

**Tomasz Szczepański**

specjalista badawczo-techniczny w Zakładzie Daktyloskopii Centralnego Laboratorium Kryminalistycznego Policji  
urszula.wieckiewicz@policja.gov.pl

**Urszula Więckiewicz**

specjalista badawczo-techniczny w Zakładzie Daktyloskopii Centralnego Laboratorium Kryminalistycznego Policji

**Krzysztof Klemczak**

specjalista w Zakładzie Daktyloskopii Centralnego Laboratorium Kryminalistycznego Policji

**Anna Chyczewska**

st.post. w Laboratorium Kryminalistycznym Komendy Stołecznej Policji

## Badanie poziomu emisji fluorescencji produktów reakcji wybranych aminokwasów z DFO, 1,2-indanedione oraz 1,2-indanedione z chlorkiem cynku

### Streszczenie

W opracowaniu przedstawiono rezultaty pomiarów intensywności emisji fluorescencji produktów reakcji wybranych aminokwasów z DFO, 1,2-IND i 1,2-IND z chlorkiem cynku na podłożu chłonnym. W badaniach uwzględniono następujące zmienne: odczynnik ujawniający, rodzaj podłoża, rodzaj aminokwasu i czas przechowywania próbek. Przeprowadzone badania potwierdziły, że na intensywność fluorescencji ujawnianych śladów linii papilarnych mają wpływ ww. czynniki. Potwierdzono, że intensywność fluorescencji produktów reakcji aminokwasów 1,2-IND przechowywanych przez 1 bądź 7 dni dla większości przebadanych próbek wzrasta po dodaniu do roztworu ujawniającego chlorku cynku. Dla próbek przechowywanych przez 4 miesiące najwyższy poziom emisji fluorescencji stwierdzono dla DFO. Nie stwierdzono zasadniczych różnic w charakterystyce spektralnej fluorescencji badanych związków w zależności od dwóch badanych rodzajów podłoża.

**Słowa kluczowe** DFO, 1,2-indanedione, 1,2-indanedione z  $ZnCl_2$ , obrazowanie hiperspektralne, aminokwasy, powierzchnie chłonne.

### Wstęp

W daktyloskopijnych badaniach wizualizacyjnych aminokwasy mają już ugruntowaną pozycję jako składnik substancji śladotwórczej będący substratem reakcji chemicznych wykorzystywanych w laboratoriach kryminalistycznych. W latach 50. ubiegłego wieku po raz pierwszy zastosowano ninhydrinę rozpuszczoną w acetonie jako odczynnik reagujący z aminokwasami. W wyniku reakcji chemicznej tworzy się barwny produkt pozwalający na wzrokową detekcję śladów linii papilarnych [1]. Pomimo stosowania od lat 30. ubiegłego wieku metod fluorescencyjnych w postaci proszków daktyloskopijnych zawierających antracen z siarczanem cynku wzbudzanych promieniowaniem UV do ujawniania śladów daktyloskopijnych, wykorzystanie produktów reakcji aminokwasów ze specyficznymi związkami chemicznymi wykazującymi fluorescencję datuje się na początek lat 90. XX wieku. Wówczas to opublikowano wyniki badań przedstawiające zastosowanie związku o nazwie DFO (1,8-diazafluoren-9-on) w procesie detekcji śladów daktylosko-

pijnych [2, 3, 4]. Wcześniej wzmianki w literaturze dotyczyły możliwości uzyskania fluorescencyjnego kompleksu produktu reakcji ninhydryna-aminokwasu z chlorkiem cynku bądź azotanem kadmu. Jednak reakcja kompleksowania była reakcją wtórną w stosunku do reakcji w układzie aminokwasu–ninhydryna [4]. Pod koniec lat 90. XX wieku zastosowano nowy środek o nazwie 1,2-IND (1,2-indanedione), którego produkt reakcji z aminokwasami, podobnie jak z DFO, wykazywał właściwości fluorescencyjne [5, 6]. Późniejsza aktywność naukowa w tym zakresie skupiała się na optymalizacji składu roztworów, wykorzystaniu nowych rozpuszczalników [7, 8, 9, 10, 11]. Warty podkreślenia osiągnięciem prowadzonych prac nad zwiększeniem czułości metod było zastosowanie chlorku cynku ( $ZnCl_2$ ) w roztworze roboczym 1,2-IND [12].

W niniejszym opracowaniu przedstawiono wyniki prac nad badaniem intensywności fluorescencyjnych produktów reakcji wybranych dziewięciu aminokwasów z DFO, 1,2-indanedione oraz 1,2-indanedione z chlorkiem cynku na podłożu chłonnym w postaci

papieru biurowego i bibuły filtracyjnej. Jednocześnie artykuł ten stanowi kontynuację prac związanych z określeniem charakterystyki widmowej fluorescencji produktów reakcji aminokwasów z DFO, 1,2-indanedione oraz 1,2-indanedione z chlorkiem cynku na podłożu chłonnym w funkcji czasu [13].

### Cel badań

Celem przeprowadzonych badań jest porównanie intensywności emisji fluorescencji produktów reakcji wybranych aminokwasów z DFO, 1,2-IND oraz 1,2-IND z chlorkiem cynku. Zakłada się, że na intensywność emitowanej fluorescencji wpływają takie zmienne, jak: odczynnik ujawniający, rodzaj podłoża, rodzaj aminokwasu i czas przechowywania próbek. Otrzymane dane spektralne pozwolą na sprawdzenie, czy rodzaj podłoża w postaci papieru biurowego oraz bibuły filtracyjnej ma znaczący wpływ na charakterystykę widmową oraz zweryfikowanie tezy wskazującej na efekt zwiększania emisji fluorescencji po zastosowaniu metody 1,2-IND z dodatkiem chlorku cynku. Zmierzone poziomy emisji fluorescencji ujawnianych śladów linii papilarnych pozwolą na określenie wpływu aminokwasów zawartych w substancji śladotwórczej na jej intensywność.

### Materiały i metody

#### Odczynniki chemiczne

DFO (1,8-diazafluoren-9-on), 1,2-IND (1,2-indanedione) otrzymano od BVDA (Holandia). Chlorek cynku ( $ZnCl_2$ ) i etanol otrzymano od Stanlab (Polska). Aminokwasy: alaninę, kwas asparaginowy, glicynę, histydynę, leucynę, lizynę, seryna, treoninę i walinę (w konformacji L) otrzymano od Sigma-Aldrich (Polska). Octan etylu, eter naftowy i metanol otrzymano od POCH (Polska). Wszystkie odczynniki chemiczne miały czystość analityczną i wykorzystano je bez późniejszego oczyszczania.

#### Przygotowanie roztworów aminokwasów

Aminokwasy rozpuszczono w demineralizowanej wodzie, używając do tego mieszadła magnetycznego. Stężenia tak przygotowanych roztworów dobrano analogicznie do prowadzonych wcześniej badań dotyczących określania charakterystyk widmowych na podstawie informacji zawartych w literaturze i przedstawiono w tabeli 1. Założono, że stężenia roztworów powinny odzwierciedlać w przybliżeniu uśredniony skład aminokwasowy naturalnej ekrynowej substancji śladotwórczej [13, 16].

**Tabela 1** Stężenia wodnych roztworów aminokwasów

Aminokwas	Woda demineralizowana
alanina (Ala) – 73 mg	250 ml
kwas asparaginowy (Asp) – 37 mg	250 ml
glicyna (Gly) – 147 mg	250 ml
histydyna (His) – 37 mg	250 ml
leucyna (Leu) – 25 mg	250 ml
lizyna (Lys) – 98 mg	250 ml
seryna (Ser) – 245 mg	250 ml
treonina (Thr) – 37 mg	250 ml
walina (Val) – 25 mg	250 ml

#### Przygotowanie roztworu DFO

Na początku sporządzono koncentrat DFO poprzez rozpuszczenie 0,5 g DFO w 100 ml metanolu, a następnie dodanie 100 ml octanu etylu oraz 20 ml kwasu octowego. Na końcu wszystkie składniki mieszano na mieszadle magnetycznym, aż do całkowitego rozpuszczenia się DFO. Roztwór roboczy sporządzono poprzez zmieszanie 22 ml koncentratu DFO z 78 ml eteru naftowego i mieszano go przez 15 minut.

#### Przygotowanie roztworu 1,2-IND

Rozpuszczono 0,5 g 1,2-IND w mieszaninie 5 ml kwasu octowego lodowatego, 45 ml octanu etylu i 450 ml eteru naftowego. Następnie wszystkie składniki mieszano na mieszadle magnetycznym, aż do całkowitego rozpuszczenia się 1,2-IND.

#### Przygotowanie roztworu 1,2-IND z chlorkiem cynku

Roztwór ujawniający z chlorkiem cynku przygotowywano w trzech etapach. W pierwszej kolejności przygotowano roztwór koncentratu chlorku cynku poprzez rozpuszczenie 5 g chlorku cynku w mieszaninie: 80 ml metanolu, 80 ml octanu etylu i 10 ml kwasu octowego. Wszystkie składniki mieszano na mieszadle magnetycznym, aż do całkowitego rozpuszczenia się chlorku cynku. W drugim etapie sporządzono roztwór roboczy poprzez zmieszanie 20 ml koncentratu chlorku cynku z 98 ml eteru naftowego i mieszano go za pomocą mieszadła magnetycznego przez 15 minut. W trzecim etapie przystąpiono do przygotowania roztworu 1,2-IND z chlorkiem cynku. W tym celu połączono 10 ml roztworu 1,2-IND (receptura wcześniej opisana) z 2 ml roztworu chlorku cynku i mieszano na mieszadle magnetycznym przez 15 minut.

#### Przygotowywanie próbek

Badaniom poddano podłoża chłonne w postaci papieru biurowego (gramatura 80 g/m<sup>2</sup>) charakteryzującego się wysoką luminescencją przy wzbudzeniu UV

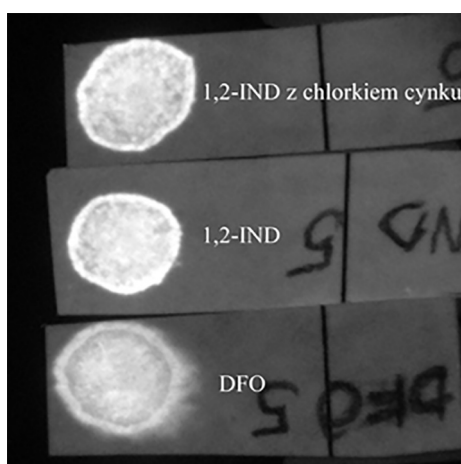
oraz laboratoryjną bibułę filtracyjną charakteryzującą się niską luminescencją podłoża przy wzbudzeniu UV. Z arkuszy papieru i bibuły wycięto kwadraty o długości boku 5 cm. Na powierzchnie kwadratów nanoszono pipetą automatyczną krople roztworów aminokwasów, a następnie pozostawiono do wyschnięcia w temperaturze pokojowej. Łącznie przygotowano i przebadano 1782 próbki papieru biurowego i taką samą liczbę próbek bibuły filtracyjnej. Próbki rozdzielono na 3 grupy, które przechowywano odpowiednio przez okres 1 dnia, 7 dni i 4 miesiące w temperaturze pokojowej przy wilgotności względnej 80%. Po tym czasie wybierano po jednej z próbek każdego aminokwasu nakropionego na kartkę papieru i po jednej próbce każdego aminokwasu nakropionego na bibułę filtracyjną. Następnie poddawano je odpowiednio działaniu roztworów DFO, 1,2-IND oraz 1,2-IND z chlorkiem cynku. Do pomiarów wycinano wąskie paski z podłoża w miejscach przereagowania aminokwasów z odczynnikami ujawniającymi i poddawano je pomiarom emisji fluorescencji. Każdorazowo w jednym cyklu pomiarowym jednocześnie badano w tych samych warunkach wzbudzania po jednej z przygotowanych próbek dla każdej z metod w wypadku podłoża z papieru i z bibuły (ryc. 1).

#### Warunki przeprowadzania reakcji aminokwasów z DFO, 1,2-IND, 1,2-IND z chlorkiem cynku

Przygotowane próbki podłoża z naniesionymi roztworami aminokwasów po odczekaniu założonego w badaniach czasu poddawano działaniu roztworów ujawniających. Próbki wygrzewano w temperaturze około 90°C przez 20 minut.

#### Pomiary emisyjnych widm fluorescencyjnych i analiza danych

Pomiarów intensywności emitowanej fluorescencji badanych powierzchni dokonywano przy użyciu sys-



**Ryc. 1.** Przykładowy obraz przygotowanych do pomiaru próbek – widoczna emisja fluorescencji w miejscach przereagowania aminokwasów z odczynnikami ujawniającymi.

temu makroskopowego obrazowania hiperspektralnego wykorzystującego ciekłokrystaliczny dostrajalny filtr LCTF (*liquid crystal tunable filter*) o nazwie: CON-DOR Macroscopic Chemical Imaging System™ (ChemImage, Stany Zjednoczone Ameryki). Do pomiarów typowano przereagowane powierzchnie w kształcie czworokąta, które obrazowano i analizowano przy użyciu oprogramowania ChemXpert (ryc. 2). W trakcie typowania powierzchni unikano krawędzi przereagowanych plam ze względu na tendencję do krystalizowania aminokwasów w rejonie obwódki, co w bezpośredni sposób przekładało się na większe stężenie aminokwasu oraz mocniejszy sygnał. Dane zbierano w zakresie od 550 nm do 720 nm przy rozdzielczości spektralnej 7 nm, wzbudzając fluorescencję przy 515 nm oświetlaczem kryminalistycznym Mini Crimescope (Ybon, Stany Zjednoczone Ameryki).

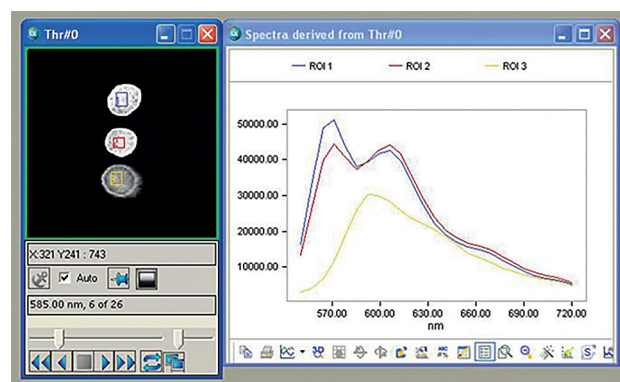
Analizie poddano uśrednione wyniki z pięciu serii pomiarowych. Dane liczbowe z otrzymanych obszarów pomiaru przeniesiono do arkusza kalkulacyjnego programu Microsoft Excel, w którym dokonano wstępnej weryfikacji danych poprzez obliczenie odchylenia standardowego. Założono, że w sytuacji gdy otrzymany wynik danej próbki będzie różnił się od średniej arytmetycznej bardziej niż wartość odchylenia standardowego, będzie odrzucany.

W celu określenia różnicy w charakterystyce spektralnej emitowanej fluorescencji badanych związków w zależności od rodzaju podłoża obliczono wartości współczynnika korelacji i przedstawiono je w formie tabel.

#### Wyniki i dyskusja

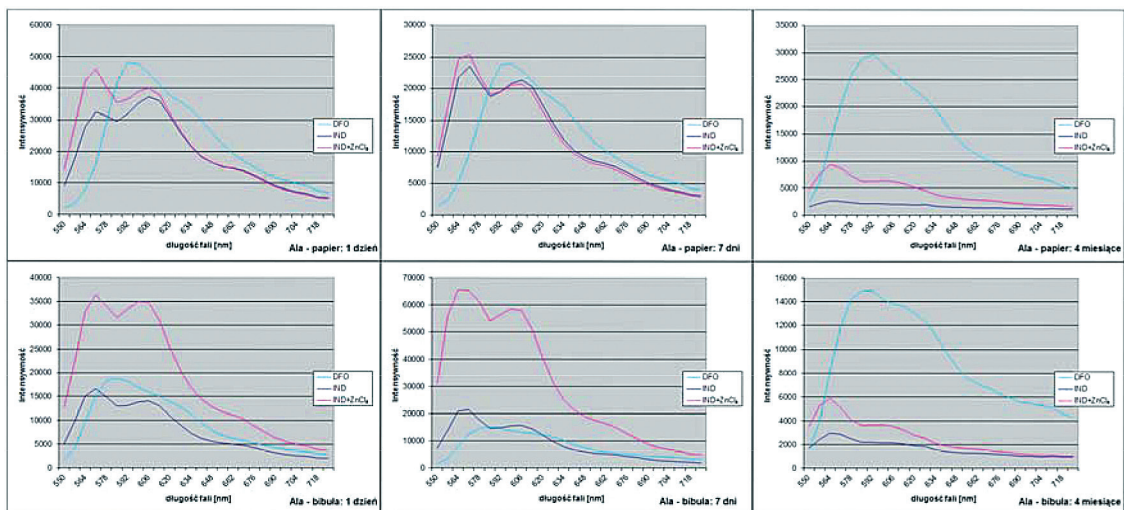
##### Alanina (Ala)

Wyniki pomiarów w formie wykresów intensywności fluorescencji w funkcji długości fali przereagowanej alaniny z DFO, 1,2-IND oraz 1,2-IND z chlorkiem cynku na dwóch rodzajach badanych podłoża przedstawia rycina 3.



**Ryc. 2.** Przykład wyznaczenia obszarów pomiarowych w miejscach przereagowania aminokwasów z odczynnikami ujawniającymi wraz z widmem emisyjnym.





**Ryc. 3.** Widma fluorescencji dla produktów reakcji alanina (Ala) z DFO, 1,2-IND oraz 1,2-IND z  $ZnCl_2$  na papierze biurowym i bibule filtracyjnej – wzbudzenie przy 515 nm.

W przypadku papieru intensywność emitowanej fluorescencji próbek 1- i 7-dniowych była porównywalna w odniesieniu do wszystkich metod, jednak dwu wypadku bibuły zarejestrowano znaczne odstępstwo w postaci silniejszej emisji próbek przereagowanych z 1,2-IND z chlorkiem cynku. Próbkę 4-miesięczną wykazały wyraźniej silniejszą emisję podłoża przereagowanych z DFO. Dodatek chlorku cynku w roztworze 1,2-indanedione powodował wyraźny wzrost fluorescencji także w wypadku próbek 4-miesięcznych.

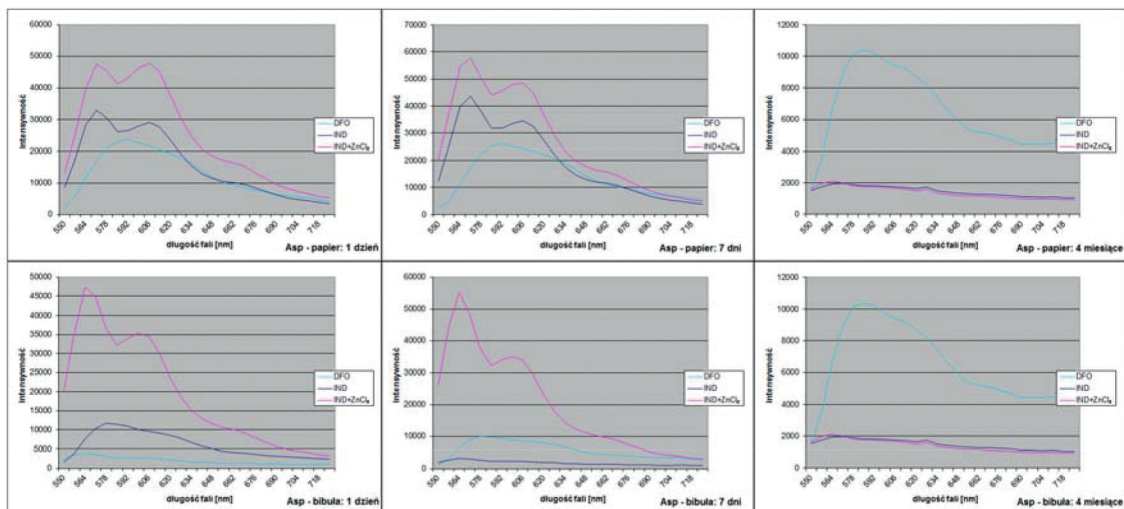
#### Kwas asparaginowy (Asp)

Wyniki pomiarów w formie wykresów intensywności fluorescencji w funkcji długości fali przereagowanego kwasu asparaginowego z DFO, 1,2-IND oraz 1,2-IND z chlorkiem cynku na dwóch rodzajach badanych podłoży przedstawia rycina 4.

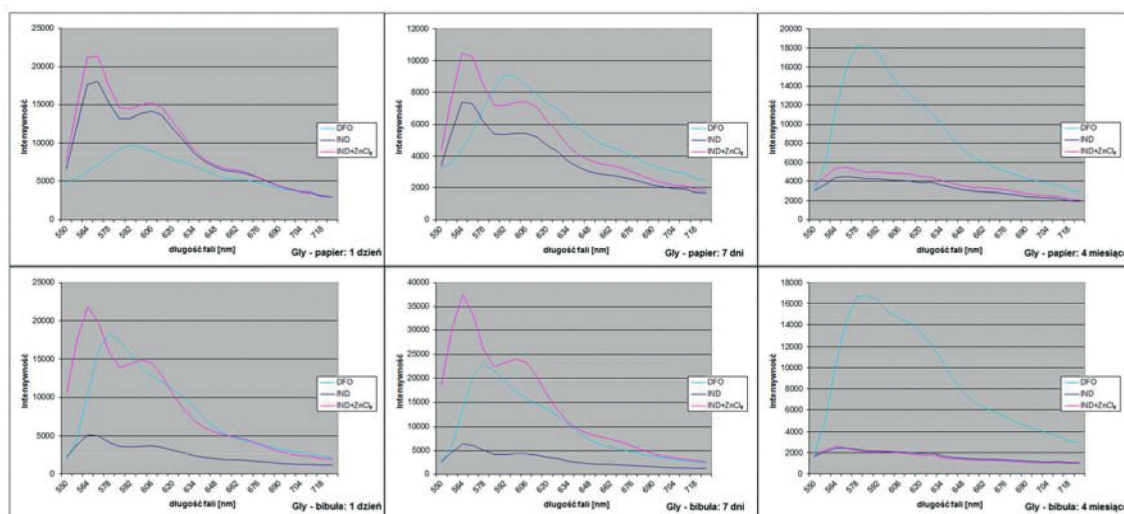
Zarówno w przypadku papieru, jak i bibuły intensywność emitowanej fluorescencji próbek 1- i 7-dniowych była największa dla przereagowanych z 1,2-IND z chlorkiem cynku. Próbkę w postaci bibuły wykazały znacznie większy przedział pomiędzy poziomem emisji niż próbkę papieru w odniesieniu do tej metody. Próbkę 4-miesięczną wykazały wyraźniej silniejszą emisję podłoża przereagowanych z DFO. Dodatek chlorku cynku w roztworze 1,2-IND powodował niewielki wzrost fluorescencji wyłącznie w wypadku próbek 4-miesięcznych papieru.

#### Glicyna (Gly)

Wyniki pomiarów w formie wykresów intensywności fluorescencji w funkcji długości fali przereagowanej glicyny z DFO, 1,2-IND oraz 1,2-IND z chlorkiem cynku na dwóch rodzajach badanych podłoży przedstawia rycina 5.



**Ryc. 4.** Widma fluorescencji dla produktów reakcji kwas asparaginowy (Asp) z DFO, 1,2-IND oraz 1,2-IND z  $ZnCl_2$  na papierze biurowym i bibule filtracyjnej – wzbudzenie przy 515 nm.



**Ryc. 5.** Widma fluorescencji dla produktów reakcji glicyny (Gly) z DFO, 1,2-IND oraz 1,2-IND z  $ZnCl_2$  na papierze biurowym i bibule filtracyjnej – wzbudzenie przy 515 nm.

W przypadku glicyny dla próbek 1- i 7-dniowych najlepsze efekty osiągnięto w odniesieniu do metody 1,2-IND z chlorkiem cynku. Stwierdzono wyraźnie gorsze efekty metody 1,2-IND bez chlorku cynku dla tych dwóch przedziałów czasowych w wypadku bibuły. Podłoża w postaci papieru wykazywały nieznacznie gorszą emisję niż roztwór z dodatkiem chlorku cynku. Próbki 4-miesięczne wykazały wyraźnie silniejszą emisję próbek przereagowanych z DFO. Dodatek chlorku cynku w roztworze 1,2-IND powodował minimalny wzrost fluorescencji wyłącznie w odniesieniu do próbek 4-miesięcznych papieru.

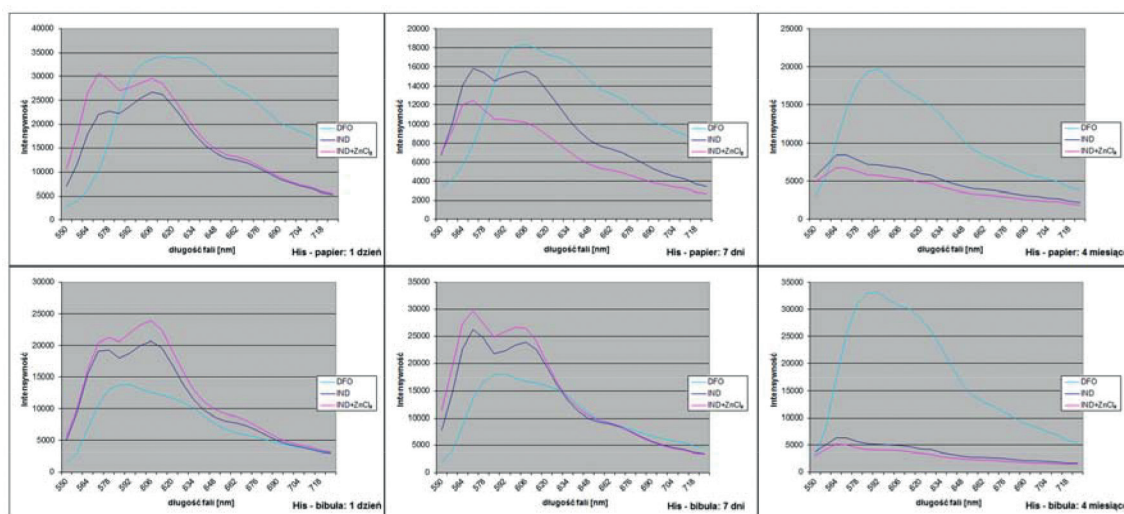
#### Histydyna (His)

Wyniki pomiarów w formie wykresów intensywności fluorescencji w funkcji długości fali przereagowanej histydyny z DFO, 1,2-IND oraz 1,2-IND z chlorkiem cynku na dwóch rodzajach badanych podłoży przedstawia rycina 6.

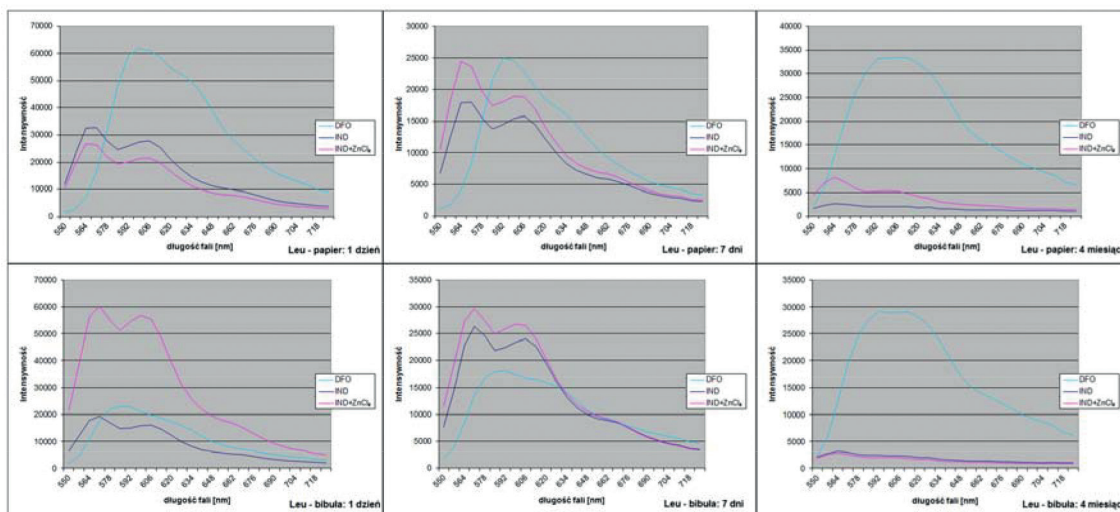
Podłoża w postaci papieru z histydyną wykazywały najlepsze efekty po przereagowaniu z DFO. O ile próbki 1- i 7-dniowe wykazywały nieznacznie niższą emisję, to w wypadku próbek 4-miesięcznych różnica była znaczna. Zauważalnie większą emisję zanotowano w wypadku próbek bibuły zarówno w odniesieniu do 1,2-IND z chlorkiem cynku, jak i w odniesieniu do roztworu bez dodatku chlorku cynku, w dwóch pierwszych przedziałach czasowych. Odmienne do pozostałych próbek dodatek chlorku cynku w roztworze 1,2-IND powodował minimalne obniżenie fluorescencji w wypadku 4 miesięcznych oraz 7-dniowych próbek papieru.

#### Leucyna (Leu)

Wyniki pomiarów w formie wykresów intensywności fluorescencji w funkcji długości fali przereagowanej leucyny z DFO, 1,2-IND oraz 1,2-IND z chlorkiem cynku na dwóch rodzajach badanych podłoży przedstawia rycina 7.



**Ryc. 6.** Widma fluorescencji dla produktów reakcji histydyny (His) z DFO, 1,2-IND oraz 1,2-IND z  $ZnCl_2$  na papierze biurowym i bibule filtracyjnej – wzbudzenie przy 515 nm.



Ryc. 7. Widma fluorescencji dla produktów reakcji leucyny (Leu) z DFO, 1,2-IND oraz 1,2-IND z ZnCl<sub>2</sub> na papierze biurowym i bibule filtracyjnej – wzbudzenie przy 515 nm.

Najwyższy poziom emisji fluorescencji dla podłoża papierowych z leucyną zanotowano dla próbek przereagowanych z DFO (próbki 1-, 7-dniowe, 4-miesięczne), natomiast w przypadku bibuły była to metoda 1,2-IND z chlorkiem cynku (próbki 1- i 7-dniowe). Intensywność emisji w wypadku próbek 7-dniowych dla badanych podłoży była podobna w odniesieniu do wszystkich metod. Próbki 4-miesięczne wykazują wyraźnie silniejszą emisję podłoży przereagowanych z DFO. W odróżnieniu od 4-miesięcznych próbek papieru dodatek chlorku cynku do roztworu 1,2-IND na bibule praktycznie nie wpływał na poziom emisji.

Lizyna (Lys)

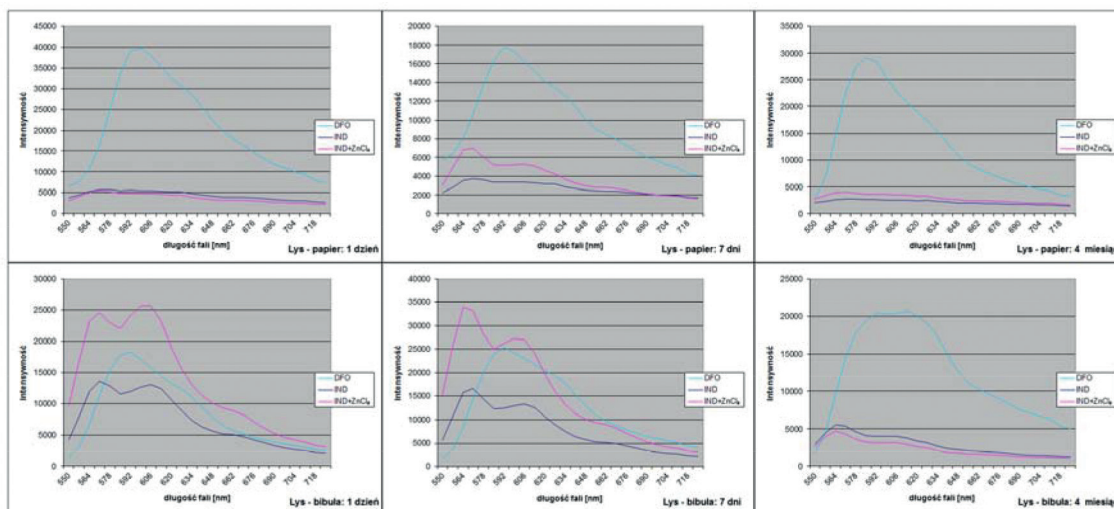
Wyniki pomiarów w formie wykresów intensywności fluorescencji w funkcji długości fali przereagowanej lizyny z DFO, 1,2-IND oraz 1,2-IND z chlorkiem cynku

na dwóch rodzajach badanych podłoży przedstawia rycina 8.

Podłoża w postaci papieru nasączonego lizyną wykazały w wypadku wszystkich przedziałów czasowych najwyższą emisję dla odczynnika DFO. Próbki bibuły przechowywane 1 i 7 dni charakteryzowały się najsilniejszą fluorescencją dla 1,2-IND z chlorkiem cynku. Próbki 4-miesięczne bibuły wykazały wyraźnie silniejszą emisję po przereagowaniu z DFO. Dodatek chlorku cynku w roztworze 1,2-IND nie wpływał na fluorescencję 1-dniowych próbek papieru, a także 4-miesięcznych próbek papieru i bibuły.

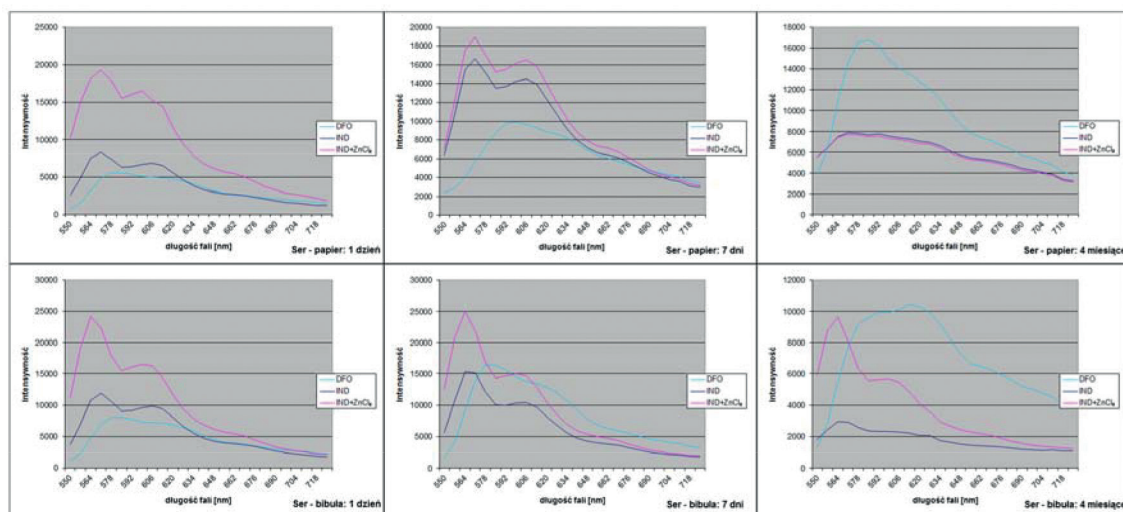
Seryna (Ser)

Wyniki pomiarów w formie wykresów intensywności fluorescencji w funkcji długości fali przereagowanej seryny z DFO, 1,2-IND oraz 1,2-IND z chlorkiem cynku



Ryc. 8. Widma fluorescencji dla produktów reakcji lizyny (Lys) z DFO, 1,2-IND oraz 1,2-IND z ZnCl<sub>2</sub> na papierze biurowym i bibule filtracyjnej – wzbudzenie przy 515 nm.





**Ryc. 9.** Widma fluorescencji dla produktów reakcji seryny (Ser) z DFO, 1,2-IND oraz 1,2-IND z  $ZnCl_2$  na papierze biurowym i bibule filtracyjnej – wzbudzenie przy 515 nm.

na dwóch rodzajach badanych podłoży przedstawia rycina 9.

W przypadku seryny próbki 1-dniowe wyraźnie wskazały najsilniejszą fluorescencję metody 1,2-IND z chlorkiem cynku. Próbki bibuły 1- i 7-dniowe przereagowane z 1,2-IND wykazały podobną intensywność fluorescencji jak próbki przereagowane z DFO. W odróżnieniu od innych badanych aminokwasów 4-miesięczna próbki bibuły z seryną osiągnęły podobny poziom fluorescencji w wypadku metody DFO i 1,2-IND z chlorkiem cynku. Dodatek chlorku cynku nie wpłynął praktycznie na fluorescencję 4-miesięcznych próbek papieru.

#### Treonina (Thr)

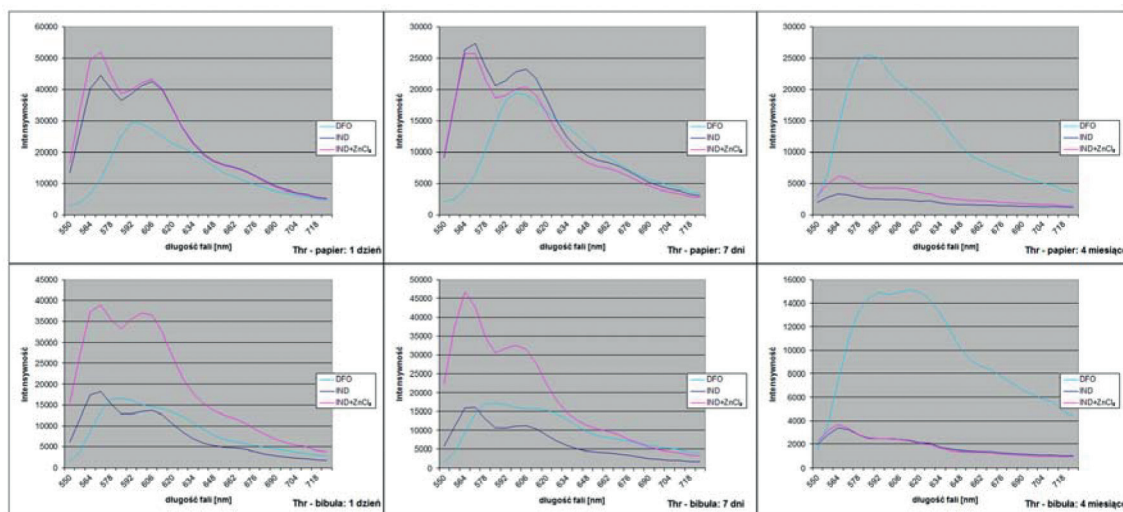
Wyniki pomiarów w formie wykresów intensywności fluorescencji w funkcji długości fali przereagowanej treoniny z DFO, 1,2-IND oraz 1,2-IND z chlorkiem

cynku na dwóch rodzajach badanych podłoży przedstawia rycina 10.

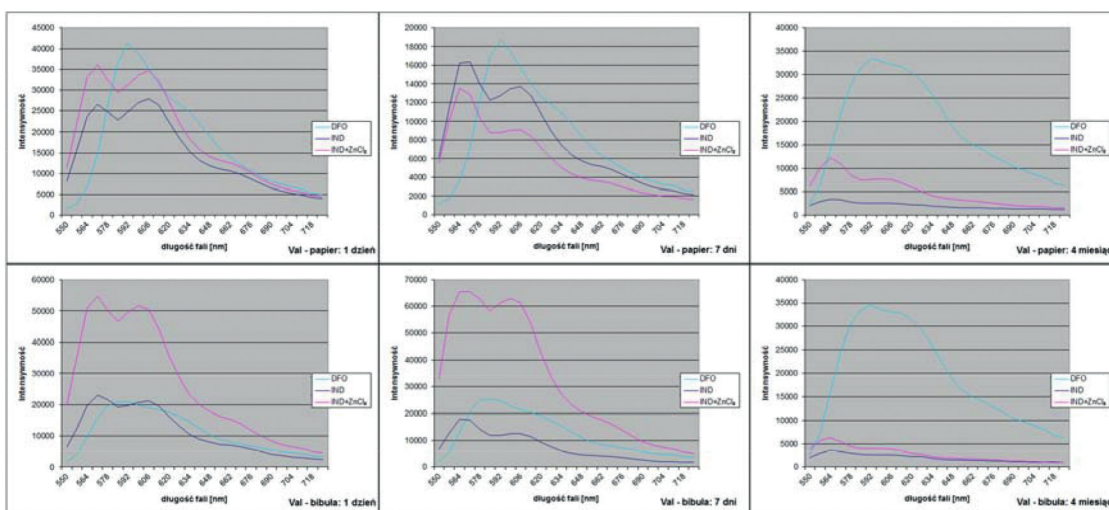
Podłoża papierowe zawierające treoninę nie wykazały znacznych różnic pomiędzy roztworem 1,2-IND z chlorkiem cynku i bez jego dodatku. W wypadku papieru przechowywanego 1 bądź 7 dni te dwie metody pozwoliły na uzyskanie najwyższego poziomu fluorescencji. Jednak w wypadku próbek 4-miesięcznych zarówno papieru, jak i bibuły najwyższy poziom emisji osiągnięto przy wykorzystaniu odczynnika DFO. W wypadku 1- i 7-dniowych próbek bibuły najlepsze efekty osiągnięto w odniesieniu do roztworu 1,2-IND z chlorkiem cynku.

#### Walina (Val)

Wyniki pomiarów w formie wykresów intensywności fluorescencji w funkcji długości fali przereagowanej waliny z DFO, 1,2-IND oraz 1,2-IND z chlorkiem cynku



**Ryc. 10.** Widma fluorescencji dla produktów reakcji treoniny (Thr) z DFO, 1,2-IND oraz 1,2-IND z  $ZnCl_2$  na papierze biurowym i bibule filtracyjnej – wzbudzenie przy 515 nm.



Ryc. 11. Widma fluorescencji dla produktów reakcji waliny (Val) z DFO, 1,2-IND oraz 1,2-IND z ZnCl<sub>2</sub> na papierze biurowym i bibule filtracyjnej – wzbudzenie przy 515 nm.

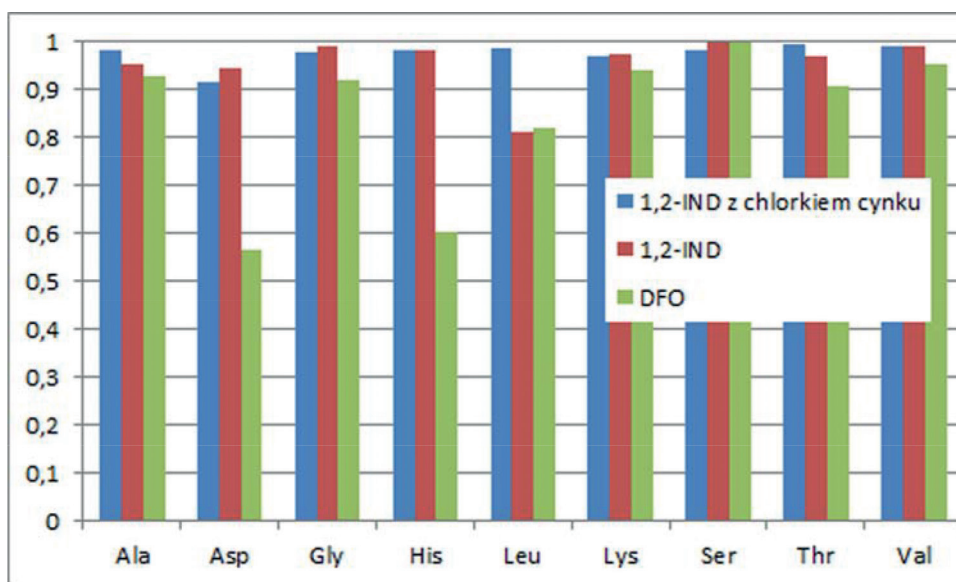
na dwóch rodzajach badanych podłoży przedstawia rycina 11.

Próbki papieru zawierające walinę wykazały najwyższy poziom emisji w wypadku metody DFO dla wszystkich przedziałów czasowych. W dwóch pierwszych przedziałach czasowych różnice były jednak znacznie mniejsze. Natomiast w wypadku próbek bibuły przechowywanych przez 1 i 7 dni najwyższy poziom fluorescencji zarejestrowano dla metody 1,2-IND z chlorkiem cynku. W wypadku próbek 4-miesięcznych największą fluorescencją zanotowano dla DFO.

Dodatkowo przeprowadzone badania nie wykazały zasadniczych różnic w charakterystyce spektralnej emitowanej fluorescencji badanych związków w zależności od rodzaju podłoża. Największą zmienność otrzymano w przypadku próbek 1-dniowych, w odniesieniu do których wyliczony współczynnik korelacji

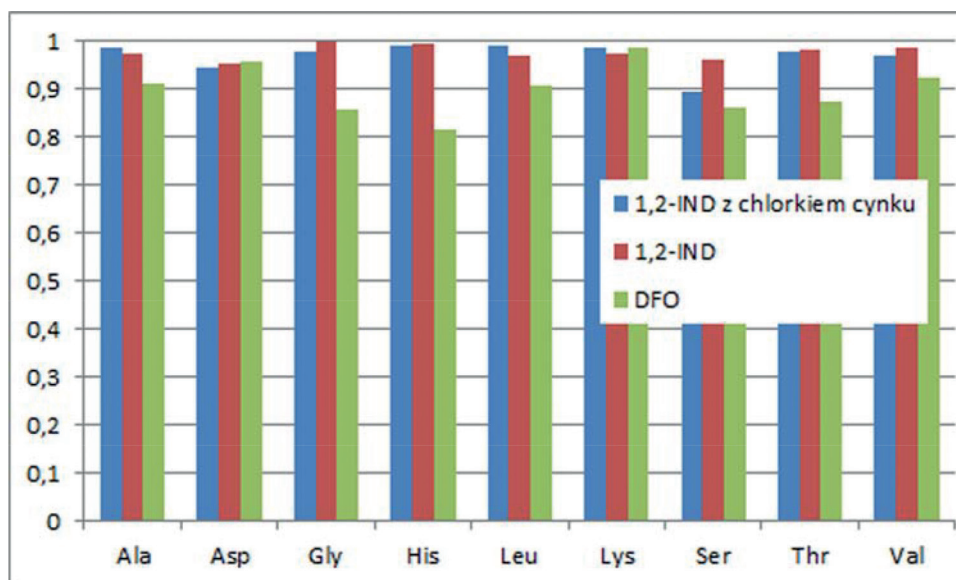
osiągnął najniższe wartości w wypadku DFO-Asp (0,56), DFO-His (0,60), DFO-Leu (0,82) oraz 1,2-IND-Leu (0,81) (ryc. 12). W przypadku próbek 7-dniowych najniższą wartość otrzymano w odniesieniu do DFO-His (0,81), a w odniesieniu do DFO-Gly, DFO-Ser, DFO-Thr oraz 1,2-IND z ZnCl<sub>2</sub>-Ser nie przekraczały 0,9 (ryc. 13). W przypadku próbek 4-miesięcznych współczynnik osiągnął najniższe wartości w odniesieniu do 1,2-IND+ZnCl<sub>2</sub>-Ser (0,81), DFO-Ser (0,87) – rycina 14. Współczynnik korelacji w wypadku wszystkich pozostałych próbek przekraczał wartość 0,9.

Otrzymane wyniki wskazują na duże rozbieżności w poziomie emitowanej fluorescencji w odniesieniu do trzech badanych metod. Jej intensywność zależy od następujących zmiennych: rodzaj aminokwasu, roztwór reagenta, rodzaj podłoża, czas przechowywania próbek.

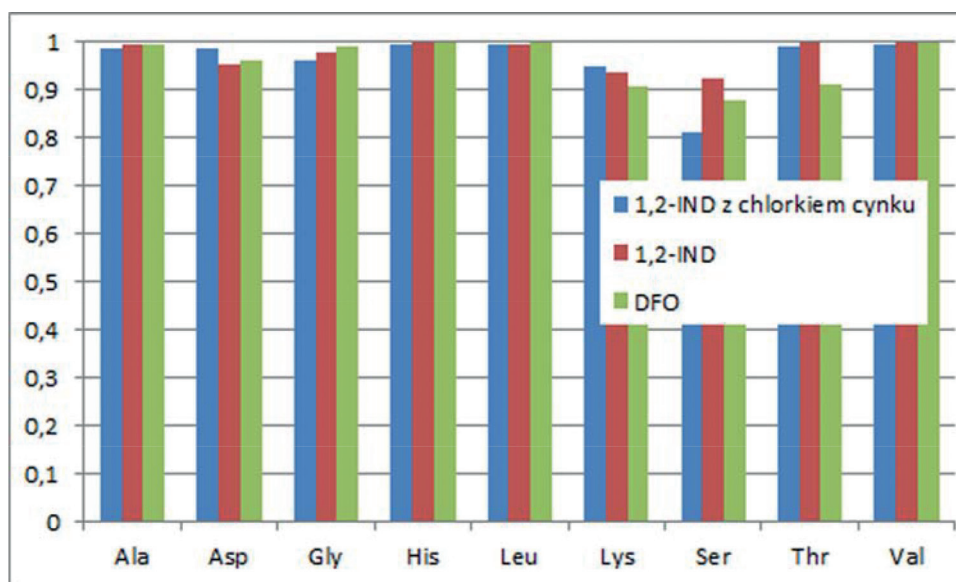


Ryc. 12. Wartość współczynnika korelacji dla próbek papieru biurowego i bibuły filtracyjnej przechowywanych przez 1 dzień.





Ryc. 13. Wartość współczynnika korelacji dla próbek papieru biurowego i bibuły filtracyjnej przechowywanych przez 7 dni.



Ryc. 14. Wartość współczynnika korelacji dla próbek papieru biurowego i bibuły filtracyjnej przechowywanych przez 4 miesiące.

Analizując otrzymane wyniki, można wywnioskować, że metoda 1,2-IND z chlorkiem cynku generuje wysoki poziom fluorescencji w wypadku świeżych próbek. Wszystkie badane 1-dniowe próbki bibuły wykazały najwyższy poziom emisji. Otrzymane wyniki próbek papieru nie były już tak jednoznaczne.

W przypadku próbek przechowywanych przez 4 miesiące najbardziej efektywne okazało się DFO. Wyłącznie w przypadku seryny w odniesieniu do próbek 4-miesięcznych osiągnięto porównywalny poziom fluorescencji w wypadku DFO i 1,2-IND z chlorkiem cynku na bibule.

Dodatek chlorku cynku w roztworze ujawniającym 1,2-IND powodował wyraźny wzrost intensywności fluorescencji. Jony cynku prawdopodobnie stabilizują produkt reakcji wykazujący silne właściwości fluorescencyjne [14].

Należy podkreślić, że wyniki badań w dużym stopniu zależały od rodzaju podłoża, a w szczególności duży wpływ miało podłoże w postaci papieru biurowego. Mniejsza chłonność papieru powodowała dłuższe zaleganie roztworu aminokwasu na powierzchni. Stopniowe wysychanie skutkowało tendencją do zbierania się większych ilości aminokwasów na krawędziach plam i tworzenie swoistej obwódki w postaci korony. W miejscach tych występowała wyraźnie wyższa emisja fluorescencji po reakcji z odczynnikami ujawniającymi. O ile do pomiarów wyznaczano środkową część plamy, to nie można wykluczyć dużej zmienności w liczbie dostępnych dla reagentów cząstek aminokwasów. Zjawisko to było mniej widoczne na podłożu w postaci bibuły ze względu na większą chłonność.

## Wnioski

Przeprowadzone badania potwierdzają, że na intensywność fluorescencji ujawnianych śladów linii papilarnych mają wpływ takie czynniki jak: odczynnik ujawniający, rodzaj podłoża, rodzaj aminokwasu, czas przechowywania próbek.

Doświadczalnie potwierdzono, że w wypadku większości badanych podłoży i aminokwasów przechowywanych przez 1 bądź 7 dni dodatek do roztworu ujawniającego 1,2-IND chlorku cynku powoduje wyraźny wzrost intensywności emitowanej fluorescencji.

Badania wskazały, że w przypadku podłoży przechowywanych przez 4 miesiące największy poziom emisji fluorescencji zmierzono w odniesieniu do metody DFO. Jedyne odstępstwo zanotowano w odniesieniu do aminokwasu seryna (Ser) na podłożu w postaci bibuły, gdzie fluorescencja produktu reakcji z 1,2-IND z chlorkiem cynku była porównywalna do DFO.

Nie stwierdzono zasadniczych różnic w charakterystyce spektralnej fluorescencji badanych związków w zależności od dwóch badanych rodzajów podłoża.

## Źródła rycin i tabel

Ryciny 1–14: autorzy

Tabela 1: opracowanie własne

## Bibliografia:

- Oden S., von Hofsten B.: Detection of fingerprints by the ninhydrin reaction, „Nature”, 173 (1954) 449–450.
- 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.
- Pounds C.A., 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.
- 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.
- Ramotowski R., Cantu A., Joullié M., Petrovskaia O.: 1,2-Indanedione: a Preliminary evaluation of e new class of amido acid visualising reagents, „Fingerprint Whorld”, 23, 90 (1997) 131–140.
- Hauze D., Petrovskaia O., Taylor B., Joullié M., Ramotowski R., Cantu A.: 1,2-Indanediones: new reagents for visualizing the amino acid components of latent prints, „Journal of Forensic Sciences”, 43, 4 (1998) 744–747.
- Merrick S., Gardner S., Sears V., Hewlett D.: An operational trial of ozone-friendly DFO and 1,2-indandione formulations for latent fingerprint detection, „Journal of Forensic Identification”, 52, 5, (2002) 595–605.
- Didierjean C., Debart M., Crispino F.: New formulation of DFO in HFE7100, „Fingerprint Whorld”, 24, 94, (1998) 163–167.
- Hardwick S., Kent T., Sears V., Winfield P.: Improvements to the formulation of DFO and the effects of heat on the reaction with latent fingerprints, „Fingerprint Whorld”, 19, 73 (1993) 65–69.
- Bickell D., Ramotowski R.: Use of an optimised 1,2-indanedione process for the development of latent prints, „Journal of Forensic Sciences”, 53, 5 (2008) 1–9.
- Sears V., Batham R., Bleay S.: The effectiveness of 1,2-indandione-zinc formulations and comparison with HFE-based 1,8-diazafluoren-9-one for fingerprint development, „Journal of Forensic Identification”, 59, 6 (2009) 654–678.
- Stoilovic M., Lennard C., Wallace-Kunkel C., Roux C.: Evaluation of a 1,2-indanedione formulation containing zinc chloride for improved fingermark detection on paper, „Journal of Forensic Identification”, 57, 1 (2007) 4–18.
- 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.
- Lee and Gaensslen's Advances in Fingerprint Technology, Third Edition Ramotowski, R. [editor], CRC Press, 2012, USA.