

mgr inż. Tomasz Szczepański

ekspert z zakresu badań daktyloskopijnych w Biurze Badań Kryminalistycznych ABW

mł. insp. dr Sławomir Zubański

adiunkt w Instytucie Badań nad Przestępczością Kryminalną i Terroryzmem WBW, WSPol. w Szczytnie

mgr inż. Antoni Siejca

Lasar Elektronika

mgr Urszula Więckiewicz

ekspert z zakresu badań daktyloskopijnych w Biurze Badań Kryminalistycznych ABW

st. asp. mgr Krzysztof Klemczak

specjalista badawczo-techniczny w Zakładzie Daktyloskopii CLKP

asp. szt. mgr inż. Patryk Brzeziński

technik kryminalistyki w Referacie Techniki Kryminalistycznej WDŚ KRP Warszawa IV

Ujawnianie śladów daktyloskopijnych na podłożach chłonnych przy użyciu genypiny w fazie gazowej

Streszczenie

W artykule przedstawiono rezultaty badań nad metodą sensybilizowania śladów daktyloskopijnych bezpośrednio z fazy gazowej. Detekcja śladów daktyloskopijnych na podłożach chłonnych wymaga zastosowania specyficznych metod ujawniania, w trakcie których ważnym elementem jest dostarczenie reagenta w miejsce występowania odpowiedniego składnika substancji śladotwórczej. W praktyce od wielu lat wykorzystuje się w tym celu różnego rodzaju roztwory, tj.: DFO, ninhydryna, 1,2-indanedione. W ramach artykułu przeprowadzono badania związane z ujawnianiem śladów linii papilarnych na podłożu chłonnym przy wykorzystaniu genypiny w warunkach obniżonego ciśnienia oraz celem porównania w fazie ciekłej. Na podstawie przeprowadzonych badań i uzyskanych wyników należy stwierdzić, że metoda próżniowej sublimacji genypiny może być z powodzeniem wykorzystywana do ujawniania śladów linii papilarnych na podłożach chłonnych. Ujawnione ślady widoczne są zarówno w świetle białym oraz we fluorescencji. Skuteczność metody sensybilizacji śladów daktyloskopijnych w fazie gazowej została wykazana w odniesieniu do takich substancji, jak: ninhydryna i genypina.

Słowa kluczowe genypina, aminokwasy, podłoża chłonne, sublimacja, ślad daktyloskopijny

1. Wstęp

Ujawnianie śladów daktyloskopijnych na podłożach chłonnych wymaga zastosowania specyficznych metod ujawniania. W codziennej praktyce laboratoryjnej stosuje się głównie metody chemiczne wymierzone w aminokwasowe składniki substancji śladotwórczej: DFO, ninhydrynę, 1,2-indanedione [1, 2]. W przypadku tłuszczowych składników substancji śladotwórczej stosuje się metody proszkowe bądź Physical Developer.

Niezwykle istotnym elementem procesu ujawniania śladów daktyloskopijnych na podłożach chłonnych jest dostarczenie reagenta w miejsce występowania odpowiedniego składnika substancji śladotwórczej. W praktyce od wielu lat wykorzystuje się w tym celu różnego rodzaju roztwory. Dobierając składniki, uwzględnia się następujące właściwości:

- rozpuszczalność odczynnika ujawniającego, stabilność roztworu;
- minimalnie negatywny wpływ na podłoże, substancję śladotwórczą, a także np. nierozmywanie środków pisarskich;
- szybkość odparowywania;
- zdolność do szybkiej penetracji włóknistej struktury papieru;
- niska łatwopalność;
- niska szkodliwość dla zdrowia oraz środowiska.

Celem uzyskania optymalnych receptur dobiera się szereg związków chemicznych, takich jak: HFE7100, HFE71DE, metanol, octan etylu, kwas octowy, stosowanych jako rozpuszczalniki oraz dodatki. Obecność ciekłych składników roztworów w wielu wypadkach może powodować zarówno rozpuszczanie substancji śladotwórczej jak i rozmycie pozostawionego śladu. Bez wątpienia może także

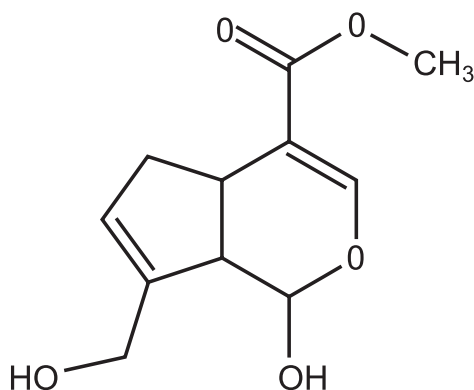
prowadzić do zniszczenia lub utraty materiału biologicznego. Znaczny postęp w tworzeniu nowych receptur ujawniania spowodował odstępianie od wykorzystywania szkodliwego dla środowiska freonu, czy też łatwopalnych eterów i acetonu i zastąpienie ich fluoroeterami. Jednakże zastosowanie metody w formie ciekłej w pewnym stopniu może wiązać się z negatywnym wpływem na ślad bądź podłoże.

Tymczasem ciekawym rozwiązaniem jest możliwość osadzania par sensybilizatora z fazy gazowej bezpośrednio na substancji śladotwórczej, z pominięciem rozpuszczalników. Skuteczne prowadzenie procesu wymaga warunków obniżonego ciśnienia oraz ogrzewania substancji ujawniającej poniżej progu termicznego rozkładu. Idealnym sensybilizatorem są substancje wchodzące selektywnie w reakcję z aminokwasami, z równoczesnym tworzeniem aktywnego optycznie związku. Właściwości takie wykazują metody: DFO, 1,2-indanedione, ninhydryna czy też genypina. W ramach niniejszej pracy przeprowadzono badania związane z ujawnianiem śladów linii papilarnych na podłożu chłonnym przy wykorzystaniu genypiny w warunkach obniżonego ciśnienia oraz celem porównania w fazie ciekłej. Dodatkowo sensybilizację śladów genypiną w fazie gazowej porównano ze standardową metodą ninhydrynową.

2. Podstawy teoretyczne

Na początku lat 60. ubiegłego wieku Djerassy wraz ze współpracownikami odkrył strukturę naturalnego związku chemicznego o sumarycznym wzorze $C_{11}H_{14}O_5$, któremu nadano nazwę genypina. Bezbarwny związek w trakcie kontaktu ze skórą szybko generował niebiesko-fioletowe zabarwienie. Jak ustalono, podobna reakcja zachodziła z aminokwasami. Genypinę otrzymuje się z naturalnych składników, a mianowicie ekstraktu z owoców gardenii jaśminowatej (*Gardenia jasminoides*), poprzez hydrolizę irydoidowego glikozydu o nazwie *geniposide* [3].

Pierwsze doniesienia dotyczące zastosowania



Ryc. 1. Wzór strukturalny genypiny.

genypiny w daktyloskopii sięgają początków XX wieku. Wówczas to wskazano także właściwości fluorescencyjne produktów reakcji genypina-aminokwasy. Badania obejmowały dobór optymalnej receptury, rozpuszczalnika, odczynu pH, warunków ujawniania i fluorescencji z różnymi aminokwasami. W efekcie wskazano na możliwe korzyści wynikające z wdrożenia do praktyki genypiny, a mianowicie:

- podwójny efekt – barwny oraz fluorescencyjny produkt jednej reakcji, bez konieczności stosowania sekwencji DFO – ninhydryna (wzbudzenie 590 nm, emisja z maksimum przy 630 nm);
- fluorescencja przesunięta w kierunku większych długości fal w porównaniu do DFO, a w efekcie uzyskanie wyższego stosunku sygnału do szumu z uwagi na fakt, że wiele podłoży papierowych bądź dokumentów ze środkami pisarskimi wykazuje fluorescencję w zakresie 500–600 nm;
- bezpieczeństwo związane ze stosowaniem genypiny w laboratorium [4].

Badania wykazały, że genypina charakteryzuje się niewiele mniejszą czułością niż ninhydryna w odniesieniu do barwnego, a DFO do fluorescencyjnego produktu reakcji. Wskazano jednak, że przesunięcie fluorescencji w kierunku dłuższej długości fali może być traktowane jako zaleta, w szczególności na niektórych rodzajach papierów wykazujących fluorescencję podłoża lub środków pisarskich. Wskazano także, że mechanizm reakcji genypiny nie jest jednakowy dla wszystkich aminokwasów obecnych w substancji śladotwórczej [2].

Ujawnianie śladów daktyloskopijnych przy wykorzystaniu sublimacji w próżni jak dotąd zaproponowano wyłącznie w odniesieniu do ninhydryny. Z powodzeniem ujawniano ślady linii papilarnych na zwykłym oraz termoczułym papierze, a także banknotach euro. Optymalne warunki obejmowały podciśnienie rzędu od 2 do 5 mbar, temperatura sublimacji 50 mg ninhydryny – 150°C przez 30 minut. Tak poddane działaniu ninhydryny podłoża wygrzewano w warunkach temperatury 50°C i wilgotności 50% RH przez 30 minut w klimatyzowanej komorze [5].

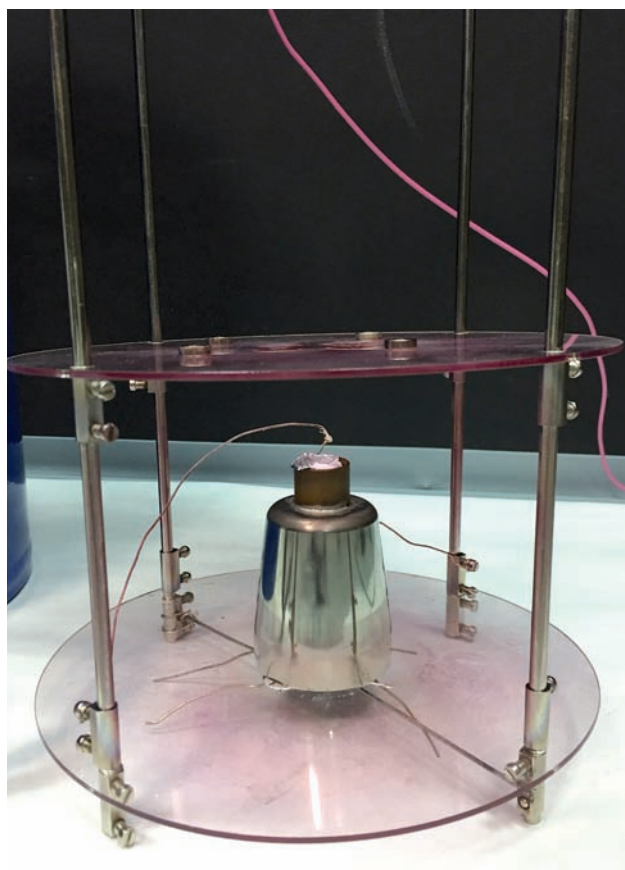
3. Aparatura

Badania wykonywane były w komorze próżniowej dedykowanej do metody cyanakrylowej wyposażonej w specjalnie skonstruowany parownik, umożliwiający przeprowadzenie kontrolowanej sublimacji. W zamknięciu komory wykonanym z polimetakrylanu metylu umieszczono cztery przepusty prądowe. Dwa z nich wykorzystano do zasilania grzejnika, a dwa do pomiaru temperatury. Do pomiaru temperatury wykorzystano sondę PT 100. Jej rezystancję mierzono

za pomocą miernika DIGITAL MULTIMETER RD701 firmy SANWA produkcji japońskiej. Budowę stelaża komory wraz z jej zamknięciem zaprezentowano na rycinie nr 2.



Ryc. 2. Wykorzystana w badaniach komora dedykowana do metody cyjanoakrylowej dostosowana do sublimacji innych substancji.



Ryc. 3. Parownik aparatury.

Na rycinie nr 2 przedstawiono następujące elementy: grzejnik z ekranem termicznym oraz końcówkami sondy PT 100, płytka będąca podstawą

grzejnika stanowiąca jednocześnie wieniec dolny wiążący pręty metalowe, będące zarazem przewodami doprowadzającymi zasilanie do grzejnika i łączącymi sondę pomiarową z miernikiem. Ponadto widoczna jest płytka przedmiotowa, do której za pomocą magnesów mocowane są badane próbki oraz paski testowe (producent SEMA). Należy zaznaczyć, że odległość między parownikiem a płytką przedmiotową można regulować. Konstrukcja stelaża stanowiska badawczego umożliwiała umieszczanie badanych próbek w różnej odległości od źródła par.

Parownik wykonano z pręta miedzianego, w którego górnej części wytoczono wnękę o głębokości 5 mm i średnicy 15 mm. Wewnątrz wnęki znajduje się separator wykonany z folii aluminiowej, w którym umieszcza się odważoną ilość badanej substancji.

4. Materiały i metody

4.1. Odczynniki chemiczne

Ninhydryna (2,2-dihydroxy-1,3-indanedione) została zakupiona w BVDA (Holandia), a genypina w CBC Challenge Bio products CO. LTD (Taiwan). Etanol bezwodny i kwas octowy (99,8%) otrzymano od Honeywell (Niemcy), octan etylu od CHEMPUR (Polska), HFE 7100 od SIRCHIE (USA), a etanol od POCH (Polska).

Wszystkie odczynniki chemiczne były w stanie czystości analitycznej i wykorzystano je bez późniejszego oczyszczania.

4.2. Przygotowanie roztworów

4.2.1. Roztwór genypiny

Rozpuszczono 0,425 g genypiny w mieszaninie składającej się z 14,25 ml etanolu bezwodnego i 21,5 ml octanu etylu. Następnie składniki te mieszano na mieszadle magnetycznym aż do całkowitego rozpuszczenia się kryształków genypiny. Na koniec dodano 146,75 ml HFE7100. Roztwór mieszano przez 10 minut.

4.2.2. Roztwór ninhydryny

W pierwszej kolejności przygotowano roztwór koncentratu poprzez odważenie 12,5 g ninhydryny, a następnie dodanie 12,5 ml kwasu octowego o stężeniu 99,8%, 112,5 ml etanolu o stężeniu 99,8% i 5 ml octanu etylu. Roztwór mieszano na mieszadle magnetycznym do całkowitego rozpuszczenia ninhydryny. Następnie przygotowano roztwór roboczy poprzez zmieszanie 26 ml koncentratu ninhydryny z 500 ml HFE 7100 i mieszanie go na mieszadle magnetycznym przez 10 minut.

4.3. Przygotowanie próbek do badań

Badaniom poddano podłoża chłonne w postaci papieru biurowego (gramatura 80 g/m²). Z arkuszy papieru wycięto paski. Do badań wykorzystano 10 takich pasków papieru oraz 15 aminokwasowych pasków testowych firmy SEMA (Niemcy). Ślady linii papilarnych na papierowych paskach pozostawiała jedna osoba – palcem wskazującym potartym wcześniej o policzek. Natomiast próbki w postaci aminokwasowych pasków testowych zanurzano na 5 sekund w szalkach Petriego zawierających odpowiedni roztwór, a następnie suszono w temperaturze pokojowej.

Przygotowane próbki śladów podzielono na dwie grupy po 5 sztuk. Każdą z próbek dodatkowo przecięto na pół. Następnie grupy poddano działaniu genypiny w fazie ciekłej, gazowej oraz ninhydryny w fazie ciekłej. Wszystkie próbki wykorzystywane w badaniach przechowywano w warunkach stałej temperatury oraz wilgotności.

4.4. Sensybilizacja z fazy gazowej

Próbki w postaci papierowych pasków ze śladami umieszczano na płytce przedmiotowej stelaża komory próżniowej, a obok umieszczano aminokwasowe paski testowe. Dalej po zamknięciu aparatury wytwarzano próżnię i rozpoczynano proces parowania lub sublimacji odpowiedniego sensybilizatora. Przeprowadzone próby wskazały, że odległość około 6 cm próbki od parownika była największa przy osiągniętej w komorze próżni (ciśnieniu).

Próżnię wytwarzano za pomocą pompy obrotowej, a uzyskiwane ciśnienie końcowe nie było niższe niż 10⁻² mm Hg (około 1 paskala). Temperatura parownika (sublimacji lub parowania) była kontrolowana i regulowano ją w zakresie 120–150°C. Przeciętny proces ujawniania śladu, obejmujący pompowanie zbiornika do momentu uzyskania najniższego ciśnienia oraz grzanie parownika do wymaganej temperatury i czas trwania przemiany fazowej ze stałej w gazową, trwał nie dłużej niż 10 min.

Po etapie sensybilizacji śladów w komorze próżniowej następowało jej kontrolowane zapowietrzenie, a przygotowane w ten sposób próbki przenoszono do komory klimatycznej Weiss-Gallenkamp. Proces reakcji pomiędzy sensybilizatorem a śladem przeprowadzano w czasie około 1 godziny w temperaturze 80°C i wilgotności względnej 80% RH. Obserwację, rejestrację i analizę obserwowanych efektów przeprowadzono z wykorzystaniem systemu makroskopowego obrazowania hyperspektralnego opartego na technologii LCTF (ang. *liquid crystal tunable filter*) – The VIS CONDOR Macroscopic Chemical Imaging System™ (ChemImage, Stany Zjednoczone Ameryki).

Po przeprowadzeniu sublimacji lub parowania i zapowietrzeniu aparatury próbki umieszczano

w komorze klimatycznej Weiss-Gallenkamp, zapewniając optymalne warunki ujawniania śladów linii papilarnych, tj. temperaturę około 80°C i wilgotność względną około 65% RH. Próbki wygrzewano przez 1 godzinę.

4.5. Rejestracja hyperspektralnych obrazów ujawnionych śladów linii papilarnych

Pomiary intensywności emitowanej fluorescencji bądź absorpcji próbek wykonywane były przy użyciu systemu makroskopowego obrazowania hyperspektralnego CONDOR Macroscopic Chemical Imaging System™ (ChemImage, Stany Zjednoczone Ameryki). Przereagowane powierzchnie próbek obrazowano w miejscu występowania śladów i obszarów reaktywnych pasków testowych, a następnie analizowano przy użyciu oprogramowania ChemXpert. Pomiarów fluorescencji dokonywano w zakresie 600–720 nm przy rozdzielczości spektralnej 7 nm, wzbudzając fluorescencję przy 575 nm oświetlaczem kryminalistycznym Mini Crime Scope (Ybon, Stany Zjednoczone Ameryki). Pomiarów absorpcji dokonywano w zakresie 470–720 nm. W celu uzyskania pomiarów absorpcji dane pomiarowe przekształcono funkcją $-\text{Log}T/T_0$.

Analizie poddano uśrednione wyniki z czterech serii pomiarowych (2 serie po 10 pasków testowych i 2 serie po 5 śladów podzielonych na dwie części). W przypadku pasków testowych SEMA analizowano cztery pola reakcyjne o zmniejszającym się wykładniczo stężeniu aminokwasów, natomiast w odniesieniu do pasków z pozostawionymi śladami linii papilarnych typowano obszar zawierający barwny produkt reakcji ujawniania. Dane liczbowe z otrzymanych obszarów pomiaru przeniesiono do arkusza kalkulacyjnego programu Microsoft Excel.

5. Uzyskane wyniki

Technika próżniowej sublimacji genypiny może być z powodzeniem wykorzystywana do ujawniania śladów linii papilarnych na podłożach chłonnych. Ujawnione ślady widoczne są zarówno w świetle białym jak i w fluorescencji – ryciny nr 4, 5. Ślady ujawnione tą techniką nie wykazują rozmycia bądź zaniku rysunku linii. Ponadto cechy poroskopijne listewek są dobrze uwidocznione. Należy zakładać, że wynika to z braku występowania charakterystycznych dla podłoży chłonnych zjawisk kapilarnych odpowiedzialnych za zniekształcenie rysunku linii. Dodatkowo unika się wszystkich destrukcyjnych działań zjawisk związanych z występowaniem napięcia powierzchniowego na granicach ewentualnie powstających kropel.

Dane pomiarowe uzyskane z pasków testowych wskazują, że poziom emitowanej fluorescencji śladów ujawnionych techniką próżniowej sublimacji genypiny



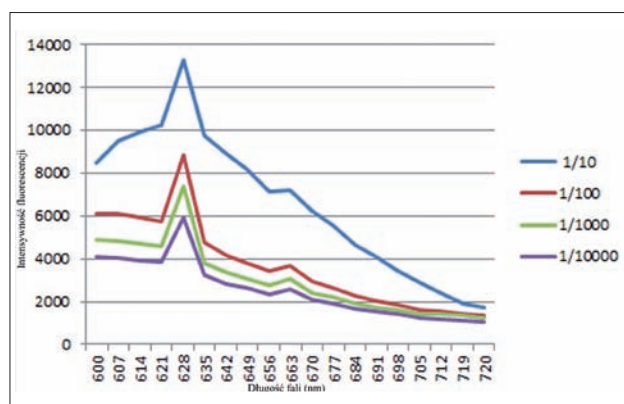
Ryc. 4. Ślad linii papilarnych ujawniony techniką sublimacji próżniowej genypiny – widok w trybie fluorescencji (wzbudzenie 575 nm, filtr krawędziowy długofalowy czerwony).



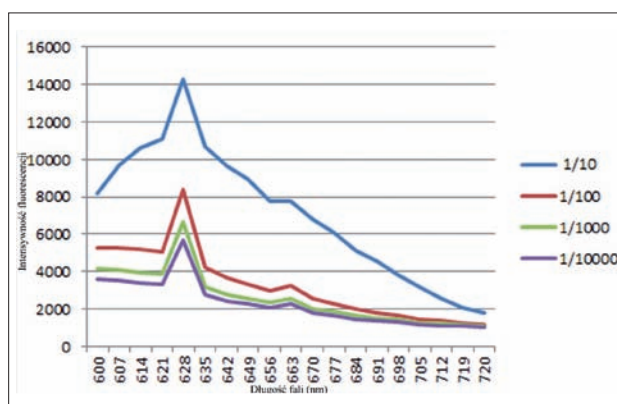
Ryc. 5. Ślad linii papilarnych ujawniony techniką sublimacji próżniowej genypiny – widok w świetle białym.

jest porównywalny do śladów ujawnionych przy wykorzystaniu techniki cieczowej – ryciny nr 6, 7. Podobnie sytuacja przedstawia się w przypadku testowych śladów linii papilarnych. Należy jednak

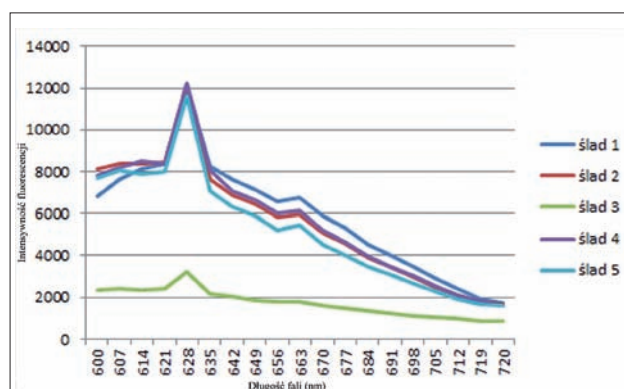
podkreślić, że precyzja definiowania obszaru pomiaru oraz dystrybucja i rozkład aminokwasów w paskach testowych są znacznie wyższe niż w przypadku śladów testowych. Należy zakładać, że z tego powodu



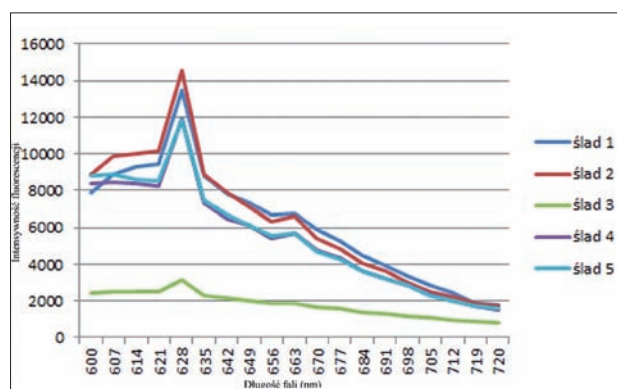
Ryc. 6. Fluorescencja czterech pól reakcyjnych o zmniejszającym się wykładniczo stężeniu aminokwasów pasków testowych SEMA poddanych działaniu genypiny techniką próżniowej sublimacji.



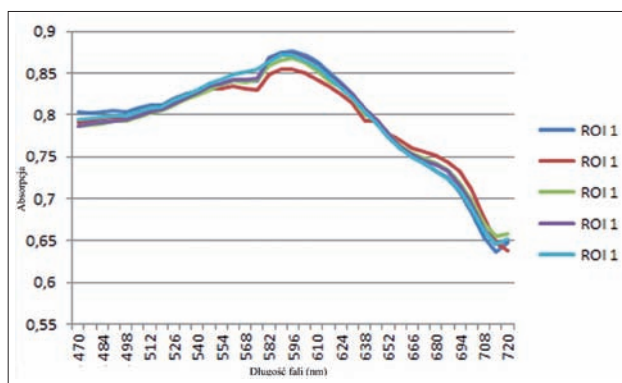
Ryc. 7. Fluorescencja czterech pól reakcyjnych o zmniejszającym się wykładniczo stężeniu aminokwasów pasków testowych SEMA poddanych działaniu roztworu genypiny.



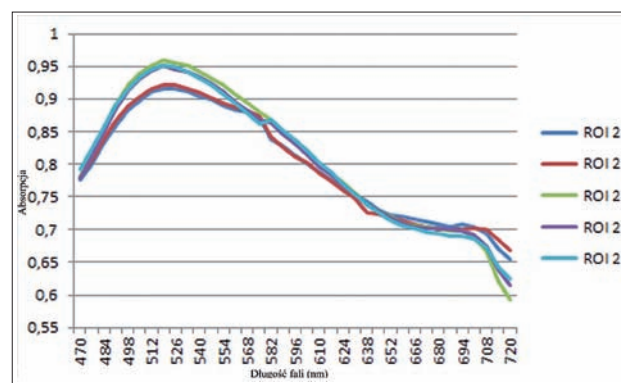
Ryc. 8. Fluorescencja śladów linii papilarnych poddanych działaniu genypiny techniką próżniowej sublimacji.



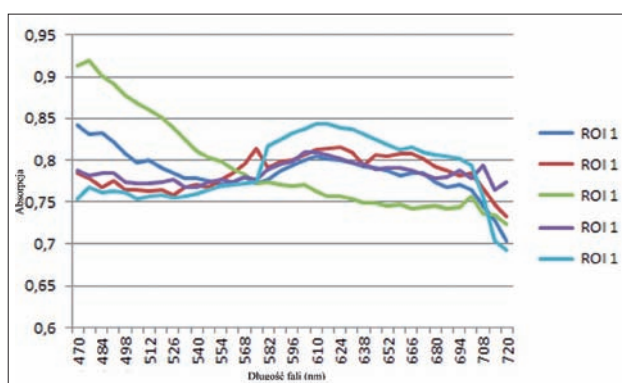
Ryc. 9. Fluorescencja śladów linii papilarnych poddanych działaniu roztworu genypiny.



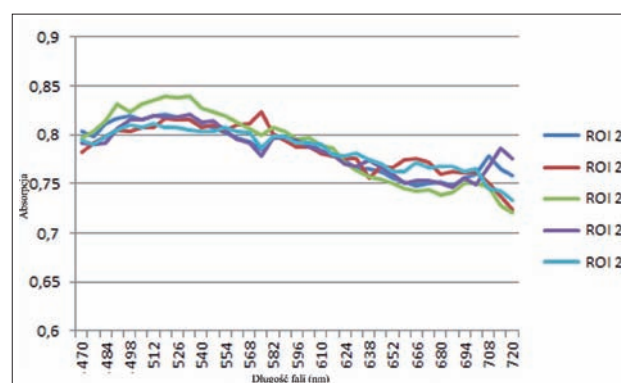
Ryc. 10. Absorpcja pola reakcyjnego o największym stężeniu aminokwasów pasków testowych SEMA poddanych działaniu genypiny techniką próżniowej sublimacji.



Ryc. 11. Absorpcja pola reakcyjnego o największym stężeniu aminokwasów pasków testowych SEMA poddanych działaniu roztworu ninhydryny.



Ryc. 12. Absorpcja śladów linii papilarnych poddanych działaniu genypiny techniką próżniowej sublimacji.



Ryc. 13. Absorpcja śladów linii papilarnych poddanych działaniu roztworu ninhydryny.

zarejestrowano rozbieżność danych pomiarowych śladu testowego nr 3 – ryciny nr 8, 9.

Przeprowadzone próby i testy wskazały, że optymalną temperaturą parowania genypiny jest 140°C. Niezwykle istotna jest kontrola szybkości wzrostu temperatury parownika, nie można dopuszczać do znaczącego przekraczania optymalnego zakresu, gdyż może to spowodować rozkład termiczny genypiny. Ponadto próbki po ujawnianiu wymagały ogrzewania w temperaturze 80°C przy wilgotności 80% RH, w przeciwieństwie do ninhydryny, która wymaga 62% RH.

Dane pomiarowe absorpcji próżniowo sublimowanej genypiny w zestawieniu z ninhydryną zastosowaną w formie roztworu wskazują na porównywalne wartości. Widoczne są jednak różnice spektralne, czego efektem jest różnica w zabarwieniu produktów reakcji z aminokwasami – ryciny nr 10–13.

6. Wnioski

Metoda sensybilizowania śladów daktyloskopijnych bezpośrednio z fazy gazowej może stać się z pewnością

bardzo ważnym narzędziem uzupełniającym znany do tej pory arsenał technik używanych do ujawniania śladów daktyloskopijnych. Metoda ta jest bardzo prosta, a aparatura wymagana do jej stosowania – stosunkowo tania. Czas procesu sensybilizacji jest niedługi. Dodatkowo jej zaletą jest to, że nie powoduje ona degradacji bądź utraty materiału do badań genetycznych. Podkreślić należy, że skuteczność metody sensybilizacji śladów daktyloskopijnych w fazie gazowej została wykazana w odniesieniu do takich substancji, jak: ninhydryna i genypina. Można zatem oczekiwać, że dalsze badania wykażą przydatność również innych substancji do takich zastosowań.

Źródła rycin:

Rycina 1: J. Almog, Y. Cohen, M. Azoury, T.R. Hahn, *Genipin – A Novel Fingerprint Reagent with Colorimetric and Fluorogenic Activity*, "J. Forensic Sci." 2004, nr 49, s. 2.

Ryciny 2–13: autorzy

Bibliografia

1. Almog J., Cohen Y., Azoury M., Hahn T.R., *Genipin – A Novel Fingerprint Reagent with Colorimetric and Fluorogenic Activity*, "J. Forensic Sci." 2004, nr 49, s. 2.
2. Bleay S.M., Sears V.G., Bandey H.L., Gibson A.P., Bowman V.J., Downham R., Fitzgerald L., Ciuksza T., Ramadani J., Selway C., *Fingerprints Source Book*, Home Office, Centre for Applied Science and Technology (CAST), Wielka Brytania, 2012 (<https://www.gov.uk/government/publications/fingerprint-source-book>).
3. *Fingermark Visualisation Manual*, red. H.L. Bandey, Home Office, Centre for Applied Science and Technology (CAST), Wielka Brytania, 2014.
4. *Genipin, a Novel Fingerprint Reagent With Colorimetric and Fluorogenic Activity, Part II: Optimization, Scope and Limitations*, "J. Forensic Sci." 2005, nr 50, s. 6.
5. Schwarz L., Frerichs I., *Advanced Solvent-Free Application of Ninhydrin for Detection of Latent Fingerprints on Thermal Paper and Other Surfaces*, "J. Forensic Sci." 2002, nr 47, s. 6.