

kom. Tomasz Szczepański (autor korespondencyjny)
starszy specjalista badawczo-techniczny w Zakładzie Daktyloskopii CLKP
tomasz.szczepanski@policja.gov.pl
Urszula Więckiewicz
specjalista badawczo-techniczny w Zakładzie Daktyloskopii CLKP
st. asp. Krzysztof Klemczak
specjalista badawczo-techniczny w Zakładzie Daktyloskopii CLKP

Paski testowe do sprawdzania reaktywności metod wizualizacji śladów daktyloskopijnych na podłożach chłonnych z aminokwasami

Streszczenie

W artykule przedstawiono rezultaty badań jednorodności aminokwasowych testów paskowych dla fluorescencyjnej metody DFO. W badaniach wykorzystano gotowe do użycia aminokwasowe paski testowe przeznaczone dla metod: DFO, ninhydrynowej, 1,2-indanedione, wykonane z podłoża chłonnego zawierającego cztery pola reakcyjne o zmniejszającym się wykładniczo stężeniu aminokwasów. Paski testowe poddawano działaniu roztworu DFO w celu zmierzenia poziomu emisji fluorescencji produktu reakcji DFO–aminokwas dla odpowiednich pól reakcyjnych. Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono powtarzalność otrzymanych pomiarów emitowanej fluorescencji. Potwierdziło to przydatność pasków testowych do weryfikacji metody DFO, zarówno nowo przygotowanych odczynników, jak i przy stosowaniu metody w codziennej praktyce laboratoryjnej. Na podstawie otrzymanych wyników badań należy założyć, że testowe paski są również skuteczne i przydatne do weryfikacji prawidłowości przygotowania roztworów roboczych dla pozostałych metod wizualizacji śladów daktyloskopijnych ukierunkowanych na aminokwasy: ninhydryna, 1,2-indanedione oraz 1,2-indanedione z chlorkiem cynku.

Słowa kluczowe DFO, paski testowe, aminokwasy, powierzchnie chłonne

Wstęp

Od wielu lat badania daktyloskopijne uznawane są za jedną z najskuteczniejszych metod identyfikacji sprawców przestępstw [1]. Wyodrębnił się wyraźny podział badań daktyloskopijnych na czynności związane z detekcją i wizualizacją śladów linii papilarnych, określane jako badania wizualizacyjne, oraz czynności związane z identyfikacją śladów, określane jako badania porównawcze. Ma to odzwierciedlenie w wielu publikacjach [2]. Ponadto wyodrębnienie tych dwóch specjalności w ramach badań daktyloskopijnych przyspieszyło intensywny rozwój nowych technologii ujawniania śladów, najczęściej adaptowanych z innych dziedzin nauki. W tym miejscu należy wspomnieć o wykorzystaniu metod fluorescencyjnych, takich jak: DFO, 1,2-indanedione, Basic Yellow 40 i innych. Przełomem w zakresie technik detekcji śladów linii papilarnych są również zaawansowane technologicznie

instrumentalne metody ujawniania, takie jak obrazowanie: hiperspektralne, czasowo-rozdzielcze, up-konwersyjne oraz refleksyjne techniki w zakresie dalekiego UV [3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10].

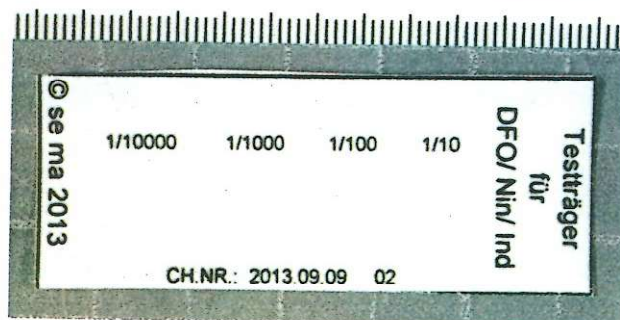
Stosowanie chemicznych metod ujawniania śladów linii papilarnych wymusza stosowanie kontroli nad reaktywnością i skutecznością przygotowywanych odczynników chemicznych. Osoba przeprowadzająca badania musi być pewna, że sporządzony w laboratorium bądź zakupiony gotowy roztwór odczynnika reaguje ze składnikami substancji śladotwórczej i umożliwia skuteczne ujawnianie śladów linii papilarnych. Niedopuszczalna jest sytuacja, w której osoba wykonująca badania ma wątpliwości co do reaktywności roztworu po zastosowaniu metody. Najprostszym sposobem weryfikacji skuteczności przygotowywanych odczynników są tzw. ślady testowe pozostawiane na podłożu zbliżonym do będącego przedmiotem badań. Idealny model wykorzystania techniki próbnego

ślądu zakłada zastosowanie identycznych warunków, a mianowicie: składu substancji śladotwórczej, podłoża, dynamiki pozostawienia śładu. W praktyce nie ma możliwości spełnienia tych założeń. O ile dobranie podobnego podłoża może być w miarę możliwości wykonalne, np. kartka papieru do zastosowań biurowych, to pozostaje problem zbliżonej składem substancji śladotwórczej. Jak wiadomo skład substancji śladotwórczej uzależniony jest w bezpośredni sposób od wielu czynników, takich jak: wiek, płeć, sposób odżywiania, [2]. Dodatkowo skład substancji jest zmienny w czasie i trudno oczekiwać takiego samego składu w skali całego tygodnia, a nawet dnia.

W przypadku związków chemicznych reagujących z aminokwasami testowanie ich skuteczności można przeprowadzić poprzez przereagowanie aminokwasów naturalnie występujących w substancji śladotwórczej na podłożach testowych. W tym celu można przygotować wodne roztwory aminokwasów o zmieniającym się wykładniczo stężeniu i nanieść na wybrane podłoże testowe w określonych miejscach. Dobranie zmiennych wykładniczo stężeń roztworów pozwala na późniejsze określenie czułości przygotowanego roztworu ujawniającego. W literaturze opisano wykorzystanie drukarki atramentowej z kartridżami wypełnionymi wodnymi roztworami aminokwasowymi do przygotowywania podłoży testowych [11]. Również w CLKP prowadzono prace umożliwiające przygotowanie jednorodnego materiału badawczego. W tym celu wykorzystano drukarkę atramentową model HP710C z nowymi nieużywanymi kartridżami, które otrzymano dzięki uprzejmości Hewlett-Packard Polska Sp. z o.o. Po wstępnych sukcesach umożliwiających efektywne „drukowanie” aminokwasami arkuszy papieru napotkano jednak na problemy związane z wysychaniem dysz drukujących i brakiem podwyższonego ciśnienia wewnątrz kartridżów. Uniemożliwiało to przygotowywanie większych partii podłoży.

Obecnie na rynku europejskim pojawiły się w ofercie niemieckiej firmy SEMA GmbH¹ gotowe do użycia aminokwasowe paski testowe przeznaczone dla metod: DFO, ninhydrinowej, 1,2-indanedione. Wykonane są z podłoża chłonnego przypominającego bibułę filtracyjną z nadrukowanymi informacjami. Paski zawierają cztery pola reakcyjne o zmniejszającym się wykładniczo stężeniu aminokwasów (ryc. 1).

W związku z powyższym celem przeprowadzonych badań było określenie jednorodności aminokwasowych testów paskowych dla fluorescencyjnej metody DFO. Przy założeniu, że odpowiednie pola reakcyjne poszczególnych pasków zawierają zbliżone stężenia aminokwasów, zmierzony dla nich fluorescencyjny poziom emisji produktu reakcji DFO–aminokwasów powinien być porównywalny. W przypadku potwierdzenia jednorodności próbek testowe paski będą mogły być



Ryc. 1. Aminokwasowy pasek testowy firmy SEMA GmbH.

wykorzystywane w codziennej praktyce laboratoryjnej w celu weryfikacji skuteczności roztworów DFO, ninhydriny bądź 1,2-indanedione. W badaniach zmierzono emisję fluorescencji z pól o czterech wzrastających wykładniczo stężeniach aminokwasów.

Materiały i metody

Paski testowe i odczynniki chemiczne

Paski testowe otrzymano od SEMA GmbH (Niemcy). DFO (1,8-diazafluoren-9-on) otrzymano od BVDA (Holandia). Kwas octowy, metanol pozyskano od POCH (Polska). HFE7100, HFE71DE zakupiono od Sigma Aldrich (Polska). Wszystkie odczynniki chemiczne były o czystości analitycznej i wykorzystano je bez późniejszego oczyszczania.

Przygotowanie roztworu DFO

Roztwór DFO przygotowano według receptury zalecanej przez CAST² [Home Office fingerprint]. Na początku dodano 0,25 g DFO do mieszaniny 30 ml metanolu oraz 20 ml kwasu octowego i mieszano na mieszadło magnetycznym, aż do całkowitego rozpuszczenia się DFO. Następnie dodano 275 ml HFE71DE oraz 725 ml HFE7100 i mieszano na mieszadło magnetycznym przez 15 minut.

Warunki przeprowadzania reakcji testowych pasków z DFO

Wybrane do badań paski testowe w liczbie 100 sztuk poddawano działaniu roztworu DFO metodą zanurzeniową. Paski wygrzewano w temperaturze około 90°C przez 20 minut. Pozytywny wynik reakcji uwiadczał się w trakcie obserwacji przez filtr oględzinowy OG590 w postaci emisji fluorescencji pól reakcyjnych po wzbudzeniu promieniowaniem w zakresie 505 nm (ryc. 2).

¹ www.sema-gmbh.de

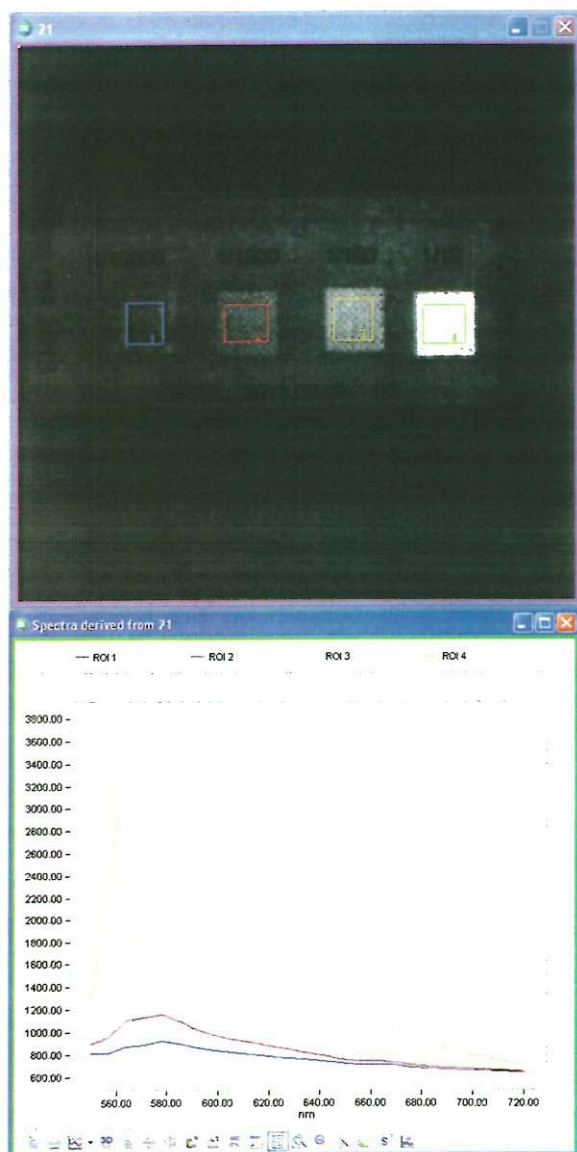
² Home Office Centre for Applied Science and Technology (CAST), *Fingerprint Visualisation Manual*, Wielka Brytania, 2014.



Ryc. 2. Aminokwasowy pasek testowy firmy SEMA GmbH po przereagowaniu z DFO – wzbudzenie 505 nm, OG590.

Pomiary emisyjnych widm fluorescencyjnych i analiza danych

Pomiarów intensywności emitowanej fluorescencji powierzchni reakcyjnych pasków dokonano przy użyciu



Ryc. 3. Przykład wyznaczenia obszarów pomiarowych: ROI1, ROI2, ROI3, ROI4 w polach reakcyjnych pasków testowych po ujawnieniu wraz z widmami emisyjnymi.

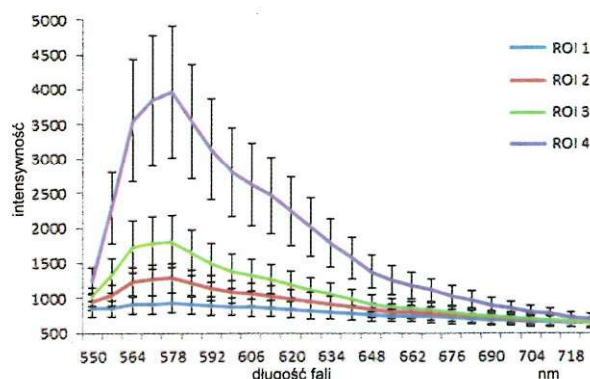
systemu makroskopowego obrazowania hiperspektralnego CONDOR Macroscopic Chemical Imaging System™ (ChemImage, USA).

Pomiarów emisji fluorescencji dokonywano z powierzchni czterech pól reakcyjnych w kształcie kwadratu dla każdego paska. Powierzchnie obrazowano i analizowano przy użyciu oprogramowania ChemXpert (ryc. 3). Dane zbierano w zakresie od 550 do 720 nm przy rozdzielczości spektralnej 7 nm, wzбудając fluorescencję przy 515 nm oświetlaczem kryminalistycznym Mini Crimescope (Ybon, USA).

Analizie poddano widma uzyskane ze 100 pól reakcyjnych dla czterech wzrastających wykładniczo stężeń. Pola te oznaczono symbolami: ROI1, ROI2, ROI3, ROI4. Dane liczbowe z otrzymanych obszarów pomiaru przeniesiono do arkusza kalkulacyjnego programu Microsoft Excel, gdzie obliczono średnią arytmetyczną dla każdego punktu pomiarowego i poddano weryfikacji danych poprzez obliczenie odchylenia standardowego.

Omówienie wyników badań

Otrzymane wyniki wskazują na powtarzalność otrzymanych pomiarów emitowanej fluorescencji. Deklarowany przez producenta wzrost stężenia aminokwasów w oznaczonych polach od ROI1 do ROI4 został potwierdzony odpowiednim wzrostem zmierzonej emisji w szczególności w okolicach maksimum emisji przy 578 nm (ryc. 4). Obliczone odchylenie standardowe osiągało najwyższe wartości dla pola reakcyjnego o najwyższym stężeniu aminokwasów (ROI4) – 25%, w okolicach maksimum emisji. Otrzymane widma emisji fluorescencji produktów reakcji DFO–aminokwasów są zbliżone do wyników wcześniejszych prac. W badaniach wykorzystano wyłącznie metodę DFO, jednak należy sądzić, że paski testowe będą przydatne także dla pozostałych ukierunkowanych na aminokwasów metod: ninhydrynowej, 1,2-indanedione oraz 1,2-indanedione z chlorkiem cynku.



Ryc. 4. Emisyjne widma fluorescencji zmierzone w polach pomiarowych: ROI1, ROI2, ROI3, ROI4 wraz z zaznaczonym obliczonym odchyleniem standardowym.

Wnioski

Przeprowadzone badania potwierdziły przydatność pasków testowych do weryfikacji stosowanej metody DFO zarówno nowo przygotowanych odczynników, jak i każdorazowo przy stosowaniu metody w warunkach operacyjnych. Należy zakładać, że paski są także przydatne do sprawdzania skuteczności przygotowanych roztworów roboczych dla pozostałych ukierunkowanych na aminokwasy metod: ninhydrynowej, 1,2-indanedione oraz 1,2-indanedione z chlorkiem cynku. Uzyskana jednorodność pozwala także na prowadzenie wstępnych testów nowych receptur obecnie stosowanych związków oraz nowych substancji, pod warunkiem że będą reagowały chemicznie z aminokwasami. Należy również podkreślić, że wykorzystanie pasków testowych nowych receptur nie powinno całkowicie zastąpić testów przeprowadzanych w warunkach operacyjnych na prawdziwych śladach daktyloskopijnych.

Uzyskane widma emisyjne potwierdziły wcześniejsze badania wskazujące maksimum emisji produktu reakcji DFO–aminokwasy na około 578 nm przy wzbudzeniu 530 nm [12].

Źródła rycin

Ryciny 1–4: autorzy

Bibliografia

1. Lee and Gaensslen's: Advances in fingerprint technology, Third Edition, R. Ramotowski, CRC Press, 2012, USA.
2. Champod Ch. Lennard Ch., Margot P., Stoilovic M.: Fingerprints and other ridge skin impressions, CRC Press, 2004, USA.
3. Grigg R., Mongkolaussavaratana T., Pounds C., Sivagnanam S.: 1,8-Diazafluoren-9-one and related compounds. A new reagent for the detection of alpha-amino acids and latent fingerprints, „Tetrahedron Letters”, 31, 49 (1990) 7215–7218.
4. Pounds C., Grigg R., Mongkolaussavaratana T.: The use 1,8-Diazafluoren-9-one (DFO) for the fluorescence detection of latent fingerprint on paper. A preliminary investigation, „Journal of Forensic Sciences”, 35, 1 (1990) 169-175.
5. Bleay S., Sears V., Bandey H., Gibson A., Bowman V., Downham R., Fitzgerald L., Ciuksza T., Ramadani J., Selway C.: Fingerprint Source Book, Home Office, 2012, Sandridge.
6. Fingermark Visualization Manual, H. Bandey [editor], Home Office, 2014, Wielka Brytania.
7. Szczepański T.: Chemical imaging jako nowa zaawansowana technika rejestracji śladów daktyloskopijnych, „Problemy Kryminalistyki”, 262 (2008) 51-58.
8. Moszczyński J., Siejca A., Ziemnicki Ł.: New system for the acquisition of fingerprints by means of time-resolved luminescence, „Journal of Forensic Identification”, 58, 5 (2008) 515-523.
9. Drabarek B., Siejca A., Moszczyński J., Konior B.: Applying anti-stokes phosphors in development of fingerprints on surfaces characterized by strong luminescence, „Journal of Forensic Identification”, 62, 1 (2012) 28-35.
10. Leintz R., Bond J.: Can the RUVIS Reflected UV Imaging System Visualize Fingerprint Corrosion on Brass Cartridge Casings Postfiring?, „Journal of Forensic Sciences”, 58, 3 (2013) 772-775.
11. Schwarz L.: An amino acid model for latent fingerprints on porous surfaces, „Journal of Forensic Sciences”, 54, 6 (2009) 1323-1326.
12. Szczepański T., Więckiewicz U., Klemczak K., Chyczewska A.: Różnice spektralne fluorescencji produktów reakcji wybranych aminokwasów z DFO, 1,2-indanedione oraz 1,2-indanedione z chlorkiem cynku, „Problemy Kryminalistyki”, 282 (2013), 2–8.

„Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego o nr DOBR-BIO4/044/13011/2013 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju”