

中華民國第 62 屆中小學科學展覽會

作品說明書

國中組 化學科

030206

指紋中的性別密碼-寧海德林法最佳化與性別辨識之探討

學校名稱：宜蘭縣立羅東國民中學

作者：	指導老師：
國二 王彥鈞	吳啟億
國二 張硯喆	林子文
國二 曾昱瀚	

關鍵詞：指紋、寧海德林、性別辨識

摘要

本實驗有兩個主軸，一為探討寧海德林試劑條件的最佳化，另一則為探討以寧海德林法在指紋中分辨男性、女性指紋的可能性。從如何採取人體指紋開始，我們針對每個環節進行篩選，發現在流汗的狀態下指紋中有相對濃度較高的胺基酸。我們由警政署的寧海德林法配方做改良，亦加入了一些變因探討，最終將其應用於不同性別指紋的判別。另外，我們也嘗試模擬在不同材質表面留下的指紋，以求實驗的廣用性；亦在寧海德寧試劑中添加不同離子，期望可以透過顯色的改變，以強化男性、女性指紋顯色的差異並以肉眼辨別之。雖然在不同材質的表面之應用與添加不同離子的試驗中結果不如預期，但本實驗仍提供一個簡易、辨識度佳的寧海德林檢測法，可以從指紋的顯色情形輔以影像處理來分辨男性、女性的指紋，亦可由此推測男性的指紋中含有的氨基酸濃度相對較女性高。

壹、研究動機

指紋可以是辨識一個人身分的工具，更可以成為法庭上的刑事證據，因此在犯罪學、法醫學上極大的應用價值。在七年級的生物課曾經學習到人類的遺傳，指紋就如同一個人的DNA一般具有獨一無二的特性，再加上現代有許多關於指紋的應用，例如：手機、ATM提款機、大門也都有指紋辨識的應用，也因此我們所有的組員都對指紋的探索有濃厚興趣。於是我們利用學校的設備測試指紋中所蘊含的秘密。在文獻搜索的過程中我們發現其實指紋的取樣、測試方法有非常多種類，其中我們對於寧海德寧試劑檢驗法特別感興趣，可以透過寧海德寧試劑對與胺基酸的反應將指紋染上藍紫色。如此即可以在犯罪現場找出遺留下的指紋並與資料庫的指紋進行比對，且由於每個人的指紋都是獨一無二的存在，但指紋的辨識卻都只能都仰賴資料庫，難以在案發現場找到第一時間的即時線索，因此我們想探討能否以寧海德寧試劑檢驗法，觀察不同性別所遺留下的指紋是否有所不同，或許成為破案的關鍵。

貳、研究目的

寧海德林試劑檢驗法最佳化：

- 一、探討何種指紋取樣方法能使指紋顯示效果最明顯。
- 二、探討何種加熱方式最能使指紋顯示效果最明顯。
- 三、探討烘箱加熱溫度與指紋顯示效果之關聯性。
- 四、探討烘箱加熱時間與指紋顯示效果之關聯性。
- 五、探討寧海德林的濃度與指紋顯示效果之關聯性。
- 六、探討環境酸鹼值與指紋顯示效果之關聯性。









寧海德林試劑檢驗法之探討與應用：

- 七、探討寧海德林試劑於吸水性材質、非吸水性材質之適用性。
- 八、探討男性、女性之指紋在使用寧海德林試劑檢驗法之顯示效果。
- 九、其他試劑或添加離子於寧海德林試劑以檢驗性別之探討。

參、研究設備及器材

一、研究器材：



按壓式噴瓶	紅外線測溫儀	吸量管	安全吸球
			
秤量紙	濾紙	電子天平	pH meter
			
Image J 程式 (圖像處理)	滴管、 玻璃棒	量筒、 漏斗	燒杯、 錐形瓶
衛生紙	影印紙	膠帶	

二、研究藥品：

寧海德林	石油醚	甲醇	1, 3-茛二酮	鹽酸	氫氧化鈉
Ninhydrin	Petroleum ether	Methanol	1, 3-Indandione	Hydrochloric Acid	Sodium Hydroxide
硫酸鋅	氯化銅	硫酸銅	硝酸銀	氯化鐵	氯化亞鐵
ZnSO ₄ ·7 H ₂ O	CuCl ₂ ·2 H ₂ O	CuSO ₄ ·5 H ₂ O	AgNO ₃	FeCl ₃ ·6 H ₂ O	FeCl ₂ ·4 H ₂ O

三、自製攝影盒內部構造：

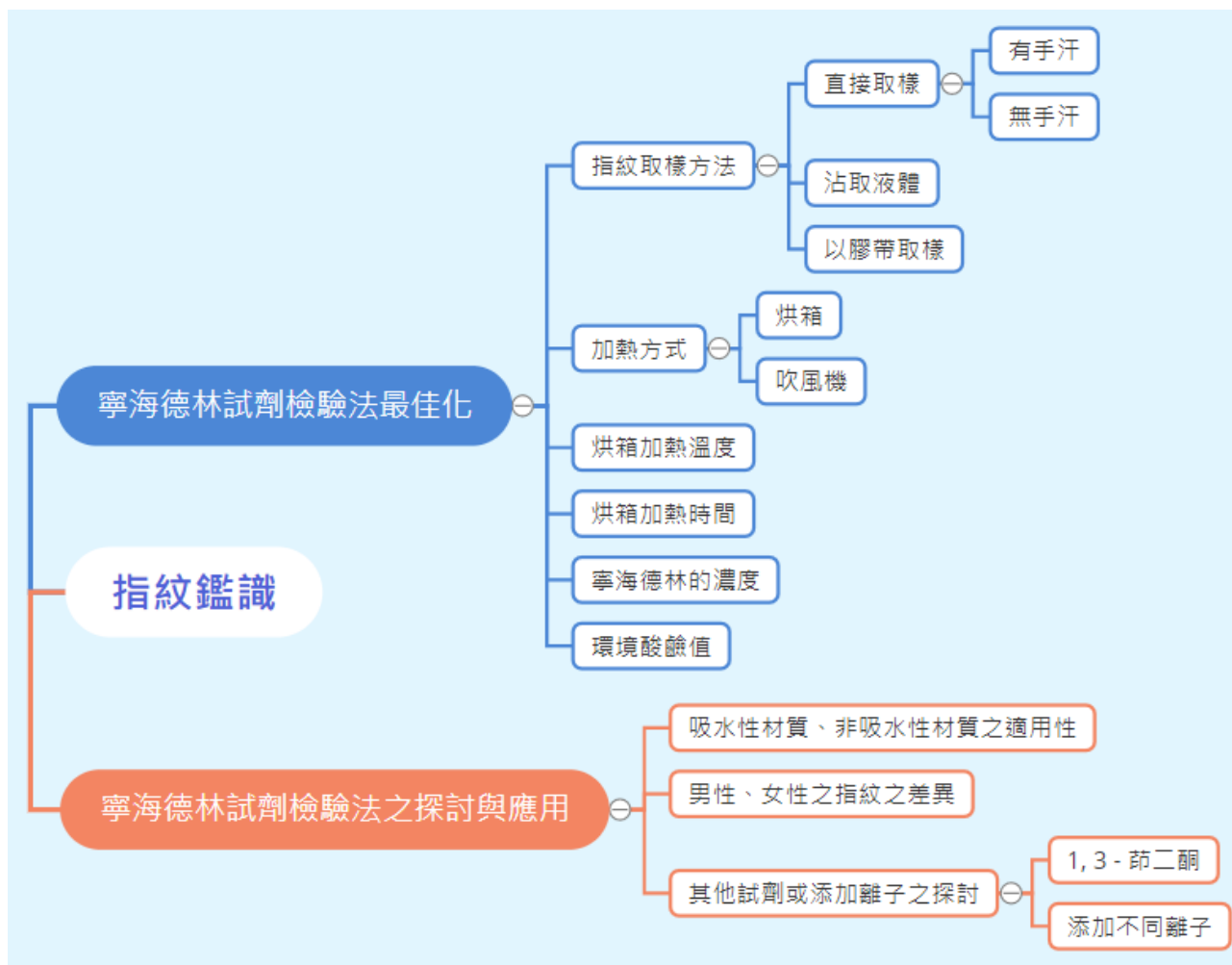


圖(一) 自製攝影盒構造圖

由於本實驗是以拍照來辨識顯色之指紋灰階值，為避免外部環境光源影響實驗結果，因此自製不透光攝影盒如圖(一)。將 LED 光源貼於紙盒內部，僅在上方開以小孔供鏡頭拍攝，並且在下方四周貼上不透光的布料以隔絕光線。在進行拍攝前將亮面白色背景放入紙盒下方，並且調整對焦、校正，在實驗處理數據前將背景予以扣除，以避免紙盒下方背影顏色之干擾。

肆、研究過程或方法

一、研究架構圖



二、文獻探討及原理

(一) 原理探討—指紋在鑑識科學上的探討：

指紋是可以用來辨識一個人身分的特徵之一，其原因可以分為以下幾項：

1. 人各不同：世界上每一個人的指紋都不一樣，目前世界上都找不到任何兩個人的指紋相同，可以視為每一個人的指紋都有專一性。
2. 終生不變：指紋在媽媽懷孕大概 12~13 週就會開始慢慢發育，直到 26 週發育

完畢，面積、紋線間距和粗細比例會變大，但是形狀和排列不隨年齡而變。

3. 觸物遺痕：指紋就是皮膚表層突起的部分，而皮層又會分泌蠟質，當我們在接觸東西時指紋便會附著在東西表層上。
4. 短期不滅：因為指紋上有一些皮膚的分泌物存在，所以碰過的物品上的指紋會短期的附著，需要一些時間才會消失。
5. 損而復生：皮膚表皮影再生能力，所以受傷時假如指紋時間後就會回來，紋路也不會變，但是傷得太嚴重的話，例如傷到真皮的話指紋的紋路就有可能改變。

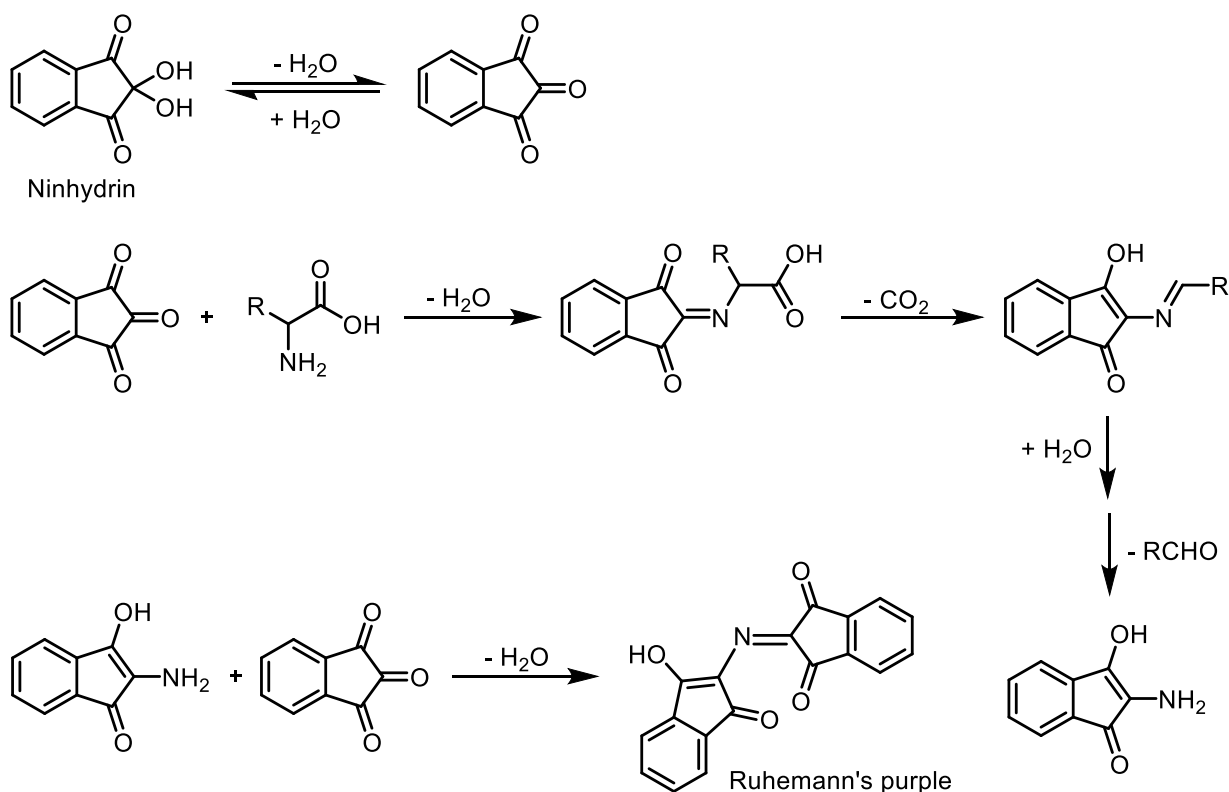
因為指紋有以上特性，且僅有極少數皮紋症(adermatoglyphia)患者之手指上並無指紋。

且即便是雙胞胎，雖有著極高的 DNA 相似度，仍能透過指紋分辨出兩者不同。也因此指紋在鑑識科學上用來辨識身分有著極高的應用價值。

(二) 原理探討-寧海德林試劑在鑑識科學上的應用與顯色原理：

在鑑識科學中常以寧海德林試劑噴灑在指紋上，一段時間後即可以顯現出藍紫色的指紋。已知胺基酸與寧海德林反應後會產生藍紫色物質，其中只有脯氨酸和與茚三酮反應會產生黃色物質，人類所遺留的指紋中主要含有水、氯化鈉、蠟質、皮脂與胺基酸，因此可以藉由寧海德林試劑檢測到指紋中的胺基酸並藉此使指紋呈現藍紫色紋路。

圖(二)為當胺基酸與寧海德林試劑反應生成羅曼紫(Ruhemann's purple)之反應機構，胺基酸可以透過一系列的步驟與兩分子的寧海德林形成高度共軛的結構 - 羅曼紫，此結構也是顯示出藍紫色的來源。且此反應十分靈敏，可以根據反應所生成的藍紫色的深淺來判斷所含的胺基酸濃度，也可以在分離胺基酸時作為顯色劑對胺基酸進行定性或定量分析。先前也有多個實驗將寧海德林試劑用在比色法對胺基酸濃度做定量的分析，在 570nm 波長下即可製作檢量線以及測定胺基酸的含量。而本實驗我們認為可以藉影像處理辨識指紋顯色的深淺，用以判斷胺基酸含量的相對多寡，以提升寧海德林檢驗法在案發現場使用上的便利性。



圖(二) 寧海德林與胺基酸反應生成羅曼紫之反應機構

(三) 文獻探討：

1. 在第 57 屆全國科學展覽會-真相只有一個-不同環境指紋檢測方法比較與寧海德林法最佳化探討，此篇文獻中對於寧海德寧試劑檢驗法之最佳化有很深刻的探討。我們也參考了此篇文獻中設計的變因，並且以我們學校的器材找出最佳化條件，其中有部分條件有做出不同的調整。另外，此篇文獻是以影像處理轉換成 RGB 數值進行比較與分析，而我們則是取灰階值作探討，我們認為單純討論藍紫色顯色的深淺而言，直接轉換為灰階值來判斷更為直覺、有代表性，而詳細研究成果會在後續研究結果中討論。
2. 在彈「指」之間——寧海德林顯現指紋之反應速率探討，此篇綠色化學競賽的文獻中，對於影響寧海德林的反應速率有許多的探討。其中我們參考了其分析方式，包含影像取樣樣區、以噴瓶噴灑寧海德林試劑等...，希望可以達到使用少量的寧海德林試劑做到最佳化的效果，以更利於在實際的鑑識現場使用。另外，我們對於其中添加離子於寧海德林可以轉變顯現的顏色尤其感興趣，若能透過改變顯色來增加指紋的辨識效果亦有助於寧海德林檢驗法的實際應用。

3. 關於指紋中性別辨識的研究，紐約州立大學奧爾巴尼分校 Jan Halánek 教授於 2016 年發表在由美國化學學會所出版的 *analytical chemistry* 期刊的文獻中發現可以藉由寧海德林試劑，並通過樣本數的累積與比色法、檢量線的建立來判定男性、女性的指紋。在此篇研究中其研究成果顯示女性的指紋中胺基酸含量幾乎達到男性的兩倍，並且在不同材質的表面我採取的指紋都有相似的結果。由此篇文獻，我們認為若是不同的性別指紋胺基酸含量有別，那我們直接噴灑寧海德林試劑於指紋上應就有肉眼可見的差異，在輔以影像處理技術，即可以建立起多筆數據資料，進而直接以影像灰階值的深淺來判定指紋與其主人之性別。

三、研究過程方法

寧海德林試劑的配製(參考警政署提供的配方)：

1. 精秤 0.5 g 寧海德林固體，並以 4 mL 甲醇使其完全溶解。
2. 再加入 46 mL 的石油醚，將溶液均勻攪拌。
3. 靜置後可以發現分層的現象，以滴管吸取上層透明的石油醚層。
4. 將上層溶有寧海德林之石油醚盛裝於噴瓶中以供後續實驗使用。

警政署網站上所提供的配方為 1 g 的寧海德林固體溶在 4 mL 甲醇中，再加入 96 mL 的石油醚。由於配置所需之甲醇、石油醚皆為易揮發之溶劑，未避免浪費溶劑，我們將配製的量縮減為一半。但在實驗過程中我們發現 0.5 g 寧海德林固體並無法完全溶解於 2 mL 之甲醇當中，由於寧海德林固體於甲醇的溶解度並不佳，如欲維持原來之配方可能需要加熱甲醇以提升溶解度，但考量揮發與操作的易用性，於是決定修正配方，將甲醇的量調整為 4 mL 進行配製。

寧海德林試劑檢驗法最佳化：

(一) 研究一：探討何種指紋取樣方法能使指紋顯示效果最明顯

1. 分別以不同的方式製造指紋，包含直接按壓、沾水、沾酒精、按壓於膠帶、流手汗後按壓等...方式，將指紋壓在濾紙的中央。
2. 將配製好的寧海德林試劑對著濾紙噴 10 下，確認指紋覆蓋處有完整噴灑。
3. 將濾紙放進烘箱以 60 °C 進行加熱。

4. 取出後觀察指紋顯色情形，放入自製攝影盒拍攝影像。

(二) 研究二：探討何種加熱方式最能使指紋顯示效果最明顯

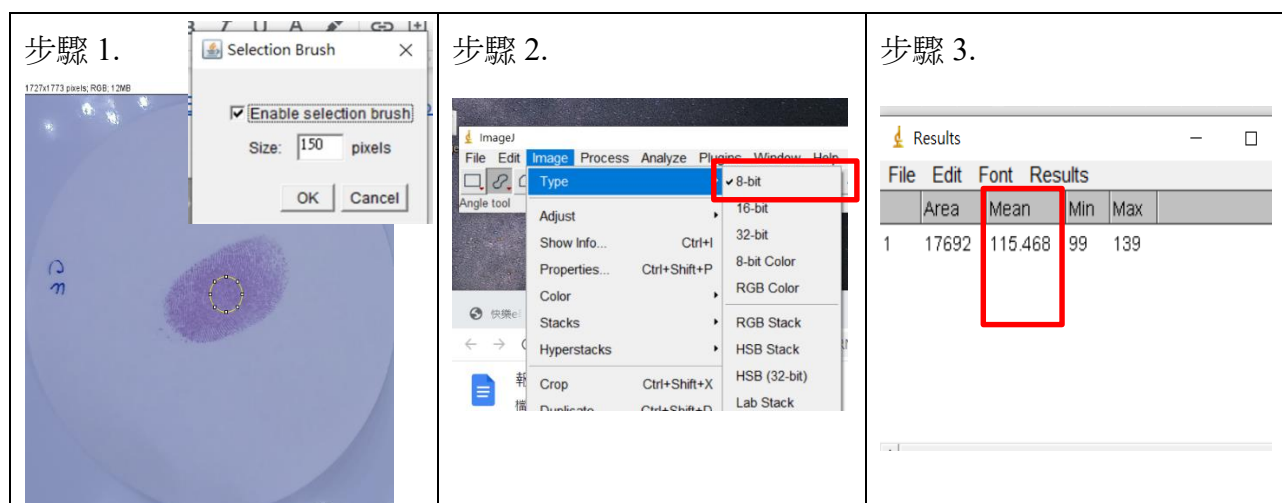
1. 戴上手套進行運動，產生手汗後，再將指紋按壓於濾紙上。
2. 將配製好的寧海德林試劑對著濾紙噴 10 下，確認指紋覆蓋處有完整噴灑。
3. 將濾紙分別以吹風機、烘箱(60 °C)進行加熱，並於 5、10、20、30 分鐘觀察顯色情況。
4. 取出後觀察指紋顯色情形，放入自製攝影盒拍攝影像。

(三) 研究三：探討烘箱加熱溫度與指紋顯示效果之關聯性

1. 戴上手套進行運動，產生手汗後，再將指紋按壓於濾紙上。
2. 將配製好的寧海德林試劑對著濾紙噴 10 下，確認指紋覆蓋處有完整噴灑。
3. 將濾紙以烘箱進行加熱，分別設定 60 °C、80 °C、100 °C 進行測定。
4. 取出後觀察指紋顯色情形，放入自製攝影盒拍攝影像。
5. 以 Image J 進行灰階值的分析，並記錄所分析之灰階值數值。

影像處理步驟：

1. 於 Image J 先開啟圖片檔案，設定圈選 150 像素大小，在指紋中央圈出固定範圍。
2. 將彩色影像轉成 8 bit 影像再測量灰階程度。
3. 測量結果能得出灰階程度的平均值、最大值、最小值。而我們所要記錄的數據為灰階平均值，在程式的灰階值定義中，數字越小代表顏色愈深，反之數字越大則代表顏色愈淺。



表(一)，Image J 影像處理步驟

(四) 研究四：探討烘箱加熱時間與指紋顯示效果之關聯性

1. 戴上手套進行運動，產生手汗後，再將指紋按壓於濾紙上。
2. 將配製好的寧海德林試劑對著濾紙噴 10 下，確認指紋覆蓋處有完整噴灑。
3. 將濾紙以烘箱(100 °C)進行加熱，並於 5、10、20、30、60 分鐘觀察顯色情況。
4. 取出後觀察指紋顯色情形，放入自製攝影盒拍攝影像。
5. 以 Image J 進行灰階值的分析，並記錄所分析之灰階值數值。

(五) 研究五：探討寧海德林的濃度與指紋顯示效果之關聯性

1. 戴上手套進行運動，產生手汗後，再將指紋按壓於濾紙上。
2. 分別配製少量原來濃度的 0.5 倍(50%)、1.0 倍(100%)、1.5 倍(150%)、2.0 倍(200%)之寧海德林試劑。
3. 將配製好的寧海德林試劑對著濾紙噴 10 下，確認指紋覆蓋處有完整噴灑。
4. 將濾紙以烘箱(100 °C)進行加熱 30 分鐘。
5. 取出後觀察指紋顯色情形，放入自製攝影盒拍攝影像。
6. 以 Image J 進行灰階值的分析，並記錄所分析之灰階值數值。

(六) 研究六：探討環境酸鹼值與指紋顯示效果之關聯性

1. 以 0.01 M HCl_(aq.)、0.01 M NaOH_(aq.)配製出 pH 值為 5.5、6、7、8、8.5 的水溶液。
2. 以手浸泡不同 pH 值的水溶液，以衛生紙吸掉多餘水分，再將指紋按壓於濾紙上。
3. 將配製好的寧海德林試劑對著濾紙噴 10 下，確認指紋覆蓋處有完整噴灑。
4. 將濾紙以烘箱(100 °C)進行加熱 30 分鐘。
5. 取出後觀察指紋顯色情形，放入自製攝影盒拍攝影像。
6. 以 Image J 進行灰階值的分析，並記錄所分析之灰階值數值。

寧海德林試劑檢驗法之探討與應用：

(一) 研究七：探討寧海德林試劑於吸水性材質、非吸水性材質之適用性

1. 戴上手套進行運動，產生手汗後，再將指紋按壓於不同非吸水性(塑膠、金屬片)、吸水性(不同類型紙張)材質上，以模擬日常生活中可能沾到指紋的表面。
2. 將配製好的寧海德林試劑對著按壓指紋處噴 10 下，確認指紋覆蓋處有完整噴灑。
3. 將濾紙以烘箱(100 °C)進行加熱 30 分鐘。

4. 取出後觀察指紋顯色情形，放入自製攝影盒拍攝影像。
5. 以 Image J 進行灰階值的分析，並記錄所分析之灰階值數值。

(二) 研究八：探討男性、女性之指紋在使用寧海德林試劑檢驗法之顯示效果

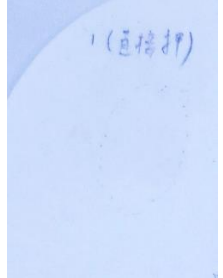


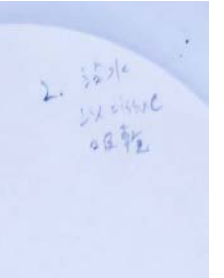
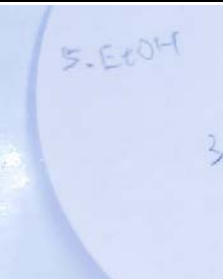
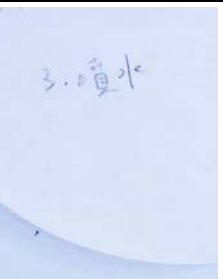
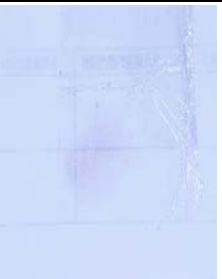

1. 戴上手套進行運動，產生手汗後，再將指紋按壓於濾紙上。以此方法分別取 25 個不同的男性指紋、25 個不同的女性指紋。
2. 將配製好的寧海德林試劑對著濾紙噴 10 下，確認指紋覆蓋處有完整噴灑。
3. 將濾紙以烘箱(100 °C)進行加熱 30 分鐘。
4. 取出後觀察指紋顯色情形，放入自製攝影盒拍攝影像。
5. 以 Image J 進行灰階值的分析，並記錄所分析之灰階值數值。
6. 以 excel 進行資料分析，統計出男性、女性指紋灰階值的差異。

(三) 研究九：其他試劑或添加離子於寧海德林試劑以檢驗性別之探討

1. 戴上手套進行運動，產生手汗後，再將指紋按壓於濾紙上。以此方法分別取數個不同的男性指紋、數個不同的女性指紋。
2. 以最佳化的寧海德林試劑之配方配製 1,3-茛二酮溶液備用。
3. 取少量硫酸鋅、氯化銅、硫酸銅、硝酸銀、氯化鐵、氯化亞鐵溶於 95%乙醇，分別將各溶液與配製好的寧海德林試劑以體積比 1:1 混合備用。
4. 將所有配製好的試劑對著濾紙噴 10 下，確認指紋覆蓋處有完整噴灑。
5. 將濾紙以烘箱(100 °C)進行加熱 30 分鐘。
6. 取出後觀察指紋顯色情形，放入自製攝影盒拍攝影像。
7. 以 Image J 進行灰階值的分析，並記錄所分析之灰階值數值。

伍、研究結果



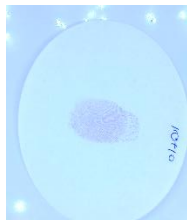
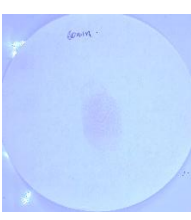
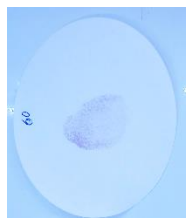

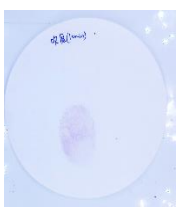


一、研究一：探討何種指紋取樣方法能使指紋顯示效果最明顯

取樣方式	直接按壓 (手未出汗)	於手上沾水 後按壓指紋	於手上圖抹油 後按壓指紋	沾水以紙巾吸乾 後按壓指紋
指紋顯色				
取樣方式	於手上沾酒精 後按壓指紋	以噴瓶噴灑少量的 水後按壓指紋	以膠帶採取指紋	流手汗 後按壓指紋
指紋顯色				

表(二)，不同指紋取樣方法之指紋顯色情形

由以上八種採樣方式可以見得，僅有沾水或是流汗有較明顯的指紋顯示出來，推測胺基酸應易溶於水而不溶於酒精、油脂，因此必須要有足夠量的水才能使胺基酸附著於濾紙的表面。但於沾水在手上的實驗中可以見得，水會暈開並影響最終的顯色效果，手指的紋路就消失了。而指紋按壓在膠帶上雖明顯，但由於寧海德林試劑是溶於石油醚中，將石油醚噴灑至膠帶上膠帶會被有機溶劑所溶解使指紋顯示不清楚。因此我們以流手汗做為最終的取樣條件，往後的取樣都會請受試者戴上乳膠手套進行 1 分鐘的運動，再進行指紋的按壓。




二、研究二：探討何種加熱方式最能使指紋顯示效果最明顯

加熱時間 加熱方式	5 分鐘	10 分鐘	20 分鐘	30 分鐘	60 分鐘
烘箱 (60 °C)					
吹風機					

表(三)，不同加熱方式之指紋顯色情形

我們以烘箱(60 °C)、吹風機進行加熱，在先前的文獻中是以 60 °C 有最佳的顯色效果，但我們實際操作下來顯色並不明顯，將加熱的時間延長到 60 分鐘仍沒有完整的成色。反倒是以吹風機加熱效果意外的不錯，但仍然是要加熱 10 分鐘以上才有較佳的顯示效果，考量到吹風機無法進行持久的加熱，因此我們進行了烘箱的溫度篩選。

三、研究三：探討烘箱加熱溫度與指紋顯示效果之關聯性




烘箱溫度	60 °C	80 °C	100 °C
指紋顯色			
灰階值	163.157	157.287	132.722

表(四)，不同加熱溫度之指紋顯色情形

在烘箱的溫度測試中，我們設定了 60 °C、80 °C、100 °C 分別加熱 30 分鐘，而指紋的顯色有肉眼可見的明顯不同，轉換為灰階值也有明顯的差異。由於與文獻的設定差距很大，因此我們對學校的烘箱進行初步的紅外線溫度測定，發現設定 60 °C 時，紅外線測溫儀顯示 47.5 °C；而設定 100 °C 時，紅外線測溫儀顯示 73.9 °C，推測我們學校的烘箱實際溫度應略低於所設

定的溫度，但以紅外線測溫儀測量需打開烘箱測定因此與實際烘箱密閉運作時的溫度仍有所差距，實際烘箱溫度仍須以專業儀器校準才準確。以我們的實驗器材與條件在本次實驗中設定烘箱溫度 100 °C 確實顯色的效果有顯著的提升，因此為了避免誤差在後續的實驗設定就以此烘箱設定 100 °C 進行。

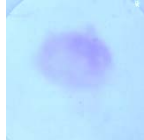



四、研究四：探討烘箱加熱時間與指紋顯示效果之關聯性

加熱時間	10 分鐘	20 分鐘	30 分鐘	60 分鐘
指紋顯色				
灰階值	145.683	146.737	132.722	140.372

表(五)，不同加熱時間之指紋顯色情形

烘箱加熱時間的部分，由先前的經驗可以得知，加熱 5 分鐘大約就可看出指紋的輪廓，而隨著加熱的時間增加，顯色也變得更加明顯。加熱到 30 分鐘時濾紙上的指紋顏色、紋路、輪廓皆達到最清晰的狀態，灰階值也顯示為最小，即顯色最深，當加熱時間在延長則指紋略淡了一點，因此我們便以加熱 30 分鐘做為後續實驗的控制變因。

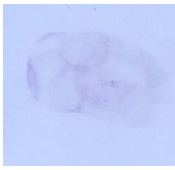
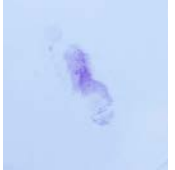
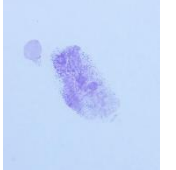
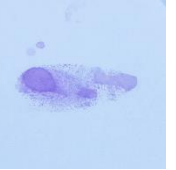
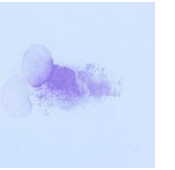
五、研究五：探討寧海德林的濃度與指紋顯示效果之關聯性

與原始寧海德林濃度倍率比	0.5 倍	1.0 倍	1.5 倍	2.0 倍
指紋顯色				
灰階值	138.299	132.722	158.146	160.645

表(六)，不同寧海德林試劑濃度之指紋顯色情形

在本項探討中，我們先配製了原始寧海德林濃度之 0.5 倍(50%)、1.5 倍(150%)、2.0 倍(200%)濃度的寧海德林試劑來進行探討。由不同的濃度對應到的灰階值可以發現當寧海德林濃度過高時反而不利於反應進行，而當濃度縮為原來的一半時所測得的灰階值亦增加，原始濃度的顯色較果為本次所嘗試的四種濃度中最好的，因此將以此配方進行後續的實驗。





六、研究六：探討環境酸鹼值與指紋顯示效果之關聯性



pH 值	5.5	6	7	8	8.5
指紋顯色					
灰階值	139.364	127.024	131.256	132.544	126.361

表(七)，不同環境酸鹼值之指紋顯色情形

在此實驗中，我們模擬指紋在不同酸鹼性環境中的顯色情形，於是我們以 0.01 M 的鹽酸與 0.01 M 的氫氧化鈉分別調出 pH 值為 5.5、6、7、8、8.5 之水溶液，並加以測試酸鹼值性是否對於指紋的顯色反應有所影響。實驗結果顯示在非極端的酸鹼性下，在 pH 值 5.5 至 8.5 之間顯色情形大致與酸鹼性無關，而我們所參考的文獻當中也有提到太過於酸性或是鹼性都有可能影響或破壞指紋的完整呈現，因此我們可以得知在接近中性或是弱酸、弱鹼性皆是做寧海德林法檢測指紋的合適條件。



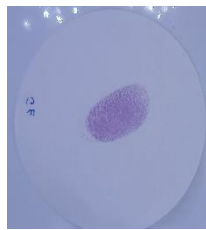

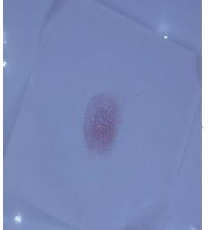

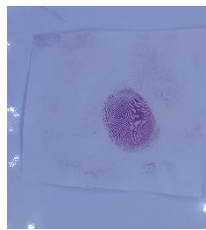

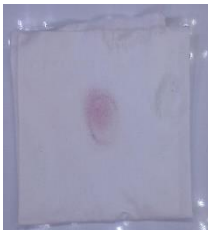
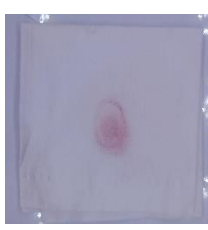
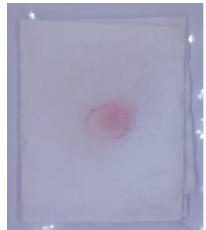

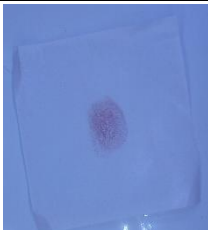
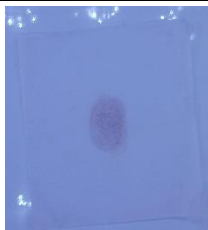
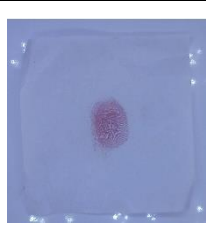

七、研究七：探討寧海德林試劑於吸水性材質、非吸水性材質之適用性

非吸水性材質	10 分鐘	20 分鐘	30 分鐘	60 分鐘	圖示
塑膠 L 夾	無顯色	無顯色	無顯色	無顯色	
鋅片	無顯色	無顯色	無顯色	無顯色	
鐵片	無顯色	無顯色	無顯色	無顯色	
銅片	無顯色	無顯色	無顯色	無顯色	

鋁片	無顯色	無顯色	無顯色	無顯色	
玻璃片	無顯色	無顯色	無顯色	無顯色	

表(八)，不同非吸水性材質之指紋顯色情形

本實驗主要都在探討寧海德林法，也由於寧海德林是溶於有機溶劑之中，無法被非吸水性材質所吸收。但為了推廣本實驗的應用性，因此我們找了常見的非吸水性材質，如上表所見。但很可惜的是在我們的實驗中，非吸水性材質皆無法使用寧海德林法，配製完成的寧海德林溶液無法均勻使指紋浸濕，更無法使其中的氨基酸顯色。

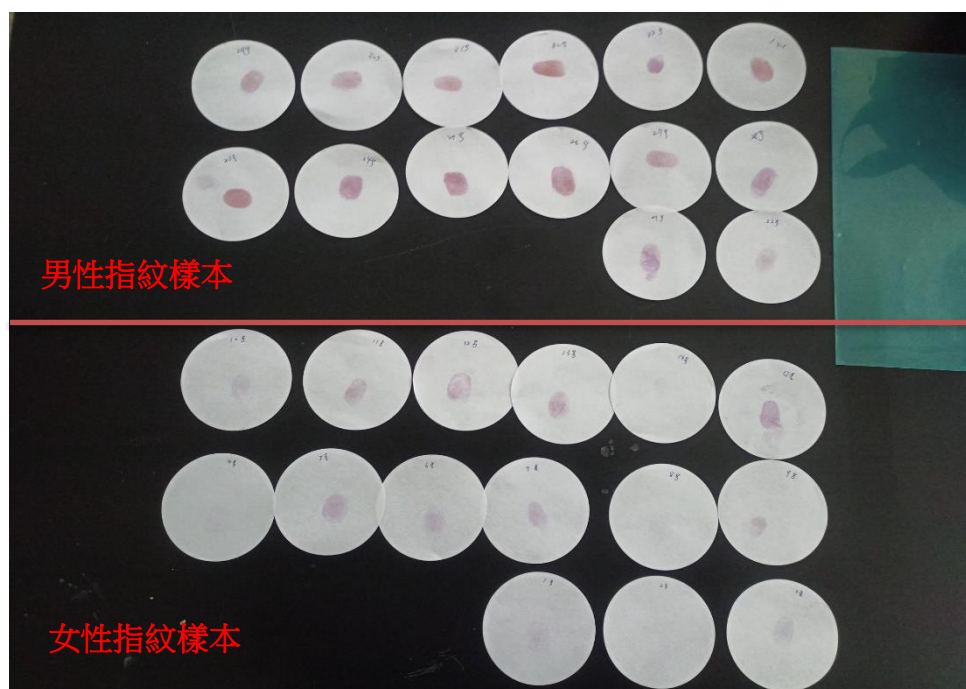
吸水性材質	10 分鐘	20 分鐘	30 分鐘	60 分鐘
濾紙				
印刷紙				
衛生紙				
秤量紙				

表(九)，不同吸水性材質之指紋顯色情形

而吸水性材質則完全顛倒，不論是濾紙、再生印刷紙、衛生紙、秤量紙都有很顯著的顯色效果，可以推論指紋的顯色明顯與否與是否能均勻吸附溶劑完全浸濕整個指紋的輪廓有關。不

過其中在衛生紙上所顯現的顏色與其他三者略有不同，亦有可能是衛生紙中有其他的添加劑影響，藉此將原先的藍紫色轉變為偏粉紅色。

八、研究八：探討男性、女性之指紋在使用寧海德林試劑檢驗法之顯示效果



圖(三)，男性、女性指紋顯色情形之比較

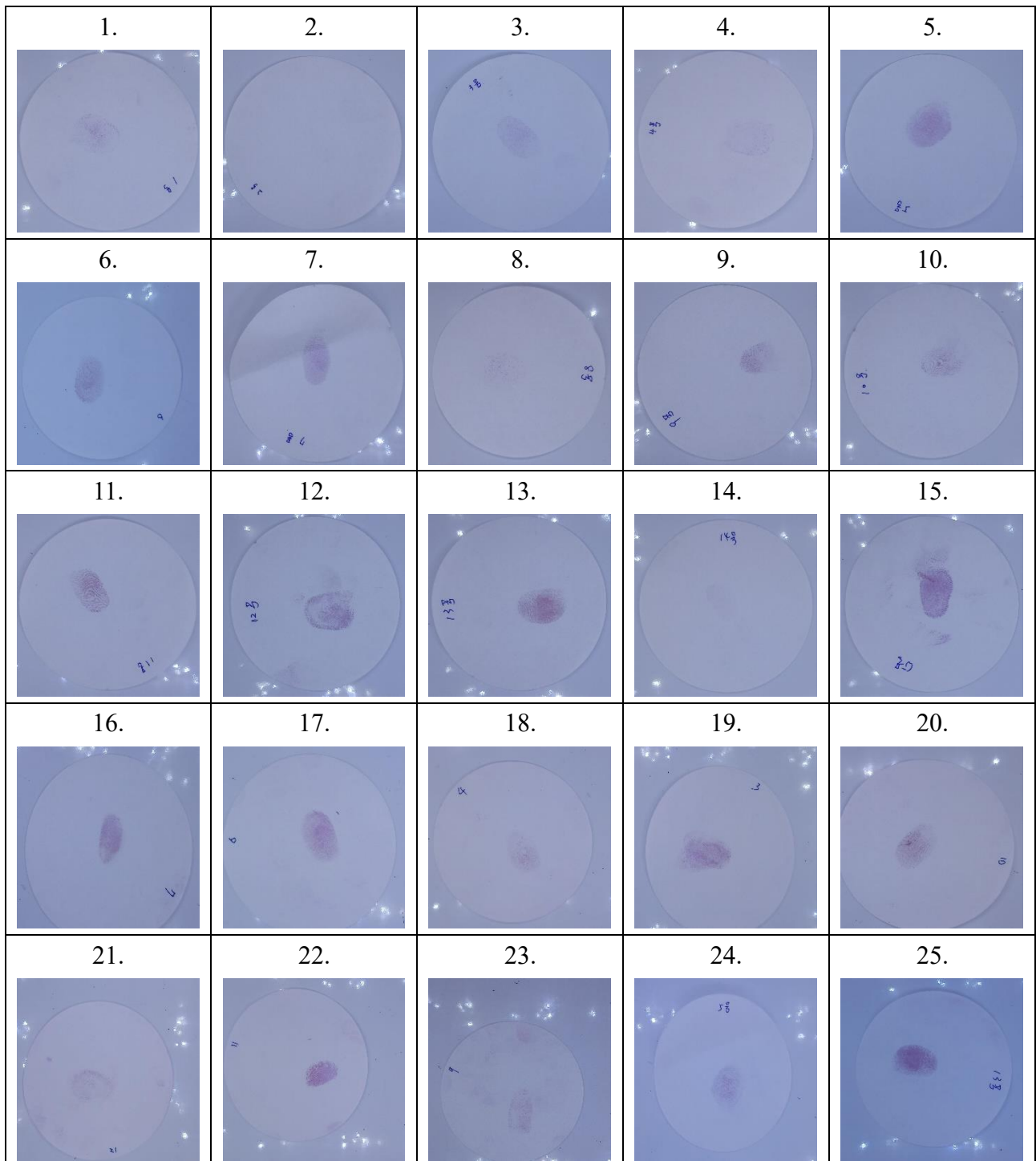
將男性與女性的指紋以寧海德林試劑處理後分開擺放，以肉眼就能明顯的分辨出兩者的深淺不同，但為了力求實驗準確，使本方法更為科學化、易用。我們使用 Image J 將此 50 個樣本逐一分析轉化為灰階值並且對其製作統計圖表，包含計算平均值、標準差、繪製盒狀圖、並進行 t 檢定分析。

比較特別的是先前的文獻中提及的是女性的指紋中氨基酸含量較高，但在本次的實驗測定結果發現灰階值較低(顯色深)的皆是男性的指紋，也代表男性的指紋中有相對較高含量的胺基酸。我們推測其中也可能包含在取樣時，多數戴上手套運動的男生較為好動，因此樣本可以流較多手汗，顯色效果也較佳，若要避免取樣造成的誤差，一是可以增加樣本數，減少個體的誤差造成之影響。另一則是可以再設計實驗，讓真實取樣出的樣本流汗量相近，亦或是流汗後、按壓前以濕紙巾潤濕手指，既保有一定的水分可以溶解胺基酸，亦不會造成個體流汗量差異的影響。

我們將男性、女性指紋由灰階值小至大排列(表十二)，且在各項圖表分析後發現兩組數據有明

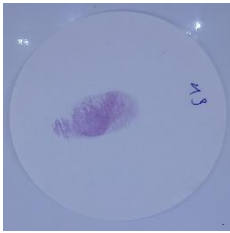
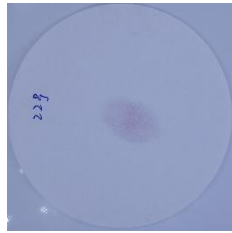
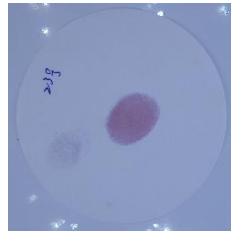
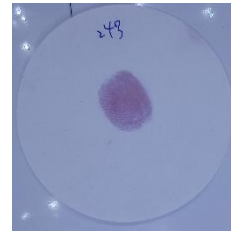
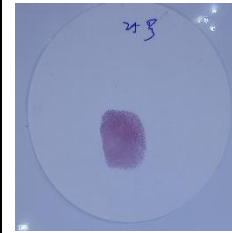


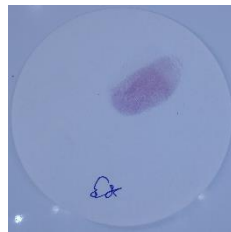
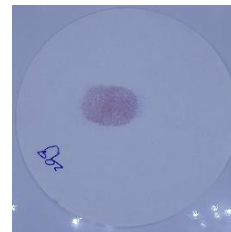
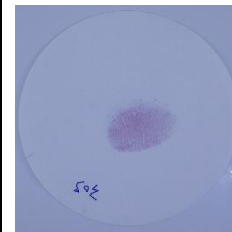
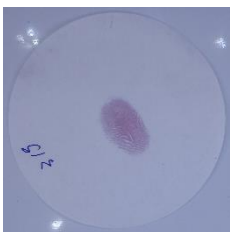
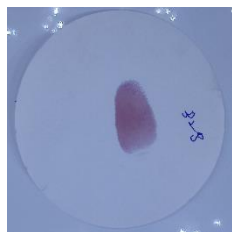
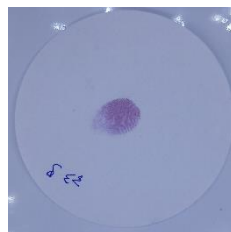
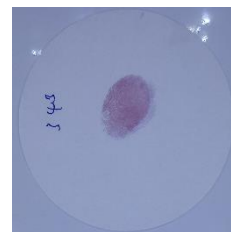
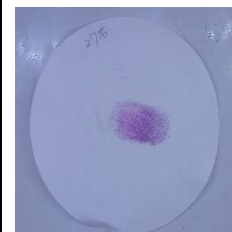


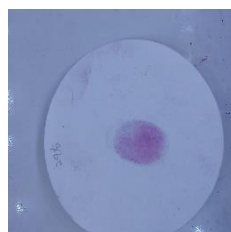


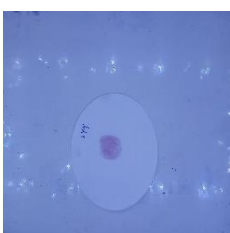

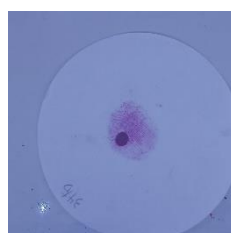
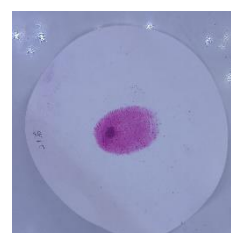
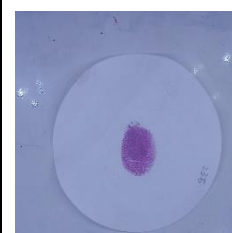
顯的差異，不論是以算術平均數誤差值為正負一個標準差所繪製的長條圖(圖四)、以或是盒狀圖的四分位距(圖五)皆有明顯的分別，並且在 t 檢定分析(表十三)中 p 值小於 0.05，即可以說明兩筆數據間的誤判機率很小，算是初步建立了一個以寧海德林法從指紋中辨別性別的模型，當然未來也期望可以將此研究的資料庫樣本數更進一步擴大，以使此模型更加精確。

25 個女性指紋樣本：



表(十)，25 個女性指紋樣本

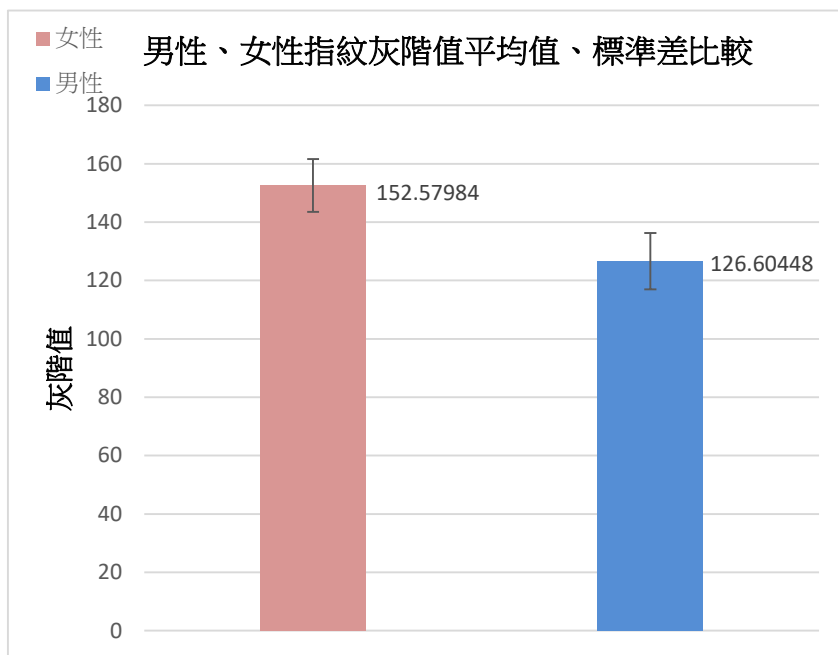
25 個男性指紋樣本：

1. 	2. 	3. 	4. 	5. 
6. 	7. 	8. 	9. 	10. 
11. 	12. 	13. 	14. 	15. 
16. 	17. 	18. 	19. 	20. 
21. 	22. 	23. 	24. 	25. 

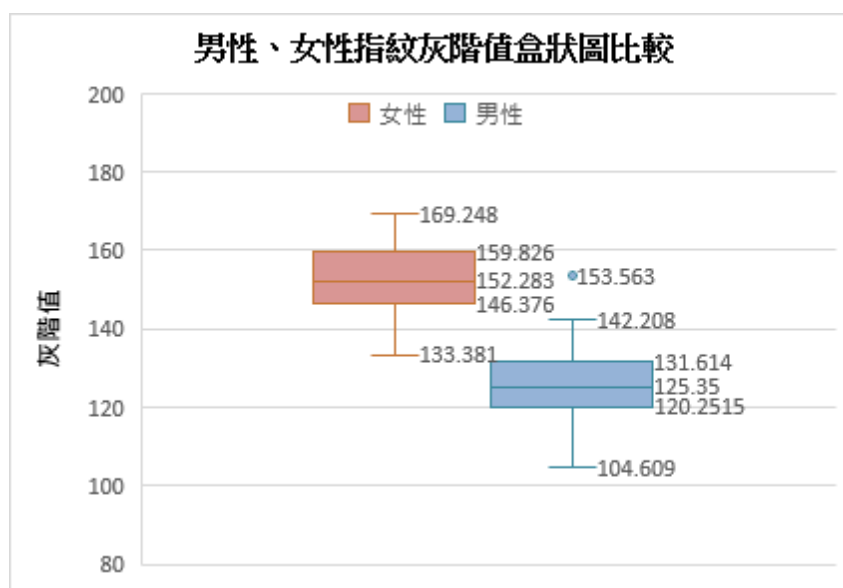
表(十一)，25 個男性指紋樣本

25 個女性、25 個男性的指紋灰階值(由小而大排列)與數據分析：

	女性	男性
1	133.381	104.609
2	136.053	116.586
3	142.117	117.632
4	142.981	118.248
5	144.453	118.956
6	145.066	119.527
7	147.686	120.976
8	148.649	121.133
9	148.735	123.971
10	149.332	124.273
11	151.298	124.612
12	151.589	124.613
13	152.283	125.35
14	152.728	125.478
15	153.775	126.827
16	155.432	128.724
17	156.585	128.997
18	158.657	129.576
19	159.231	131.605
20	160.421	131.623
21	162.537	132.28
22	163.277	132.93
23	163.863	140.815
24	165.119	142.208
25	169.248	153.563
平均值	152.5798	126.6045
標準差	9.077242	9.664248



圖(四)，男性、女性指紋灰階值平均值、標準差比較



圖(五)，男性、女性指紋灰階值盒狀圖比較

表(十二)，25 個男、女性指紋灰階值

由於本次採取實驗的樣本來源皆來自國中生，我們在這些樣本中有找到不同性別指紋對應的灰階值區間，也可以由此分辨男性、女性的指紋。但由於不同年齡的人基礎代謝率也會不同，在指紋上之胺基酸濃度亦有可能不同，因此我們欲規劃測量不同年齡層的指紋並做測試，但相當可惜在我們規畫設計完實驗變因後便轉變為線上教學，此部分未來希望能再做進一步的

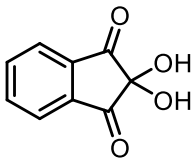
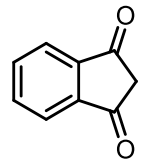
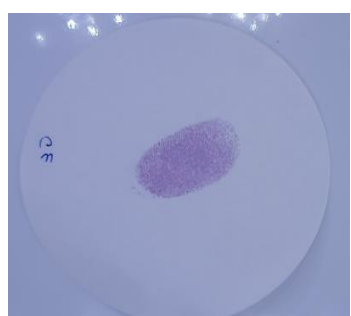

探討，藉此找出各個年齡層不同性別指紋對應的灰階值區間，以建立更完善的模型提升本實驗的應用範圍。

t 檢定(變數 1：女性指紋灰階值，變數 2：男性指紋灰階值)：

t 檢定：成對母體平均數差異檢定		
	變數 1	變數 2
平均數	152.5798	126.6045
變異數	82.39631	93.3977
觀察值個數	25	25
皮耳森相關係數	0.942748	
假設的均數差	0	
自由度	24	
t 統計	40.29347	
P(T<=t) 單尾	7.41E-24	
臨界值：單尾	1.710882	
P(T<=t) 雙尾	1.48E-23	
臨界值：雙尾	2.063899	

表(十三)，25 個男、女性指紋灰階值 t 檢定

九、研究九：其他試劑或添加離子於寧海德林試劑以檢驗性別之探討

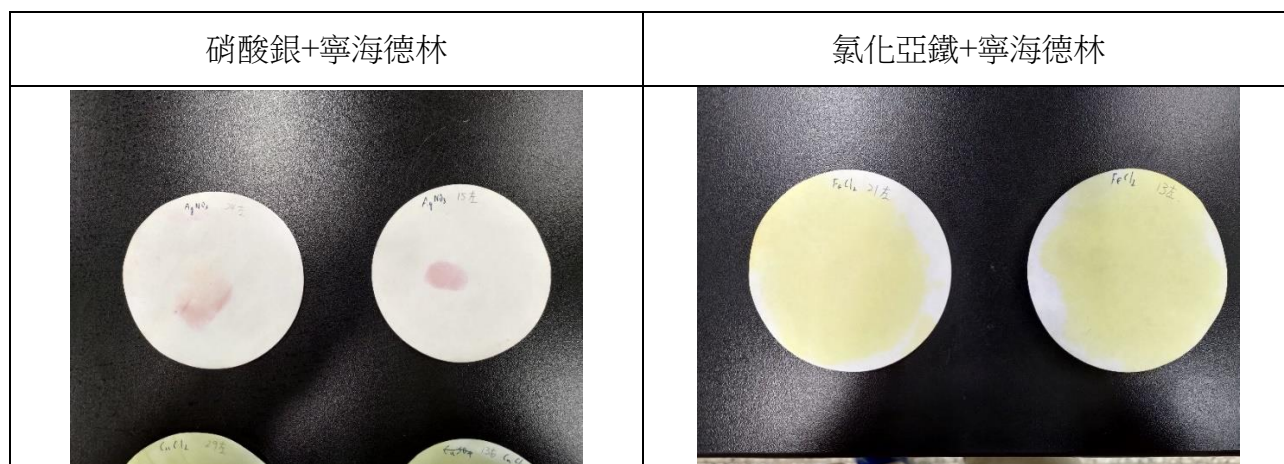
試劑	寧海德林	1,3-茛二酮
結構		
指紋顯色		

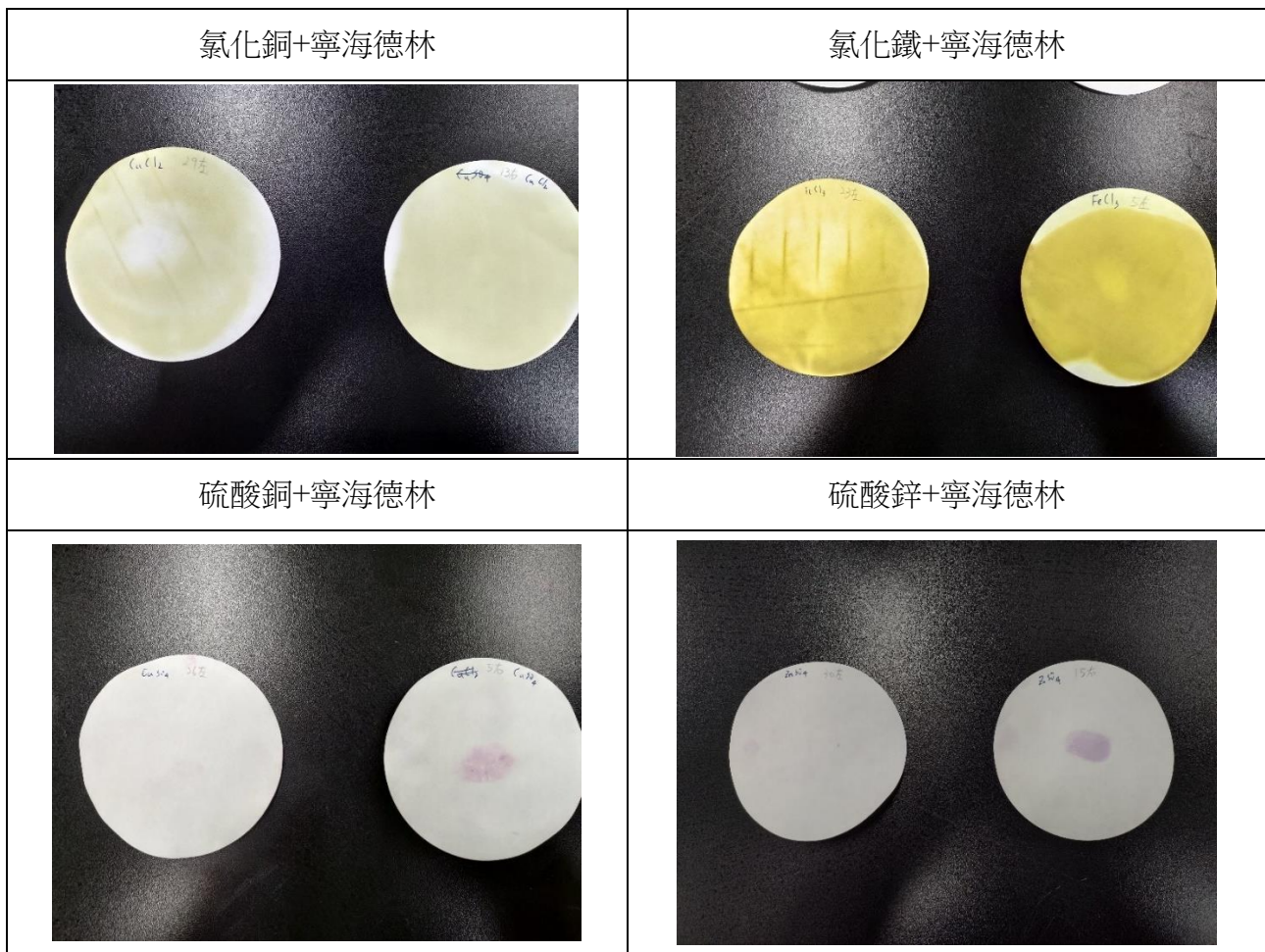
表(十四)，寧海德林試劑與 1,3-茛二酮之指紋顯色比較

我們在做文獻搜索時發現除了寧海德林試劑外也有文獻提及茛二酮亦可以與胺基酸反應顯色，不過茛二酮主要有兩種異構物，兩者結構皆與寧海德林相似。因此我們先取 1, 3-茛二酮嘗試其是否與寧海德林有相似的特性，與胺基酸反應呈現鮮豔的顏色，但在我們嘗試了幾次之後，雖然 1, 3-茛二酮本身溶於有機溶劑中略帶螢光黃色，但其與指紋接觸後並無顯色情況發生，反倒是直接滴在濾紙上在放進烘箱前就會呈現微微的粉紅色，不論有沒有接觸到指紋都會顯色，加熱完則反而顏色褪去，只能推測其反應的標的應該不只限於胺基酸，並且其結構在加熱後並不是很穩定。若須使用 1, 3-茛二酮作為檢驗試劑可能配方與條件皆需調整，若要形成相似寧海德林的二聚體結構，可能需要再對其進行修飾才可行，由先前寧海德林與胺基酸的反應機構可以看出 1, 3-茛二酮缺乏與胺基酸反應的官能基。

除此之外，我們更進一步搜尋文獻，發現在民國 89 年中央警察大學的論文就有清楚提到 1,2-茛二酮能與胺基酸產生顯色的效果，並且再加入氯化鋅溶液能讓結果顯現清晰的螢光色，顯色的效果甚至更優於寧海德林試劑。但由於 1,2-茛二酮試劑較 1,3-茛二酮試劑、寧海德林試劑昂貴許多，每公克約臺幣 3000 元，因此在價格過高的情況下我們認為 1,2-茛二酮較不適合做為大量檢驗的試劑，寧海德林在價格上仍具有優勢。

不同離子混合寧海德林試劑的測試：





表(十五)，不同離子混合寧海德林試劑之指紋顯色情形，每張圖的左邊為男性指紋、右邊為女性指紋

於先前文獻中有提及加入離子可以使寧海德林試劑顏色轉變，例如：於寧海德林試劑中混合銀離子可以使試劑變為黑褐色、於寧海德林試劑中混合鋅離子可以使試劑變為粉紅色、於寧海德林試劑中混合銅離子可以使試劑變為紅色。因此我們希望以添加離子以增加顯色之指紋的鮮豔度，嘗試建立一個以肉眼就難辨別男性、女性指紋的模型。但將上述六種離子化合物溶於乙醇並混合寧海德林試劑後兩者會呈現分層的狀態，我們採用搖晃混合均勻的方式，在兩液體界面回復之前快速以噴瓶噴 10 下，分別各噴一個男性、女性的指紋，但其效果皆不甚理想。推測可能是添加離子的寧海德林試劑之最佳化條件與原來不同，不同離子的配方也或許需要再做調整。然而相當可惜的是，在我們進行後續的離子配方條件實驗規畫後便遭遇疫情而進行線上教學，因此仍有很多未解之謎，未來若繼續此研究則可以再篩選有添加離子的寧海德林試劑之反應條件，亦或是更換離子來源、溶劑種類，以找出最佳化條件以拓展本實驗的應用層面。

陸、結論

- 一、本實驗找出的寧海德林試劑最佳化條件為：流手汗後按壓濾紙採取指紋，以烘箱加熱且設定為 100 °C 加熱 30 分鐘後取出拍照。其中所使用最效果最佳效果的寧海德林配方為 0.5 g 寧海德林固體，溶於 4 mL 甲醇中再加入 46 mL 的石油醚萃取，取上層(石油醚層)。
- 二、寧海德林法適用於所吸水性材質，但於非吸水性材質之應用效果不佳。
- 三、本實驗可以透過資料的建立，分別收集 25 組男性、女性的指紋，建立模型以分析辨識未知指紋之性別。由實驗結果中可以觀察到男性的指紋顯色較為明顯，代表其有相對含量較高的氨基酸濃度。
- 四、本實驗亦嘗試將寧海德林法進行延伸實驗，但不論是使用相似結構的 1, 3-茛二酮，亦或是添加離子與反應中，對於男性、女性指紋的辨識效果都沒有顯著提升，推測還需要再個別找到最佳化條件，才能達到更理想的辨識效果。

柒、未來展望

經過本次實驗，我們得亦建立辨識男性、女性指紋的寧海德林法模型，但由於時間的關係，未來若要再提高可信度則應該再增加樣本數。另外，亦可以收集不同特徵的指紋樣本來進行胺基酸濃度的分析，如：年齡、體重等...，方法建立得宜後方能在一枚指紋中獲得多項資訊。此外，若能購買到不同種類的氨基酸，即可模擬人類體內所含的氨基酸比例進行配製，便能取代大量的真實樣本資料庫，如同 Jan Halánek 教授的文獻建立定量分析方法。並以灰階值對氨基酸濃度製作檢量線，如此即可將相對濃度的多寡推展至絕對濃度的判定，進而建立在鑑識科學上更有參考價值的指紋辨識法，以找出更多指紋中所包含的密碼。

捌、參考資料及其他

- 一、張喬馥、陳奕安、賴良榛，「真相只有一個-不同環境指紋檢測方法比較與寧海德林法最佳化探討」，中華民國第 57 屆中小學科展
- 二、天然防偽標誌——淺談指紋與鑑識採證法(上)，LiFe 生活化學，2021 年 4 月 14 日，擷取自 <https://www.lifechem.tw/blog/210403>
- 三、茚三酮反應，維基百科，擷取自 <https://zh.wikipedia.org/wiki/%E8%8C%9A%E4%B8%89%E9%85%AE%E5%8F%8D%E5%BA%94>
- 四、陳佑丞、邱振源，「彈「指」之間——寧海德林顯現指紋之反應速率探討」，109 年度綠色化學競賽
- 五、內政部警政署刑事警察局-指紋小百科，擷取自 <https://www.cib.gov.tw/Science/EncyclopediaDetail/231>
- 六、Brunelle, E.; Huynh, C.; Le, A.-M.; Halámková, L.; Agudelo, J.; Halánek, J. New horizons for ninhydrin: Colorimetric determination of gender from fingerprints. *Anal. Chem.* **2016**, *88*, 2413–2420
- 七、孫曼蘋(民國 89 年)。合成之 1,2-indanedione 與紙張上潛伏指紋顯現試劑 DFO、Ninhydrin 之顯現效果比較(未出版碩士論文)。國立中央警察大學。

【評語】 030206

1. 實驗發想有趣且實驗數據豐富。
2. 過去他人的研究以影像處理轉換成 RGB 數值進行比較與分析，此工作則是取灰階值作探討，有對此一研究進行思考和構思，相當不錯。
3. 實驗是以自製不透光攝影盒拍照來辨識顯色之指紋灰階值，有提出解決問題的想法與做法！
4. 研究題目有趣，但是胺基酸的濃度男性比女性高的結果和文獻發現的不一樣。這樣的結果如何應用，建議可以進一步思考。
5. 研究的題目的目標設計宜再加廣加深。

作品簡報

指紋中的性別密碼-



寧海德林法最佳化與性別辨識之探討

組別：國中組

科別：化學科

摘要

本實驗分為兩個主題，一為探討寧海德林試劑條件的最佳化，另一則為透過最佳化條件探討以寧海德林法在指紋中分辨男性、女性指紋的可能性。我們針對每個環節進行篩選，由警政署的寧海德林法配方做改良，雖然在不同材質的表面之應用與添加不同離子的試驗中結果不如預期。不過整體而言本實驗仍透過找到最佳化條件，提供了一個簡易、辨識度佳的寧海德林檢測法，可以從指紋的顯色情形輔以影像處理來分辨男性、女性的指紋，亦可以由此推測男性的指紋中含有的氨基酸濃度相對較女性高。

壹、研究動機

指紋如同一個的DNA一般具有獨一無二的特性，因此可以做為辨識個人身分的工具，更是法庭上的刑事證據。指紋檢驗的方式很多，其中我們對於寧海德林試劑檢驗法特別感興趣，與胺基酸反應後指紋可以顯現深藍色或紫色。由於指紋辨識往往需要仰賴資料庫，因此我們想探討寧海德林試劑檢驗法的更多可能，找出關鍵的即時線索。

貳、研究目的

寧海德林試劑檢驗法最佳化：

1. 何種指紋取樣方法能使指紋顯示效果最明顯。
2. 何種加熱方式最能使指紋顯示效果最明顯。
3. 探討烘箱加熱溫度與指紋顯示效果之關聯性。
4. 探討烘箱加熱時間與指紋顯示效果之關聯性。
5. 探討寧海德靈的濃度與指紋顯示效果之關聯性。
6. 探討環境酸鹼值與指紋顯示效果之關聯性。

寧海德林試劑檢驗法之探討與應用：

1. 探討寧海德林試劑於吸水性材質、非吸水性材質之適用性。
2. 探討男性、女性之指紋在使用寧海德林試劑檢驗法之顯示效果。
3. 其他試劑或添加離子於寧海德林試劑以檢驗性別之探討。

肆、研究過程與方法

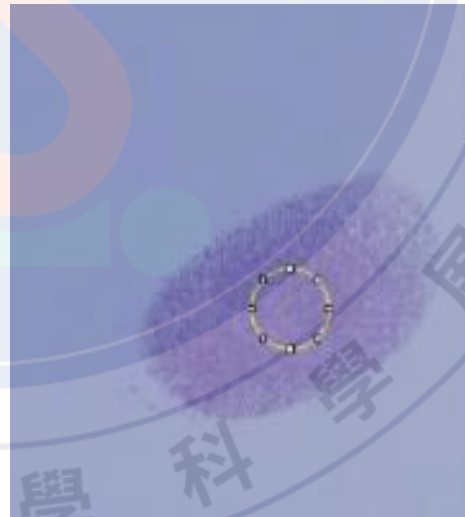
文獻探討：

1. 參考並調整第57屆全國科展文獻中對於寧海德林法最佳化探討之變因設計。
2. 參考並調整109年度綠色化學競賽之寧海德林噴灑法、影像處理與樣區法，而其中對於添加離子改變寧海德林顯色予以嘗試。
3. 關於指紋中性別辨識相關的研究，Jan Halánek教授於2016年發表在analytical chemistry期刊的文獻中發現可以藉由寧海德林試劑，並通過樣本數的累積與比色法來判定男性、女性的指紋。

指紋取樣步驟：

1. 戴上手套運動產生手汗後，再將指紋按壓於濾紙上
2. 將配製好的寧海德林試劑對著濾紙噴10下，確認指紋覆蓋處有完整噴灑。
3. 將濾紙以烘箱加熱，加熱溫度100 °C、加熱時間30分鐘。
4. 取出後觀察指紋顯色情形，放入自製攝影盒拍攝影像。
5. 以Image J 進行灰階值的分析，並記錄所分析之灰階值數值。

影像處理步驟：



Results

File	Edit	Font	Results	
	Area	Mean	Min	Max
1	17692	115.468	99	139





Enable selection brush

Size: 150 pixels







伍、研究結果

寧海德林試劑檢驗法最佳化：

【研究一】 探討何種指紋取樣方法能使指紋顯示效果最明顯

取樣方式	直接按壓 (手未出汗)	於手上沾水 後按壓指紋	以膠帶採取指紋	流手汗 後按壓指紋
指紋顯色				




【研究二】 探討何種加熱方式最能使指紋顯示效果最明顯

加熱時間 加熱方式	5 分鐘	10 分鐘	30 分鐘
烘箱 (60 °C)			
吹風機			

伍、研究結果

寧海德林試劑檢驗法最佳化：

【研究三】 探討烘箱加熱溫度與指紋顯示效果之關聯性

烘箱溫度	60 °C	80 °C	100 °C
指紋顯色			
灰階值	163.157	157.287	132.722


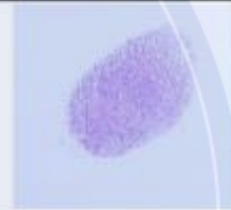


【研究四】 探討烘箱加熱時間與指紋顯示效果之關聯性

加熱時間	10 分鐘	20 分鐘	30 分鐘	60 分鐘
指紋顯色				
灰階值	145.683	146.737	132.722	140.372




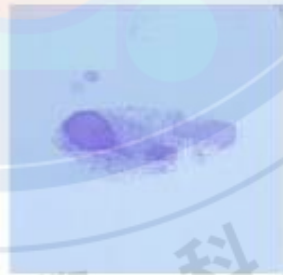

伍、研究結果

寧海德林試劑檢驗法最佳化：

【研究五】 探討寧海德林的濃度與指紋顯示效果之關聯性

與原始寧海德林濃度百分比	50 %	100 %	150 %	200 %
指紋顯色				
灰階值	138.299	132.722	158.146	160.645

【研究六】 探討環境酸鹼值與指紋顯示效果之關聯性

pH 值	5.5	6	7	8	8.5
指紋顯色					
灰階值	139.364	127.024	131.256	132.544	126.361

伍、研究結果

寧海德林試劑檢驗法之探討與應用：

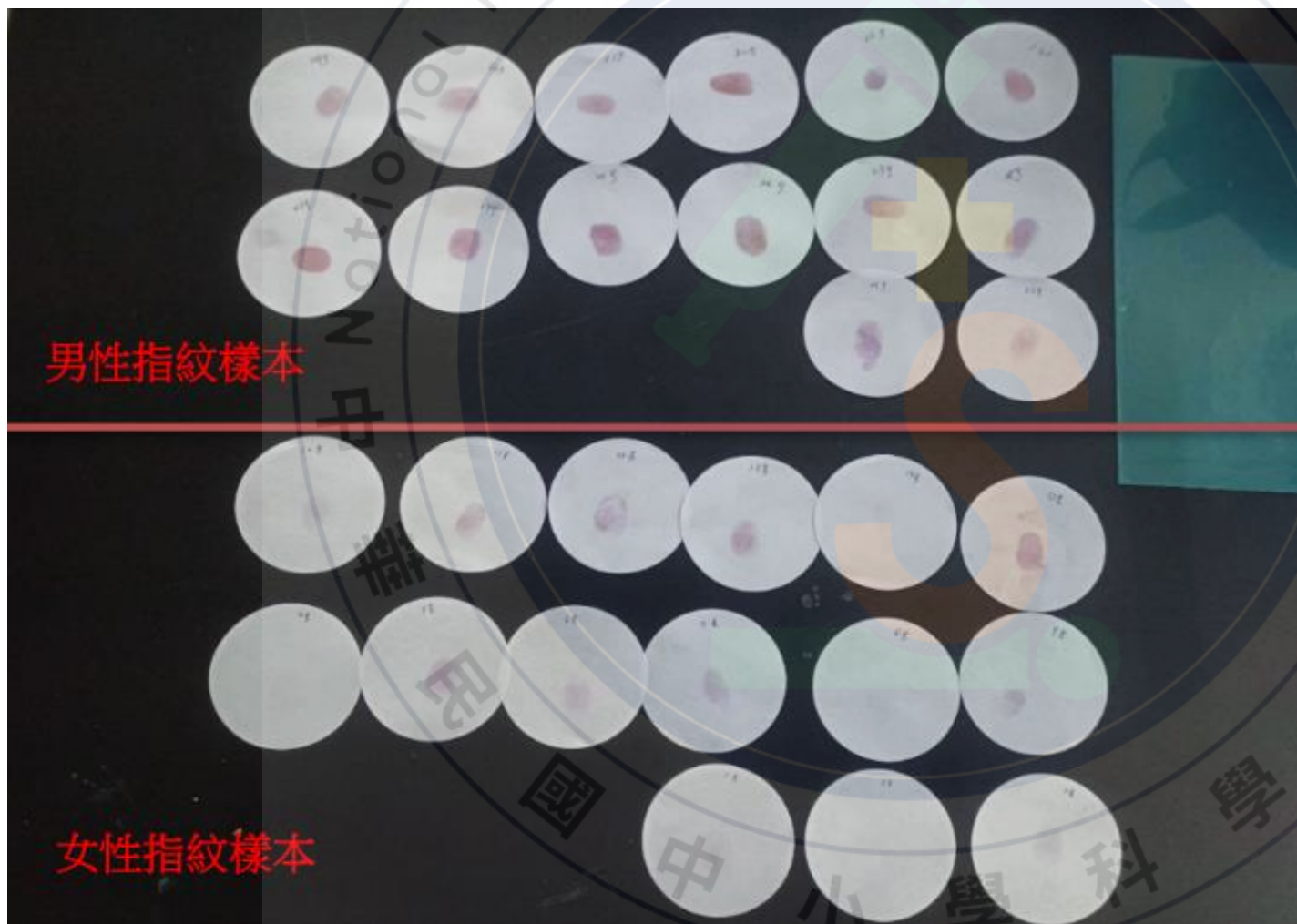
【研究七】 探討寧海德林試劑於吸水性材質、非吸水性材質之適用性

非吸水性材質	10分鐘	20分鐘	30分鐘	60分鐘	圖示	非吸水性材質	10分鐘	20分鐘	30分鐘	60分鐘	圖示
塑膠L夾	X	X	X	X		銅片	X	X	X	X	
鋅片	X	X	X	X		鋁片	X	X	X	X	
鐵片	X	X	X	X		玻璃片	X	X	X	X	

伍、研究結果

寧海德林試劑檢驗法之探討與應用：

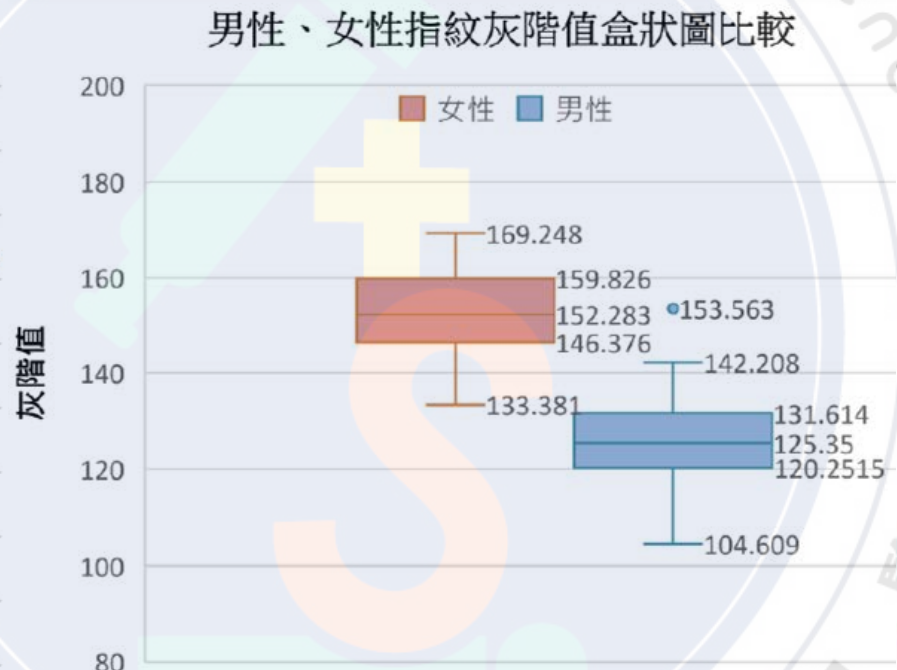
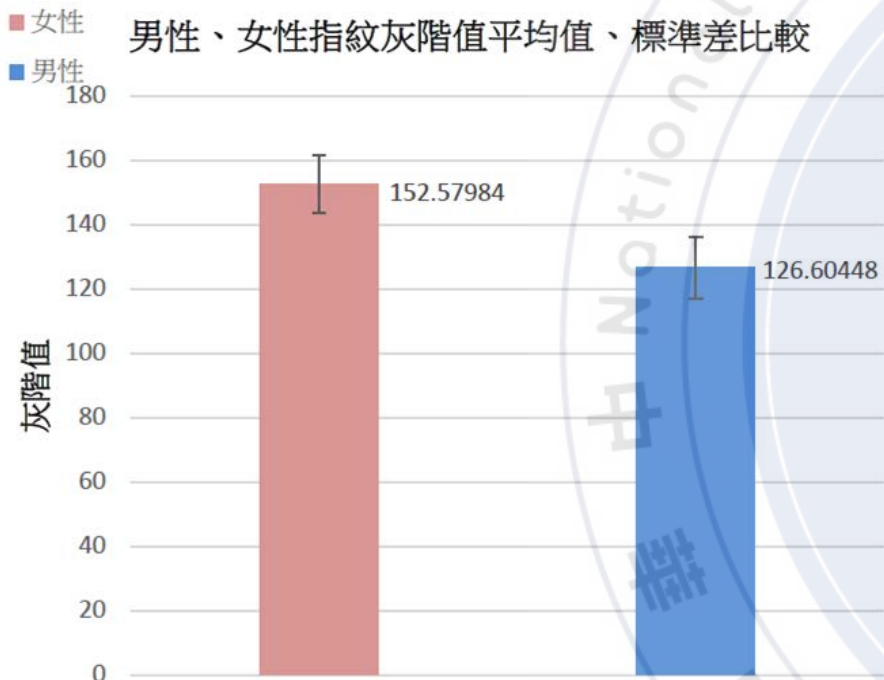
【研究八】 探討男性、女性之指紋在使用寧海德林試劑檢驗法之顯示效果



	女性	男性
1	133.381	104.609
2	136.053	116.586
3	142.117	117.632
4	142.981	118.248
5	144.453	118.956
6	145.066	119.527
7	147.686	120.976
8	148.649	121.133
9	148.735	123.971
10	149.332	124.273
11	151.298	124.612
12	151.589	124.613
13	152.283	125.35
14	152.728	125.478
15	153.775	126.827
16	155.432	128.724
17	156.585	128.997
18	158.657	129.576
19	159.231	131.605
20	160.421	131.623
21	162.537	132.28
22	163.277	132.93
23	163.863	140.815
24	165.119	142.208
25	169.248	153.563
平均值	152.5798	126.6045
標準差	9.077242	9.664248

伍、研究結果

寧海德林試劑檢驗法之探討與應用：【研究八】 探討男性、女性之指紋在使用寧海德林試劑檢驗法之顯示效果



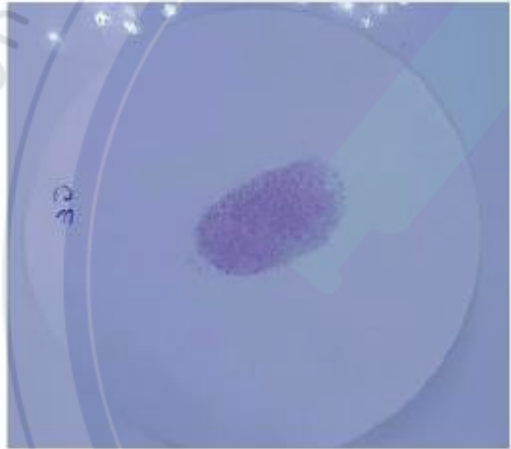
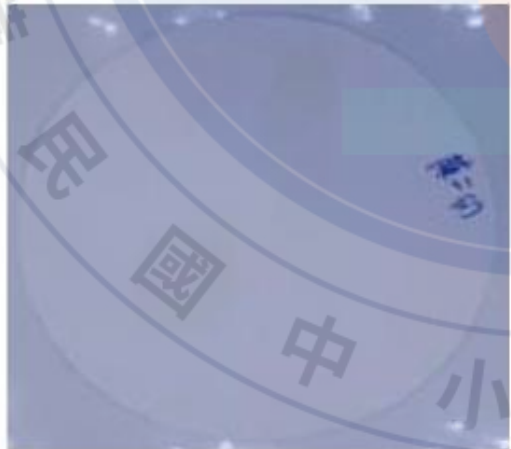
t 檢定：成對母體平均數差異檢定

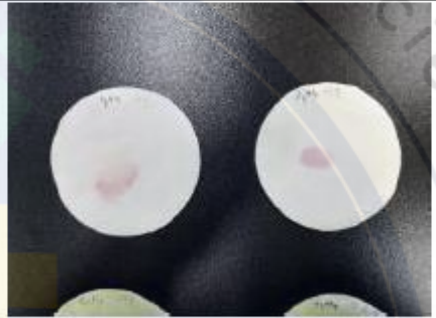
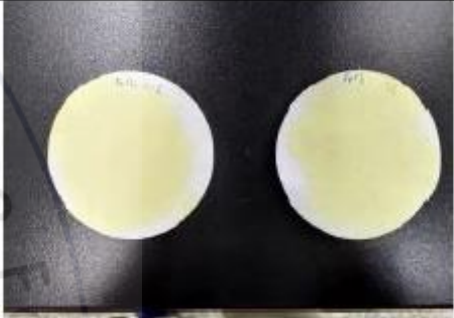
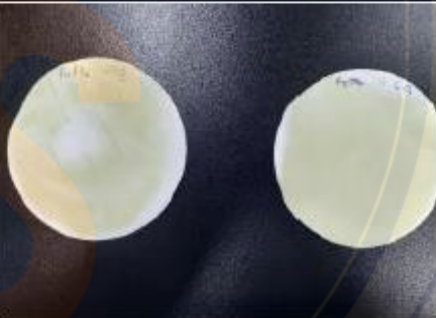



	變數 1	變數 2
平均數	152.5798	126.6045
變異數	82.39631	93.3977
觀察值個數	25	25
皮耳森相關係數	0.942748	
假設的均數差	0	
自由度	24	
t 統計	40.29347	
P(T<=t) 單尾	7.41E-24	
臨界值：單尾	1.710882	
P(T<=t) 雙尾	1.48E-23	
臨界值：雙尾	2.063899	

伍、研究結果

寧海德林試劑檢驗法之探討與應用：

【研究九】 其他試劑或添加離子於寧海德林試劑以檢驗性別之探討

試劑	結構	指紋顯色
寧海德林	<chem>O=C1C(O)C(O)C(=O)c2ccccc12</chem>	
1,3-茚二酮	<chem>O=C1C(=O)C=Cc2ccccc12</chem>	

硝酸銀+寧海德林	氯化亞鐵+寧海德林
	
氯化銅+寧海德林	氯化鐵+寧海德林
	
硫酸銅+寧海德林	硫酸鋅+寧海德林
	

陸、結論

- 1.本實驗找出的寧海德林試劑最佳化條件為：流手汗後按壓濾紙採取指紋，以烘箱加熱且設100°C加熱30分鐘後取出拍照。其中所使用最效果最佳效果的寧海德林配方為0.5 g寧海德林固體，溶於4 mL甲醇中再加入46 mL的石油醚萃取，取上層(石油醚層)。
- 2.寧海德林法適用於所吸水性材質，但於非吸水性材質之應用效果不佳。
- 3.本實驗可以透過資料的建立，分別收集25組男性、女性的指紋，建立模型以分析辨識未知指紋之性別。由實驗結果中可以觀察到男性的指紋顯色較為明顯，代表其有相對含量較高的氨基酸濃度。
- 4.本實驗亦嘗試將寧海德林法進行延伸，但不論是使用相似結構的1, 3-茛二酮，亦或是添加離子與反應中，對於男性、女性指紋的辨識效果都沒有顯著提升，推測還需要再個別找到最佳化條件，才能達到更理想的辨識效果。

柒、未來展望

經過本次實驗，我們得以建立辨識男性、女性指紋的寧海德林法模型，但由於時間的關係，未來若要再提高可信度則應該再增加樣本數。另外，亦可以收集不同特徵的指紋樣本進行氨基酸濃度的定量分析，如：年齡、體重等...，方法建立得宜後方能在一枚指紋中獲得多項資訊，建立在鑑識科學上更有參考價值的指紋辨識法，以找出更多指紋中所包含的密碼。

捌、參考資料