] (mixed with WE[38:2]). A fragmentation pathway is proposed.

Chapitre 4. Detection of exogenous substances in latent fingerprints by silver-assisted LDI imaging MS: perspectives in forensic sciences



Published in:

Analyst. **2018**, 143(15), 3586-3594.

Nidia Lauzon¹ and Pierre Chaurand¹

¹ Department of Chemistry, Université de Montréal, Montreal, QC, Canada

4 Résumé du Chapitre 4

Nous démontrons dans ce chapitre que l'AgLDI-TOF IMS est une technique qui peut être utilisée dans une enquête criminelle pour l'apport d'informations circonstanciées. En premier lieu, la spécificité d'une signature moléculaire reliée à un individu a été démontré en se basant sur la détection de certaines substances exogènes en lien avec son mode de vie. Par la suite, le potentiel de détection dans les traces latentes de stupéfiants communément trouvées durant une enquête criminelle, incluant le THC, la cocaïne et l'héroïne, a été effectuée sur diverses surfaces non-conductrices. Finalement, en collaboration avec le SPVM, l'IMS de traces ensanglantées a été effectuée après différentes techniques de révélation forensiques usuelles, telles que le traitement par l'IND-Zn, le noir de naphthalène et le LCV, et ce sur diverses surfaces non-conductrices.

Contribution des auteurs :

Nidia Lauzon a contribué à l'élaboration et la réalisation de l'ensemble des expériences, ainsi qu'à la rédaction du manuscrit.

Pierre Chaurand a contribué à l'élaboration des expériences, la rédaction et la correction du manuscrit.

4.2 Abstract

For over one hundred years, the fingerprint reigned as one of the most trusted pieces of forensic evidence for suspect identification. In the last few decades, the modernization of chemical analysis technologies led scientists to explore new possibilities to further analyze fingermarks sampled from a crime scene. Indeed, the detection of chemicals a suspect has been in contact with before or during the crime can provide valuable insights in criminal investigations. In this regard, imaging mass spectrometry (IMS) has shown to be a powerful tool for the analysis of fingermarks by combining the suspect identification and the detection of numerous endogenous and exogenous compounds. A novel approach developed in our laboratory, silver-assisted laser desorption/ionization (AgLDI), was adapted to allow for the chemical analysis of latent fingermarks left on nonconductive surfaces (such as paper, cardboard, plastic and forensic lifting tape) with a time-of-flight mass spectrometer. In this study, we continue to evaluate the potential of AgLDI IMS to provide circumstantial evidence by detecting exogenous substances. We first demonstrate that owner-specific chemical signatures can be recovered from fingermarks based on the presence of several cosmetics and personal care products. We then show the possibility to detect and image fingermarks containing three common illicit drugs, namely tetrahydrocannabinol, cocaine and heroin. Finally, we demonstrate that the methodology also allows to successfully image bloody fingermarks after the appropriate forensic enhancement treatments. Overall, we believe that AgLDI IMS has significant potential that could positively contribute to forensic investigations.

4.3 Introduction

Forensic evidence refers to any information or object that may be considered in legal proceedings to better elucidate the facts of a case. As such, police inspectors and the courts rely heavily upon forensic evidence to move cases forward, especially for homicides¹⁶⁰. Used for the identification of criminal suspects for over one hundred years, the latent fingerprint (LFP) remains one of the most trusted pieces of forensic evidence⁸. Numerous methods have

been and continue to be developed worldwide to improve its detection and recovery^{38, 132, 147}. In the last decades, the modernization of analytical chemistry technologies led scientists to explore new possibilities in characterizing LFPs sampled from a crime scene, such as the potential to determine its molecular composition^{23, 39, 130}. The LFP residue, also called the fingerprint, is mainly composed of sweat gland secretions mixed with exogenous substances picked up from the surroundings^{30, 39}. Initial molecular studies mainly focused on characterizing the primary constituents of the fingerprint as researchers worked to develop and improve available forensic enhancement techniques (FETs) used for the recovery of the LFP on several type of surfaces^{1, 41-43, 135}. Thereafter, endogenous substances have been analyzed for a greater understanding of their chemical evolution over time, as well as evaluated for their potential to provide forensically relevant information, such as gender and donor's age^{40, 49, 53, 54, 161, 162}. Unfortunately, fingerprints found during an investigation are frequently blurred or smudged. These non-ideal fingerprints are not conducive to suspect identification. However, investigation into the chemistry of a suspect's fingertip can provide glimpses into their lifestyle and personal habits^{74, 129, 130, 163}. In fact, the detection of chemicals that a suspect has been in contact with before or during a crime can provide valuable insights in criminal investigations¹³⁰.

Since the beginning of this century, mass spectrometry has proven to be a powerful tool for the chemical analysis of fingerprints, thanks to its ability to detect numerous extrinsic compounds, such as explosives, illicit drugs, gunshot residues, blood traces, condom residues, pharmaceutical compounds, nicotine, cosmetics and personal care products⁷³⁻⁸⁴. As such, imaging mass spectrometry (IMS) is particularly well suited for the analysis of fingerprints since it provides the suspect identification (through visualizing the ridge pattern defined by the molecular images) and the chemical composition of the fingerprint that can be gathered as additional investigative information^{75, 78, 84, 116, 125, 154, 155}. In our previous work, we published a novel approach for the analysis of fingerprints, named silver-assisted laser desorption/ionization (AgLDI) IMS¹⁵⁶. Initially used for the IMS of various olefin-containing molecules in thin tissue sections, such as cholesterol and fatty acids⁹⁹, AgLDI IMS has shown to be well adapted for the analysis of fingerprints using a time-of-flight (TOF) mass spectrometer. In fact, the deposition of metallic silver by sputtering allows high-

resolution IMS and the detection of several classes of biomolecules, such as fatty acids, wax esters, squalene, cholesterol and triglycerides, as well as some common contaminants including polymers (polypropylene and ethylene glycols) and ditallowdimethylammonium compounds (DTDMACs). Not only so, the sputtered silver layer makes the target surface conductive, allowing for the analysis of latent fingermarks on nonconductive surfaces using a co-axial TOF mass analyzer. This is especially important because LFP evidence in forensic investigations can be found on all types of surfaces and enhanced using a variety of FETs. In this regard, we demonstrated the potential of this method to be incorporated into forensic operational procedures. For this purpose, latent fingermarks were prepared on common nonconductive surfaces, including paper, cardboard, plastics and forensic lifting tape, enhanced by the *Sûreté du Québec* (Police force of the province of Quebec) using conventional FETs and sputtered with silver for IMS ¹⁶⁴. Overall, we showed that AgLDI IMS can provide visual enhancements of fingerprint patterns after FETs, especially when a contrast issue occurs on multicolored surfaces, such as cigarette cardboard.

In this study, we continued to evaluate the potential of AgLDI IMS to be implemented as an additional alternative method for forensic identification here in the province of Quebec. Here we focus on its ability to detect several additional exogenous substances that could positively contribute to forensic investigations.

4.4 Experimental

4.4.1 Chemicals and Materials

(-)-Trans- Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC), cocaine (COC) and heroin (HER) were purchased from Sigma Aldrich, St-Louis, MO, USA. Bovine Whole Blood was purchased from Innovative Research Inc. (Novi, MI, USA). The amido black and leuco crystal violet reagents (Laboratory MAT Inc., QC, CA) and the 1,2-Indanedione-Zinc working solution were provided by the Montreal police force (*SPVM*). ITO-coated slides were purchased from Delta Technologies (Loveland, CO, USA). The silver sputter target 3N5 (99.95% purity) was purchased from ESPI Metals (Ashland, OR, USA). Clear 3M fingerprint lifting tape was purchased from Arrowhead

Scientific, Inc. (Lenexa, KS, USA). Double-sided carbon conductive tape was purchased from Ted Pella, Inc. (Redding, CA, USA).

4.4.2 Preparation of fingerprints

Groomed latent fingerprints were prepared on ITO-coated slides, glass slides and porous surfaces according to published preparation methods (see Supplemental material for details) ¹¹⁶. In order to analyze exogenous substances commonly present in the fingerprint residue, contrary to the guidelines for the assessment of fingerprint detection, groomed fingerprints were prepared by rubbing the fingertip on multiple skin areas ¹⁶⁵. Fingerprints were obtained in a de-identified manner. Informed consent was obtained from all human subjects. All procedures were approved by the Health Canada Research Ethics Board and comply with the Ethical Principles set out in Tri-Council Policy Statement: Ethical Conduct for Research Involving Humans guidelines. Fingerprints spiked with THC, COC and HER were prepared by depositing on the fingertip 5 μL of a standard mix diluted to 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (0.5 μg of each drug). The droplet was allowed to dry and a fingerprint was deposited on a glass slide. For lifting tape measurements, the latent fingerprint was then sampled using a forensic lifting tape and mounted on an ITO-coated slide using double-sided carbon conductive tape. Fingerprints spiked with street cocaine were prepared by rubbing the fingertip on gloves contaminated with street cocaine provided by the Quebec Police, (*Sûreté du Québec*). The contaminated fingertip was either pressed on an ITO-coated slide, a glass slide or a sheet of paper. The fingerprint deposited on the glass slide was then lifted as previously described. Bloody fingerprints were prepared by pricking a fingertip with a sterile lancet. The blood was partially distributed on another fingertip and pressed on ITO-coated slides, glass slides and sheets of paper.

4.4.3 Limit of detection (LOD) of illicit drugs by AgLDI IMS

Serial dilutions of the drug mixture (THC, COC and HER) in acetonitrile/water (1:1) were prepared in order to obtain concentrations of 100, 10, 1, 0.1 and 0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$. From each solution, 0.5 μL were deposited on an ITO-coated slide and allowed to dry prior to silver sputtering (see below). Limits of detection were calculated in ng/cm^2 as determined by

dividing the amount of drug over the surface of the dried droplet (see Calculations in Supplemental information for details).

4.4.4 Limit of detection (LOD) of heme after amido black or leuco crystal violet treatments by AgLDI IMS

Serial dilutions of bovine whole blood ranging from 1/100 to 1/16 000 in MilliQ water were prepared. From each solution, 0.5 μL were deposited on an ITO-coated slide and allowed to dry. Amido black treatment is composed of three steps: fixation, staining and washing. Leuco crystal violet treatment is executed in one step. Once dry, silver sputtering was performed prior to AgLDI IMS analysis (see Supplemental material for details).

4.4.5 IMS of fingerprints on nonconductive surfaces

Double-sided carbon conductive tape was first applied to ITO-coated slides. All nonconductive surfaces containing the fingerprints were then mounted on the tape as previously described (see Supplemental material for details) ¹⁶⁴.

4.4.6 Sputter Coating

Metallic silver was sputtered on top of fingerprints using a Cressington 308R sputter coater (Ted Pella, Inc. Redding, CA, USA) as previously described (see Supplemental material for details) ⁹⁹.

4.4.7 AgLDI IMS of fingerprints

Profiling and IMS of fingerprints were performed on a MALDI TOF/TOF Ultraflextreme mass spectrometer equipped with a SmartBeam II Nd:YAG 355 nm laser operating at 1000 Hz for analysis on ITO-coated slides and 250 Hz for analysis on nonconductive surfaces (Bruker Daltonics, Billerica, MA). For IMS data acquisition, 500 shots were summed per array position with a lateral resolution of 75 μm using the "medium" focus setting.

Profiling and IMS were acquired in the 100-1100 Da mass range using the reflectron TOF geometry under optimized delayed extraction conditions with a source acceleration voltage

of +25 kV. For AgLDI IMS, internal calibration was carried out in quadratic mode using the exact mass of the silver clusters present in all spectra as previously described ¹⁵⁶. IMS data were reconstructed and visualized without normalization using the FlexImaging 4.1 software (Bruker Daltonics). Compound identification was performed by AgLDI tandem MS on an ultrafleXtreme mass spectrometer and compared to the accurate mass measurements of previously published results ¹⁵⁶.

4.5 Results and discussion

4.5.1 *The fingermark: a chemical signature of our lifestyles*

A fingermark is mainly composed of several endogenous substances, body wastes and toxins secreted during perspiration. It is also a host to microbial communities and contaminants from the external environment. Consequently, an examination of the chemistry of a suspect's fingertip by MS can provide a wealth of information on the owner's lifestyle, including the diet, medication, general hygiene, personal care products used and locations visited ^{74,130}. In forensic investigations, the profiling of a suspect's lifestyle can lead to a better understanding of the facts of a case. In previous work, we have demonstrated the potential of AgLDI MS to be performed on ungroomed fingermarks ¹⁵⁶. However, this approach of preparing fingermarks does not consider hand-to-face contact, which is one of the major source of exogenous cross-contamination. In this regard, we choose to work here with groomed fingermarks in order to analyze exogenous substances commonly present in fingermark residues.

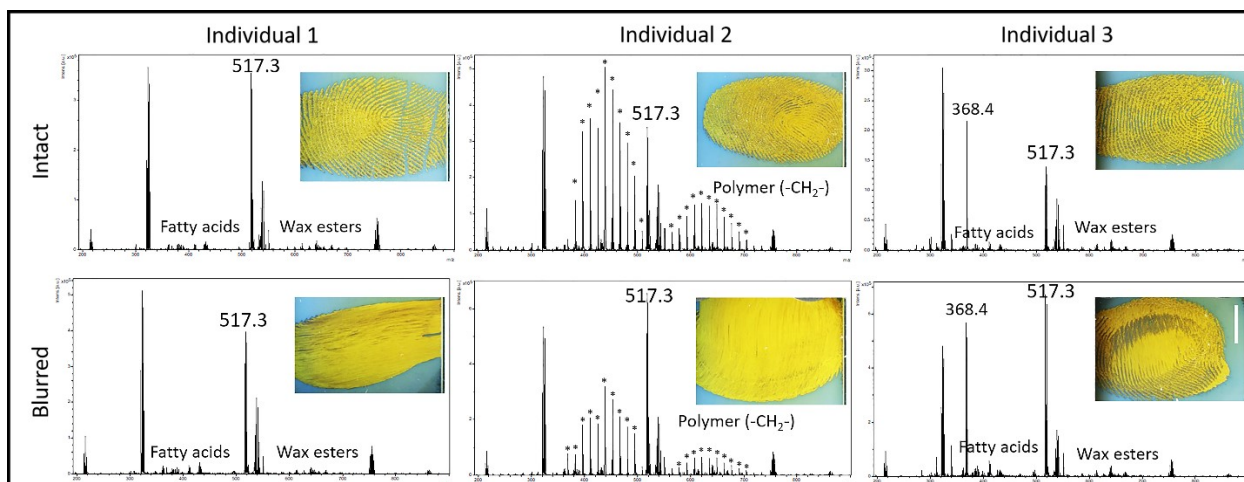


Figure 4.5.1 AgLDI MS of intact and blurred fingerprints from three different individuals deposited on ITO-coated glass slides. Signals from 5000 laser shots were accumulated to generate each spectrum. Insets show photomicrographs of the fingerprints after silver sputter deposition (Bottom/Right: Scale bar = 5 mm).

Let us imagine a scenario where the only fingerprint located on the murder weapon is blurred and cannot lead to the identification of the suspect. Other intact fingerprints were located at the crime scene. Would it be possible to unequivocally link the molecular composition of this blurred fingerprint to that of an intact one that can clearly identify the suspect? In order to evaluate this concept, three anonymous individuals were asked to place their fingertips on an ITO-coated slide to produce 1) an intact and 2) a blurred fingerprint. After metallic silver deposition, MS spectra (5000 laser shots accumulated) were acquired from each fingerprint and their MS signatures were compared. As shown in Figure 4.5.1, a strong MS profile correlation was obtained between the intact and blurred fingerprints of the same individual. Moreover, each individual displayed a unique chemical signature. The profiling results of Individual 1 is a typical signature of a “clean hand” where the presence of many endogenous substances (fatty acids, squalene, wax esters and triglycerides) and of a few contaminants (DTDMAC, m/z 550.63) can be observed¹⁵⁶. Individual 2, however, presented a distinctive molecular pattern displaying distributions of peaks with a 14 Da mass difference, presumably corresponding to incremental $-CH_2-$ units. This specific pattern is most likely indicative of the presence of petroleum derived polymers, such as paraffin, which are commonly added in cosmetics and creams to bind the ingredients together. Individual 3 displayed the presence of a new contaminant (m/z 368.423) absent in the other

two profiles. When considering the exact mass, isotopic profile and MS/MS analysis (Suppl. Figure 4.1) of this compound, the sum of the results strongly suggests the presence of a quaternary ammonium compound with a formula of $[C_{25}H_{54}N]^+$, such as trioctylmethylammonium (m/z 368.425). Such compounds are surfactants originating from personal and household products, and are known as a major source of contamination in MS, especially DTDMACs ¹⁴³.

As demonstrated above, identifying exogenous substances in fingermark remains a big challenge. Some substances, such as polymers, will display specific patterns, but in most cases, many of these extrinsic substances cannot be immediately fully identified. In this regard, for AgLDI IMS to become a practical method in forensics, a library of all exogenous substances that can be detected by this method needs to be built. While these results show that intelligence can be recovered from fingermarks using AgLDI MS, it must be noted that this concept does not in itself constitute a piece of evidence in criminal proceedings and cannot be used in all situations. The time between the fingermark deposition and the investigation also needs to be considered since its molecular composition will undergo modifications over time ^{1, 39, 116}. However, we believe that this concept is interesting and can in some cases be used as a supporting information for a greater understanding of the facts of a case.

4.5.2 Detection and imaging of illicit drugs in fingermarks

The detection of illicit substances in fingermarks can provide information on the suspect's activities before or during the commitment of a crime. Mass spectrometry has demonstrated itself as a powerful tool in forensic sciences in detecting illicit drugs and their metabolites ^{75, 79-81, 125}. The potential of AgLDI IMS to detect illicit drugs has yet to be evaluated. Three drugs commonly found during criminal investigations were analyzed, namely tetrahydrocannabinol (THC), cocaine (COC) and heroin (HER). Initially, the drug standards were deposited on an ITO-coated slide 1) previously cleaned with ethanol wipes and 2) containing a fingermark. On the clean ITO-coated slides, THC, COC and HER were detected by AgLDI MS as argentinated adducts, which forms a characteristic doublet due to the specific ¹⁰⁷Ag (51.84%) and ¹⁰⁹Ag (48.16%) isotope pattern (Suppl. Figure 4.2). No signals

were observed for the protonated, sodiated or potassiated drugs on the fingermarks. As expected, the m/z 182.12 in-source fragment of COC was observed, which can also provide greater sensitivity for IMS analysis. However, it cannot lead to unambiguous cocaine identification since other illicit drugs also generate this fragment ion such as ecgonine methyl ester (EME) and 3,4-methylenedioxy-N-ethyl-amphetamine (MDEA) ⁷⁵. For further compound identification of drug samples coming from criminal investigation, MS/MS analysis of THC, COC and HER was performed from clean surfaces and fingermarks (Suppl. Figure 4.3-4.5). As expected, losses of AgH were observed for each compound ¹⁶⁶. The fragmentation patterns proposed are based on existing literature ¹⁶⁷⁻¹⁶⁹.

To test the sensitivity of the method, the limit of detection (LOD) of the three drugs for AgLDI IMS were subsequently investigated. For this purpose, spots of 0.5 μL of the mixed drug solution varying from 100 to 0.01 $\mu\text{g/mL}$ were first deposited on an ITO-coated slide. Silver sputtering was performed prior to IMS analysis, using the same parameters as for fingerprint imaging. The LODs were reported as the amount of drugs in 0.5 μL droplets divided by the area of the droplet spot area after drying (ng/cm^2). The same acetonitrile/water ratio was conserved during the preparation of the solutions in order to maintain a similar spot size across concentrations. As shown in Suppl. Figure 4.6, HER and COC were detectable by AgLDI IMS at concentrations down to 0.01 $\mu\text{g/mL}$, corresponding to a LOD of 5 pg or 0.16 ng/cm^2 whereas THC was only detectable down to 1 $\mu\text{g/mL}$, corresponding to a LOD of 50 ng or 16 ng/cm^2 . These LODs represent sensitivities in an ideal case, in order to establish a threshold for further analysis. In fact, the drug sensitivities will greatly change depending on 1) the type of surface where the fingerprint is located, 2) if the fingerprint was lifted from this surface and 3) the FET used during the forensic process. This extensive investigation was previously performed by MALDI IMS and showed that in some cases, these parameters can significantly decrease sensitivity for the detection of illicit drugs ⁷⁵. However, the goal of our study is not to evaluate all these interferences and their impact on the analytical sensitivity but only to evaluate the potential of AgLDI to detect and image illicit drugs, information that could contribute to forensic investigations. To demonstrate the potential of detecting these illicit drugs in fingerprints, spiked fingerprints were prepared after the artificial doping of fingertips. For this experiment, the amount of illicit drug used to

spike the fingermark was selected in order to detect THC after the retrieval of the fingermark with lifting tape. As a result, 0.5 μg of each drug were deposited on a fingertip, which approximately corresponds to the wetting of a 1 cm^2 surface, therefore corresponding to a LOD of 500 ng/cm^2 (Figure 4.5.2). Many reasons can explain this major decrease in sensitivity, such as 1) the loss of drug during the transfer from the fingertip to the glass slide, 2) the loss happening during the second transfer from the glass slide to the forensic lifting tape and 3) the possible lower drug desorption/ionization efficacy from the forensic lifting tape with respect to the ITO-coated glass slide.

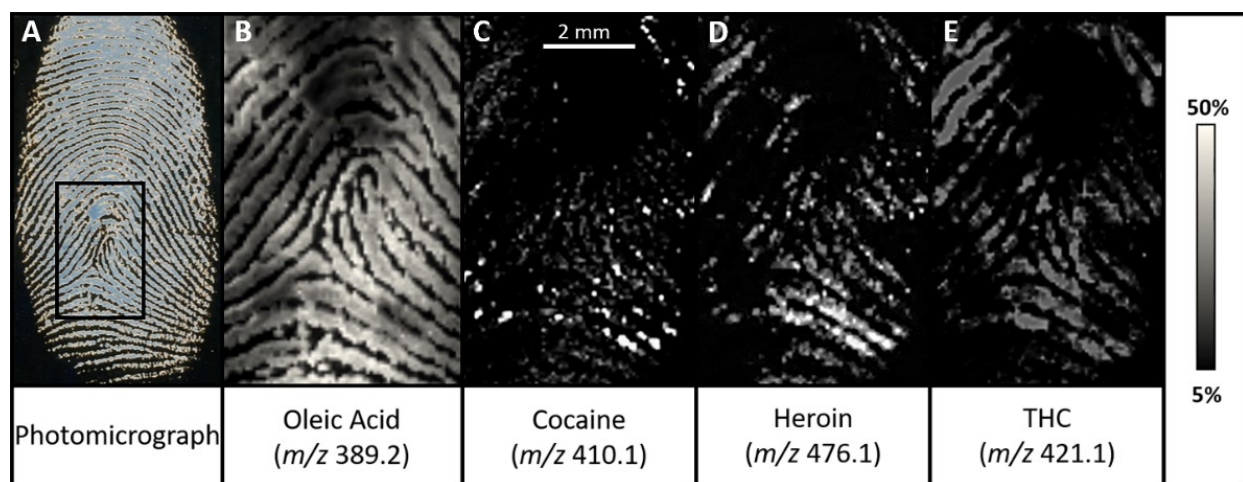


Figure 4.5.2 AgLDI IMS of a fingermark spiked with illicit drugs after retrieving with forensic lifting tape. A) Photomicrograph of a spiked fingermark retrieved with a lifting tape after silver sputter deposition. IMS results from the lifting tape for B) oleic acid at m/z 389.2, C) cocaine at m/z 410.1, D) heroin at m/z 476.1 and E) tetrahydrocannabinol (THC) at m/z 421.1.

Another aspect to consider is the non-purity of drugs found in streets, such as cocaine, which is known to be cut with several other substances. To evaluate this potential, fine particles of street cocaine were obtained from the *Sûreté du Québec* after glove sampling. A groomed fingertip was rubbed on the contaminated gloves and the fingermarks were deposited on 1) a cleaned ITO-coated slide, 2) a sheet of paper and 3) a nonconductive glass slide. The doped fingermark was then retrieved with forensic lifting tape from the nonconductive glass surface and the tape was subsequently mounted on an ITO-coated slide for IMS analysis. The weight of the fine particles was not determined, due to the small initial drug amounts on the gloves. Regardless, the cocaine signals at m/z 410.06 and of its in-source fragments (ISF) at

m/z 182.12 were easily detected by AgLDI IMS from the three surfaces. The ISF of cocaine was used to generate the IMS results of the fingermarks, due to its higher intensity (Figure 4.5.3). The presence of cocaine was confirmed by MS/MS before and after IMS analysis.

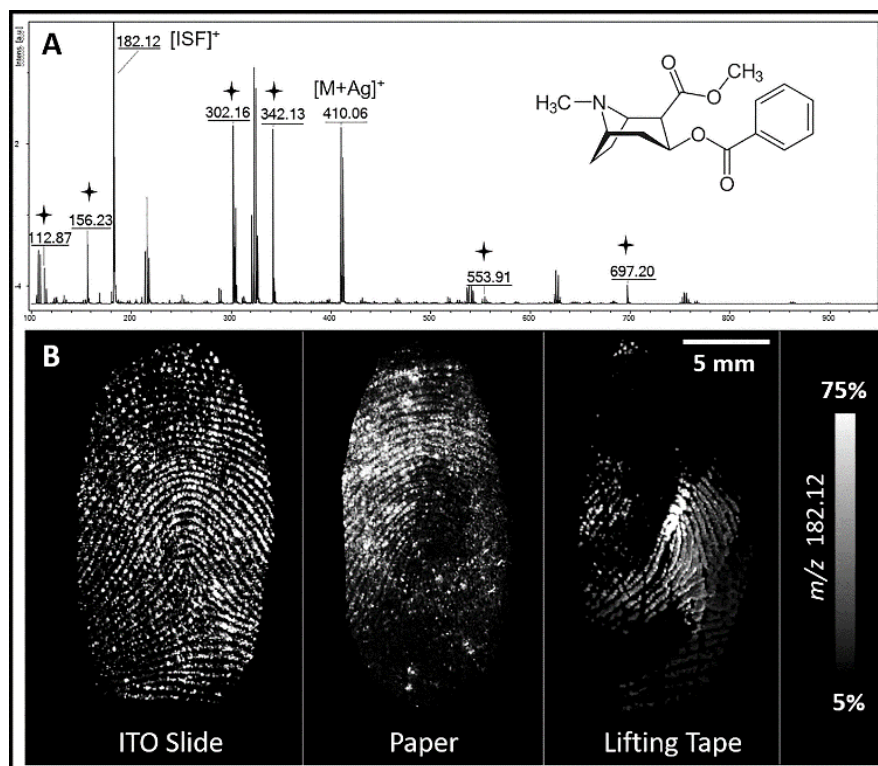


Figure 4.5.3 AgLDI MS & IMS of fingermarks doped with street cocaine provided by the Quebec Police (*Sûreté du Québec*). A) AgLDI MS of cocaine (m/z 410.06), its in-source fragment (ISF, m/z 182.12) and other unidentified compounds (✦) detected in the street mixture. B) AgLDI IMS of traces of street cocaine (m/z 182.12 ion) present in fingermarks deposited on ITO-coated slide, paper and retrieved with a forensic lifting tape from a nonconductive glass slide.

Overall, these results strongly demonstrate the potential of AgLDI IMS to detect and image traces of illicit drugs (THC, COC and HER) in fingermarks. Such information can be useful in criminal investigations, since drug detection can provide additional information on a suspect's lifestyle and behaviors or may assist in strengthening hypotheses made by investigators.

4.5.3 *Detection and imaging of traces of blood in fingerprints*

Hemoglobin is the main component of mammalian red blood cells, accounting for 97% of the cell's dry weight ¹⁷⁰. This biologically important complex is composed of four globular proteins, each associated to a heme group consisting of a porphyrin containing an iron ion in its center designed to carry gas molecules, namely oxygen and carbon dioxide. It has been demonstrated that the detection of hemoglobin and heme in fingerprints can be used to confirm the presence of blood ⁸⁴. Detecting blood in fingerprints found at the crime scene can provide valuable insights into the elucidation of the crime. However, depending on its composition, specialized FETs are required to detect bloody fingerprints found during an investigation. Three main categories of chemical development methods can be used, namely (1) amino-reactive compounds, (2) protein stains and (3) heme-reactive compounds ⁷².

(1) Amino-reactive compounds will specifically react with the terminal amino groups on free amino acids, peptides and proteins present in blood plasma, in addition to those present in the fingerprint residue. Among several reagents, 1,2-Indanedione-Zinc (IND-Zn) is particularly well-suited for the enhancement of bloody and unbloody fingerprints on porous surfaces. The effectiveness of this reagent comes from the fluorescence of the product after reacting with amino acids. After localizing and imaging the fluorescent fingerprint under laser light excitation (532 nm), subsequent DNA profiling can be performed to confirm the presence of blood or for suspect identification ¹⁷¹.

(2) Protein stains are commonly used in biochemistry to detect, identify and quantify the presence of specific classes of compounds, such as proteins ¹⁷². Since these are highly abundant in blood, protein staining protocols to enhance bloody fingerprints during investigation have been developed. Depending on the type of surface (non-porous, semi-porous or porous) and color, different dyes can be used to generate the best contrast for enhancing the fingerprint. Among these, amido black (or acid black 1) has been a common diazo dye used for the enhancement of bloody fingerprints since the beginning of the '70s ¹⁷³. It is important to note that protein staining enhancements cannot be used as a confirmatory test for blood for the very reason that proteins are also present in other bodily

fluids such as semen. However, a blood confirmatory test can be performed by DNA profiling after amido black staining ¹⁷⁴.

(3) Heme-catalyzed reagents will specifically react with the heme moiety of hemoglobin in blood traces. One approach takes advantage of the peroxidase-like activity of hemoglobin in blood whereby an oxidation reaction in presence of peroxide will convert a colourless reagent such as leuco crystal violet (LCV) to an oxidized coloured product. Amongst the most commonly used reagents, LCV is a safe, simple and effective reagent for blood enhancement in fingerprints as well as for shoe prints. This category is more specific for blood and can be used to indicate its presence at the crime scene. However, false-positives should be taken into consideration since heme can also be detected in animal blood, plant and microbial cells ⁷². Moreover, molecules having peroxidase activity like hemoglobin can also lead to the oxidation of LCV.

For this study, we evaluated the potential of AgLDI IMS to image bloody fingerprints, which were previously enhanced using these common blood reagents. From each category, an ion was selected in order to provide the best sensitivity and recovery of the fingerprint pattern (Figure 4.5.4). The limitations of this methodology are discussed below.

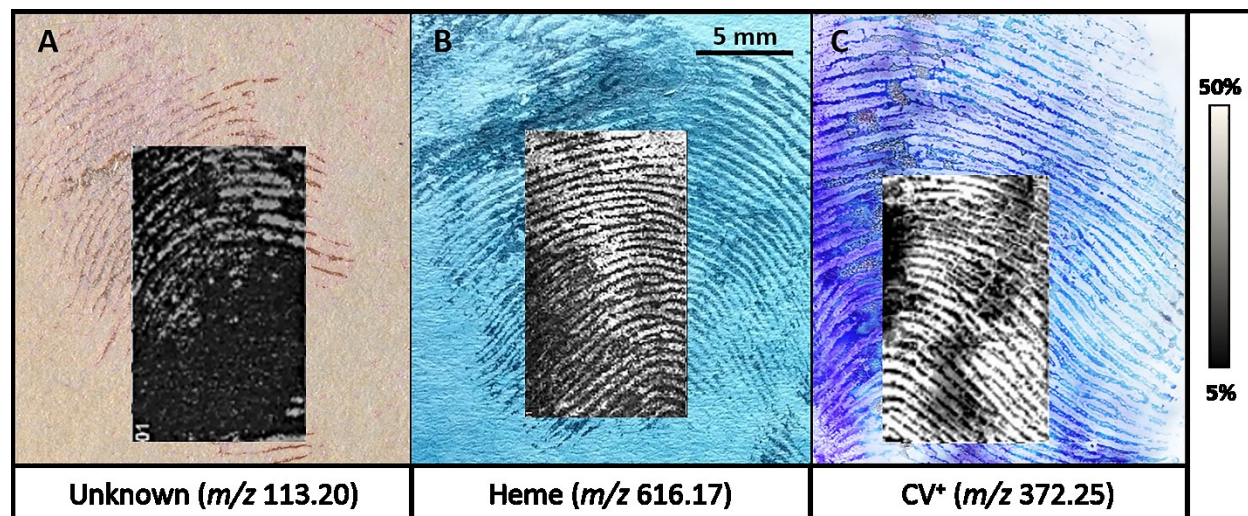


Figure 4.5.4 AgLDI IMS of human bloody fingerprints on nonconductive surfaces after chemical enhancements. Photomicrographs of A) paper after IND-Zn treatment, B) paper after amido black staining and C) forensic lifting tape after LCV treatment. Insets show AgLDI IMS of bloody fingerprints acquired after chemical development: A) unknown compound (m/z 113.16), B) heme (m/z 616.17) and C) CV⁺ (m/z 372.25).

(1) 1,2-Indanedione-Zinc treatment allows the imaging of traces of blood on porous surfaces by AgLDI IMS using an unknown signal at m/z 113.2 (Figure 4.5.4, A). This technique does not allow the detection of the heme group from hemoglobin (heme subgroup b), probably due to heat processing. Further investigations on this reagent were not performed due to lack of sensitivity by AgLDI IMS when compared to the other blood enhancement techniques (see below).

(2) Amido black staining is particularly interesting for AgLDI IMS analysis since it allows to detect the M^+ heme b ion at m/z 616.17, previously reported with a molecular formula of $[C_{34}H_{32}O_4N_4Fe_1]^+$ and a theoretical m/z value of 616.180¹⁷⁵. AgLDI tandem MS analyses were also performed and compared to the traditional MALDI MS/MS measurements to confirm the heme identity (Suppl. Figure 4.7)⁸⁴. It is interesting to note that the M^+ heme b ion was not detected by AgLDI MS prior to amido black treatment. It has been shown that lower pH leads to the protonation of the histidine bound to the iron in the porphyrin, which also decreases its affinity for oxygen^{176, 177}. Under acidic conditions, the iron is suspected to be oxidized (Fe^{3+}) therefore allowing the detection of M^+ heme b ion by MS after the amido black treatment, as with acidic MALDI matrices. To evaluate heme detection sensitivity by AgLDI IMS after amido black treatment, serial dilutions of bovine blood were prepared and droplets of 0.5 μ L were spotted on an ITO-coated slide. IMS and staining results suggested the detection sensitivity for blood diluted as low as 4000-fold (Suppl. Figure 4.8, C-D). A fingerprint containing human blood was also prepared on an ITO-coated slide and first treated with amido black prior to AgLDI IMS analysis (Suppl. Figure 4.8, B). We were successful in imaging the heme group as well as other substances from the fingerprint after amido black treatment, which in the example shown led to a better recovery of the entire fingerprint pattern in combination with the oleic acid signal. Amido black staining can be performed on several types of surfaces, such as paper, creating a light blue background on the surface (Figure 4.5.4, B). However, when performed on non-porous surfaces, recovery of the bloody fingerprint using forensic lifting tape was not possible.

(3) Leuco crystal violet treatment on bloody fingerprints led to the formation of the oxidized form of LCV: crystal violet, CV^+ (reaction shown in Suppl. Figure 4.9). For this study, we evaluated the potential of AgLDI IMS to detect and image this dye after LCV treatment of a

bloody fingermark. Initially, bovine blood was deposited on an ITO-coated slide and allowed to air dry. Later, the slide was then treated with a LCV solution prior to silver sputtering deposition. Under LDI MS conditions, we could easily detect the CV⁺ ion at m/z 372.23, with minimal deviation from its theoretical mass at m/z of 372.243 (Suppl. Figure 4.10, A). In this case, heme was not detected since it is suspected to be degraded in blood under acidic oxidizing conditions ¹⁷⁸. To evaluate the sensitivity of LCV blood detection when analyzed by AgLDI IMS, serial dilutions of bovine blood were prepared and droplets of 0.5 μ L were applied on an ITO-coated slide followed by LCV treatment. The IMS results of CV⁺ indicate the presence for blood diluted as much as 12000-fold (Suppl. Figure 4.10, D).

In contrast to other blood enhancement techniques, LCV is quite useful for processing the floor area of the crime scenes. Since it is visualized under ambient light, it is more convenient and versatile than luminol treatment. LCV treatment has shown impressive results for bloody footwear impressions. However, the enhancement of bloody fingermarks on porous surfaces can easily create bubbling and diffusion, suggesting the use of alternative blood enhancement techniques ^{179, 180}. When performed on non-porous surfaces, LCV-enhanced bloody fingermarks cannot be recovered using regular forensic lifting tape. For this study, we evaluated the potential of localizing the bloody fingermark on a glass surface, follow by its recovery using forensic lifting tape. LCV treatment was then performed directly on the lifting tape. Surprisingly, there was no distortion of the blood on the forensic lifting tape and the fingerprint pattern was easily observed after enhancement and after AgLDI IMS (Figure 4.5.4, C). This protocol could be useful when bloody fingermarks are located on multicolored non-porous surfaces, in order to avoid contrast issues.

The chemical development methods presented here can be used only as presumptive test for the presence of blood without taxonomy specificity. Detection of heme after amido black staining indicates the presence of blood but is not confirmatory since heme is not as specific as the detection of hemoglobin proteins. Indeed, heme detection cannot distinguish between human, animal, microbial or plant sources ⁸⁴. For blood taxonomic determination, bottom-up proteomics is needed to gain specificity and reliability ^{155, 181, 182}. Beyond MS measurements, DNA analysis is still possible depending on the FET used.

4.6 Conclusion

We demonstrated here the potential of AgLDI MS and IMS to detect several exogenous substances found in contaminated fingermarks that could positively contribute to forensic investigations. To the best of our knowledge, this is the first time illicit drugs (THC, COC and THC) were detected as argentinated adducts with high sensitivity. Furthermore, this methodology allows us to image bloody fingermarks after application of different classes of blood enhancement techniques, such as 1,2-indanedione-zinc, amido black and leuco crystal violet treatments. Furthermore, the sensitive detection by AgLDI IMS of crystal violet, the product of LCV, peroxide and the heme group, opens the possibility for imaging bloody fingermarks on multicolored surfaces where contrast issues occur, as shown for LFPs in our previous publication ¹⁶⁴. Finally, a library of all the exogenous substances detectable by AgLDI MS needs to be built in order for this technology to become a practical method that could be used by the forensic community on any widely available MALDI-TOF instrument. Efforts from others are ongoing, as Moule et al. in Australia have recently demonstrated the applicability of AgLDI MS and IMS for the analysis of fingermarks on several nonconductive surfaces and for the detection of flunitrazepam, a drug used to treat severe insomnia ¹⁸³.

4.7 Acknowledgements

The authors acknowledge Professor Jean-François Masson (Department of Chemistry, *Université de Montréal*) for giving us unlimited access to the silver sputter system. The authors also acknowledge Ian St-Laurent and Stephan Nadeau (forensic identification technicians at the *Service de Police de la Ville de Montréal, SPVM*), and Alexandre Beaudoin (manager of the criminal identification division at the *Sûreté du Québec*) for their help and all of the forensic knowledges they shared without hesitation. The authors also acknowledge funding from the Canadian Foundation for Innovation (CFI) and Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC).

4.8 Supporting Informations

Supplemental Material

Groomed latent fingerprints were prepared on ITO-coated slides, glass slides and porous surfaces according to published preparation methods. The finger was rubbed on the forehead, nose and chin several times in order to produce a sebum-rich fingerprint containing common exogenous substances.

Blood revealing by either amido black, leuco crystal violet (LCV) or 1,2-Indanedione-Zinc treatments. Amido Black staining requires 3 steps: 1) Protein fixation is performed using pure methanol and allowed to dry for 5 minutes, 2) Staining with the working solution (amido black, acetic acid glacial and methanol), and 3) After 2 minutes, a washing solution (acetic acid glacial 5% v/v) is used to remove excess working solution. All solutions are directly deposited on the surface which is held at an incline to allow solutions to run off. The sample was then allowed to dry before metallic silver deposition. Leuco crystal violet treatment was performed in 1 step using the working solution (LCV, 5-sulfosalicylic acid, hydrogen peroxide). The solution is deposited on the slide surface which is held at an incline to allow the solutions to run off. The slide was then allowed to dry before metallic silver deposition. 1,2-Indanedione-Zinc solution was deposited on the paper containing the bloody fingerprints held at an incline. The paper was allowed to dry and was then heated on a hot plate at 125°C for 20 seconds.

Metallic silver was sputtered on top of fingerprints using a Cressington 308R sputter coater (Ted Pella, Inc. Redding, CA, USA) as previously described. The metallic silver depositions were time-controlled (30 s) with an argon partial pressure of 0.02 mbar and a current of 80 mA. The layer thickness was estimated at 14 ± 2 nm using a quartz crystal microbalance.

Double-sided carbon conductive (DSCC) tape was first applied to ITO coated slides. All nonconductive surfaces containing the fingerprints were then mounted on the tape as previously described. An aluminium sheet was used to flatten the surface onto the DSCC

tape for better conductivity. For fingerprints retrieved using lifting tape, the DSCC tape can be mounted on the back of the forensic lifting tape for better conductivity.

Supplemental Calculations

Heroin et Cocaine LOD's on an ITO-coated slide (diameter of droplets = 2mm)

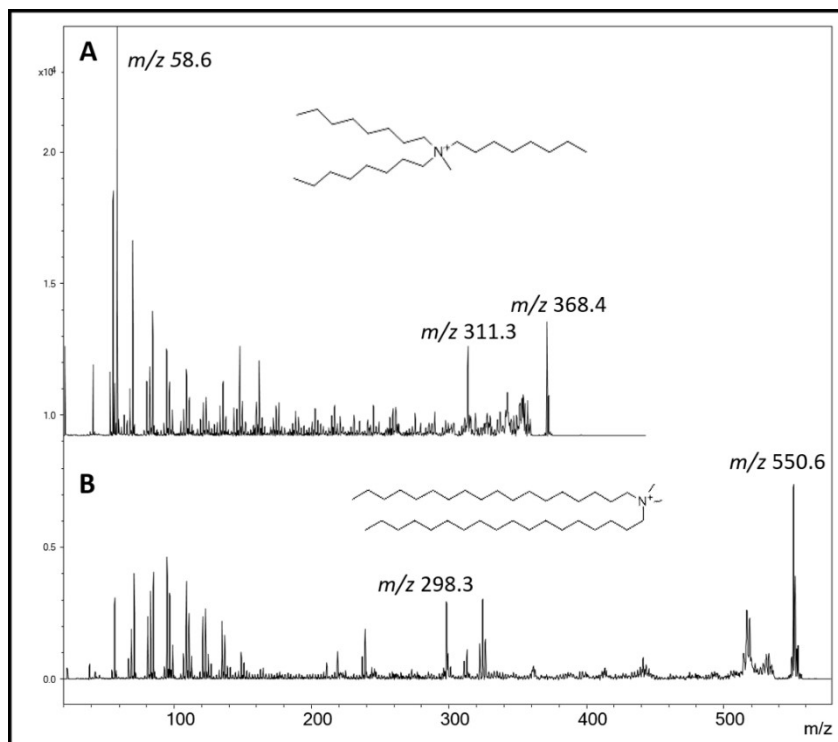
$$0.01 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 0.01 \frac{\text{ng}}{\mu\text{L}}$$

$$0.01 \frac{\text{ng}}{\mu\text{L}} \times 0.5 \mu\text{L} = 0.005 \text{ng}$$

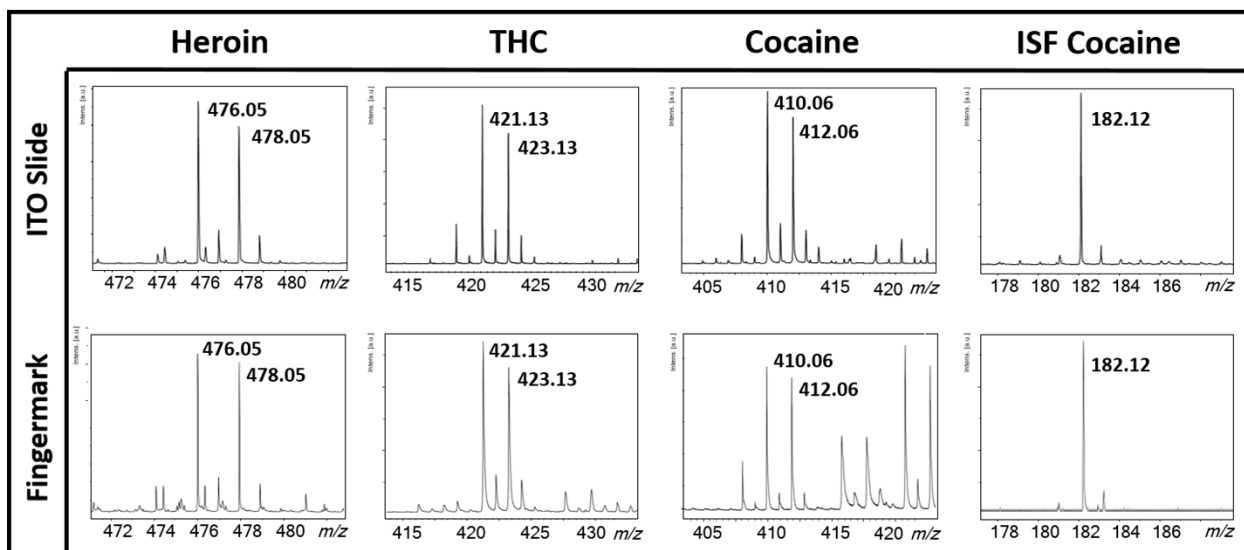
$$\text{Droplet's Area} = \pi r^2 = \pi (0.1 \text{cm})^2 = 0.031 \text{cm}^2$$

$$\text{LOD} = \frac{0.005 \text{ng}}{0.031 \text{cm}^2} = 0.16 \frac{\text{ng}}{\text{cm}^2}$$

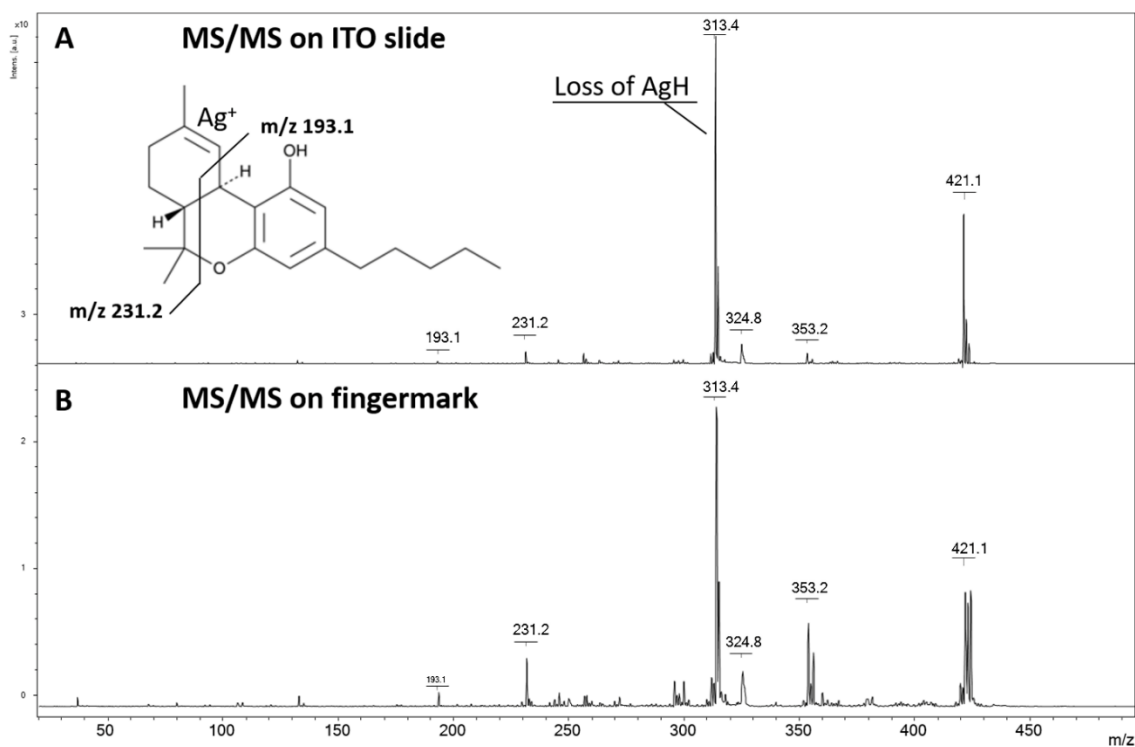
Supplemental Figures



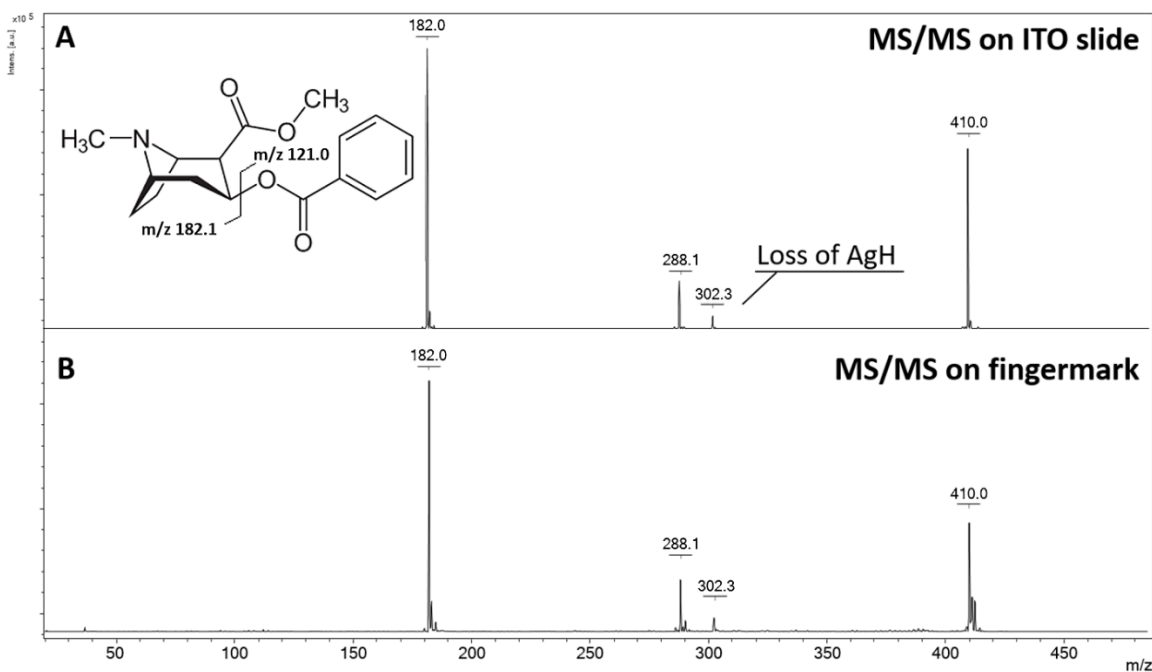
Suppl. Figure 4.1. AgLDI MS/MS of contaminants in fingerprints. A) m/z 368.4 and B) m/z 550.6 corresponding to dimethyldioctadecylammonium.



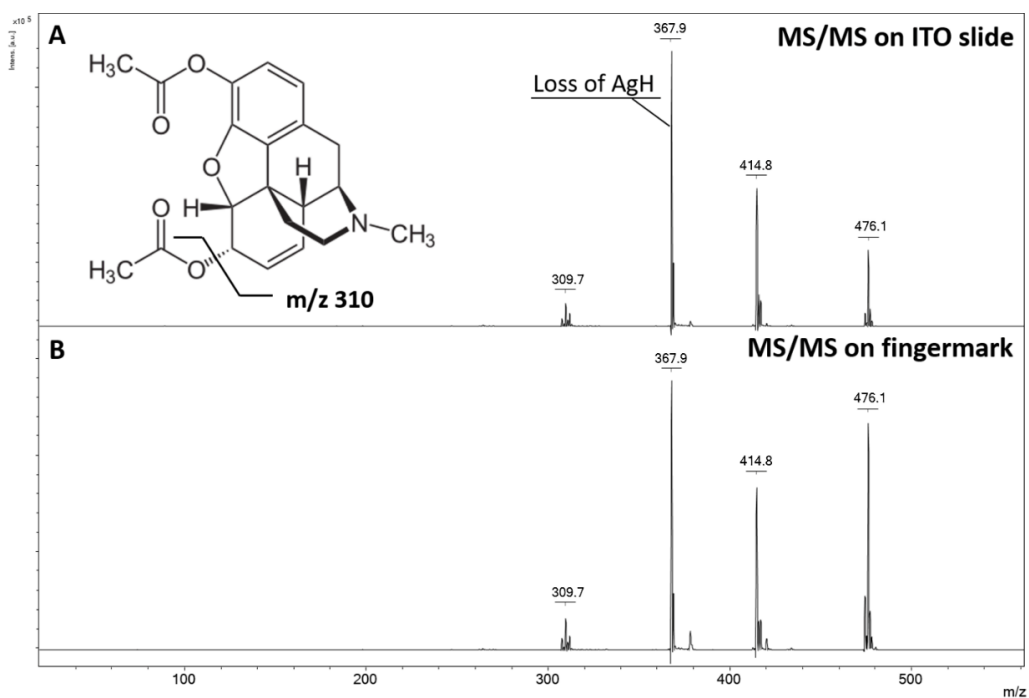
Suppl. Figure 4.2. AgLDI MS of illicit drug standards: Comparison of deposition on ITO-coated slides (top row) and on fingerprints (bottom row) of Heroin, THC and Cocaine and of its in-source fragment (ISF) ion.



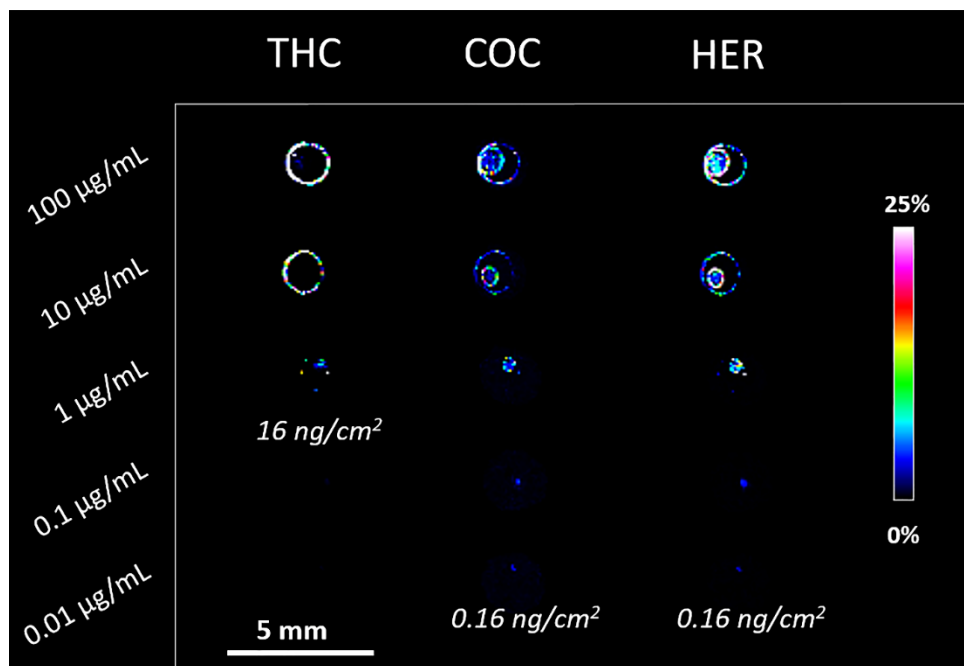
Suppl. Figure 4.3. AgLDI MS/MS of a tetrahydrocannabinol standard. THC deposited on A) a clean ITO-coated slide and B) on a fingerprint.



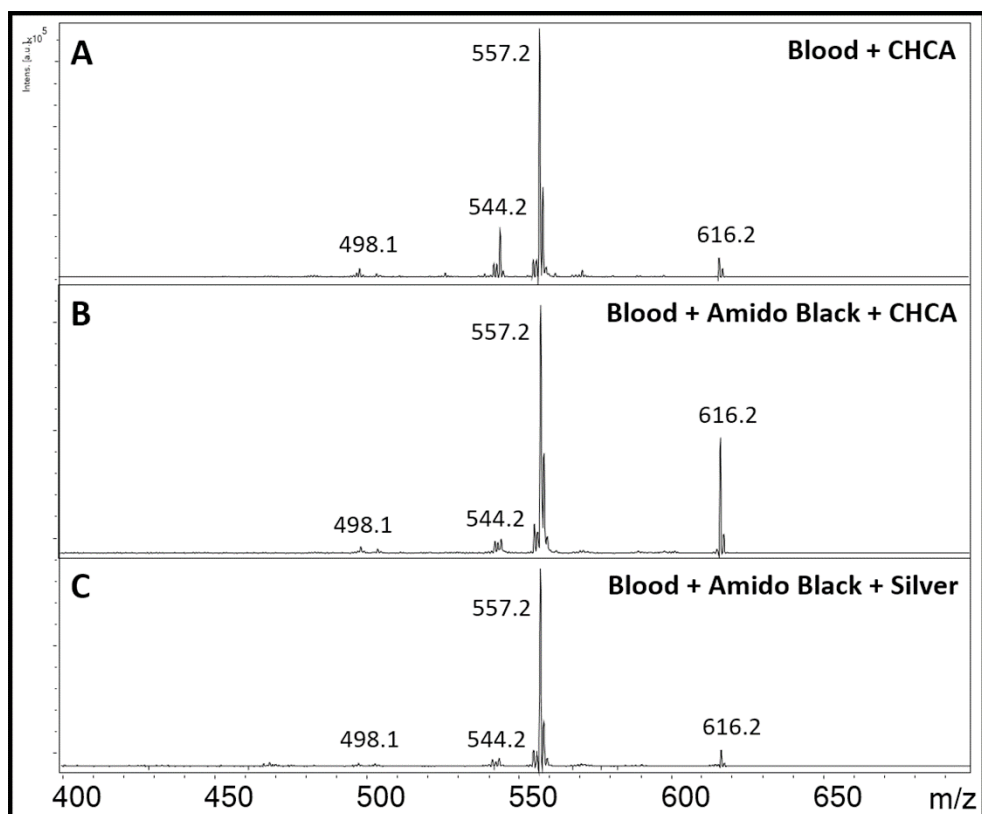
Suppl. Figure 4.4. AgLDI MS/MS of a cocaine standard. Cocaine deposited on A) a clean ITO-coated slide and B) on a fingerprint.



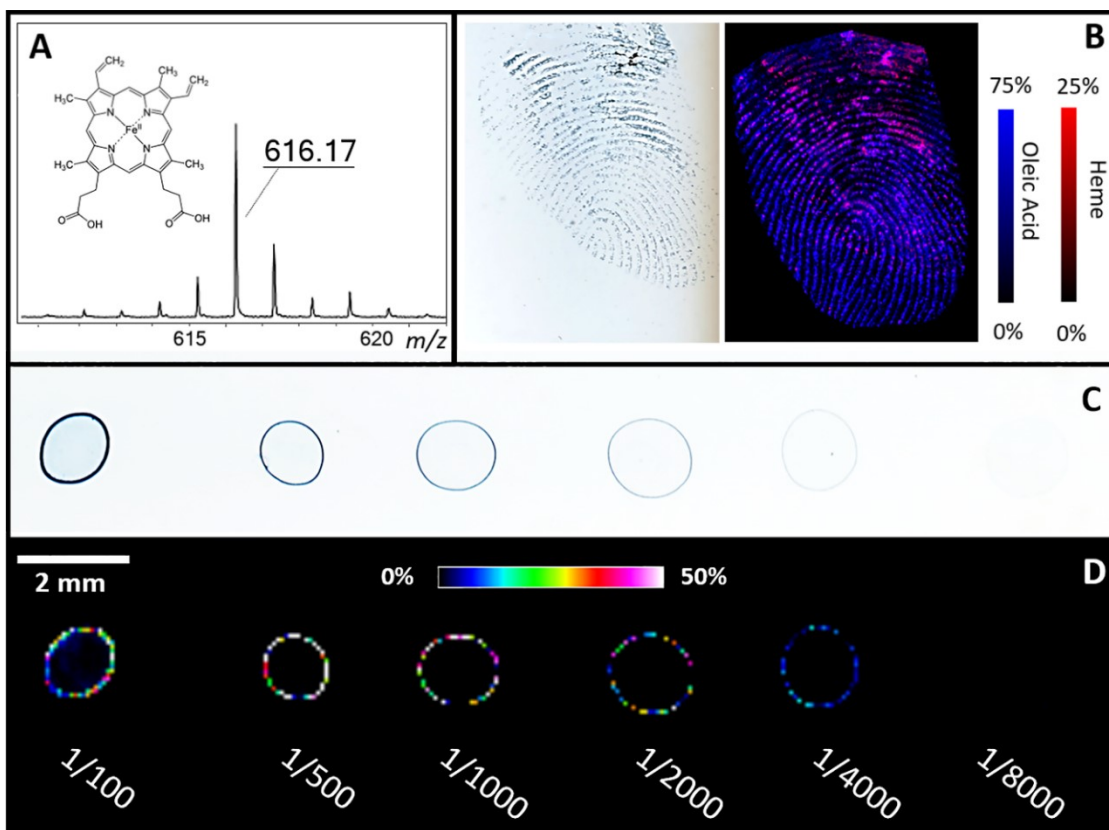
Suppl. Figure 4.5. AgLDI MS/MS of a heroin standard. Heroin deposited on A) a clean ITO-coated slide and B) on a fingerprint.



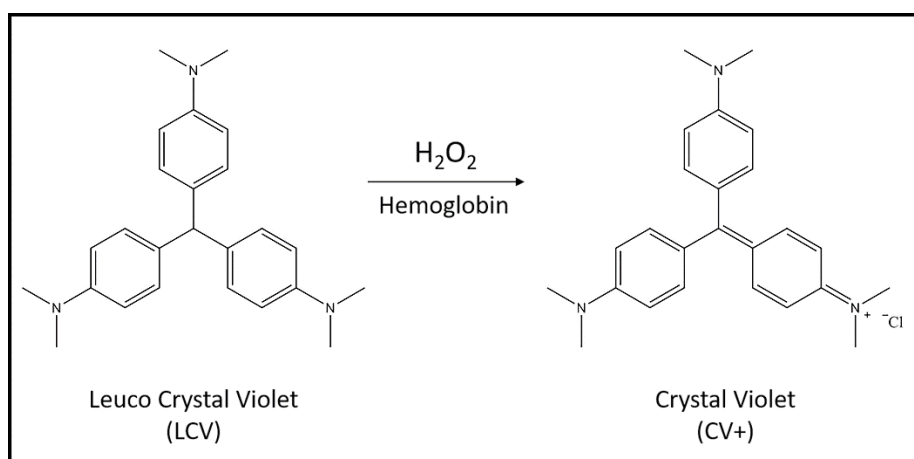
Suppl. Figure 4.6. AgLDI IMS of serial illicit drug dilutions ranging from 100 to 0.01 µg/mL. Tetrahydrocannabinol (THC) at m/z 421.13, Cocaine (COC) at m/z 410.06 and Heroin (HER) at m/z 476.05.



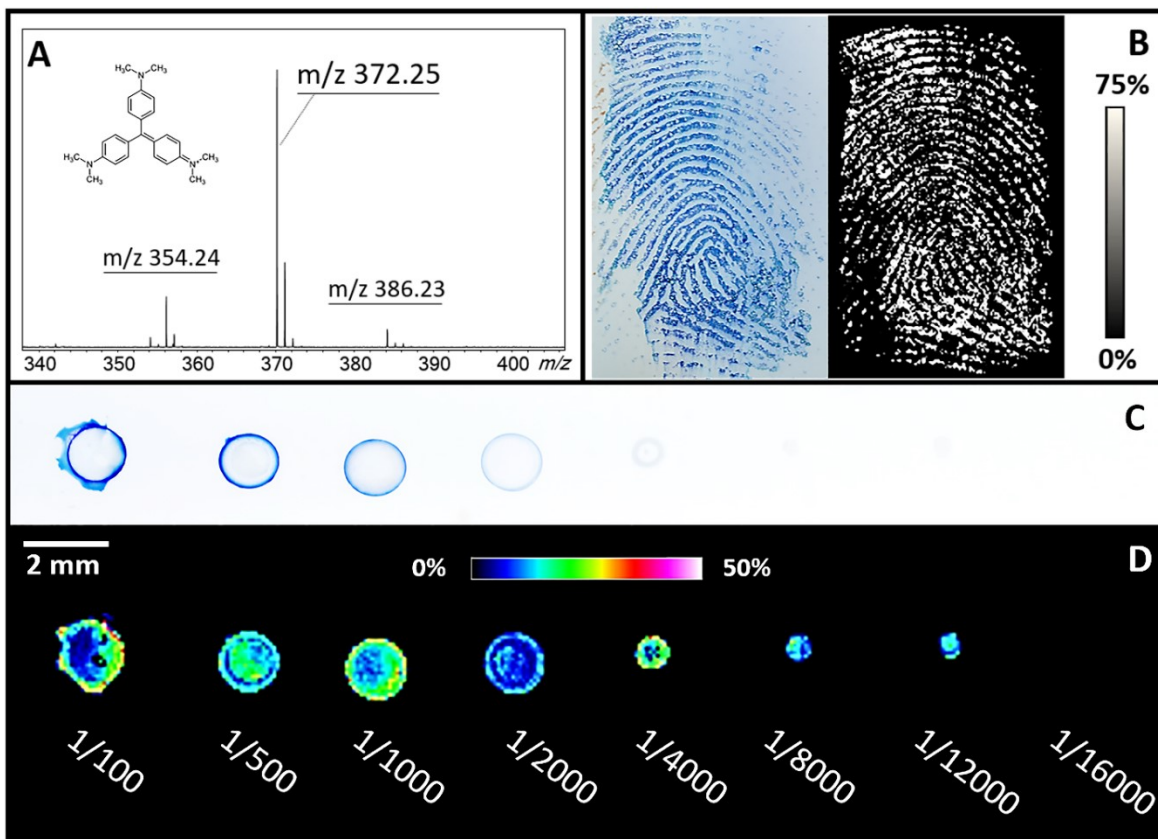
Suppl. Figure 4.7. Comparison of AgLDI and MALDI MS/MS of the heme group in bovine blood after amido black staining. A) MALDI MS/MS of heme using CHCA as matrix, B) MALDI MS/MS of heme after amido black staining using CHCA as matrix, and C) AgLDI MS/MS of heme after amido black staining.



Suppl. Figure 4.8. AgLDI MS and IMS of the heme after amido black staining. A) AgLDI MS of heme at m/z 616.17. B) Photomicrograph and AgLDI IMS of heme and acid oleic (m/z 389.16) of a human bloody fingerprint deposited on an ITO-coated slide. C) Optical image and D) AgLDI IMS of serial blood dilutions ranging from 1/100 to 1/8000 after amido black staining.



Suppl. Figure 4.9. Oxidation of Leuco Crystal Violet (LCV) in the presence of hydrogen peroxide and hemoglobin. CV⁺ is directly detectable by MS under LDI conditions.



Suppl. Figure 4.10. AgLDI MS and IMS of blood after leuco crystal violet staining. A) AgLDI MS of the crystal violet at m/z 372.25 [$C_{25}H_{30}N_3$]⁺. B) Optical image and AgLDI IMS of the crystal violet after leuco crystal violet treatment of a human bloody fingerprint deposited on an ITO-coated slide. C) Optical image and D) AgLDI IMS of serial blood dilutions ranging from 1/100 to 1/16000 after leuco crystal violet treatment.

Chapitre 5. Conclusion et perspectives

5.1 Conclusion

Le but de cette thèse est d'explorer un domaine de recherche émergeant en science forensique, afin de développer une méthode alternative d'imagerie moléculaire par MS applicable aux enquêtes criminelles, notamment au Québec.

Le premier objectif de recherche de cette thèse consistait à évaluer les diverses méthodes MALDI et LDI actuelles permettant la détection et l'imagerie MS d'une trace latente en utilisant un analyseur TOF. Initialement, nous avons observé que la nébulisation de matrice menait à une délocalisation des composés lipidiques dans la trace latente. La sublimation de matrice a permis de résoudre ce problème. Cependant la fragmentation et la formation d'agrégats de matrice en source contaminent et compromettent l'identification des analytes en basses masses, majoritairement présents dans la trace latente. D'autre part, nos travaux ont permis de mettre en évidence que la pulvérisation d'argent métallique permet d'obtenir une meilleure sensibilité que la sublimation de matrice pour la détection de certaines substances endogènes et exogènes. Associée à la conductivité électrique de l'argent, une propriété essentielle à l'analyse par TOF de surfaces non-conductrices, l'AgLDI IMS a été sélectionnée pour la suite du projet.

Le deuxième objectif était de démontrer que l'AgLDI IMS pouvait être utilisé en complément aux techniques standards de révélation en identification criminelle sur diverses surfaces communément trouvées lors d'une enquête. Ainsi, nous avons démontré que cette méthode pouvait être applicable pour l'analyse sur des surfaces poreuses (papier, carton), semi-poreuses (papier et carton plastifié), non-poreuses (plastique) et sur du ruban adhésif. Cependant, une surface ayant une épaisseur supérieure à 1 mm diminuait la sensibilité de détection par défaut de conductivité. De plus, l'IMS a permis d'éviter des problèmes de contraste sur surfaces multicolores, où un révélateur monochromatique est pris à défaut.

Le troisième objectif de recherche était d'établir une librairie de substances détectables d'intérêt lors d'une enquête criminelle. Ainsi, nous nous sommes focalisés sur la détection

de stupéfiants et de traces ensanglantées après révélation, via la détection de l'hème. Nous avons pu mettre en évidence la présence de THC, de cocaïne et d'héroïne dans les traces latentes. À l'instar des techniques standards de révélation, nous avons pu détecter l'hème après l'ajout du noir de naphthalène. En complément, nous pouvons aussi générer une image moléculaire de la trace latente indépendamment du type et de la couleur de la surface. Cette dernière technique permettrait d'améliorer la qualité des traces relevées et de favoriser l'identification d'un suspect.

Actuellement, une méthode de MALDI IMS a été mise à la disposition de la police britannique en complément aux techniques standards de révélation dans les enquêtes policières. Cette méthode basée sur la technologie MALDI permet l'analyse de molécules de plus hautes masses moléculaires (peptides et protéines), permet une sensibilité accrue pour la détection d'ions protonés et ne nécessite pas de conductivité sur la surface d'analyse (utilisant un analyseur Q-TOF). Bien que cette méthode soit intéressante, l'accessibilité à un MALDI-Q-TOF compromet son utilisation routinière dans la plupart des pays. La méthode d'IMS que nous avons développée dans cette étude utilise un analyseur TOF, un instrument largement plus répandu et accessible. En comparaison avec la méthode développée en Angleterre, cette approche alternative a présenté plusieurs avantages :

- la précision en masse (étalonnage interne par les agrégats d'argent);
 - la simplicité au niveau de l'analyse des spectres MS (absence de la matrice MALDI);
 - la haute résolution spatiale de l'IMS (jusqu'à 10 μm);
 - la sensibilité accrue pour la détection de molécules contenant une ou plusieurs oléfines.
- et surtout, sa compatibilité avec les méthodes de révélation standards actuelles et ce sur différents types de surfaces.

5.2 Perspectives de recherche

Ces travaux de thèse démontrent le fort potentiel de l'imagerie moléculaire par spectrométrie de masse pour l'analyse de traces latentes. En particulier, la méthode AgLDI IMS est très prometteuse pour l'analyse de composés de faibles poids moléculaires sur diverses surfaces. Dans ce contexte, afin d'implémenter l'IMS dans les procédures standards des corps policiers du Québec, il devient primordial d'identifier les substances exogènes pouvant être détectées dans la trace latente, particulièrement si celles-ci sont susceptibles de contribuer à une enquête policière.

Nous avons démontré le potentiel de détection exogène de certains stupéfiants par AgLDI IMS. Le résultat de cette analyse montre simplement qu'il y a eu contact entre l'individu et la substance, mais n'indique pas s'il y a eu consommation. Dans ce contexte, il serait intéressant d'évaluer la sensibilité de détection de certains métabolites en provenance de stupéfiants, dans le but de confirmer leur consommation.

Un autre sujet de recherche qui stimule grandement l'intérêt des spécialistes en science forensique est l'identification du sexe de l'individu sans endommagement de la trace latente. Dans ce contexte, la détection de certains stéroïdes (ou autres molécules spécifiques à l'homme ou la femme) par IMS pourrait être déterminante. La possibilité de détection par IMS du matériel génétique permettant l'identification sexuelle serait révolutionnaire. Des approches nouvelles sont envisageables.

Au-delà des perspectives scientifiques pouvant être explorées au laboratoire, la suite de ce projet de recherche repose essentiellement sur l'intérêt des corps policiers à implémenter l'imagerie moléculaire dans les processus d'analyse des évidences. Comme mentionnée, cette nouvelle technologie monte en maturité et un jour possiblement retiendra l'intérêt et gagnera la confiance des professionnels en science forensique. D'ici là, le développement d'une librairie de substances endogènes/exogènes doit être poursuivi dans le but d'apporter le plus d'informations circonstanciées à partir de la trace latente dans une enquête criminelle.

Bibliographie

1. Ramotowski RS. *Advances in Fingerprint Technology* (2nd ed.). Lee HC, Gaensslen, R.E., editor. Boca Raton, FL: CRC Press; 2001.
2. Editors Tc. *Marcello Malpighi Biography* [updated November 13, 2017. Available from: <https://www.thefamouspeople.com/profiles/marcello-malpighi-6481.php>.
3. Grzybowski A, Pietrzak K. Jan Evangelista Purkynje (1787-1869): first to describe fingerprints. *Clin Dermatol*. 2015;33(1):117-21.
4. Cummins H, Kennedy RW. Purkinje's Observations (1823) on Finger Prints and Other Skin Features. *Journal of Criminal Law and Criminology*. 1940;31(3):343-56.
5. Herschel WJ. *The origin of finger-printing*: London, H. Milford, Oxford University Press; 1916.
6. Faulds H. On the Skin-Furrows of the Hand. *Nature*. 1880;22:605.
7. Galton F. *Finger Prints*. London: McMillan; 1892.
8. Moses KR, Higgins, P., McCabe, M., Probhakar, S., Swann, S. *The Fingerprint Sourcebook*. In: U.S. Department of Justice NIOJ, editor. *The Fingerprint Sourcebook*: CreateSpace Independent Publishing Platform; 2012.
9. Vucetich J. *Dactiloscopia comparada*. Buenos Aires: La Plata: Jacobo Peuser; 1904. 114 p.
10. Woodtli PF. *Cerbère au temps des « Bio-Maîtres »: La biométrie, servante-maîtresse d'une nouvelle ère biopolitique ? Le cas du programme US-VISIT*. [Mémoire de maîtrise]. Montréal: Université de Montréal; 2008.
11. Champod C, Lennard C, Margot P, Stoilovic M. *Traces et empreintes digitales: Traité de dactyloscopie*: Presses Polytechniques et Universitaires Romandes; 2017. 516 p.
12. Kucken M, Newell AC. Fingerprint formation. *J Theor Biol*. 2005;235(1):71-83.
13. Kucken M. Models for fingerprint pattern formation. *Forensic Sci Int*. 2007;171(2-3):85-96.
14. Penrose LS, Ohara PT. The development of the epidermal ridges. *J Med Genet*. 1973;10(3):201-8.
15. Babler WJ. Embryologic development of epidermal ridges and their configurations. *Birth defects original article series*. 1991;27(2):95-112.
16. Jain AK, Chen Y, Demirkus M. Pores and ridges: high-resolution fingerprint matching using level 3 features. *IEEE transactions on pattern analysis and machine intelligence*. 2007;29(1):15-27.
17. Locard E. *L'enquête criminelle et les méthodes scientifiques*. Paris: E. Flammarion; 1920.
18. Inman K, Rudin N. *Principles and Practice of Criminalistics*. Boca Raton, Florida: CRC Press; 2001.
19. Crispino F. *Le principe de Locard est-il scientifique ? Ou analyse de la scientificité des principes fondamentaux de la criminalistique*: Éditions Universitaires Européennes N°523; 2010.
20. Reichrath J. The skin is a fascinating endocrine organ. *Dermatoendocrinol*. 2009;1(4):195-6.
21. Beaudoin A, Daoust B, Casault P. *La Criminalistique Accessible: Guide de Survie des Empreintes Digitales*. Montréal, QC: Éditions Yvon Blais; 2018.

22. Norman AW. Sunlight, season, skin pigmentation, vitamin D, and 25-hydroxyvitamin D: integral components of the vitamin D endocrine system. *Am J Clin Nutr.* 1998;67(6):1108-10.
23. Olsen RD. The chemical composition of palmar sweat. *Fingerprint Ident Mag.* 1972;53(10):3-23.
24. Quinton PM. Sweating and Its Disorders. *Annu Rev Med.* 1983;34:429-52.
25. Quinton PM. Cystic fibrosis: Lessons from the sweat gland. *Physiology.* 2007;22:212-25.
26. Drapel V, Becue A, Champod C, Margot P. Identification of promising antigenic components in latent fingerprint residues. *Forensic Sci Int.* 2009;184(1-3):47-53.
27. Pappas A. Epidermal surface lipids. *Dermatoendocrinol.* 2009;1(2):72-6.
28. Montagna W, Parakkal PF. The structure and function of skin, 3rd Edition: Academic Press; 1974.
29. Lobitz WC, Jr., Osterberg AE. The chemistry of palmar sweat: Preliminary report; Apparatus and Technics. *J Invest Dermatol.* 1945;6:63-73.
30. Knowles AM. Aspects of physicochemical methods for the detection of latent fingerprints. *J Phys E.* 1978;11(8):713-21.
31. Tirindelli R, Dibattista M, Pifferi S, Menini A. From pheromones to behavior. *Physiol Rev.* 2009;89(3):921-56.
32. Labows JN, Preti G, Hoelzle E, Leyden J, Kligman A. Steroid analysis of human apocrine secretion. *Steroids.* 1979;34(3):249-58.
33. Toth I, Faredin I. Steroids excreted by human skin. II. C19-steroid sulphates in human axillary sweat. *Acta Med Hung.* 1985;42(1-2):21-8.
34. Croxton RS, Baron MG, Butler D, Kent T, Sears VG. Development of a GC-MS method for the simultaneous analysis of latent fingerprint components. *J Forensic Sci.* 2006;51(6):1329-33.
35. Emerson B, Gidden, J., Lay, J. O., Jr., Durham, B. Laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry of triacylglycerols and other components in fingerprint samples. *J Forensic Sci.* 2011;56(2):381-9.
36. Connatser RM, Prokes SM, Glembocki OJ, Schuler RL, Gardner CW, Lewis SA, Sr., et al. Toward surface-enhanced Raman imaging of latent fingerprints. *J Forensic Sci.* 2010;55(6):1462-70.
37. Dikshitulu YS, Prasad L, Pal JN, Rao CV. Aging studies on fingerprint residues using thin-layer and high performance liquid chromatography. *Forensic Sci Int.* 1986;31(4):261-6.
38. Champod C, Lennard, C., Margot, P., Stoilovic, M. *Fingerprints and Other Ridge Skin Impression.* Boca Raton, FL: CRC Press; 2004.
39. Girod A, Ramotowski R, Weyermann C. Composition of fingerprint residue: a qualitative and quantitative review. *Forensic Sci Int.* 2012;223(1-3):10-24.
40. Weyermann C, Roux C, Champod C. Initial results on the composition of fingerprints and its evolution as a function of time by GC/MS analysis. *J Forensic Sci.* 2011;56(1):102-8.
41. Archer NE, Charles, Y., Elliott, J. A., Jickells, S. Changes in the lipid composition of latent fingerprint residue with time after deposition on a surface. *Forensic Sci Int.* 2005;154(2-3):224-39.
42. Cadd S, Islam, M., Manson, P., Bleay, S. Fingerprint composition and aging: A literature review. *Sci Justice.* 2015;55(4):219-38.

43. Croxton RS, Baron MG, Butler D, Kent T, Sears VG. Variation in amino acid and lipid composition of latent fingerprints. *Forensic Sci Int.* 2010;199(1-3):93-102.
44. Girod A. Etude de la composition initiale et du vieillissement des traces digitales : Vers le développement d'une méthode de datation ? Lausanne, France: Université de Lausanne; 2015.
45. Jacobsen E, Billings JK, Frantz RA, Kinney CK, Stewart ME, Downing DT. Age-related changes in sebaceous wax ester secretion rates in men and women. *J Invest Dermatol.* 1985;85(5):483-5.
46. Stewart ME, Steele WA, Downing DT. Changes in the relative amounts of endogenous and exogenous fatty acids in sebaceous lipids during early adolescence. *J Invest Dermatol.* 1989;92(3):371-8.
47. Bohanan AM. Latents from pre-pubescent children versus latents from adults. *J For Ident.* 1998;48(5):570-3.
48. Buchanan MVA, K., Bohanon A. Chemical characterization of fingerprints from adults and children in: *Forensic Evidence Analysis and Crime Scene Investigation: SPIE, International Society for Optical Engineering; 1997.*
49. Antoine KM, Mortazavi S, Miller AD, Miller LM. Chemical differences are observed in children's versus adults' latent fingerprints as a function of time. *J Forensic Sci.* 2010;55(2):513-8.
50. Williams DK, Brown CJ, Bruker J. Characterization of children's latent fingerprint residues by infrared microspectroscopy: forensic implications. *Forensic Sci Int.* 2011;206(1-3):161-5.
51. Hemmila A, McGill J, Ritter D. Fourier transform infrared reflectance spectra of latent fingerprints: a biometric gauge for the age of an individual. *J Forensic Sci.* 2008;53(2):369-76.
52. Asano KG, Bayne, C. K., Horsman, K. M., Buchanan, M. V. Chemical composition of fingerprints for gender determination. *J Forensic Sci.* 2002;47(4):805-7.
53. Ferguson LS, Wulfert, F., Wolstenholme, R., Fonville, J. M., Clench, M. R., Carolan, V. A., Francese, S. Direct detection of peptides and small proteins in fingermarks and determination of sex by MALDI mass spectrometry profiling. *Analyst.* 2012;137(20):4686-92.
54. Huynh C, Brunelle E, Halamkova L, Agudelo J, Halamek J. Forensic Identification of Gender from Fingerprints. *Anal Chem.* 2015;87(22):11531-6.
55. Jadoon S, Karim S, Akram MR, Kalsoom Khan A, Zia MA, Siddiqi AR, et al. Recent developments in sweat analysis and its applications. *Int J Anal Chem.* 2015;2015:164974.
56. Taylor JR, Watson ID, Tames FJ, Lowe D. Detection of drug use in a methadone maintenance clinic: sweat patches versus urine testing. *Addiction.* 1998;93(6):847-53.
57. Cone EJ, Hillsgrove MJ, Jenkins AJ, Keenan RM, Darwin WD. Sweat testing for heroin, cocaine, and metabolites. *J Anal Toxicol.* 1994;18(6):298-305.
58. Koster RA, Alffenaar JW, Greijdanus B, VanDerNagel JE, Uges DR. Application of sweat patch screening for 16 drugs and metabolites using a fast and highly selective LC-MS/MS method. *Ther Drug Monit.* 2014;36(1):35-45.
59. Schneider S, Ait MBZ, Schummer C, Lemmer P, Yegles M, Appenzeller B, et al. Determination of fentanyl in sweat and hair of a patient using transdermal patches. *J Anal Toxicol.* 2008;32(3):260-4.

60. Gambelunghe C, Fucci N, Aroni K, Bacci M, Marcelli A, Rossi R. Cannabis Use Surveillance by Sweat Analysis. *Ther Drug Monit.* 2016;38(5):634-9.
61. Benton M, Rowell F, Sundar L, Jan M. Direct detection of nicotine and cotinine in dusted latent fingerprints of smokers by using hydrophobic silica particles and MS. *Surface and Interface Analysis.* 2010;42(5):378-85.
62. Kent T. *Manual of fingerprint development techniques*, 2nd ed. Sandridge: Home Office, Police Scientific Development Branch; 1998.
63. Menzel ER. *Fingerprint Detection with Lasers*, 2nd ed. Lubbock, TX: Marcel Dekker; 1999.
64. Cantu AA. Silver physical developers for the visualization of latent prints on paper. *Forensic Sci Rev.* 2001;13:29-64.
65. Rawji A, Beaudoin, A. Oil Red O Versus Physical Developer on Wet Papers: A Comparative Study. *J For Ident.* 2006;56(1):33-54.
66. Beaudoin A. New Technique for Revealing Latent Fingerprints on Wet Porous Surfaces: Oil Red O. *J For Ident.* 2004;54(4):413-21.
67. Guigui K, Beaudoin, A. . The Use of Oil Red O in Sequence with Other Methods of Fingerprint Development. *J For Ident.* 2007;57(4):550-81.
68. Tahtouh M, Scott SA, Kalman JR, Reedy BJ. Four novel alkyl 2-cyanoacrylate monomers and their use in latent fingerprint detection by mid-infrared spectral imaging. *Forensic Sci Int.* 2011;207(1-3):223-38.
69. Illsley CP. Superglue Fuming and Multiple Lifts. *Ident News.* 1984;34(1)(6):15.
70. Jian Z, Dao-an G. A modified cyanoacrylate technique utilizing treated neutral filter paper for developing latent fingerprints. *Forensic Sci Int.* 1991;52:31-4.
71. Morris AD. Superglue as an option to gentian violet on adhesive side of tape. *Fingerprint Whorld.* 1992;18:101-2.
72. Bossers LC, Roux C, Bell M, McDonagh AM. Methods for the enhancement of fingerprints in blood. *Forensic Sci Int.* 2011;210(1-3):1-11.
73. Zhao M, Zhang S, Yang C, Xu Y, Wen Y, Sun L, et al. Desorption electrospray tandem MS (DESI-MSMS) analysis of methyl centralite and ethyl centralite as gunshot residues on skin and other surfaces. *J Forensic Sci.* 2008;53(4):807-11.
74. Bouslimani A, Melnik AV, Xu Z, Amir A, da Silva RR, Wang M, et al. Lifestyle chemistries from phones for individual profiling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2016;113(48):E7645-E54.
75. Groeneveld G, de Puit, M., Bleay, S., Bradshaw, R., Francese, S. Detection and mapping of illicit drugs and their metabolites in fingerprints by MALDI MS and compatibility with forensic techniques. *Sci Rep.* 2015;5:11716.
76. Bradshaw R, Wolstenholme, R., Blackledge, R. D., Clench, M. R., Ferguson, L. S., Francese, S. A novel matrix-assisted laser desorption/ionisation mass spectrometry imaging based methodology for the identification of sexual assault suspects. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2011;25(3):415-22.
77. Rowell F, Seviour J, Lim AY, Elumbaring-Salazar CG, Loke J, Ma J. Detection of nitro-organic and peroxide explosives in latent fingerprints by DART- and SALDI-TOF-mass spectrometry. *Forensic Sci Int.* 2012;221(1-3):84-91.
78. Kaplan-Sandquist K, LeBeau MA, Miller ML. Chemical analysis of pharmaceuticals and explosives in fingerprints using matrix-assisted laser desorption ionization/time-of-flight mass spectrometry. *Forensic Sci Int.* 2014;235:68-77.

79. Rowell F, Hudson K, Seviour J. Detection of drugs and their metabolites in dusted latent fingermarks by mass spectrometry. *Analyst*. 2009;134(4):701-7.
80. Szyrkowska MI, Czerski, K., Rogowski, J., Paryjczak, T., Parczewski, A. ToF-SIMS application in the visualization and analysis of fingerprints after contact with amphetamine drugs. *Forensic Sci Int*. 2009;184(1-3):e24-6.
81. Sundar L, Rowell F. Detection of drugs in lifted cyanoacrylate-developed latent fingermarks using two laser desorption/ionisation mass spectrometric methods. *Analyst*. 2014;139(3):633-42.
82. Benton M, Chua MJ, Gu F, Rowell F, Ma J. Environmental nicotine contamination in latent fingermarks from smoker contacts and passive smoking. *Forensic Sci Int*. 2010;2010(1-3):28-34.
83. Bradshaw R, Wolstenholme R, Ferguson LS, Sammon C, Mader K, Claude E, et al. Spectroscopic imaging based approach for condom identification in condom contaminated fingermarks. *Analyst*. 2013;138(9):2546-57.
84. Bradshaw R, Bleay, S., Clench, M. R., Francese, S. Direct detection of blood in fingermarks by MALDI MS profiling and imaging. *Sci Justice*. 2014;54(2):110-7.
85. Abrahamson A. Prevalence of Drug-Tainted Money Voids Case Law: Court cites findings that more than 75% of currency in L.A. bears traces of cocaine or other illegal substances: L.A. Times Archives; 1994 [Available from: <http://archive.li/3cpm8>].
86. Gross JH. *Mass Spectrometry*, 2nd Edition: Springer, Berlin, Heidelberg; 2011.
87. de Hoffmann E, Stroobant V. *Spectrométrie de masse: cours et exercices corrigés*. Paris: Dunod; 2005.
88. Karas M, Hillenkamp F. Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons. *Anal Chem*. 1988;60(20):2299-301.
89. Chen X, Carroll JA, Beavis RC. Near-ultraviolet-induced matrix-assisted laser desorption/ionization as a function of wavelength. *J Am Soc Mass Spectrom*. 1998;9(9):885-91.
90. Stump MJ, Fleming RC, Gong W, Jaber AJ, Jones JJ, Surber CW, et al. MATRIX-ASSISTED LASER DESORPTION MASS SPECTROMETRY. *Applied Spectroscopy Reviews*. 2002;37(3):275-303.
91. Sunner J, Dratz E, Chen Y. Graphite surface-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry of peptides and proteins from liquid solutions. *Anal Chem*. 1995;67(23):4335-42.
92. Pan C, Xu S, Hu L, Su X, Ou J, Zou H, et al. Using oxidized carbon nanotubes as matrix for analysis of small molecules by MALDI-TOF MS. *J Am Soc Mass Spectrom*. 2005;16(6):883-92.
93. Chen CT, Chen YC. Desorption/ionization mass spectrometry on nanocrystalline titania sol-gel-deposited films. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2004;18(17):1956-64.
94. Wei J, Buriak JM, Siuzdak G. Desorption-ionization mass spectrometry on porous silicon. *Nature*. 1999;399:243.
95. Shen Z, Thomas JJ, Averbuj C, Broo KM, Engelhard M, Crowell JE, et al. Porous Silicon as a Versatile Platform for Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry. *Anal Chem*. 2001;73(3):612-9.
96. Schriemer DC, Li L. Detection of High Molecular Weight Narrow Polydisperse Polymers up to 1.5 Million Daltons by MALDI Mass Spectrometry. *Anal Chem*. 1996;68(17):2721-5.

97. Lai EPC, Owega S, Kulczycki R. Time-of-flight mass spectrometry of bioorganic molecules by laser ablation of silver thin film substrates and particles. *J Mass Spectrom.* 1998;33(6):554-64.
98. Patti GJ, Woo H, Yanes O, Shriver L, Thomas D, Uritboonthai W, et al. Detection of Carbohydrates and Steroids by Cation-Enhanced Nanostructure-Initiator Mass Spectrometry (NIMS) for Biofluid Analysis and Tissue Imaging. *Anal Chem.* 2010;82(1):121-8.
99. Dufresne M, Thomas A, Breault-Turcot J, Masson JF, Chaurand P. Silver-assisted laser desorption ionization for high spatial resolution imaging mass spectrometry of olefins from thin tissue sections. *Anal Chem.* 2013;85(6):3318-24.
100. Thomas A, Patterson NH, Dufresne M, Chaurand P. Advances in MALDI and laser-induced soft ionization mass spectrometry. Switzerland: Cramer, R., Ed.; Springer International Publishing; 2016. 129-47 p.
101. Imrie DC, Pentney JM, Cottrell JS. A Faraday cup detector for high-mass ions in matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 1995;9(13):1293-6.
102. Guilhaus M. Special feature: Tutorial. Principles and instrumentation in time-of-flight mass spectrometry. Physical and instrumental concepts. *J Mass Spectrom.* 1995;30(11):1519-32.
103. Alikhanov SG. A new impulse technique for ion mass measurements. *Soviet Phys JETP.* 1957;Medium: X; Size: Pages: 452-3.
104. Mamyryn BA, Karataev VI, Shmikk DV, Zagulin VA. Mass reflection: a new nonmagnetic time-of-flight high resolution mass- spectrometer. *Zh Eksp Teor Fiz.* 1973;64(1):82-9.
105. Wiley WC, McLaren IH. Time-of-Flight Mass Spectrometer with Improved Resolution. *Review of Scientific Instruments.* 1956;26:1150-7.
106. Vestal ML, Juhasz P, Martin SA. Delayed extraction matrix-assisted laser desorption time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry.* 1995;9(11):1044-50.
107. Chaurand P, Luetzenkirchen F, Spengler B. Peptide and protein identification by matrix-assisted laser desorption ionization (MALDI) and MALDI-post-source decay time-of-flight mass spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom.* 1999;10(2):91-103.
108. Briggs D, Hearn MJ. Sub-micron molecular imaging. A viability study by time-of-flight SIMS. *Surface and Interface Analysis.* 1988;13(4):181-5.
109. Brunelle A, Laprevote O. Recent Advances in Biological Tissue Imaging with Time-of-Flight Secondary Ion Mass Spectrometry: Polyatomic Ion Sources, Sample Preparation, and Applications. *Current Pharmaceutical Design.* 2007;13(32):3335-43.
110. Wiseman JM, Ifa DR, Song QY, Cooks RG. Tissue imaging at atmospheric pressure using desorption electrospray ionization (DESI) mass spectrometry. *Angew Chem-Int Edit.* 2006;45(43):7188-92.
111. Caprioli RM, Farmer TB, Gile J. Molecular Imaging of Biological Samples: Localization of Peptides and Proteins Using MALDI-TOF MS. *Anal Chem.* 1997;69(23):4751-60.
112. Senoner M, Unger WES. SIMS imaging of the nanoworld: applications in science and technology. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry.* 2012;27(7):1050-68.
113. Takáts Z, Wiseman JM, Cooks RG. Ambient mass spectrometry using desorption electrospray ionization (DESI): instrumentation, mechanisms and applications in forensics, chemistry, and biology. *J Mass Spectrom.* 2005;40(10):1261-75.

114. Caprioli RM. Imaging mass spectrometry: Molecular microscopy for enabling a new age of discovery. *Proteomics*. 2014;14(7-8):807-9.
115. Mullen AK, Clench MR, Crosland S, Sharples KR. Determination of agrochemical compounds in soya plants by imaging matrix-assisted laser desorption/ionisation mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2005;19(18):2507-16.
116. Wolstenholme R, Bradshaw R, Clench MR, Francese S. Study of latent fingerprints by matrix-assisted laser desorption/ionisation mass spectrometry imaging of endogenous lipids. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2009;23(19):3031-9.
117. Hanrieder J, Ljungdahl A, Savitski M, Eriksson Mammo S, Bergquist J, Andersson M. L-DOPA-induced Dyskinesia is Associated with Regional Increase of Striatal Dynorphin Peptides as Elucidated by Imaging Mass Spectrometry. *Mol Cell Proteomics*. 2011;10(10):M111.009308.
118. Chaurand P, Cornett DS, Angel PM, Caprioli RM. From whole-body sections down to cellular level, multiscale imaging of phospholipids by MALDI mass spectrometry. *Mol Cell Proteomics*. 2011;10(2):O110.004259.
119. Hankin JA, Barkley RM, Murphy RC. Sublimation as a method of matrix application for mass spectrometric imaging. *J Am Soc Mass Spectrom*. 2007;18(9):1646-52.
120. Thomas A, Charbonneau JL, Fournaise E, Chaurand P. Sublimation of new matrix candidates for high spatial resolution imaging mass spectrometry of lipids: enhanced information in both positive and negative polarities after 1,5-diaminonaphthalene deposition. *Anal Chem*. 2012;84(4):2048-54.
121. Van Nuffel S, Elie N, Yang E, Nouet J, Touboul D, Chaurand P, et al. Insights into the MALDI Process after Matrix Deposition by Sublimation Using 3D ToF-SIMS Imaging. *Anal Chem*. 2018;90(3):1907-14.
122. T. K, W. H, I. Y, A. S, Y. Y, Y. T. Protein and polymer analyses up to m/z 100 000 by laser ionization time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 1988;2(8):151-3.
123. Dufresne M, Masson J-F, Chaurand P. Sodium-Doped Gold-Assisted Laser Desorption Ionization for Enhanced Imaging Mass Spectrometry of Triacylglycerols from Thin Tissue Sections. *Anal Chem*. 2016;88(11):6018-25.
124. Dufresne M, Patterson NH, Lauzon N, Chaurand P. Assessing the potential of metal assisted imaging mass spectrometry in cancer research: Applications of Mass Spectrometry Imaging to Cancer. In: Drake R, McDonnell L, editors. 134: Elsevier Inc; 2017. p. 67-84.
125. Ifa DR, Manicke NE, Dill AL, Cooks RG. Latent fingerprint chemical imaging by mass spectrometry. *Science*. 2008;321(5890):805.
126. Ferguson L, Bradshaw R, Wolstenholme R, Clench M, Francese S. Two-step matrix application for the enhancement and imaging of latent fingerprints. *Anal Chem*. 2011;83(14):5585-91.
127. Ferguson LS, Creasey S, Wolstenholme R, Clench MR, Francese S. Efficiency of the dry-wet method for the MALDI-MSI analysis of latent fingerprints. *J Mass Spectrom*. 2013;48(6):677-84.
128. Bradshaw R, Rao, W., Wolstenholme, R., Clench, M. R., Bleay, S., Francese, S. Separation of overlapping fingerprints by matrix assisted laser desorption ionisation mass spectrometry imaging. *Forensic Sci Int*. 2012;222(1-3):318-26.

129. Bradshaw R, Bleay S, Wolstenholme R, Clench MR, Francese S. Towards the integration of matrix assisted laser desorption ionisation mass spectrometry imaging into the current fingerprint examination workflow. *Forensic Sci Int.* 2013;232(1-3):111-24.
130. Francese S, Bradshaw R, Ferguson LS, Wolstenholme R, Clench MR, Bleay S. Beyond the ridge pattern: multi-informative analysis of latent fingerprints by MALDI mass spectrometry. *Analyst.* 2013;138(15):4215-28.
131. Sodhi GS, Kaur J. Powder method for detecting latent fingerprints: a review. *Forensic Sci Int.* 2001;120(3):172-6.
132. Payne G, Reedy B, Lennard C, Comber B, Exline D, Roux C. A further study to investigate the detection and enhancement of latent fingerprints using visible absorption and luminescence chemical imaging. *Forensic Sci Int.* 2005;150(1):33-51.
133. Chen T, Schultz ZD, Levin IW. Infrared spectroscopic imaging of latent fingerprints and associated forensic evidence. *Analyst.* 2009;134(9):1902-4.
134. Choi MJ, McDonagh AM, Maynard P, Roux C. Metal-containing nanoparticles and nano-structured particles in fingerprint detection. *Forensic Sci Int.* 2008;179(2-3):87-97.
135. Girod A, Weyermann C. Lipid composition of fingerprint residue and donor classification using GC/MS. *Forensic Sci Int.* 2014;238:68-82.
136. Morelato M, Beavis A, Kirkbride P, Roux C. Forensic applications of desorption electrospray ionisation mass spectrometry (DESI-MS). *Forensic Sci Int.* 2013;226(1-3):10-21.
137. Chughtai K, Heeren RM. Mass spectrometric imaging for biomedical tissue analysis. *Chem Rev.* 2010;110(5):3237-77.
138. Chaurand P. Imaging mass spectrometry of thin tissue sections: a decade of collective efforts. *J Proteomics.* 2012;75(16):4883-92.
139. Norris JL, Caprioli RM. Analysis of tissue specimens by matrix-assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry in biological and clinical research. *Chem Rev.* 2013;113(4):2309-42.
140. Yang J, Caprioli RM. Matrix sublimation/recrystallization for imaging proteins by mass spectrometry at high spatial resolution. *Anal Chem.* 2011;83(14):5728-34.
141. Tang HW, Lu W, Che CM, Ng KM. Gold nanoparticles and imaging mass spectrometry: double imaging of latent fingerprints. *Anal Chem.* 2010;82(5):1589-93.
142. Niziol J, Ruman T. Surface-transfer mass spectrometry imaging on a monoisotopic silver nanoparticle enhanced target. *Anal Chem.* 2013;85(24):12070-6.
143. Manier ML, Cornett DS, Hachey DL, Caprioli RM. Identification of dimethyldioctadecylammonium ion (m/z 550.6) and related species (m/z 522.6, 494.6) as a source of contamination in mass spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom.* 2008;19(5):666-70.
144. Astigarraga E, Barreda-Gomez G, Lombardero L, Fresnedo O, Castano F, Giralt MT, et al. Profiling and imaging of lipids on brain and liver tissue by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry using 2-mercaptobenzothiazole as a matrix. *Anal Chem.* 2008;80(23):9105-14.
145. Interpol European Expert Group on Fingerprint Identification (IEEGFI), Method For Fingerprint Identification Part 1: Interpol European Expert Group on Fingerprint Identification (IEEGFI); 2006 [Available from: www.interpol.int].
146. Greenshields MR, Scheurman, G. D. *The Crime Scene: Criminalistics, Science, and Common Sense.* Toronto, Canada: Pearson Education Canada Inc; 2001.

147. Lennard C. Fingerprint detection: current capabilities. *Aust J Forensic Sci.* 2007;39(2):55-71.
148. Haan PVD. Physics and fingerprints. *Contemp Phys.* 2006;47(4):209-30.
149. 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):1082-4.
150. Ricci C, Bleay, S., Kazarian, S. G. Spectroscopic imaging of latent fingerprints collected with the aid of a gelatin tape. *Anal Chem.* 2007;79(15):5771-6.
151. Hazarika P, Jickells, S. M., Wolff, K., Russell, D. A. Imaging of latent fingerprints through the detection of drugs and metabolites. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2008;47(52):10167-70.
152. Fieldhouse SJ, Kalantzis, N., Platt, A. W. Determination of the sequence of latent fingerprints and writing or printing on white office paper. *Forensic Sci Int.* 2011;206(1-3):155-60.
153. Tripathi A, Emmons, E. D., Wilcox, P. G., Guicheteau, J. A., Emge, D. K., Christesen, S. D., Fountain III, A. W. Semi-automated detection of trace explosives in fingerprints on strongly interfering surfaces with Raman chemical imaging. *Applied spectroscopy.* 2011;65(6):611-09.
154. Bailey MJ, Ismail, M., Bleay, S., Bright, N., Levin Elad., Cohen, Y., Geller, B., Everson, D., Costa, C., Webb, R. P., Watts, J. F., de Puit, M. Enhanced imaging of developed fingerprints using mass spectrometry imaging. *Analyst.* 2013;138(21):6246-50.
155. Deininger L, Patel, E., Clench, M. R., Sears, V., Sammon, C., Francese, S. Proteomics goes forensic: Detection and mapping of blood signatures in fingerprints. *Proteomics.* 2016;16(11-12):1707-17.
156. Lauzon N, Dufresne, M., Chauhan, V., Chaurand, P. Development of laser desorption imaging mass spectrometry methods to investigate the molecular composition of latent fingerprints. *J Am Soc Mass Spectrom.* 2015;26(6):878-86.
157. Bellemare JF, Beaudoin, A. Manuel de techniques en identité judiciaire interactif. Montréal, Québec, Canada: Sûreté du Québec; 2003.
158. Alaoui IM, Troxler, T., Joullié, M.M. Fingerprint Visualization and Spectroscopic Properties of 1,2-Indanedione-alanine Followed by Zinc Chloride or Europium Chloride. *J For Ident.* 2012;62(1):1-13.
159. Walton BL, Verbeck, G. F. Soft-landing ion mobility of silver clusters for small-molecule matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry and imaging of latent fingerprints. *Anal Chem.* 2014;86(16):8114-20.
160. Peterson J, Sommers I, Baskin D, Johnson D. The Role and Impact of Forensic Evidence in the Criminal Justice Process. U.S. Department of Justice Grant Report, September 2010: Peterson, J.; Sommers, I.; Baskin, D.; Johnson, D.; 2010 [Available from: <https://www.ncjrs.gov/pdffiles1/nij/grants/231977.pdf>].
161. Mong GM, Petersen CE, Clauss TRW. Advanced Fingerprint Analysis Project Final Report – Fingerprint Constituents. Pacific Northwest National Laboratory; 1999.
162. Noble D. Vanished into thin air. The search for children's fingerprints. *Anal Chem.* 1995;67(13):435A-8A.
163. Bouslimani A, Porto C, Rath CM, Wang M, Guo Y, Gonzalez A, et al. Molecular cartography of the human skin surface in 3D. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2015;112(17):E2120-9.

164. Lauzon N, Dufresne M, Beaudoin A, Chaurand P. Forensic analysis of latent fingerprints by silver-assisted LDI imaging MS on nonconductive surfaces. *J Mass Spectrom.* 2017;52(6):397-404.
165. IFRG. Guidelines for the assessment of fingerprint detection techniques 2014 [Available from: <https://ips-labs.unil.ch/ifrg/wp-content/uploads/2014/06/IFRG-Research-Guidelines-v1-Jan-2014.pdf>].
166. Schafer M, Dreiocker F, Budzikiewicz H. Collision-induced loss of AgH from Ag⁺ adducts of alkylamines, aminocarboxylic acids and alkyl benzyl ethers leads exclusively to thermodynamically favored product ions. *Journal of mass spectrometry : JMS.* 2008;44(2):278-84.
167. Guillot JG, Lefebvre M, Weber JP. Determination of heroin, 6-acetylmorphine, and morphine in biological fluids using their propionyl derivatives with ion trap GC-MS. *J Anal Toxicol.* 1997;21(2):127-33.
168. Broecker S, Pragst F. Isomerization of cannabidiol and Delta9-tetrahydrocannabinol during positive electrospray ionization. In-source hydrogen/deuterium exchange experiments by flow injection hybrid quadrupole-time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2012;26(12):1407-14.
169. Casale J, Smith RM. The mass spectrum of cocaine: Deuterium Labeling and MS/MS Studies 2010. 16-41 p.
170. Weed RI, Reed CF, Berg G. Is hemoglobin an essential structural component of human erythrocyte membranes? *J Clin Invest.* 1963;42:581-8.
171. Azoury M, Zamir A, Oz C, Wiesner S. The effect of 1,2-indanedione, a latent fingerprint reagent on subsequent DNA profiling. *J Forensic Sci.* 2002;47(3):586-8.
172. Wilson CM. Studies and critique of Amido Black 10B, Coomassie Blue R, and Fast Green FCF as stains for proteins after polyacrylamide gel electrophoresis. *Anal Biochem.* 1979;96(2):263-78.
173. Sears VG, Prizeman TM. Enhancement of fingerprints in blood - Part 1. The optimization of Amido black. *J For Ident.* 2000;51(1):28-38.
174. Fregeau CJ, Germain O, Fourney RM. Fingerprint enhancement revisited and the effects of blood enhancement chemicals on subsequent profiler Plus fluorescent short tandem repeat DNA analysis of fresh and aged bloody fingerprints. *J Forensic Sci.* 2000;45(2):354-80.
175. Shin S, Yang HJ, Kim JH, Kim J, Lee JH, Park KH, et al. Clarification of a peak at m/z 1634 from tryptically digested cytochrome c. *J Mass Spectrom.* 2012;47(12):1576-81.
176. Kovalevsky A, Chatake T, Shibayama N, Park SY, Ishikawa T, Mustyakimov M, et al. Protonation states of histidine and other key residues in deoxy normal human adult hemoglobin by neutron protein crystallography. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr.* 2010;66(Pt 11):1144-52.
177. Perutz MF. Mechanisms regulating the reactions of human hemoglobin with oxygen and carbon monoxide. *Annu Rev Physiol.* 1990;52:1-25.
178. Miskelly GM, Kelderman MR. Interference of Ninhydrin Pretreatment on Leuco Crystal Violet Visualization of Bloodstains. *Can Soc Forensic Sci J.* 2001;34(3):109-16.
179. Bodziak WJ. Use of leuco crystal violet to enhance shoe prints in blood. *Forensic Sci Int.* 1996;82(1):45-52.
180. Hong S, Seo JY. Chemical enhancement of fingerprint in blood on thermal paper. *Forensic Sci Int.* 2015;257:379-84.

181. Patel E, Cicatiello P, Deininger L, Clench MR, Marino G, Giardina P, et al. A proteomic approach for the rapid, multi-informative and reliable identification of blood. *Analyst*. 2016;141(1):191-8.
182. Kamanna S, Henry J, Voelcker N, Linacre A, Kirkbride KP. "Bottom-up" in situ proteomic differentiation of human and non-human haemoglobins for forensic purposes by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2017;31(22):1927-37.
183. Moule EC, Guinan TM, Gustafsson OJR, Kobus H, Kirkbride KP, Voelcker NH. Silver-assisted development and imaging of fingerprints on non-porous and porous surfaces. *Int J Mass Spectrom*. 2017;422:27-31.

Annexe I.

Méthodes expérimentales pour l'IMS de traces latentes

Nébulisation de matrice MALDI

Les matrices MALDI ont été déposées sur les traces latentes en utilisant le système de nébulisation ImagePrep (Bruker Daltonics). Pour chaque matrice étudiée, la méthode de déposition du CHCA par défaut a été utilisée au départ et ensuite optimisée dans le but d'obtenir une mince couche uniforme sur la trace latente. La composition du solvant ainsi que la concentration de chaque solution de matrice sont présentées au tableau 1. Pour l'analyse des traces latentes en mode d'ionisation positive, 0.1% d'acide trifluoroacétique ont été ajouté à la solution.

Tableau 1. Composition des diverses solutions de matrices MALDI.

Matrice	CHCA	2-MBT	DAN	DHB	THAP	9-AA
Solvant	50% ACN	70% EtOH	70% EtOH	50% MeOH	50% MeOH	50% EtOH
Concentration (mg/mL)	7	20	5	25	10	10

Sublimation de matrice MALDI

La déposition de matrices MALDI par sublimation sur les traces latentes a été effectuée à l'aide d'un système composé d'une pompe à vide, d'un piège à froid, d'un bain d'huile et d'une cloche de verre (Chemglass Life Science, Vineland, NJ). Pour chaque matrice, la température et le temps de déposition ont été optimisés dans le but d'obtenir le meilleur recouvrement et l'efficacité d'ionisation MALDI, c'est-à-dire le nombre de signaux détectés et le rapport signal sur bruit (Tableau 2). Afin d'améliorer la détection par MS, une recristallisation de la matrice a été effectuée en déposant un solvant par nébulisation (TM-Sprayer, HTX LC-Transform) sur la mince couche de matrice sublimée. Le solvant utilisé pour le CHCA, le 2-MBT et le DHB est de 70% ACN, 70% EtOH et 70% MeOH, respectivement. À une température de 30 °C, 10 passages de solvant ont été déposés avec une vitesse latérale de 1.2 m/min et un débit de 13.5 mL/min.

Tableau 2. Paramètres de déposition des matrices MALDI par sublimation.

Matrice	Température de sublimation (°C)	Temps de déposition (min)	Quantité déposée (µg/cm ²)
CHCA	180	5.0	200
DAN	140	4.0	220
DHB	180	4.0	220
2-MBT	180	3.5	200
THAP	150	2.0	180
9-AA	180	7.0	180

Pulvérisation d'argent

Les minces couches d'argent métallique déposées sur les traces latentes ont été réalisées à l'aide d'un système de pulvérisation Cressington 308R (Ted Pella Inc., Redding, CA). À une pression partielle d'argon de 0.02 mbar et un courant de 80 mA, 14±2 nm d'argent ont été déposés sur la trace latente, correspondant à un temps de déposition de 30 sec.