

การตรวจคราบอสุจิบนกระเบื้องและผ้าชนิดต่าง ๆ โดยใช้เทคนิค Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR)

Detection of seminal stains on ceramic tiles and fabrics by Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR)

อาภา อิ่มสิน (Arpa Imsin)^{*}

ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี (Supachai Supaluknari)^{**}

ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง (Sirirat Choosakoonkriang)^{**}

อรัทัย เขียวพุ่ม (Orathai Kheawpum)^{***}

บทคัดย่อ

คราบอสุจิจัดเป็นพยานทางชีวภาพอย่างหนึ่งที่สำคัญ และมักจะพบในสถานที่เกิดเหตุ ในคดีข่มขืนหรือคดีคุกคามทางเพศ ในการศึกษานี้ใช้เทคนิค Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR) ในการตรวจวิเคราะห์คราบอสุจิที่อยู่บนพื้นผิววัสดุ 3 ชนิด คือ กระเบื้องผิวขรุขระ สำลีสันก้าน และผ้าชนิดต่าง ๆ จาก IR spectrum ของคราบอสุจิที่ขูดออกมาจากพื้นผิวกระเบื้องแสดงพีคที่เด่นชัดของ amide I และ amide II ในตำแหน่งที่ 1700 cm^{-1} และ 1480 cm^{-1} และพีคของหมู่ฟอสเฟตในช่วง $1245\text{ cm}^{-1} - 1080\text{ cm}^{-1}$ อย่างไรก็ตาม IR spectrum ที่ได้รับจากคราบอสุจิที่อยู่บนสำลีสันก้านและผ้าฝ้ายชนิดต่าง ๆ จะเห็นแค่กลุ่มของพีค amide เท่านั้น ในขณะที่หมู่ฟอสเฟตจะถูกบดบังด้วยพีคของ C-O ซึ่งมาจากสำลีสันก้านและผ้า ในกรณีของผ้าสังเคราะห์และผ้าลินิน IR spectra ของผ้าทั้งสองมีพีคที่เด่นชัดในช่วง amide และฟอสเฟต แต่เมื่อใช้เทคนิคการหักกลับสเปกตรัมก็จะสามารถพบพีคของ amide ในคราบอสุจิบนผ้าได้ และเทคนิคนี้สามารถใช้ตรวจวัด amide พีค ของคราบอสุจิที่เก็บไว้บนตัวอย่างได้ถึง 30 วัน ผลการทดลองจากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า เทคนิค ATR-FTIR สามารถใช้ในการตรวจสอบเบื้องต้นของคราบอสุจิบนพื้นผิววัสดุที่ใช้ในการทดลองนี้ได้ และยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบสถานที่เกิดเหตุได้ เนื่องจากเป็นเทคนิคที่สะดวก รวดเร็ว และไม่ทำลายตัวอย่าง

คำสำคัญ: นิติวิทยาศาสตร์ / คราบอสุจิ / ATR-FTIR

^{*} หลักสูตรนิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

Science program in Forensic Science, Graduate school, Silpakorn university

^{**} ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

Department of Chemistry, Faculty of Science, Silpakorn University

^{***} ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

Department of Physical, Faculty of Science, Silpakorn University

Abstract

A seminal stain is an important biological evidence that may be found at the crime scene of sexual assault. In this study, the technique of Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR) was employed to the analysis of seminal stains on three types of substrate namely, ceramic tiles of coarse surface, cotton swab and fabrics. The IR spectrum of the dry sample scraped from the tile surface displayed the profound bands of amide I and amide II in the region of 1700 cm^{-1} and 1480 cm^{-1} and a peaks of phosphate groups in the range of $1245\text{ cm}^{-1} - 1080\text{ cm}^{-1}$. However, in the IR spectra of the stained samples of cotton swabs and cotton fabrics only the amide peaks were clearly observed while the peaks of phosphates overlapped with the peaks of C-O groups of the substrates. In the case of synthetic fabrics and linen sample, the IR spectra exhibited predominantly the characteristic bands of functional groups in the substrates especially in the amide and phosphate regions. However, by using the subtraction technique on the spectra, the amide peaks can be observed in those spectra of the stained sample. The method can detect the amide peaks of the seminal stains in all samples that were kept for the period of 30 days. The results from this study have demonstrates that the ATR-FTIR technique can be used as a preliminary test for the presence of seminal stains on the materials studied. The technique can be applied to the analysis of crime samples. It is a convenient method and non-destructive.

Keywords: forensic science / seminal stains / ATR-FTIR

บทนำ

ในการเกิดคดีอาชญากรรมต่าง ๆ มักพบว่าในสถานที่เกิดเหตุจะมีร่องรอยวัตถุพยานต่าง ๆ หลงเหลืออยู่ รวมทั้งวัตถุพยานทางชีวภาพ เช่น คราบน้ำลาย เส้นผม คราบโลหิต แม้กระทั่งคราบอสุจิซึ่งวัตถุพยานเหล่านี้มีความสำคัญต่อการสืบสวนและพิจารณาคดีเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะในคดีอาชญากรรมทางเพศ คราบอสุจิ จัดเป็นวัตถุพยานที่มีความสำคัญอย่างยิ่งในการสืบสวนหาตัวผู้กระทำความผิด ซึ่งคราบอสุจินี้อาจพบได้ทั้งในสถานที่เกิดเหตุ ที่ตัวของผู้เสียหาย และตัวของผู้กระทำความผิด ซึ่งโดยทั่วไปแล้วสามารถตรวจพบตัวอสุจิที่อยู่ในร่างกายได้นานถึง 3 วัน หรืออาจพบได้นานถึง 2 สัปดาห์ (Hazelwood and Burges, 1995 : 5-91) วิธีการตรวจอสุจิสามารถทำได้หลายวิธี ไม่ว่าจะเป็นการใช้แสงอัลตราไวโอเลตส่องเพื่อดูตำแหน่งของคราบอสุจิที่อยู่บนวัตถุ การตรวจหาสาร acid phosphatase การใช้ชุดตรวจ prostate – specific antigen (PSA) ซึ่งเป็นตรวจทางเคมี ที่ยังคงมีข้อจำกัดอยู่มาก ทั้งการให้ผลบวกปลอมและมักจะเป็นการทำลายตัวอย่างอย่างไรก็ตามปริมาณคราบอสุจิที่พบมักมีจำกัด ดังนั้นจึงต้องมีวิธีการตรวจยืนยันคราบอสุจิที่เหมาะสม เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อการนำไปพิสูจน์ตัวผู้กระทำความผิด เช่น การตรวจเอกลักษณ์บุคคล หรือการตรวจ DNA เป็นต้น ต่อไป

ในปัจจุบันได้มีการนำเทคโนโลยีการใช้แสงอินฟราเรดซึ่งเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่แบ่งความยาวคลื่นในช่วงต่าง ๆ เช่น แสงอินฟราเรดช่วงไกล (far infrared ; FIR) เป็นการวัดในช่วง $400-5\text{ cm}^{-1}$ แสงอินฟราเรดช่วงกลาง (middle infrared ; MIR) ในช่วง $4000-400\text{ cm}^{-1}$ ที่มีความเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์คุณภาพและการศึกษาโครงสร้างโมเลกุลที่มีการซับซ้อนที่ให้ลักษณะจำเพาะเจาะจง แสงอินฟราเรดช่วงสั้น (near infrared ; NIR) ในช่วง $12500-4000\text{ cm}^{-1}$ เป็นการวัดเชิงปริมาณสามารถวัดหาความเข้มข้นของสารที่มีองค์ประกอบของ N-H O-H และ C-H เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการนำเครื่องมือ Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) มาใช้ในงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์อย่างกว้างขวาง เนื่องจากสามารถใช้วิเคราะห์ตัวอย่างได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ อีกทั้งสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างที่เป็นทั้งของแข็ง ของเหลว และก๊าซได้ เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว และที่สำคัญคือไม่ทำลายตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์อีกด้วย Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR) ก็เป็นอีกหนึ่งวิธีที่มักนิยมนำมาใช้ในการงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ เป็นเทคนิคที่ใช้กับตัวอย่างที่มีลักษณะทึบแสง ซึ่งเป็นเทคนิคการสะท้อนของลำแสงอินฟราเรดผ่านเข้ามายังตัวอย่าง แล้วเกิดการหักเหขึ้นภายในระหว่างตัวอย่างกับ crystal ที่มี refractive index สูงกว่าตัวอย่าง ทั้งนี้เพราะให้ค่ามอดกกระหบบมีค่ามากกว่าหรือเท่ากับมุมวิกฤตเพื่อให้เกิดการสะท้อนกลับหมดของ IR beam ในเทคนิค ATR-FTIR นี้สามารถนำตัวอย่างมาวิเคราะห์ได้อย่างสะดวก รวดเร็ว

และจากงานวิจัยของ Botonjic – Sehic และคณะ (2009) ได้ใช้ NIR ในการตรวจวัดคราบโลหิตและประเมินอายุของคราบโลหิตโดยดูจากการเปลี่ยนแปลงของพื้นที่ใต้พีคที่ความยาวคลื่น $1460 - 1860\text{ nm}$ ที่ใช้ในการประเมินอายุของคราบโลหิตตัวอย่างบนพื้นผิวที่เป็นแก้วและผ้าโปรง นอกจากนี้ยังมีการนำ FTIR มาประเมินอายุของคราบอสุจิ (สุทธดา บุญญภัทร, 2010) โดยศึกษาการความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคของคราบน้ำอสุจิที่หยดลงบนกระจกสไลด์กับเวลาที่เปลี่ยนแปลงไป โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 10 วัน แล้วทำการวัดพื้นที่ใต้พีคระหว่าง $1800 - 1500\text{ cm}^{-1}$ (A_{1500}) และคำนวณเป็นอัตราส่วนของพื้นที่ที่วัดได้นี้กับพื้นที่ของพีคที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเวลาผ่านไปในช่วง $860-820\text{ cm}^{-1}$ (A_{860}) แล้วนำอัตราส่วนของพีคมาพล็อตเป็นกราฟเทียบกับอายุของตัวอย่างและนำมาใช้ในการทำนายหาอายุของคราบอสุจิได้ ก็ญารัตน์ ดีภรณ์ และคณะ (2013) ได้นำ ATR-FTIR มาตรวจคราบอสุจินบนสำลีพันก้านที่ได้มาจากช่องคลอด โดย จากผล IR สเปกตรัมของตัวอย่างทั้งหมดพบว่ามีพีคของ Amide I และ Amide II ที่ $1690 - 1650\text{ cm}^{-1}$ และ $1590 - 1480\text{ cm}^{-1}$ ตามลำดับซึ่งบ่งชี้พีคที่มีความจำเพาะเจาะจงบนสเปกตรัมของคราบอสุจิ สามารถนำไปประยุกต์ใช้หาคราบอสุจิของผู้เสียหายในคดีข่มขืนทางเพศได้ นั้นแสดงให้เห็นว่า ATR-FTIR มีประสิทธิภาพในการตรวจวิเคราะห์สารคัดหลั่งในร่างกายของมนุษย์ได้ในปี 2008 Kelly Virkler, Igor K. Lednev ได้ศึกษาน้ำอสุจิ น้ำจากช่องคลอด เหื่อ น้ำลาย และเลือด วิเคราะห์โดย Raman spectroscopy พบว่าสารคัดหลั่งทั้ง 5 ชนิด มีความจำเพาะและสัมพันธ์กับองค์ประกอบในสารคัดหลั่งแต่ละชนิดซึ่งมีองค์ประกอบที่แตกต่างกัน เช่น พบองค์ประกอบของฮีโมโกลบินในเลือด เป็นต้น ต่อมาในปี 2009 Kelly Virkler, Igor K. Lednev ก็ได้ใช้ Raman spectroscopy ในการวัดสเปกตรัมของตัวอย่างคราบอสุจิที่นำมาเตรียมตัวอย่างในห้องทดลองที่ควบคุมสภาวะแวดล้อม แล้วใช้สเปกตรัมของส่วนประกอบหลักทางเคมีของน้ำอสุจิที่มีความจำเพาะมาใช้ในการจำแนกตรวจสอบสาร unknown ว่าเป็นน้ำอสุจิ และใช้ในการตรวจพิสูจน์ทางนิติวิทยาศาสตร์ได้ในปี 2015 Charlotte-Maria Orphanou ได้ทำการวิจัยและตีพิมพ์ในวารสาร Forensic Science International โดยใช้ ATR-FTIR ในการตรวจแยกสารคัดหลั่ง

ในร่างกายมนุษย์ แล้วพบว่าสารคัดหลั่งในร่างกายมนุษย์ คือ เลือด อสุจิ น้ำลาย และสารคัดหลั่งจากช่องคลอด มีรูปแบบของสเปกตรัมที่ไม่เหมือนกันเนื่องจากสารคัดหลั่งแต่ละชนิดมีองค์ประกอบที่แตกต่างกัน จึงมีรูปแบบสเปกตรัมที่มีลักษณะจำเพาะ

การตรวจคราบอสุจิเบื้องต้น โดยวิธีที่ไม่ทำลายหลักฐานที่อาจมาจากสถานที่เกิดเหตุ เป็นเรื่องที่น่าสนใจ และมีประโยชน์อย่างยิ่งในงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ โดยเฉพาะในคดีการอาชญากรรมทางเพศที่จะสามารถนำไปตรวจหาดีเอ็นเอเพื่อหาตัวผู้กระทำผิดต่อไปได้ จึงเป็นเหตุให้ผู้วิจัยสนใจตรวจคราบอสุจิที่อยู่บนแผ่นกระเบื้องซึ่งสามารถพบได้ทั่วไปในสถานที่เกิดเหตุ ไม่ว่าจะเป็นพื้นห้องน้ำ หรือพื้นของที่พับ รวมไปถึงเสื้อผ้าหรือผ้าปูที่นอนต่าง ๆ ที่อยู่ในที่เกิดเหตุ ซึ่งอาจมีคราบอสุจิติดอยู่ โดยใช้เทคนิค Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR) เพื่อหาคราบอสุจิบนแผ่นกระเบื้อง และบนผ้าชนิดต่าง ๆ ซึ่งจะช่วยให้การตรวจพิสูจน์เป็นไปได้อย่างรวดเร็ว มีประสิทธิภาพ ไม่ทำลายตัวอย่าง สามารถนำตัวอย่างคราบอสุจิไปวิเคราะห์หาดีเอ็นเอได้ต่อไป เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในทางคดีที่มีความน่าเชื่อถือในชั้นศาลต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อตรวจคราบอสุจิที่อยู่บนกระเบื้องและผ้าชนิดต่าง ๆ โดยใช้เทคนิค Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR) และศึกษาการคงอยู่คราบอสุจิที่สามารถตรวจพบได้จากกระเบื้องและผ้าแต่ละชนิดที่ระยะเวลาต่าง ๆ

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

เครื่อง IR spectrometer จากบริษัท Perkin Elmer รุ่น Spectrum 100 FTIR system Universal โดยใช้ ATR Sampling Accessory ที่มีDiamond cell เป็นองค์ประกอบ ทำการตั้งสภาวะการทดลองดังนี้คือ scan range ในช่วง $4000-650\text{ cm}^{-1}$ จำนวนครั้งที่สแกน 16 ครั้ง มีResolution เท่ากับ 2 cm^{-1}

การเก็บตัวอย่างอสุจิ

เก็บตัวอย่างอสุจิจากอาสาสมัครจำนวน 3 คน บรรจุใส่ถุงพลาสติกที่สะอาดและปิดปากถุงให้สนิท เพื่อป้องกันการปนเปื้อนกับสารอื่น ๆ แล้วแช่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ทันที

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การตรวจหาคราบอสุจิบนแผ่นกระเบื้อง ด้วยเทคนิค ATR-FTIR

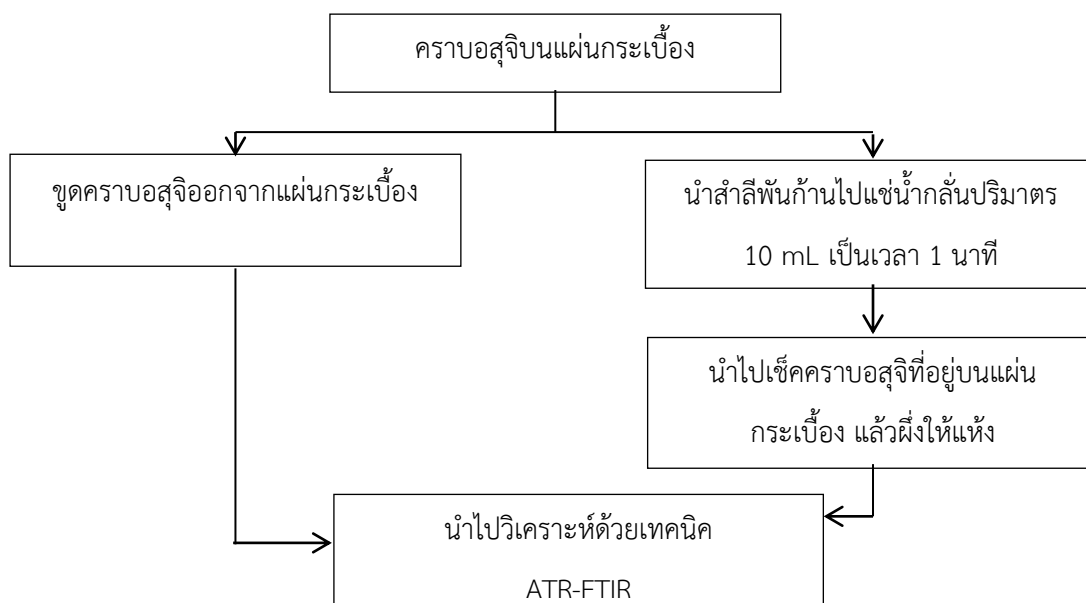
นำตัวอย่างอสุจิที่ได้จากอาสาสมัครมาหยดลงบนแผ่นกระเบื้อง หยดละ $50\text{ }\mu\text{l}$ จำนวน 6 หยดให้มีระยะห่างประมาณ 1 เซนติเมตร ปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วทำการเก็บคราบอสุจิบนแผ่นกระเบื้อง แบ่งวิธีการเก็บเป็น 2 วิธี คือ การขูดคราบอสุจิ และการใช้สำลีพันก้านชุบน้ำเช็ดคราบอสุจิ นำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ATR-FTIR ดังรูปที่ 1 แล้วบันทึกผลการทดลองที่ได้ ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ดังแผนภาพที่แสดงในรูปที่ 2 แล้วนำสเปกตรัมที่ได้ไปทำการวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะของอสุจิที่อยู่บนกระเบื้อง



รูปที่ 1 เครื่อง Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR)

2. การตรวจคราบอสุจินบนแผ่นกระเบื้องที่ระยะเวลาต่าง ๆ

หยดน้ำอสุจินบนแผ่นกระเบื้องหยดละ 50 μL จำนวน 20 หยด ให้มีระยะห่างกันประมาณ 1 เซนติเมตร ปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วทำการเก็บตัวอย่าง ที่เวลา 1 3 21 30 45 และ 60 วัน ตามลำดับ แล้วทำการเก็บคราบอสุจิโดยใช้วิธีการเก็บ 2 วิธี คือ การขูดคราบอสุจิ และการใช้สำลี่ปั่นก้านชุปน้ำ เช็ดคราบน้ำอสุจิ นำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ATR-FTIR แล้วบันทึกผลการทดลองที่ได้ ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วนำสเปกตรัมที่ได้ไปทำการวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะของอสุจิที่อยู่บนกระเบื้อง



รูปที่ 2 แผนภาพแสดงขั้นตอนการเก็บคราบอสุจินบนแผ่นกระเบื้อง

3. การตรวจหาคราบน้ำอสุจินผ้าชนิดต่าง ๆ

นำผ้าแต่ละชนิดได้แก่ ผ้าไหม ผ้าฝ้าย (สีขาว) ผ้าฝ้าย (สีกรมท่า) ผ้าลายพรางทหาร ผ้า comb twill ผ้าใยสังเคราะห์ ผ้าลินิน ผ้ายีนส์ ผ้าใยสังเคราะห์ (TC) ซึ่งมีสัดส่วนของโพลีเอสเตอร์ 65% และฝ้าย 35% และผ้าใยสังเคราะห์ (CVC) มีสัดส่วนของฝ้าย 80% และโพลีเอสเตอร์ 20% มาตัดให้มีขนาด 2 ตารางเซนติเมตร เท่าๆ กันทำการวิเคราะห์ผ้าแต่ละชนิดด้วยเทคนิค ATR-FTIR แล้วบันทึกผลสเปกตรัมของผ้าแต่ละชนิด จากนั้นหยดน้ำ

อสุจิปริมาณ 50 μ l ลงบนผ้าที่เตรียมไว้ ผึ่งไว้ให้แห้งประมาณ 4 ชั่วโมง แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ATR-FTIR ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง บันทึกผลสเปกตรัม แล้วนำหมู่ฟังก์ชันที่พบเป็นองค์ประกอบของอสุจิไปวิเคราะห์ผลต่อไป

4. การศึกษาคราบอสุจินผ้าแต่ละชนิดที่ระยะเวลาต่าง ๆ

หยดน้ำอสุจิปริมาณ 50 μ l ลงบนผ้าฝ้าย (สีขาว) ผ้าฝ้าย (สีกรมท่า) และผ้าใยสังเคราะห์ (CVC) ที่ถูกตัดให้มีขนาด 2 ตารางเซนติเมตร ปลดทิ้งไว้ให้แห้ง ทำการแยกเก็บผ้าแต่ละชนิดที่มีคราบตัวอย่างน้ำอสุจิด้วยถุงพลาสติกซิปล็อคที่สะอาด เก็บไว้ในอุณหภูมิห้องนำผ้าที่มีคราบอสุจิมาทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ATR-FTIR ที่เวลา 1 3 7 21 และ 30 วัน ตามลำดับ ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง บันทึกผลสเปกตรัม แล้วนำหมู่ฟังก์ชันที่พบเป็นองค์ประกอบของอสุจิไปวิเคราะห์ผลต่อไป

ผลการวิจัย

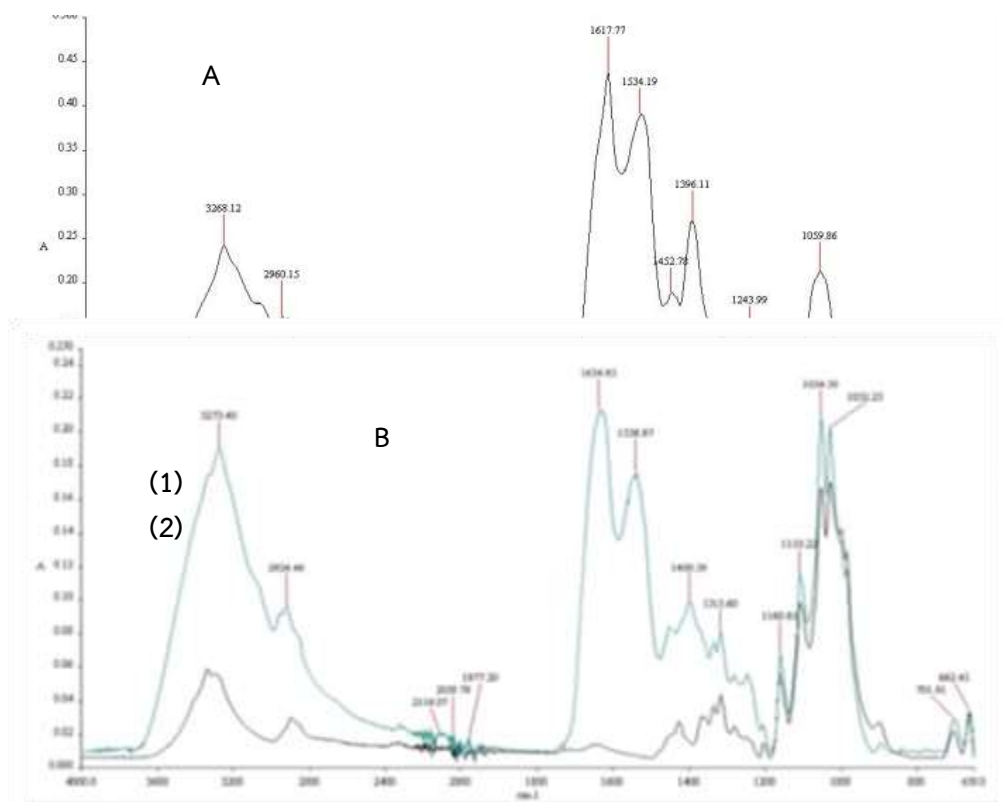
1. ผลการตรวจหาคราบน้ำอสุจินแผ่นกระเบื้อง

เมื่อทำการวิเคราะห์คราบน้ำอสุจิที่เก็บตัวอย่างมาจากแผ่นกระเบื้อง ด้วยเทคนิค Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR) ได้สเปกตรัมของอสุจิ ดังรูปที่ 3 โดย 3A เป็นสเปกตรัมของคราบอสุจิที่ทำการเก็บตัวอย่างด้วยวิธีการขูดคราบอสุจิจากแผ่นกระเบื้อง และ 3B เป็นสเปกตรัมของคราบอสุจิที่ทำการเก็บตัวอย่างด้วยวิธีการใช้สำลีพันก้านเช็ดออกจากแผ่นกระเบื้อง

จากผลการทดลองดังรูปที่ 3A พบว่ามีองค์ประกอบโปรตีนในน้ำอสุจิ ซึ่งดูได้จากแบนด์ที่เด่นชัดของพีค Amide I ในช่วง $1700 - 1600 \text{ cm}^{-1}$ พีค Amide II ในช่วง $1590 - 1480 \text{ cm}^{-1}$ พีคของกลุ่ม Methyl ($-\text{CH}_3$) ในช่วง $1480 - 1350 \text{ cm}^{-1}$ และองค์ประกอบของกรดนิวคลีอิกจากแบนด์ที่ความยาวคลื่น 1245 cm^{-1} และ 1080 cm^{-1} ตามตารางที่ 1 ส่วนในรูปที่ 3B ซึ่งเป็นสเปกตรัมของอสุจิที่อยู่บนสำลีพันก้าน (1) จะเห็นว่า มีกลุ่มพีคของ C-O ซึ่งอยู่ในสำลีพันก้านจะบดบังพีคของหมู่ฟอสเฟตในช่วง $1245 - 1080 \text{ cm}^{-1}$ ในขณะที่ยังพบองค์ประกอบโปรตีนในน้ำอสุจิคือพีค Amide I ในช่วง $1700 - 1600 \text{ cm}^{-1}$ พีค Amide II ในช่วง $1590 - 1480 \text{ cm}^{-1}$ และ พีคของกลุ่ม Methyl ($-\text{CH}_3$) ในช่วง $1480 - 1350 \text{ cm}^{-1}$ อยู่บนสเปกตรัมในรูป (1)

ตารางที่ 1 เลขคลื่นและตำแหน่งขององค์ประกอบอสุจิที่พบ

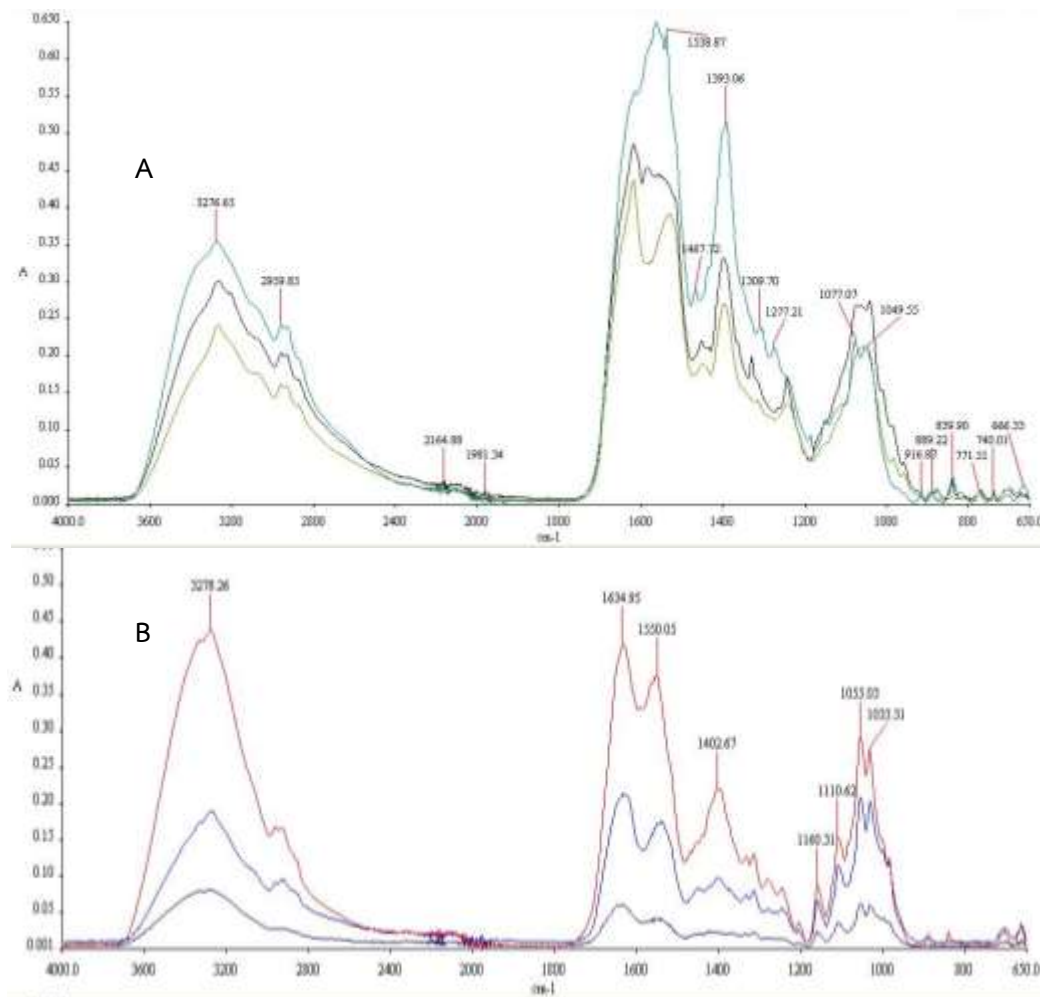
เลขคลื่น (cm^{-1})	พีค	อ้างอิง
1700-1600	Amide I	Barcot and Balarin(2007 : 61)
1590-1480	Amide II	
1480-1350	กลุ่มของ Methyl ($-\text{CH}_3$)	
1245	การสั่นแบบไม่สมมาตรของหมู่ฟอสเฟต	
1080	การสั่นแบบสมมาตรของหมู่ฟอสเฟต	



รูปที่ 3 สเปกตรัมที่ได้จากการวิเคราะห์คราบอสุจิที่อยู่บนกระเบื้อง โดยหยดน้ำอสุจิทิ้งไว้ 50 μL แล้วปล่อยให้แห้งประมาณ 4 ชั่วโมง แล้วทำการวิเคราะห์ที่ความยาวคลื่น $4000\text{--}650\text{ cm}^{-1}$ ด้วยเทคนิค Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR), A : สเปกตรัมของคราบอสุจิที่ขูดมาจากบนแผ่นกระเบื้อง, B : สเปกตรัมของคราบอสุจิที่อยู่บนสำลี (1) และสเปกตรัมของสำลี (2)

2. ผลการตรวจคราบอสุจินบนกระเบื้องที่ระยะเวลาต่าง ๆ

จากการเก็บอสุจิที่หยดทิ้งไว้ที่เวลา 1 3 21 30 45 และ 60 วัน ตามลำดับมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ATR-FTIR พบว่า เมื่อเวลาผ่านไปนานถึง 60 วัน ก็ยังสามารถตรวจวิเคราะห์คราบอสุจินบนแผ่นกระเบื้องได้อยู่ ยังคงพบ Amide I Amide II และกลุ่ม Methyl ($-\text{CH}_3$) นั้นแสดงว่าถ้าหากไม่มีการทำความสะอาด หรือทำความสะอาดกระเบื้องไม่หมด ก็จะสามารถตรวจพบคราบอสุจิได้ทั้งที่มีปริมาณอสุจิเพียง 50 μL ดังตัวอย่างที่แสดงในรูปที่ 4 โดย 4A คือสเปกตรัมของคราบอสุจิที่เก็บโดยการขูดออกจากกระเบื้องที่เวลา 30 วัน (บน) 45 วัน (ล่าง) และ 60 วัน (กลาง) ตามลำดับ และ 4B คือสเปกตรัมของคราบอสุจิที่เก็บโดยการใช้สำลีพันก้านชุบน้ำแล้วเช็ดออกจากกระเบื้องที่เวลา 30 วัน (บน) 45 วัน (กลาง) และ 60 วัน (ล่าง) ตามลำดับ

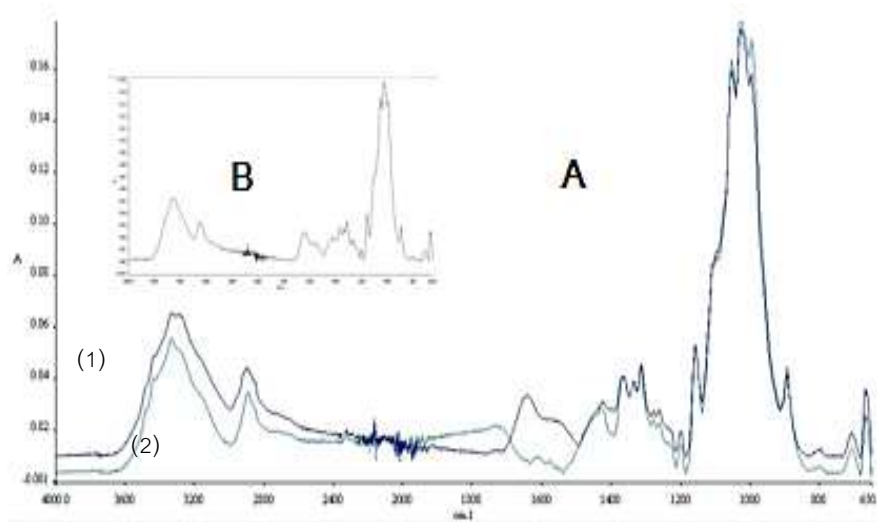


รูปที่ 4 สเปกตรัมที่ได้จากการวิเคราะห์คราบน้ำอสุจิที่ความยาวคลื่น $4000-650\text{ cm}^{-1}$ ด้วยเทคนิค Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR) หลังจากผ่านไป แล้ว 30 วัน 45 วัน และ 60 วัน ตามลำดับ A : สเปกตรัมของคราบอสุจิที่ขูดมาจากบนแผ่นกระเบื้อง 30 วัน (บน) 45 วัน (ล่าง) และ 60 วัน (กลาง) B : สเปกตรัมของคราบอสุจิที่อยู่บนสำลี 30 วัน (บน) 45 วัน (กลาง) และ 60 วัน (ล่าง)

3. ผลการตรวจหาคราบน้ำอสุจินผ้าชนิดต่าง ๆ

เมื่อนำผ้าแต่ละชนิดที่มีคราบอสุจิที่หยดไว้ $50\text{ }\mu\text{l}$ อยู่มาเปรียบเทียบกับผ้าที่ไม่มีคราบอสุจิด้วยตาเปล่า จะพบว่าผ้าที่มีสีเข้มไม่สามารถสังเกตเห็นคราบอสุจิที่ถูกหยดทิ้งไว้เลย ส่วนผ้าที่มีสีอ่อนลงมาและผ้าสีขาว ก็ยังคงสังเกตเห็นคราบอสุจิได้ยาก ทั้งนี้เนื่องจากน้ำอสุจิที่หยดลงบนผ้านั้น เกิดการแพร่กระจาย ไม่กองรวมอยู่ทีเดียวกัน ไม่เหมือนกับการหยดอสุจิลงบนกระเบื้อง ทำให้การสังเกตคราบอสุจิด้วยตาเปล่านั้นไม่สามารถระบุได้อย่างแท้จริงว่าบนผ้านั้นมีคราบอสุจิอยู่หรือไม่ จึงต้องนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ATR-FTIR และจากการวิเคราะห์พบว่า ผ้าไหม ผ้าลายพรางทหาร ผ้า comb twill ผ้าใยสังเคราะห์ ผ้าลินิน ผ้ายีนส์ และผ้าใยสังเคราะห์

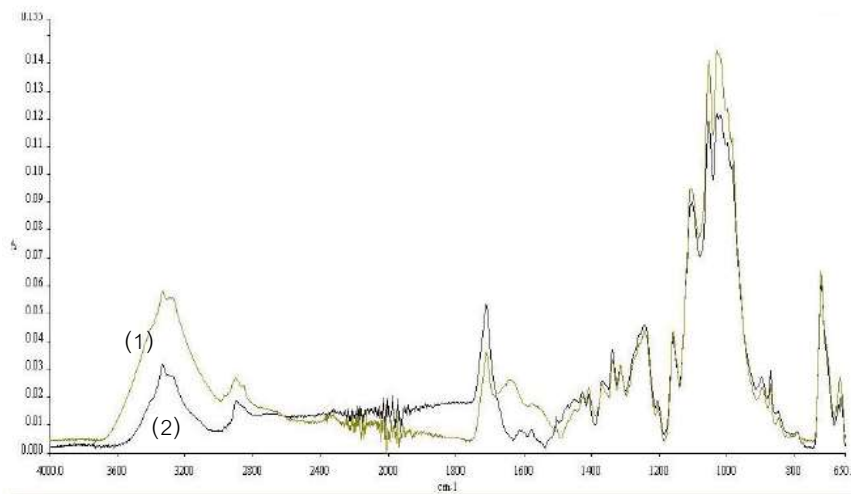
(TC) นั้น จะมีสเปกตรัมของตัวผ้าทับซ้อนกันกับสเปกตรัมของคราบอสุจิ ทำให้มองไม่เห็นพีค Amide I และ Amide II ต้องนำสเปกตรัมของคราบอสุจิที่อยู่บนผ้ามาลบกับสเปกตรัมของผ้าก่อน จึงจะสามารถพบ พีค Amide I และ Amide II ของคราบอสุจิได้ ในขณะที่สเปกตรัมของผ้าฝ้าย (สีขาว) ผ้าฝ้าย (สีกรมท่า) และผ้าใยสังเคราะห์ (CVC) ที่มีอสุจิอยู่พบสเปกตรัมของอสุจิบางส่วนที่ไม่ถูกซ้อนทับกับสเปกตรัมของผ้าดังกล่าว แต่เมื่อนำสเปกตรัมของคราบอสุจิที่อยู่บนผ้ามาลบกับสเปกตรัมของผ้าแล้ว ก็จะทำให้พบ พีค Amide I และ Amide II ของคราบอสุจิที่ชัดเจนขึ้นดังตัวอย่างที่แสดงในรูปที่ 5 ซึ่งเป็นสเปกตรัมของผ้าฝ้าย (สีขาว) ที่มีคราบอสุจิอยู่ A (1) และ (2) เป็นสเปกตรัมของผ้าฝ้ายสีขาวและเมื่อนำสเปกตรัมทั้งสองมาหักลบกันได้สเปกตรัมดังรูป B ก็จะเห็นว่าพบพีคเป็นพีคของ Amide I และ Amide II ตามลำดับ



รูปที่ 5 สเปกตรัมของน้ำอสุจิที่หยดลงบนผ้าฝ้าย A : สเปกตรัมของน้ำอสุจิที่หยดลงบนผ้าฝ้าย (บน) และสเปกตรัมของผ้าฝ้าย (ล่าง) B : สเปกตรัมของน้ำอสุจิที่ถูกลบออกจากสเปกตรัมของผ้าฝ้าย

4. ผลการตรวจคราบอสุจินผ้าแต่ละชนิดที่ระยะเวลาต่าง ๆ

จากการหยदन้ำอสุจิ 50 μ l ลงบนผ้าฝ้าย (สีขาว) ผ้าฝ้าย (สีกรมท่า) และผ้าใยสังเคราะห์ (CVC) ปล่อยทิ้งไว้ให้แห้งแล้วเก็บตัวอย่างไปวิเคราะห์ที่เวลา 1 3 7 21 และ 30 วัน วิเคราะห์ด้วยเทคนิค Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR) พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 30 วัน อสุจินผ้าทั้ง 3 ชนิด ยังสามารถตรวจพบพีค Amide I และ Amide II ของคราบอสุจิได้อยู่ และเมื่อนำสเปกตรัมของคราบอสุจิที่อยู่บนผ้ามาลบกับสเปกตรัมของผ้าแล้ว ก็ยังคงเห็นสเปกตรัมของอสุจิได้อย่างชัดเจนดังตัวอย่างในรูปที่ 6 ซึ่งเป็นสเปกตรัมของผ้าฝ้าย (สีขาว) (2) และสเปกตรัมของผ้าฝ้าย (สีขาว) ที่มีคราบอสุจิ (1) อยู่ ที่ระยะเวลา 30 วัน



รูปที่ 6 สเปกตรัมของผ้าฝ้าย (สีขาว) (2) และสเปกตรัมของผ้าฝ้าย (สีขาว) ที่มีคราบอสุจิ (1) อยู่ ที่เวลา 30 วัน

สรุปผลการวิจัย

จากผลการทดลองข้างต้นพบว่า เทคนิค ATR-FTIR สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจหาคราบอสุจิเบื้องต้นบนกระเบื้อง และผ้าชนิดต่าง ๆ ได้ โดยตัวอย่างคราบอสุจิที่อยู่บนแผ่นกระเบื้องสามารถพบพิกของ Amide I และ Amide II ที่ $1690 - 1650 \text{ cm}^{-1}$ และ $1590 - 1480 \text{ cm}^{-1}$ ตามลำดับ พิกของกลุ่ม Methyl ($-\text{CH}_3$) ในช่วง $1480 - 1350 \text{ cm}^{-1}$ และองค์ประกอบของกรดนิวคลีอิกจากแบนด์ที่ความยาวคลื่น 1245 cm^{-1} และ 1080 cm^{-1} ซึ่งเป็นพิกที่มีความเฉพาะเจาะจงบนสเปกตรัมของคราบอสุจิ นอกจากนี้วิธีดังกล่าวสามารถตรวจพบอสุจิได้นานถึง 60 วัน ซึ่งเป็นพิกที่ตำแหน่งเดียวกันกับ Barcot and Balarin, 2007 : 61 ในขณะที่คราบอสุจิที่อยู่บนผ้าชนิดต่าง ๆ นั้น จะพบว่าผ้าจำพวกผ้าฝ้าย หรือมีใยฝ้ายผสมอยู่ในอัตราส่วนที่มาก และผ้าใยสังเคราะห์ (CVC) สามารถพบพิกของ amide ได้บางส่วน ซึ่งมีการบดบังด้วยพิกของ C-O ของผ้า แต่ใช้เทคนิคการหักกลบสเปกตรัม ก็จะสามารถพบพิก amide ของคราบอสุจิที่อยู่บนผ้าดังกล่าวได้ชัดเจนยิ่งขึ้น ส่วนผ้าสังเคราะห์ (ผ้าลายพรอทหาร ผ้า comb twill ผ้าใยสังเคราะห์ (polyester) และผ้าใยสังเคราะห์ (TC)) ผ้าลินิน และผ้าไหมจะมีพิกที่เด่นชัดที่พบในช่วงที่ตรวจพบ amide และหมู่ฟอสเฟต แต่เมื่อนำเทคนิคการหักกลบสเปกตรัมมาใช้ ก็จะสามารถพบพิก amide ของอสุจิได้ ซึ่งสามารถตรวจพบคราบอสุจิบนผ้าได้และสามารถตรวจพบได้นานถึง 30 วัน ซึ่งผลของสเปกตรัมที่ได้ สามารถนำไปใช้ในงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ได้ เนื่องจากการตรวจทางเคมี เช่น การตรวจหาสาร acid phosphatase การใช้ชุดตรวจ prostate-specific antigen (PSA) นั้นบางครั้งให้ผลบวกปลอม จึงได้นำ ATR-FTIR (กัญญรัตน์ ตีบทรณ์, 2015) มาใช้ในการตรวจหาคราบอสุจิบนผ้าสำหรับปัยมาจากช่องคลอด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในคดีที่เกี่ยวข้องกับความผิดทางเพศ ที่จะสามารถนำเทคนิค ATR-FTIR มาใช้ในการตรวจยืนยันคราบอสุจิเบื้องต้น โดยนำวัตถุพยานที่มีมาเพื่อให้มีประสิทธิภาพสูงสุด สามารถทำได้อย่างรวดเร็ว ใช้ตัวอย่างน้อย และไม่ทำลายตัวอย่าง และยังสามารถส่งนำตัวอย่างไปใช้ตรวจหาอย่างอื่นได้ต่อ เช่น นำไปพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล เป็นต้น นับว่าเป็นวิธีที่ใช้วัตถุพยานที่มีอยู่อย่างจำกัดให้เกิดประโยชน์มากที่สุด อย่างไรก็ตามการตรวจหาคราบอสุจิบนแผ่นกระเบื้อง และผ้าแต่ละชนิดนั้นยังมีปัจจัยอื่น ๆ ที่ผลต่อการวิเคราะห์

ไม่ว่าจะเป็นปริมาณของคราบน้ำอสุจิที่อยู่บนแผ่นกระเบื้องและผ้าแต่ละชนิด ลักษณะ และการซึบน้ำของเส้นใยผ้า เป็นต้น ซึ่งสิ่งเหล่านี้ล้วนมีผลต่อการตรวจพิสูจน์ด้วยเช่นกัน

เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

กัญญารัตน์ ตีปกรณ . การตรวจหาคราบอสุจิโดยใช้เทคนิค Attenuated Total Reflection Infrared Spectroscopy. มหาวิทยาลัยศิลปากร, 2556

แม่นอมรสิทธิ์และอมรเพชรสม. หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ.ชวนพิมพ์, 2539 ;139-197.

สุทธดา บุญญภัทร. การตรวจประมาณหาอายุของคราบน้ำอสุจิด้วยเทคนิค Fourier Transform ครั้งที่ 1. 1486-1493

ภาษาต่างประเทศ

Barcot O. ,Balarin M. ,Gamulin O. ,Jezek D. ,Romac P. and Brnjac-Kralhevic J. Investigation of Spermatozoa and Seminal Plasma by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. Applied spectroscopy, 2006

B. Stuart. Biological Applications of Infrared Spectroscopy. Analytical Chemistry by OpenLearning

Charlotte-Maria Orphanou. The detection and discrimination of human body fluids using ATR FT-IR spectroscopy, Forensic Science International, 252 (2015) e10–e16

E. Botonjic-Sehic, C.W. Brown, M. Lamontagne, M. Tsaparikos. Forensic application of near-infrared spectroscopy: aging of bloodstains. Spectroscopy, 2009

Gerda Edelman, Vicky Manti, Saskia M. van Ruth, Ton van Leeuwen, Maurice Aalders.

Identification and age estimation of blood stains on colored backgrounds by near infrared spectroscopy, Forensic Science International, 220 (2012) 239 – 244

Hazelwood RR, Burgess AW. Eds. Practical aspects of rape investigation : a multidisciplinary approach. New york : CRC Press, 1995.

Jame D. Ingle, Stanley R. Crouc., Spectrochemical Analysis. Prentice-Hall International Editions, 1988

Kelly Virkler, Igor K. Lednev. Raman spectroscopic signature of semen and its potential application to forensic body fluid identification. Forensic Science International, 193 (2009) 56 - 62