การตรวจหาคราบอสุจิโดยใช้เทคนิค Attenuated Total Reflection Infrared Spectroscopy

สำนักหอสมุดกลาง

โดย

นางสาวกัญญารัตน์ ติ๊บกรณ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2556

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การตรวจหาคราบอสุจิโดยใช้เทคนิค Attenuated Total Reflection Infrared Spectroscopy

สำนักหอสมุดกลาง

โดย

นางสาวกัญญารัตน์ ติ๊บกรณ์

มหาวิทยาลัยศิลปากร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2556

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

EXAMINATION OF SEMINAL STAIN BY ATTENUATED TOTAL REFLECTION INFRARED SPECTROSCOPY

สำนักหอสมุดกลาง
มหาวิทยาลัยศิลปากร

By

Miss Kanyarat Tibkorn

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree

Master of Science Program in Forensic Science

Graduate School, Silpakorn University

Academic Year 2013

Copyright of Graduate School, Silpakorn University

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร อนุมัติให้วิทยานิพนธ์เรื่อง “ การตรวจหาคราบอสุจิโดยใช้เทคนิค Attenuated Total Reflection Infrared Spectroscopy ” เสนอโดย นางสาวกัญญารัตน์ ติ๊บกรณ์ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

……

(รองศาสตราจารย์ ดร.ปานใจ ธารทัศนวงศ์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่.....เดือน.....ปี.....

สำนักหอสมุดกลาง
มหาวิทยาลัยศิลปากร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

อาจารย์ ดร.ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(อาจารย์ ดร.ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี)

...../...../.....

..... กรรมการ

(พลตำรวจโท อมรรักษ์ หุวะนันทน์)

...../...../.....

..... กรรมการ

(อาจารย์ ดร.ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง)

...../...../.....

55312318: สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

คำสำคัญ : คราบอสุจิ / Attenuated Total Reflection (ATR) / Acid phosphatase(AP) test

กัญญารัตน์ ติ๊บกรณ์ : การตรวจหาคราบอสุจิโดยใช้เทคนิค Attenuated Total Reflection Infrared Spectroscopy. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ อ. ดร. ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง. 63 หน้า.

คราบอสุจิ ที่พบบนวัตถุพยานที่อยู่ในสถานที่เกิดเหตุ อาจถูกนำไปใช้เป็นหลักฐานสำคัญในคดีข่มขืนทางเพศ ซึ่งมีวิธีการตรวจทางชีวเคมี เช่น Acid phosphatase (AP) test และ Prostatic specific antigen (PSA) เป็นวิธีที่นิยมใช้ในการตรวจหาคราบอสุจิในตัวอย่าง ในงานวิจัยนี้ได้นำเทคนิค Attenuated Total Reflection Infrared Spectroscopy (ATR-IR) มาใช้สำหรับการตรวจน้ำอสุจิ และคราบอสุจิบนพื้นผิวต่างๆ เช่น กระจกสไลด์ ไม้ก้านสำลี และผ้า จากผล IR Spectrum ของตัวอย่างทั้งหมดที่ได้ศึกษา แสดงให้เห็นว่าพบพีคของ Amide I ที่ช่วงเลขคลื่น 1690 – 1650 cm^{-1} และพีค Amide II ที่ช่วงเลขคลื่น 1590 – 1480 cm^{-1} และสามารถตรวจพบพีค Amide ซึ่งเป็นพีคที่มีความเฉพาะเจาะจงบน Spectrum ของคราบอสุจิที่หยดลงในสำลีและผ้าที่ปริมาณของอสุจิเท่ากับ 150 μl สำหรับการศึกษาอายุของตัวอย่าง ผลการทดลองพบว่า Spectrum ของตัวอย่างที่เก็บไว้ในอุณหภูมิห้องและที่ 4ºC นานถึง 14 วันก็สามารถตรวจพบพีค Amide ทั้ง 2 พีคนี้ได้ และเพื่อที่จะทดสอบการนำไปใช้ของเทคนิค ATR-IR โดยนำตัวอย่างวัตถุพยานที่เป็นสำลีที่ป้ายจากช่องคลอดของผู้เสียหายในคดีข่มขืนทางเพศมาวิเคราะห์ ผลการทดสอบพบว่า IR Spectrum ของตัวอย่างนี้แสดงพีค Amide ที่เด่นชัดเมื่อเทียบกับน้ำอสุจิที่หยดลงในสำลีพบว่าให้ IR Spectrum ที่เหมือนกัน เมื่อนำตัวอย่างนี้มาตรวจสอบโดยวิธี AP test พบว่าได้ผลเป็นบวกเช่นกัน จากการศึกษาแสดงให้เห็นถึงศักยภาพของเทคนิค ATR-IR ในการตรวจวิเคราะห์สารคัดหลั่งจากร่างกายมนุษย์โดยเฉพาะคราบอสุจิ ถึงแม้ว่าวิธี ATR-IR ยังไม่ได้ถูกนำมาใช้สำหรับการตรวจหาคราบอสุจิจากวัตถุพยาน แต่วิธีนี้อาจให้ข้อมูลที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์สำหรับการสืบสวนสอบสวนในคดีข่มขืนทางเพศได้

สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ลายมือชื่อนักศึกษา……..... ปีการศึกษา 2556

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์……...

55312318 : MAJOR : FORENSIC SCIENCE

KEY WORDS : SEMENAL STAINS / ATTENUATED TOTAL REFLECTION INFRARED SPECTROSCOPY (ATR-IR) / ACID PHOSPHATASE (AP) TEST

KANYARAT TIBKORN : EXAMINATION OF SEMINAL STAIN BY ATTENUATED TOTAL REFLECTION INFRARED SPECTROSCOPY. THESIS ADVISOR: SIRIRAT CHOOSAKOONKRIANG, Ph.D. 63 pp.

Human seminal stain found on an object at the crime scene may be an important evidence of rape or sexual assault. The biochemical methods such as the Acid Phosphatase (AP) test and Prostatic Specific Antigen (PSA) are commonly used to test the sample for the semen. In this study, the technique of Attenuated Total Reflectance - Infrared Spectroscopy (ATR-IR) was employed to examine semen and seminal stains on several substrates namely glass slides, cotton swabs and pieces of cloth. The IR spectra of all samples studied displayed the profound peaks of amide I at around 1690 cm^{-1}-1650 cm^{-1} and amide II in a region between 1590 cm^{-1} and 1480 cm^{-1}. The characteristic amide peaks can be observed in the spectra of dry seminal stains on cotton swab and cloth that had been soaked with 150 µl of semen. As for the study of sample age, it was found that the spectra of sample kept at room temperature and at approximately 4ºC for 14 days still showed the two amide bands. In order to test the practicibility of the ATR-IR method, a sample of vaginal swab from a victim of rape case was analyzed. The IR spectrum of this sample exhibited the distinctive amide peaks and had the spectral feature similar to that observed in the spectra of seminal stains on cotton swab. The swab sample also gave a positive result with the AP test. This study has demonstrated the potential of the ATR-IR method in the detection of human fluids such as semen. Although the method had not been yet established, it may provide useful information for the investigation of case involving rape and sexual assault.

Program of Forensic Science Graduate School, Silapakorn University

Student's signature……..... Academic Year 2013

Thesis Advisor's signature……

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์อย่างดียิ่งจาก อาจารย์ ดร.ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้ความรู้ ความช่วยเหลือและติดตามความก้าวหน้าในการดำเนินการวิจัย ตลอดจนตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณา และขอกราบขอบคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ผู้วิจัยใคร่ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี ประธานกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์ และพลตำรวจโท อมรรักษ์ หุวะนันทน์ กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ ที่กรุณาสละเวลาเวลาอันมีค่าเป็นคณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ รวมทั้งได้ให้ข้อเสนอแนะและแนวคิดต่างๆที่เป็นประโยชน์ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์และมีคุณค่ามากยิ่งขึ้น

นอกจากนี้ขอขอบคุณ ร้อยตำรวจโทหญิงศิริประภา มีบัวทอง ในการจัดหาสารเคมีสำหรับการทำวิจัยตลอดจนการให้คำแนะนำและคำอธิบายต่างๆ ในการวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่มอบโอกาสทางการศึกษา ครู อาจารย์ทุกท่านที่ถ่ายทอดความรู้ และปลูกฝังให้เห็นคุณค่าของการศึกษา รวมทั้งผู้ที่ให้ความช่วยเหลือทุกท่านที่ไม่ได้เอ่ยนามที่มีส่วนช่วยให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สำหรับคุณประโยชน์อันพึงมีจากงานวิจัยฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่บิดา มารดา ครู อาจารย์ผู้ถ่ายทอดวิชาความรู้ ตลอดจนผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่าน ที่มีส่วนช่วยเหลือให้งานวิจัยฉบับนี้ความสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สำนักหอสมุดกลาง มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญ

บทที่ หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญตาราง..... ญ

สารบัญภาพ..... ฎ

บทที่

1 บทนำ..... 1

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 2

วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... 3

สมมติฐานของการวิจัย..... 3

ขอบเขตของการวิจัย..... 3

นิยามศัพท์เฉพาะ..... 3

ประโยชน์ที่จะได้รับ..... 4

กรอบแนวคิดในการวิจัย..... 4

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 5

ข้อมูลสถิติคดีอาญา..... 6

ความรู้เกี่ยวกับอวัยวะสืบพันธุ์เพศชายและอสุจิ..... 8

การตรวจทางห้องปฏิบัติการในคดีความผิดทางเพศ..... 15

ความรู้เกี่ยวกับเส้นใยสำลี และผ้า..... 18

หลักการพื้นฐานและทฤษฎีของเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์..... 19

ความรู้พื้นฐานสเปกโทรสโคปี (Spectroscopy)..... 19

ความรู้พื้นฐานของอินฟราเรด สเปกโทรสโคปี (Infrared Spectroscopy).. 21

เครื่องมือที่ใช้บันทึก IR สเปคตรัม..... 25

บทความและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 28

3 วิธีดำเนินการวิจัย..... 30

อุปกรณ์ สารเคมี และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย..... 30

ตัวอย่างอสุจิที่ใช้ในการวิจัย..... 33

สำนักหอสมุดกลาง

บทที่ หน้า

วิธีการทดลอง 34

การศึกษาผลการตรวจหาอสุจิด้วยเทคนิค ATR-IR 34

การศึกษาปริมาณอสุจิในสำลีที่ตรวจวัดได้ด้วยเทคนิค ATR-IR..... 35

การศึกษาผลการตรวจวิเคราะห์หาอสุจิที่อยู่ในสำลีด้วย
เทคนิค ATR-IR และวิธีการทดสอบ AP test 36

การศึกษา อุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บตัวอย่างคราบอสุจิ
ที่มีผลต่อการตรวจวิเคราะห์ ด้วยเทคนิค ATR-IR..... 37

การศึกษา ผลการตรวจวิเคราะห์สารคัดหลั่งต่างๆ และเลือด
จากร่างกายมนุษย์ ด้วยเทคนิค ATR-IR 38

กรณีศึกษา นำตัวอย่างวัตถุพยานที่เป็น vaginal swab ในคดีข่มขืน
มาตรวจหาคราบอสุจิด้วยเทคนิค ATR-IR 38

ศึกษาการตรวจวิเคราะห์หาคราบอสุจิที่อยู่ในผ้า ด้วยเทคนิค ATR-IR..... 39

4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล 42

ผลการตรวจหาอสุจิด้วยเทคนิค Attenuated Total Reflection
Infrared Spectroscopy (ATR-IR) 42

ผลการศึกษาปริมาณอสุจิในสำลีที่สามารถตรวจวัดได้ด้วย
เทคนิค ATR-IR 44

ผลการตรวจวิเคราะห์หาอสุจิที่อยู่ในสำลีด้วย
เทคนิค ATR-IR และวิธีการทดสอบAP test 45

ผลการศึกษา อุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บตัวอย่าคราบอสุจิ
ที่มีผลต่อการตรวจวิเคราะห์ ด้วยเทคนิค ATR-IR..... 46

ผลการตรวจวิเคราะห์สารคัดหลั่งต่างๆ และเลือด
จากร่างกายมนุษย์ ด้วยเทคนิค ATR-IR 46

ผลกรณีศึกษา นำตัวอย่างวัตถุพยานที่เป็น vaginal swab ในคดีข่มขืน
มาตรวจหาคราบอสุจิด้วยเทคนิค ATR-IR 49

ผลการตรวจวิเคราะห์หาคราบอสุจิที่อยู่ในผ้า ด้วยเทคนิค ATR-IR..... 52

5 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง 55

สรุปและอภิปรายผลการทดลอง 55

ข้อเสนอแนะ 57

บทที่ หน้า

รายการอ้างอิง 58
ภาคผนวก 60
ประวัติผู้วิจัย 63

สำนักหอสมุดกลาง
มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 สถิติอาญาประเภทคดีชีวิต ร่างกายและเพศ 7

2 การดูดกลืนรังสีอินฟราเรดของหมู่ฟังชันต่างๆ 22

3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย..... 30

4 สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย..... 33

5 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย..... 33

6 การตั้งสภาวะที่ใช้ในการวิจัยของเครื่อง ATR-IR..... 34

7 ตัวควบคุมคุณภาพการทดสอบ AP test 36

8 การอ่านและสรุปผลทดสอบ AP test..... 37

9 ความสัมพันธ์ของปริมาณอสุจิกับค่าการดูดกลืนแสง..... 44

10 ผลการตรวจด้วยเทคนิค ATR-IR และ วิธี AP test..... 45

11 ค่าการดูดกลืนแสงของสเปกตรัมคราบอสุจิที่เก็บไว้ ณ อุณหภูมิต่างๆ..... 46

สำนักหอสมุดกลาง มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

1 ลักษณะโครงสร้างของอวัยวะสืบพันธุ์เพศชาย 8
2 แสดงทางเดินของอสุจิ 12
3 น้ำอสุจิ (ซ้าย) และตัวอสุจิ (ขวา) 13
4 ลักษณะโครงร่างของตัวอสุจิ 14
5 ความถี่ของการดูดกลืนรังสีอินฟาเรดของหมู่ฟังก์ชันสามัญบางชนิด 24
6 Michelson interferometer ใน FTIR สเปคโตรมิเตอร์ 25
7 หลักการทำงานของเทคนิค Transmission 26
8 หลักการทำงานของเทคนิค Attenuated Total Reflectance 27
9 สภาวะที่ใช้ใน ATR-IR Setup 34
10 การวางและหมุนกดตัวอย่าง บนเครื่อง ATR-IR 35
11 การทำ Control AP test. 37
12 การทดสอบสารคัดหลั่งต่างๆ และเลือดด้วยวิธี AP test 38
13 การหยดอสุจิลงบนผ้า 39
14 แผนผังวิธีการทดลองในงานวิจัย 1 40
15 แผนผังวิธีการทดลองในงานวิจัย 2 41
16 สเปกตรัมของอสุจิและสำลี. 42
17 สเปกตรัม(ซ้าย) และผล AP test (ขวา) ของอสุจิที่เก็บไว้ระยะเวลาต่างๆ 45
18 สเปกตรัมของสารคัดหลั่งต่างๆ และเลือด 49
19 สเปกตรัมของวัตถุพยาน Vaginal swab 50
20 สเปกตรัมของผ้าและผ้าที่มีคราบอสุจิ 52

บทที่ 1
บทนำ

1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การข่มขืนกระทำชำเรา เป็นอาชญากรรมทางเพศที่เกิดขึ้นในทุกสังคม และก่อปัญหาตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน ซึ่งบางคดีสามารถนำผู้กระทำผิดมารับโทษตามกฎหมายได้แต่ก็มีบางคดีที่ยังจับกุมผู้กระทำความผิดไม่ได้ ในการข่มขืนทางเพศมักมีการสัมผัสร่างกายกันระหว่างผู้กระทำความผิดกับเหยื่อจึงเกิดจากการแลกเปลี่ยนของวัตถุพยานซึ่งกันและกันเสมอ เช่น เส้นขนเส้นผม เนื้อเยื่อและสารคัดหลั่งต่างๆ ของร่างกายที่สำคัญคือ น้ำอสุจิ ซึ่งเป็นไปตามหลักการ Locard's Theory โดยสิ่งต่างๆเหล่านี้เป็นส่วนที่ช่วยในการพิสูจน์หาข้อเท็จจริงได้ว่าบุคคลใดเป็นผู้บริสุทธิ์และบุคคลใดเป็นผู้กระทำความผิด ตลอดจนรูปแบบในการกระทำความผิดซึ่งสามารถเชื่อมโยงหาตัวอาญากรได้ นิติวิทยาศาสตร์จึงเข้ามามีบทบาทสำคัญในการตรวจพิสูจน์ เนื่องจากมีความน่าเชื่อถือและเป็นที่ยอมรับในกระบวนการยุติธรรม

การตรวจพิสูจน์พยานหลักฐานในคดีข่มขืนมีหลายวิธีเช่น การใช้แสง Ultraviolet lamp, การตรวจดูตัวอสุจิด้วยกล้องจุลทรรศน์ และส่วนหัวของตัวอสุจิมีนิวเคลียสสามารถนำมาตรวจสารพันธุกรรม (DNA TYPING) เพื่อพิสูจน์ตัวบุคคลได้ หากผู้ชายที่เป็นหมันหรือผ่านการทำหมัน ซึ่งไม่มีตัวอสุจิจะสามารถตรวจโดยการหาโปรตีน P30 หรือ Prostate specific antigen (PSA) แต่ในสารคัดหลั่งจากเพศหญิง เช่น น้ำนม เหงื่อ ก็มี PSA เป็นส่วนประกอบอยู่ในระดับต่ำๆทำให้เกิดผลบวกปลอมได้ ส่วนการตรวจหา Acid phosphatase (AP) ซึ่งเป็นเอ็นไซม์ที่มาจากต่อมลูกหมาก (Prostate gland) และมีอยู่ในน้ำอสุจิเป็นจำนวนมาก การทดสอบปฏิกิริยา AP นั้นมีความไว (sensitive) และความจำเพาะ (specific) แต่อย่างไรก็ตาม AP เป็นเอนไซม์ที่สามารถพบได้จากช่องคลอดของเพศหญิงในความเข้มข้นต่ำๆอาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดผลบวกปลอมได้เช่นกัน

ปัจจุบันพบว่ามีบางวัตถุพยานในคดีทางเพศที่ส่งมาตรวจยังห้องปฏิบัติการ อยู่ในสภาพที่ไม่เหมาะสม เช่น มีเชื้อรา อาจเพราะการเก็บใส่ซองพลาสติกซึ่งทำให้เกิดความร้อนความชื้น การไม่พึ่งให้แห้งก่อนเก็บบรรจุถุง หรือกระบวนการขนส่งมาจากสถานที่ไกลๆทำให้ล่าช้ามีการเก็บไว้เป็นระยะเวลานานกว่าจะมาถึงห้องปฏิบัติการ ทำให้การตรวจหาคราบอสุจิด้วย AP test หรือ PSA และการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ รวมถึงการตรวจสารพันธุกรรมไม่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ หรือผล

ที่ได้นั้นอาจเป็นผลลบปลอมหรือบวกปลอมจากสิ่งรบกวน ทำให้ผลไม่น่าเชื่อถือ และวิธีการต่างๆ ดังกล่าวในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างมักมีทำลายวัตถุพยาน

จากความสำคัญและปัญหาดังกล่าวนี้จึงมีผู้สนใจศึกษาค้นคว้าเพื่อหาแนวทางและวิธีการใหม่ที่ช่วยลดผลบวกปลอมและลบปลอมจากปัจจัยต่างๆ ที่รบกวนในการตรวจวิเคราะห์ และหาวิธีการที่ทำลายวัตถุพยานให้น้อยที่สุด เพื่อเป็นประโยชน์ในการพิสูจน์หลักฐานในคดีความผิดทางเพศ ยกตัวอย่างเช่นงานวิจัยของ Barcot O และคณะ (2006) กล่าวไว้ว่าเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) สามารถแสดงสเปกตรัมของอสุจิ ซึ่งพบว่าปรากฏแบนด์ของ Amind I ที่เลขคลื่น 1700 cm^{-1} และ1590 cm^{-1} และพีคที่เลขคลื่น 968 cm^{-1}และ 981 cm^{-1} มีความสัมพันธ์กับความเป็นเอกลักษณ์ของตัวอสุจิ และงานวิจัยของ Kelly Virkler และ Igor K. Lendnev (2008) ได้นำวัตถุพยานที่เป็นคราบอสุจิ สารคัดหลั่งจากช่องคลอด เหงื่อ น้ำลาย และเลือดไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค confocal Raman spectroscopy โดยเทคนิคนี้เป็นวิธีที่ไม่ทำลายตัวอย่างและสามารถแยกสารคัดหลั่งทั้ง 5 ชนิด ออกจากตัวอื่นๆได้ สามารถนำมาใช้ตามจุดประสงค์ทางนิติวิทยาศาสตร์ได้ และงานวิจัยของคุณสุทธดา บุญญภัทร (2010) มีการใช้เทคนิค FTIR เพื่อการประมาณหาอายุของคราบอสุจิ ซึ่ง FTIR เป็นเทคนิคที่มีการใช้ตัวอย่างในการทดลองน้อยและไม่ทำลายวัตถุพยานที่นำมาวิเคราะห์ จากผลการวิจัยพบว่า เทคนิค FTIR สามารถตรวจหาและประมาณอายุของคราบอสุจิได้ โดยแสดงองค์ประกอบของโปรตีนจากแบนด์ที่เด่นชัดของพีค Amide I และ พีค Amide II และคำนวณเป็นอัตราส่วนพื้นที่นำมาพลอต กราฟเทียบกับอายุของตัวอย่าง พบว่าสามารถประมาณอายุของคราบอสุจิได้

จากงานวิจัยต่างๆดังกล่าว ทางผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะตรวจหาคราบอสุจิด้วย วิธี AP test ซึ่งในปัจจุบันใช้เป็นวิธีตรวจคัดกรองเบื้องต้น และศึกษาการตรวจหาอสุจิด้วย Infrared Spectroscopy โดยเลือกเทคนิค Attenuated Total Reflection Infrared Spectroscopy (ATR-IR) เพราะวิธีนี้ใช้ได้กับตัวอย่างหลายรูปแบบ เป็นเทคนิคมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างและมีวิธีตรวจวิเคราะห์ที่ไม่ยุ่งยากและไม่ทำลายวัตถุพยาน วิธีการนี้อาจจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ใช้สำหรับการตรวจพิสูจน์หลักฐานในคดีข่มขืนกระทำชำเรานำไปสู่การจับตัวผู้กระทำผิดมาดำเนินคดีตามกฎหมายได้และสามารถเป็นข้อมูลพื้นฐานแก่ผู้ที่สนใจศึกษาในด้านนิติวิทยาศาสตร์ต่อไป

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อตรวจหาคราบอสุจิด้วยเทคนิค Attenuated Total Reflection Infrared Spectroscopy (ATR-IR) และทดสอบด้วย วิธีAcid phosphates (AP test)

3. สมมติฐานของการวิจัย

เทคนิค Attenuated Total Reflection Infrared Spectroscopy (ATR-IR) สามารถตรวจหาคราบอสุจิในวัตถุทดสอบ ได้อย่างมีประสิทธิภาพเช่นเดียวกับวิธี Acid phosphates test (AP test) และสามารถนำมาใช้สำหรับการตรวจพิสูจน์เพื่อคัดกรองหลักฐานที่คาดว่ามีคราบอสุจิ ในเบื้องต้น และเชื่อมโยงหาผู้กระทำความผิดได้

4. ขอบเขตของการวิจัย

ใช้น้ำอสุจิจากอาสาสมัครเพศชายวัยเจริญพันธุ์มาหยดลงบนสำลี (Cotton swab) และผ้า นำมาตรวจโดยใช้ เทคนิค ATR-IR และวิธี AP test และศึกษาผลของอุณหภูมิในการเก็บตัวอย่าง โดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น เป็นเวลาถึง 14 วัน แล้วนำมาทดสอบหาคราบอสุจิ

5. **นิยามศัพท์เฉพาะ**

คราบอสุจิ คือ น้ำหลั่งจากอวัยวะเพศชาย จากการร่วมประเวณี หรือกระตุ้นให้เคลื่อนออกมา มีลักษณะเป็นน้ำเหนียวที่ขาวขุ่น สร้างขึ้นโดยต่อมลูกหมาก (Prostate gland) Seminal vesicles และ Bulbourethal โดยมี Testes เป็นตัวสร้างตัวอสุจิผสม ประกอบด้วยส่วนสำคัญ 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นน้ำ (seminal plasma) และส่วนที่เป็นเนื้อ คือ ตัวอสุจิ (sperm)

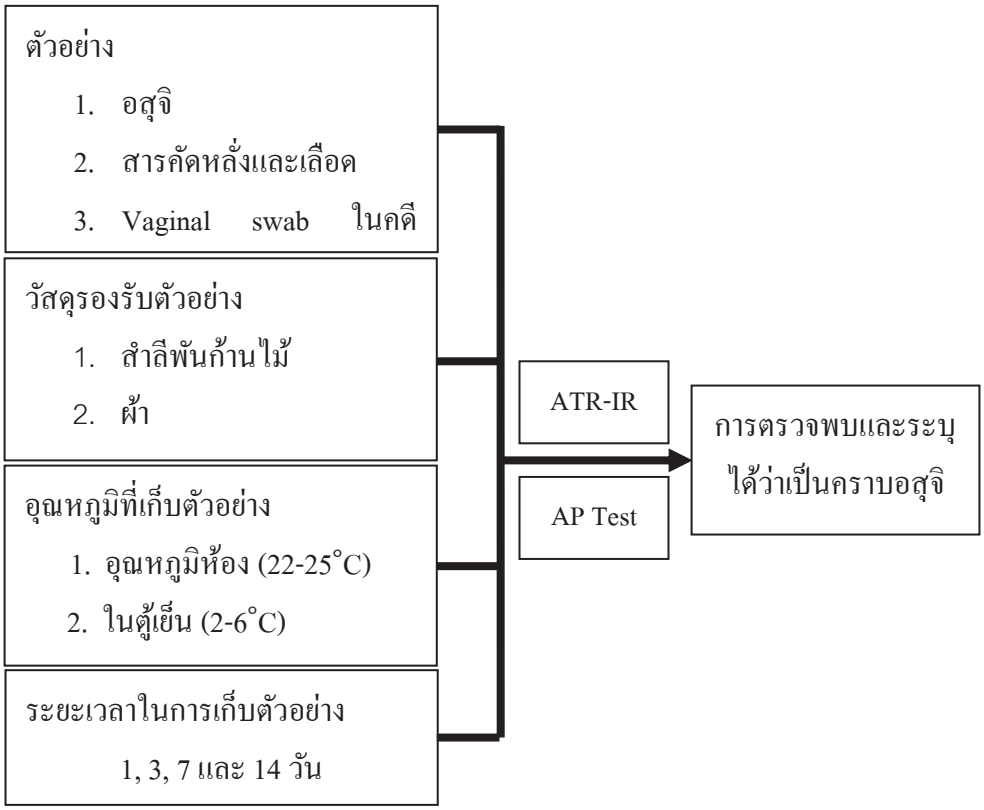
Attenuated total reflectance (ATR) หมายถึง เทคนิคที่ใช้ร่วมกับเทคนิค FTIR ซึ่งเมื่อลำแสงอินฟราเรดของเครื่อง FTIR เดินทางไปยังผลึก crystal ของเครื่อง ATR ที่มีความหนาแน่นสูง (มีดรรชนีหักเหสูง) ถูกส่งยังตัวอย่างซึ่งมีความหนาแน่นต่ำกว่า (มีดรรชนีหักเหต่ำกว่า) บางส่วนของคลื่นอินฟราเรดที่ตกกระทบจะถูกสะท้อนและการสะท้อนเพิ่มมากขึ้นเมื่อมุมตกกระทบเพิ่มขึ้นจนกระทั่งมุมตกกระทบเท่ากับมุมวิกฤต (critical angle) คลื่นอินฟราเรดที่ตกกระทบจะไม่หักเห แต่จะสะท้อนกลับหมด (total reflected) ที่ตรงผิวรอยต่อระหว่างตัวกลางทั้งสองและพบว่าลำแสงจะทะลุตรงผิวรอยต่อระหว่างตัวกลางทั้งสองนั้น (evanescent wave) โดยพลังงานที่สะท้อนออกมาจะถูกวัดค่าไว้และแสดงออกมาในรูปสเปกตรัม

Acid phosphatase (AP) test คือการทดสอบหา AP เป็นเอนไซม์ที่ผลิตจากต่อมลูกหมากที่มีอยู่เป็นปริมาณมากในอสุจิของมนุษย์

6. ประโยชน์ที่จะได้รับ

เทคนิค ATR-IR สามารถตรวจหาคราบอสุจิจากวัตถุพยานได้เช่นเดียวกับวิธี AP test และไม่ทำลายวัตถุพยานซึ่งสามารถนำไปตรวจต่อด้วยวิธีอื่นๆ เพื่อคัดกรองเบื้องต้นก่อนการนำไปตรวจด้วยวิธียืนยัน สามารถช่วยประหยัดค่าใช้จ่ายได้

7. กรอบแนวคิดในการวิจัย



บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาวิจัยเรื่อง การตรวจหาคราบอสุจิโดยใช้เทคนิค Attenuated Total Reflection Infrared Spectroscopy (ATR-IR) ผู้วิจัยได้ศึกษาค้นคว้า ทฤษฎี เอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ซึ่งมีความสัมพันธ์กับงานศึกษาวิจัยนี้ เพื่อสร้างความรู้ความเข้าใจที่ถูกต้องเพื่อเป็นแนวทางในการกำหนดกรอบแนวคิด และสามารถดำเนินการศึกษางานวิจัยได้อย่างถูกต้องสมบูรณ์ โดยจำแนกประเด็นที่มีความเกี่ยวข้องดังนี้

1. ข้อมูลสถิติคดีอาญา
2. ความรู้เกี่ยวกับอวัยวะสืบพันธุ์เพศชายและอสุจิ
3. การตรวจทางห้องปฏิบัติการในคดีความผิดทางเพศ
4. ความรู้เกี่ยวกับเส้นใยสำลี และผ้า
5. หลักการพื้นฐานและทฤษฎีของเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์
    5.1 ความรู้พื้นฐานสเปกโทรสโคปี (Spectroscopy)
    5.2 ความรู้พื้นฐานของอินฟราเรด สเปกโทรสโคปี (Infrared Spectroscopy)
    5.3 เครื่องมือที่ใช้บันทึก IR สเปคตรัม
6. บทความและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. ข้อมูลสถิติคดีอาญา

จากข้อมูลทางสถิติของประเทศสหรัฐอเมริกาพบว่าอัตราการข่มขืนตลอดช่วงชีวิตในฝ่ายหญิงพบได้ประมาณร้อยละ 18 และในฝ่ายชายพบร้อยละ 3 โดยจากการสอบถามทางโทรศัพท์พบว่าในรอบปีผู้หญิงจำนวนร้อยละ 2.8 เคยถูกข่มขืนหรือถูกพยายามข่มขืน อัตรารวมสะสมในช่วง 4 ปีสูงถึงร้อยละ 25 ในอีกการศึกษาหนึ่งพบว่าร้อยละ 30 ของผู้หญิงในระดับปริญญาตรีถูกกระทำชำเราโดยมีการใช้ยาหรือเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอร์เข้ามาเกี่ยวข้อง นอกจากนี้ร้อยละ 50 ของผู้ที่ตกเป็นเหยื่อข่มขืนมีความใกล้ชิดกับผู้กระทำความผิด และส่วนใหญ่ถูกทำร้ายภายในบ้านของตนเองหรือในสถานดูแล ส่วนผู้ชายในกลุ่มรักร่วมเพศ (เกย์, กระเทย) ทหารผ่านศึก ผู้ต้องขังเรือนจำ และผู้ที่แสวงหาการบริการสุขภาพจิตอาจพบความชุกของการถูกข่มขืนสูงขึ้น แต่มีเพียง 10-15% เท่านั้นที่มีการแจ้งความ โดยผู้ถูกข่มขืนมีแนวโน้มที่จะแจ้งความน้อยลงไปอีก ถ้าผู้ถูกกระทำเป็นคนรู้จัก

ในประเทศไทยปัญหาการใช้ความรุนแรงทางเพศในสังคมมีความรุนแรงมากขึ้น โดยอธิบดีกรมอนามัย (นายแพทย์ณรงค์ศักดิ์ อังคะสุวพลา, มกราคม 2555) ได้เปิดเผยว่า ความรุนแรงในครอบครัวเป็นปัญหาสำคัญด้านสาธารณสุขและสิทธิมนุษยชนซึ่งผู้ที่ตกเป็นเหยื่อส่วนใหญ่มักจะเป็นผู้หญิงและเด็ก ประมาณว่าตลอดช่วงชีวิตของผู้หญิง 1 ใน 5 คน ตกเป็นเหยื่อของการถูกข่มขืน หรือพยายามข่มขืน โดยที่ผู้หญิง 1 ใน 3 คน มีประสบการณ์ถูกทำร้ายทุบตีทำร้ายจิตใจ หรือบังคับให้มีเพศสัมพันธ์โดยสมาชิกในครอบครัว หรือผู้ที่คุ้นเคยและอาจรวมไปถึงการถูกล่วงเกินทางเพศโดยสายตา การกระทำ หรือคำพูด จากผู้บังคับบัญชาหรือผู้ร่วมงาน และยังกล่าวด้วยว่าข้อมูลจากสำนักระบาดวิทยา กระทรวงสาธารณสุข พบว่า ผู้หญิงถูกข่มขืนและล่วงละเมิดทางเพศเฉลี่ยวันละ 12 คน ซึ่งเป็นเด็กอายุต่ำกว่า 15 ปี เฉลี่ยวันละ 2 คน

นอกจานี้ ประธานมูลนิธิปวีณาฯ เคยเปิดเผยสถิติเหยื่อคดีข่มขืน อนาจาร และทารุณกรรมเข้าร้องเรียนมูลนิธิปวีณาฯ ในรอบ 10 ปี (2543- 2552) สูงขึ้นเกือบเท่าตัว ผู้เสียหายอายุน้อยสุดแค่ 5 เดือน มากสุด 67 ปี ส่วนใหญ่เกิดจากการกระทำของคนสนิท คนในครอบครัว ผู้ถูกข่มขืนมักมีอายุ 18-25 ปี มีบ้างที่เป็นเด็กหรือคนชรา ชายผู้ข่มขืนกระทำชำเรา มักมีอายุระหว่าง 20-24 ปี มักมีอารมณ์ไม่แน่นอน มาจากครอบครัวที่แตกแยก แรงจูงใจพื้นฐานคือความต้องการมีอำนาจเหนือกว่าและมีความรู้สึกกร้าวร้าวต่อผู้ถูกข่มขืน การข่มขืนมักเกิดขึ้นโดยบังเอิญไม่ได้วางแผนจะกระทำหรือกระทำต่อหญิงคนใดโดยจำเพาะเจาะจง แต่เนื่องจากถูกกระตุ้นโดยปัจจัยต่าง ๆ เช่น อารมณ์การถูกยั่วยุทางเพศ เมาสุรา (พบว่าร้อยละ 50 ของผู้ที่ข่มขืนกระทำชำเราดื่มสุราก่อนลงมือกระทำ การดื่มสุราอาจกระทำเพื่อจุดมุ่งหมายบางอย่าง เช่น ทำให้กล้า ทำให้ไม่คิดมาก หรือเพื่อโดนความผิดว่ากระทำเพราะฤทธิ์สุรา)

การข่มขืนกระทำชำเราเป็นอาชญากรรมทางเพศที่ส่งผลกระทบต่อทั้งร่างกายและจิตใจของผู้เสียหายและผู้เกี่ยวข้อง เป็นปัญหาที่เกิดขึ้นในทุกสังคมตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันซึ่งบางคดีสามารถนำผู้กระทำผิดมารับโทษตามกฎหมายได้แต่ก็ยังมีบางคดีที่ยังจับกุมผู้กระทำความผิดไม่ได้ ส่งผลให้ผู้กระทำผิดมีโอกาสที่จะก่ออาชญากรรมลักษณะเดิม ทำให้ผู้เสียหายรวมถึงผู้บริสุทธิ์ต้องดำเนินชีวิตด้วยความหวาดกลัวว่าเหตุร้ายจะเกิดซ้ำอีก ซึ่งเมื่อพิจารณาจากข้อมูลสถิติคดีอาญาดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สถิติอาญาประเภทคดีชีวิต ร่างกายและเพศ ทั่วราชอาณาจักร ปี พ.ศ.2550-2555

คดีชีวิต ร่างกาย และเพศ	**ปีพ.ศ.2550**		**ปีพ.ศ.2551**		**ปีพ.ศ.2552**		**ปีพ.ศ.2553**		**ปีพ.ศ.2554**		**ปีพ.ศ.2555**	
	รับแจ้ง	จับได้	รับแจ้ง	จับได้	รับแจ้ง	จับได้	รับแจ้ง	จับได้	รับแจ้ง	จับได้	รับแจ้ง	จับได้
ฆ่าผู้อื่นโดยเจตนา	4032	1574	4097	1946	4000	1979	3784	2122	3328	1971	3335	2114
ฆ่าผู้อื่นโดยไม่เจตนา	451	224	538	293	582	340	569	384	606	432	672	506
ทำให้ตายโดยประมาท	216	119	284	154	251	149	226	157	240	192	252	187
พยายามฆ่า	5656	2371	5597	2525	5538	2612	5033	2789	4505	2870	4558	2807
ทำร้ายร่างกาย	18087	9136	18276	9002	17993	9273	15790	9610	13118	9557	13416	9172
ข่มขืนกระทำชำเรา	4275	2113	4688	2286	4895	2457	4459	2720	3805	2628	3572	2371

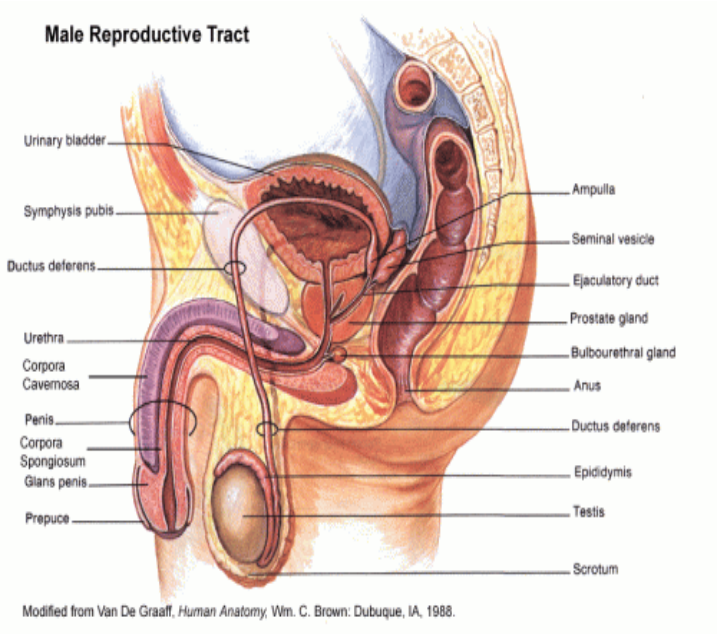
ที่มา : ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศกลาง, **สถิติคดีอาญา**, เข้าถึงเมื่อ 25 มกราคม 2556. เข้าถึงได้จาก http://statistic.ftp.police.go.th/dn_main.htm

คดีข่มขืนกระทำชำเราที่ยังไม่สามารถจับผู้กระทำผิดได้อาจเพราะพยานหลักฐานไม่มีความน่าเชื่อถือและเป็นที่ยอมรับจากชั้นศาล อีกทั้งการข่มขืนกระทำชำเรามีลักษณะคดีที่ขาดประจักษ์พยานที่พบเห็นผู้กระทำผิด ดังนั้นจึงต้องอาศัยกระบวนการทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ เพื่อพิสูจน์พยานหลักฐานทางชีววิทยาเช่น เลือด เส้นผมเส้นขน เนื้อเยื่อและสารคัดหลั่งต่างๆที่สำคัญคือคราบอสุจิ ในสถานที่เกิดเหตุหรือจากตัวผู้เสียหาย ซึ่งนำไปสู่ข้อเท็จจริงและสืบหาผู้กระทำความผิดได้

2. ความรู้เกี่ยวกับอวัยวะสืบพันธุ์เพศชายและอสุจิ

2.1 อวัยวะสืบพันธุ์เพศชาย คือ อวัยวะเพศของสิ่งมีชีวิตเพศชาย ทำหน้าที่ในการสืบพันธุ์เพื่อการดำรงอยู่ของเผ่าพันธุ์ ประกอบด้วยโครงสร้างทั้งภายนอกและภายในร่างกาย แต่โดยทั่วไปเมื่อกล่าวถึงอวัยวะเพศชาย มักนึกถึงส่วนประกอบภายนอกเป็นส่วนใหญ่

2.2 โครงสร้างและหน้าที่ของระบบสืบพันธุ์เพศชาย



ภาพที่ 1 ลักษณะโครงสร้างของอวัยวะสืบพันธุ์เพศชาย
ที่มา : **ระบบสืบพันธุ์**, เข้าถึงเมื่อ 25 กุมภาพันธ์ 2556.
เข้าถึงได้จาก http://www.thaigoodview.com/node/11480

2.2.1 องคชาต (Penis) คืออวัยวะที่ประกอบด้วยหลอดเลือดจำนวนมาก กล้ามเนื้อ เส้น ประสาท และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (Connective tissue) องคชาต มีลักษณะเป็นรูปแท่งยาว ปกคลุมภายนอกด้วยผิวหนัง ขนาดความยาวขององคชาตชาวตะวันตกปกติในเวลาที่ไม่แข็งตัวประมาณ 3.5 ถึง 3.9 นิ้ว หรือ 9 ถึง 10 เซน ติเมตร ขนาดในเวลาที่แข็งตัวเต็มที่ประมาณ 5.5 ถึง 6.3 นิ้ว หรือ 14 ถึง 16 เซนติเมตร องคชาตของมนุษย์จะไม่มีกระดูกและไม่มีกระดูกอ่อนซึ่งแตกต่างจากสัตว์หลายชนิดที่จะมีกระดูกและกระดูกอ่อนด้วย ส่วนปลายสุดขององคชาตจะบานออกเป็นรูปร่างคล้ายดอกเห็ด หรือหมวกเรียกว่า Glans penis ซึ่งบริเวณ Glans penis นี้จะมีหลอดเลือดและ

เส้นประสาทมากเป็นพิเศษ ส่วนภายนอกขององคชาตจะมีผิวหนังคลุมตั้งแต่โคนจนถึงส่วนปลาย จะเปิดเป็นรูสำหรับให้ Glans penis โผล่ออกมาได้ รวมทั้งให้เป็นทางออกของปัสสาวะที่มีรูเปิดอยู่ตรงส่วนปลายสุดของ Glans penis ที่เรียกว่า Meatus ด้วย ส่วนของผิวหนังที่คลุมส่วนปลายขององคชาตหรือ Glans penis นี้เรียกว่า หนังหุ้มปลาย หรือ Foreskin หรือ Prepuce ซึ่งในชายที่เป็นผู้ใหญ่ปกติส่วนของหนังหุ้มปลายนี้จะต้องสามารถเลื่อนไปทางด้านหลังให้ส่วนของ Glans penis โผล่ออกมาได้ ส่วนล่างของหนังหุ้มปลาย จะมีเนื้อเยื่อพังผืด ลักษณะเป็นเส้นยึดกับ Glans penis ด้านล่าง เรียกว่า สายสองสลึง (Frenulum) โครงสร้างภายในขององคชาต ประกอบด้วยเนื้อเยื่อรูปแท่งยาว 3 แท่ง เรียงอยู่ด้านบน 2 แท่งเรียกว่า Corpus cavernosum ส่วนแท่งด้านล่าง 1 แท่งหุ้มอยู่รอบๆท่อปัสสาวะเรียกว่า Corpus spongiosum ภายในแท่งเนื้อทั้งสามนี้ เป็นหลอดเลือดจำนวนมาก ซึ่งจะทำให้องคชาตแข็งตัวเมื่อมีการคั่งของเลือดในหลอดเลือดเหล่านี้ และเมื่อเลือดหยุดคั่ง องคชาตก็จะกลับมาอ่อนตัวที่ขนาดปกติตามเดิม องคชาต มีหน้าที่ในการผสมพันธุ์โดยจะมีการแข็งตัวเมื่อมีอารมณ์เพศและอยู่ในขณะ ที่มีเพศสัมพันธ์ การแข็งตัวเกิดจากการที่มีเลือดเข้าไปคั่งอยู่ในหลอดเลือดของ Corpus caver nosum โดยเลือดจะเข้ามาทางหลอดเลือดแดง ส่วนหลอดเลือดดำจะไม่ขยายตัว จึงส่งผลให้มีเลือดคั่งอยู่ภายในองคชาต จนกว่าจะมีการหลั่งน้ำอสุจิ จึงจะมีการขยายตัวของหลอดเลือดดำ ซึ่งจะปล่อยให้เลือดออกไปได้ หลังจากนั้นองคชาตก็จะอ่อนตัวลง ในการร่วมเพศฝ่ายชายจะสอดใส่องคชาตเข้าไปในช่องคลอด (Vagina) ของฝ่ายหญิง

2.2.2 อัณฑะ (Testis หรือ Testicle) เป็นอวัยวะที่มีหน้าที่สร้างตัวอสุจิ (Spermatozoa หรือ Sperm) และสร้างฮอร์โมนเพศชาย (Androgen หรือ Testosterone) โดยมีลักษณะเป็นอวัยวะรูปไข่ขนาดยาวประมาณ 4-5 เซนติเมตร และกว้างประมาณ 2-3 เซนติเมตร หนักประมาณ 25 กรัม อัณฑะมี 2 ข้างซ้ายและขวา ห้อยอยู่นอกร่างกายในถุง ซึ่งเรียกว่าถุงอัณฑะ (Scro tum หรือ Scrotal sac) ถุงอัณฑะนี้จะมีผิวหนังย่นๆคลุมอยู่ด้านนอกสุด จะอยู่ที่ด้านหลังองคชาต และอยู่ด้านหน้าของทวารหนัก มีเปลือกหุ้มเป็นพังผืดสีขาวเรียกว่า Tunica albuginea ภายในจะมีพัง ผืดบางๆ แยกเป็นส่วนย่อยๆประมาณ 200 ถึง 400 ส่วนย่อย ภายในแต่ละส่วนย่อยเหล่านี้จะมีท่อยาวขนาดเล็ก เป็นที่อยู่ของเซลล์ที่จะกลายเป็นตัวอสุจิ (Germ cells) เรียกว่าท่อ Semini ferous tubules ภายในท่อ นอกจากจะมี Germ cells แล้วยังมีเซลล์อีกชนิดหนึ่งเรียกว่า Sertoli cell ทำหน้าที่สร้างสารฮอร์โมนชื่อ Inhibin (ฮอร์โมนช่วยทำหน้าที่กำ กับการสร้างอสุจิ) และทำหน้าที่คล้ายเซลล์พี่เลี้ยงในการร่วมสร้างตัวอสุจิ ท่อ Seminiferous tubules จะต่อกับท่อขนาดเล็กอีก 2 ชนิด ได้แก่ Rete testis และ Ductuli efferentes ต่อจากท่อทั้งสองชนิดนี้ ก็จะเป็นถุงที่เรียกว่า Epididymis ต่อไป เซลล์อีกชนิดในอัณฑะเรียกว่า Leydig cell มีความสำคัญคือ เป็นเซลล์ที่สร้างฮอร์โมนเพศชาย

(Androgen หรือ Testosterone) Leydig cell นี้จะแทรกอยู่ในเนื้อเยื่ออัณฑะที่อยู่นอกท่อ Seminiferous tubules แต่ละอัน อัณฑะมีหน้าที่เกี่ยวกับการสร้างตัวอสุจิ จะมีประสิทธิภาพที่อุณหภูมิประมาณ 35-36 องศาเซลเซียส (Celsius) ซึ่งต่ำกว่าอุณหภูมิภายในร่างกายปกติประมาณ 1-2 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิปกติภายในร่างกาย คือ 37 องศาเซลเซียส) ดังนั้น อัณฑะจึงต้องห้อยอยู่นอกร่างกายภายในถุงอัณฑะ เพื่อให้อุณหภูมิต่ำกว่าร่างกายปกติ เมื่ออากาศเย็นลง อัณฑะจะมีอุณหภูมิลดลงมากเกินไป จะส่งผลให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อที่ถุงอัณฑะ ทำให้อัณฑะเข้าไปใกล้ร่างกายมากขึ้น เพื่อที่อุณหภูมิจะอยู่ในระดับพอเหมาะ ในภาวะที่อุณหภูมิร่างกายสูงขึ้น เช่น ในขณะที่มีไข้ จะเกิดการหย่อนตัวของกล้าม เนื้อที่ถุงอัณฑะโดยอัตโนมัติ เพื่อให้อัณฑะออกห่างจากร่างกาย อุณหภูมิของอัณฑะก็จะไม่สูงเกินไป อนึ่ง ฮอร์โมนเพศชายที่สร้างมาจากเซลล์ในอัณฑะที่ชื่อ Leydig cell จะมีปริมาณลดลงตามอายุที่มากขึ้นมีหน้าที่หลายประการได้แก่ สร้างตัวอสุจิ (Spermatozoa) สร้างฮอร์โมนเพศชายซึ่งจะทำให้เกิดลักษณะของเพศชาย ถุงอัณฑะ มีหน้าที่ปกป้องอัณฑะและช่วยรักษาอุณหภูมิของอัณฑะให้ต่ำกว่าอุณหภูมิภายในร่างกาย เพื่อการสร้างอสุจิได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2.2.3 ถุงเก็บตัวอสุจิใกล้อัณฑะ หรือเรียกทับศัพท์ว่า เอพิดิไดมิส (Epididymis) เป็นเนื้อเยื่อลักษณะเป็นท่อยาว ขดไปมาต่อมาจาก Ductuli efferentes โดยทำหน้าที่เป็นทางผ่านของตัวอสุจิก่อนที่จะไปเข้าสู่ หลอดนำอสุจิ (Spermatic cord) และยังทำหน้าที่เป็นที่เก็บตัวอสุจิที่สร้างเรียบร้อยแล้ว ก่อนที่จะปล่อยออกไปทำหน้าที่ผสมพันธุ์ ผนังด้านในของถุง Epididymis จะมีเซลล์รูปแท่งยาวและมีขน (Cilia) อยู่บนผิวของเซลล์ เพื่อทำหน้าที่พัดโบกตัวอสุจิให้เคลื่อนที่ออกไปได้เร็วขึ้น

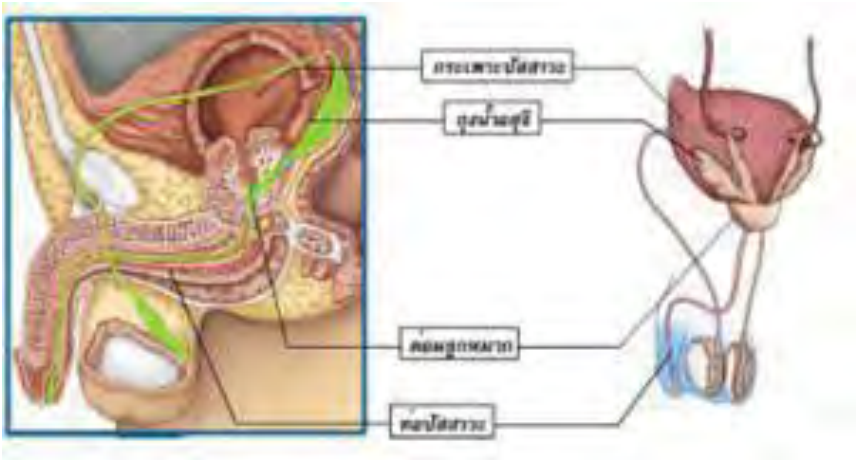
2.2.4 ถุงอัณฑะ (Scrotum หรือ scrotal sac) เป็นเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยผิวหนังอยู่ทางด้านนอกและกล้ามเนื้ออยู่ทางด้านใน โดยหุ้มอยู่รอบๆอัณฑะ ทำหน้าที่ปกป้องอัณฑะและช่วยรักษาอุณหภูมิของอัณฑะให้ต่ำกว่าอุณหภูมิภายในร่างกายเพื่อการสร้างอสุจิได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2.2.5 หลอดนำอสุจิ (Vas Deferens หรือ Spermatic cord) เป็นท่อ/หลอดนำตัวอสุจิต่อมาจากถุง Epididymis ลักษณะเป็นท่อที่มีกล้ามเนื้อเรียบหนา 3 ชั้นหุ้มอยู่โดยรอบรูตรงกลางหลอด นำอสุจิยาวทั้งหมดประมาณ 30 เซนติเมตร กล้ามเนื้อของหลอดนำอสุจิเหล่านี้ จะบีบตัวเพื่อให้ตัวอสุจิเคลื่อนที่ออกไปอย่างรวดเร็วอสุจิจากถุงเก็บตัวอสุจิใกล้อัณฑะ เพื่อขับเคลื่อนเข้าสู่ท่อ Ejaculation duct เพื่อขับเคลื่อนเข้าสู่ท่อปัสสาวะในการหลั่งน้ำอสุจิในช่วงมีเพศสัมพันธ์

2.2.6 ถุงสร้างสารบำรุงตัวอสุจิ (Seminal vesicles) มี 2 ข้างซ้ายและขวา อยู่บริเวณด้านหลังของกระเพาะปัสสาวะส่วนล่าง อยู่ติดกับต่อมลูกหมาก ลักษณะเป็นต่อมที่มีลักษณะเป็นถุงยาวประมาณ 5 เซนติเมตร กว้างประมาณ 1-2 เซนติเมตร ปากของถุง Seminal vesicles จะเปิดเข้ารวมกับหลอดนำอสุจิ แล้วกลายเป็นท่อขนาดใหญ่ขึ้นเรียกว่า ท่อ Ejaculatory duct เข้าสู่ต่อมลูกหมากต่อไป มีหน้าที่ในการสร้างของเหลวที่จะเป็นส่วนประกอบส่วนใหญ่ประมาณ 65-75% ของปริมาตรน้ำเชื้อ/น้ำอสุจิทั้งหมด โดยถุงจะบีบตัวเพื่อการหลั่งน้ำอสุจิ ของเหลวที่ผลิตโดยถุง Seminal vesicles นี้ จะมีสารที่มีประโยชน์ต่อประสิทธิภาพของตัวอสุจิหลายชนิด เช่น น้ำตาลฟรุคโตส (Fructose) เอนไซม์หลายชนิด และสาร Prostaglan dins (สารที่ทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการทำงานของสารในระบบต่างๆของร่างกาย) เป็นต้นนอกจากนั้น ยังมีฤทธิ์เป็นด่างซึ่งจะป้องกันอันตรายต่อตัวอสุจิจากของเหลวในช่องคลอดซึ่งมีฤทธิ์เป็นกรดอีกด้วย

2.2.7 ต่อมลูกหมาก (Prostate gland) เป็นต่อมที่มีน้ำหนักในผู้ใหญ่ปกติประมาณ 20 กรัม มีขนาดในผู้ใหญ่ปกติประมาณ 4x3x2 เซนติเมตร ตำแหน่งของต่อมลูกหมากจะอยู่ที่บริเวณต่อกับกระเพาะปัสสาวะ โดยหุ้มอยู่รอบๆท่อปัสสาวะส่วนที่แรกออกมาจากกระเพาะปัสสาวะ มีส่วนประกอบเป็นต่อมขนาดเล็กจำนวนมาก กล้ามเนื้อเรียบ และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ซึ่งทำให้ต่อมลูกหมากมีความแข็งเหมือนยางลบ ผิวนอกของต่อมลูกหมากจะเรียบ ท่อที่อยู่ภายในต่อมลูกหมากได้แก่ ท่อปัสสาวะ ท่อ/หลอดนำ อสุจิหลังจากที่รวมกับท่อจากถุง Seminal vesicles แล้ว ที่เรียกว่าท่อ Ejaculatory duct และจะมีของเหลวจากต่อมลูกหมากมารวมด้วยอีกส่วนหนึ่ง มีหน้าที่สร้างของเหลวซึ่งเป็นส่วนประกอบของน้ำเชื้อ/น้ำอสุจิอีกประมาณ 25-30 % มีส่วนประกอบส่วนใหญ่เป็น ธาตุสังกะสี (Zinc) นอกจากนั้นยังสร้างสารโปรตีนที่มีชื่อว่า PSA (Prostate specific antigen) ส่งเข้าไปในกระแสเลือด ซึ่งโปรตีนนี้จะมีปริมาณสูงขึ้นมากในกรณีที่เป็นโรคมะเร็งต่อมลูกหมาก ดังนั้น สารนี้จึงใช้เป็นตัวช่วยการตรวจคัดกรอง และช่วยการวินิจฉัยโรคมะเร็งต่อมลูกหมาก

2.2.8 ต่อมคาวเปอร์ (Cowper gland) เป็นต่อมขนาดเล็กเท่าเม็ดถั่วลิสง อยู่บริเวณโคนขององคชาต และมีท่อมาเปิดที่บริเวณท่อปัสสาวะ) ทำหน้าที่สร้างของเหลวลักษณะคล้ายมูกใสๆ ทำหน้าที่หล่อลื่นท่อปัสสาวะก่อนที่จะเกิดการหลั่งน้ำอสุจิ โดยมากจะออกมาปริ่มๆรูเปิดของท่อปัสสาวะเมื่อมีอารมณ์เพศ ลักษณะเป็นน้ำใสๆจำนวนไม่มาก



ภาพที่ 2 แสดงทางเดินของอสุจิ

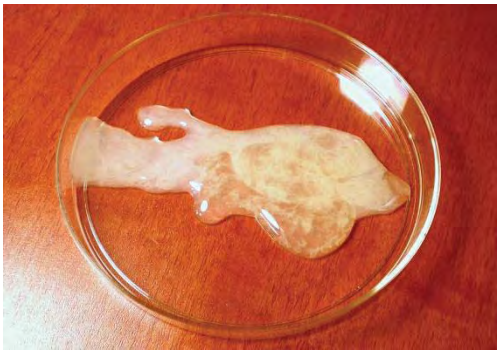
ที่มา : **โครงสร้างและหน้าที่ของระบบสืบพันธุ์**, เข้าถึงเมื่อ 25 กุมภาพันธ์ 2556.

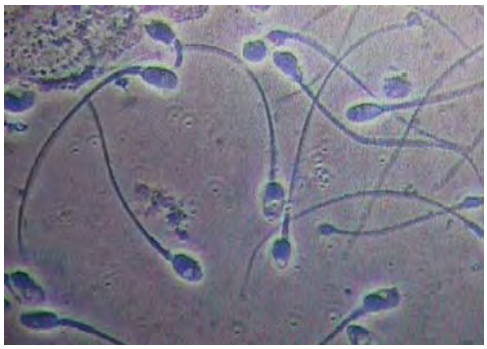
เข้าถึงได้จาก http://watchawan.blogspot.com

เซลล์อสุจิที่สร้างแล้วซึ่งอยู่ในช่องว่างของ seminiferous tubule จะเดินทางผ่านไปตามท่อน้ำเชื้อ ระหว่างนี้จะมีกระบวนการทางเคมี ที่ช่วยทำให้อสุจิมีความสมบูรณ์ และความสามารถในการปฏิสนธิเพิ่มขึ้น ท่อนำเชื้อจะนำอสุจิไปรวมกับน้ำอสุจิ ที่สร้างจากถุงน้ำอสุจิและต่อมลูกหมาก ก่อนที่จะเปิดเข้าสู่ท่อปัสสาวะและหลั่งออกสู่ภายนอกต่อไป

การหลั่งอสุจิเป็นกระบวนการที่อยู่ภายใต้การควบคุมของระบบประสาท และฮอร์โมนหลายอย่าง เมื่อมีความรู้สึกทางเพศ ซึ่งอาจเกิดขึ้นเองหรือผ่านประสาทสัมผัสต่าง ๆ จะมีคำสั่งจากสมองให้เลือดไปเลี้ยงเนื้อเยื่อ บริเวณองคชาติเพิ่มมากขึ้น องคชาติจะบวม ขยายใหญ่และแข็งตัว ขณะเดียวกันจะมีการเคลื่อนไหวของอสุจิผ่านท่อน้ำเชื้อ มายังท่อปัสสาวะ ต่อมากล้ามเนื้อบริเวณฐานขององคชาติจะหดรัดตัวเป็นจังหวะ บีบให้น้ำอสุจิหลั่งออกมาทางท่อปัสสาวะสู่ภายนอก เมื่อการหลั่งน้ำอสุจิสิ้นสุดลง ระบบประสาทจะสั่งการให้ปริมาณเลือดไปเลี้ยงที่องคชาติลดลง มีผลทำให้องคชาติอ่อนตัว และมีขนาดเล็กลงสู่ภาวะปกติ นอกจากอวัยวะสืบพันธุ์และการควบคุมของฮอร์โมนตลอดจนระบบประสาทต่าง ๆ ที่ปกติแล้ว กระบวนการหลั่งอสุจินี้ยังต้องอาศัยความสมบูรณ์ของร่างกายและจิตใจด้วย

2.3 ส่วนประกอบของอสุจิ อสุจิประกอบด้วยสำคัญ 2 ส่วน





ภาพที่ 3 น้ำอสุจิ (ซ้าย) และตัวอสุจิ (ขวา)
ที่มา : ประสิทธิพร ดอนแก้ว, **ระบบสืบพันธุ์**, เข้าถึงเมื่อ 25 กุมภาพันธ์ 2556.
เข้าถึงได้จาก http://blog.school.net.th/blogs.prasitporn.phd/2008/08/19/-16

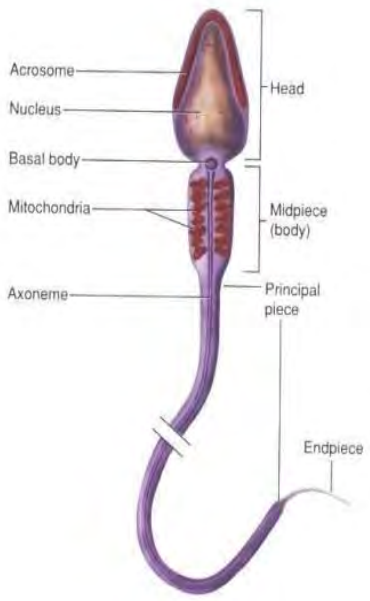
2.3.1 น้ำอสุจิ (semen หรือ seminal fluid) เป็นของเหลวที่มีส่วนผสมระหว่างตัวอสุจิและสารคัดหลั่งจากต่อมต่างๆ ปริมาณของน้ำอสุจิที่หลั่งแต่ละครั้งประมาณ 3-5 ลูกบาศก์เซนติเมตร pH ของน้ำอสุจิประมาณ 7.35-7.5 โดยมีฤทธิ์เป็นด่างเล็กน้อย มีสีขาวขุ่น กลิ่นคาว เหนียวข้น เมื่อทิ้งไว้ประมาณ10-15 นาที จะหายเหนียว ใน 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร มีตัวอสุจิประมาณ 20-100 ล้านตัว โดยจำแนกประเภทภาวะตามจำนวนอสุจิ ได้ดังนี้

Normosperia คือ ภาวะมีจำนวนอสุจิปกติ

Oligospermia คือ ภาวะมีจำนวนอสุจิน้อยกว่าปกติ

Azoospermia คือ ภาวะที่ไม่มีอสุจิในน้ำเชื้อเลย พบในคนที่ทำหมันแล้ว

2.3.2 ตัวอสุจิ (spermatozoa) การสร้างตัวอสุจิสร้างจากเซลล์ต้นกำเนิดที่อยู่ภายใน seminiferous tubule ซึ่งเรียกว่า spermatogonium เซลล์ต้นกำเนิดนี้จะมีโครโมโซมเท่ากับ 2n เซลล์นี้จะมีการ differentirate ไปเป็น primary spermatocyte จากนั้นก็แบ่งตัวแบบ meiosis และมีการลดจำนวนโครโมโซมเหลือ 1n กลายเป็น secondary spermatocyte จากระยะนี้จะมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนแบบ mitosis กลายเป็น spermatid และแก่ตัวไปเป็น spermatozoa หรือตัวอสุจิต่อไปในที่สุด



ภาพที่ 4 ลักษณะโครงร่างของตัวอสุจิ

ที่มา : ประสิทธิพร ดอนแก้ว, **ระบบสืบพันธุ์**, เข้าถึงเมื่อ 25 กุมภาพันธ์ 2556.

เข้าถึงได้จาก http://blog.school.net.th/blogs.prasitporn.phd/2008/08/19/-16

โครงสร้างของตัวอสุจิ

1. ส่วนหัว (Head) มีลักษณะรูปไข่ ภายในมีนิวเคลียสบรรจุไว้เกือบเต็ม ทางส่วนหน้าสุดของส่วนหัวจะมีลักษณะเป็นถุง เรียกว่า อะโครโมโซม (acrosome) ซึ่งพัฒนามาจาก golgo bodies มีเอนไซม์ซึ่งสามารถย่อยสลายผนังเซลล์ของไข่ เรียกว่า ไฮยาลูโรนิเดส (hyaluronidase) หรือ ไฮโดรไลติกเอนไซม์ (hydrolytic enzyme) หรือ ไลซิน (lysin)

2. ส่วนลำตัว (Midpiece หรือ Middle piece) เป็นส่วนที่ต่อจากส่วนหัว มี mitochondriaจำนวนมากเรียงเป็นเกลียว ทำหน้าที่สร้างพลังงานให้กับสเปิร์ม

3. ส่วนหาง (Tail หรือ Flagellum) เป็นส่วนของหลอดโปรตีน (microtubule) ที่ยื่นออกมาจากเซนตริโอล มีหน้าที่พัดโบกให้สเปิร์มเคลื่อนที่ไปได้ ส่วนที่ยาวที่สุดของตัวอสุจิ เรียกว่า chif piece และส่วนปลายสุดของมันเรียกวา end pice

3. การตรวจทางห้องปฏิบัติการในคดีความผิดทางเพศ มีการตรวจดังนี้

3.1 การตรวจหาตำแหน่งของคราบ

คราบที่ปรากฏบริเวณเสื้อผ้าที่มีสำดำหรือสีเข้มนั้น อาจมองด้วยตาเปล่า ไม่เห็นว่าอยู่ที่ตำแหน่งใด การตรวจหาตำแหน่งของคราบในกรณีนี้ต้องใช้แสงอุลตราไวโอเล็ต (Ultraviolet lamp) ส่องในห้องมืด จะทำให้มองเห็นบริเวณที่มีคราบติดอยู่ปรากฏชัดเจนต่างจากบริเวณอื่น

3.2 การตรวจคราบอสุจิโดยหาตัวอสุจิ และน้ำอสุจิ

3.2.1 การตรวจคราบอสุจิ

วัตถุพยานในคดีข่มขืนกระทำชำเรา ซึ่งเป็นคดีความผิดทางเพศ ที่สำคัญ คือน้ำอสุจิ ซึ่งเป็นน้ำหลั่งจากอวัยวะเพศชาย จากการร่วมประเวณี หรือกระตุ้นให้เคลื่อนออกมา มีลักษณะเป็นนุ่น สร้างขึ้นโดยต่อมลูกหมาก (Prostate gland) Seminal vesicles และ Bulbourethal โดยมี Testes เป็นตัวสร้างตัวอสุจิผสมออกมา (1) ในคนปกติน้ำอสุจิหลั่งออกมาครั้งละประมาณ 3.5 มิลลิลิตร และมีตัวอสุจิจำนวนประมาณ 60 ล้าน/มิลลิลิตร โดยมีน้ำอสุจิ (semen หรือ seminal fluid) ประกอบด้วยส่วนสำคัญ 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นน้ำ (seminal plasma) และส่วนที่เป็นเนื้อ คือ ตัวอสุจิ (sperm)

3.2.2 การตรวจว่าเป็นน้ำอสุจิหรือไม่

การตรวจหาตัวอสุจิเพื่อยืนยันว่ามีการร่วมประเวณีหรือไม่ กรณีมีการร่วมประเวณีใหม่ๆ สามารถตรวจพบตัวอสุจิที่กำลังเคลื่อนไหวได้ แต่ส่วนใหญ่ผู้เสียหายมักจะมาตรวจร่างกายหลังการร่วมประเวณีนานมากกว่า 1 วัน ดังนั้นจึงไม่พบตัวอสุจิที่เคลื่อนไหว การตรวจก็ดูเพียงว่ามีตัวอสุจิหรือไม่ ถ้ามีก็แสดงว่าผ่านการร่วมประเวณีมาจริง โดยทั่วไปแล้วการตรวจตัวอสุจิอาจพบได้นานถึง 3วัน แต่จากรายงานการวิจัยบางฉบับสามารถตรวจพบตัวอสุจิได้นานถึง 2 สัปดาห์ การตรวจดูตัวอสุจิโดยการย้อมสีดูลักษณะทั่วไปของตัวอสุจิ ซึ่งประกอบด้วยส่วนประกอบสำคัญ 2 ส่วน คือ ส่วนหัวและส่วนหาง ส่วนหัวยังมีนิวเคลียสที่สามารถนำมาตรวจพิสูจน์ตัวบุคคลได้ อย่างไรก็ตามมีคดีข่มขืนกระทำชำเราเป็นจำนวนมากที่ไม่สามารถตรวจพบตัวอสุจิได้ เนื่องจากผู้ชายที่ข่มขืนเป็นหมันหรือผ่านการทำหมัน ดังนั้นการตรวจว่าเป็นคราบอสุจิหรือไม่จึงต้องใช้การตรวจทางเคมีเพื่อหาส่วน ประกอบของน้ำอสุจิ

รูปร่างของตัวอสุจิมนุษย์ ที่ลักษณะที่ประกอบด้วยส่วนหัวซึ่งเป็นรูปรีแบนกว้างประมาณ 2-3 ไมครอน ยาวประมาณ 3-6 ไมครอน ในกล้องจุลทรรศน์ทางด้านแบนจะมองเห็นหัว

เป็นรูปรีคล้ายรูปไข่ ถ้าหัวอสุจิตั้งทางข้างๆจะมองเห็น เป็นรูปเรียวปลายหัวแหลม ต่อจากหัวก็เป็นส่วนลำตัวยาวประมาณ 5-9 ไมครอน กว้าง 1 ไมครอน เป็นแท่งยาวลงมา และต่อกับส่วนหางซึ่งเป็นเส้นยาว 40-50 ไมครอนหางจะทำหน้าที่โบกให้ตัวอสุจิเคลื่อนไหวไปได้นาทีละ 3-4 มม.

ดังนั้นการตรวจตัวอสุจิจึงเอาของเหลวที่สงสัยไปส่องกล้องจุลทรรศน์ ถ้าพบตัวอสุจิก็แสดงว่าของเหลวนั้นมีน้ำ อสุจิอยู่คราบอสุจิที่ติดตามเสื้อผ้าหรือก้อนสำลีนั้น ถ้ามีตัวอสุจิติดอยู่ด้วย ก็ต้องมีวิธีที่จะสกัดตัวอสุจิออกจากคราบดังกล่าว โดยใช้เศษผ้าที่ติดคราบหรือสำลีที่ติดคราบแช่ลงไปในน้ำยาแอมโมเนียไฮดรอก ไซด์ (NH4OH) โดยตัดผ้าหรือ สำลีเฉพาะส่วนที่ติดคราบออกมาเป็นเศษเล็ก ๆ แช่ทิ้งไว้จนน้ำยาขุ่น แล้วเอาเศษผ้าหรือเศษสำลีนั้นออก นำน้ำยาไปเข้าเครื่องปั่นให้ตกตะกอน ตัวอสุจิถ้ามีอยู่ที่คราบจะหลุดตกรวมกับตะกอน ดูดน้ำส่วนที่ใสเหนือตะกอนทิ้งไปเอาตะกอนไปเกลี่ยลง แผ่นกระจกแล้วทิ้งไว้ให้แห้งก่อนการตรวจตัวอสุจิต้องนำแผ่นกระจกนั้นไปย้อมสี เพื่อให้ตัวอสุจิติดสี สีที่ใช้ ย้อมอาจใช้ได้หลายชนิด แต่ชนิดที่เรียกว่าซีมาท้อกซิลินอีโอสิน (H.E.) ใช้ได้ดีเมื่อผ่านกรรมวิธีย้อมสีแล้ว จึงนำไปส่องกล้องจุลทรรศน์ ถ้ามีตัวอสุจิจะเห็นเป็นจุดรีขนาดเล็กติดสีน้ำเงินบริเวณปลายที่ต่อกับหางจะ มีลักษณะเรียวแหลม บางครั้ง อาจเห็นหางยาวติดสีแดง ปลายหัวเห็นเป็นบริเวณใส ๆ อยู่ตอนปลาย นอกจากนี้คราบอสุจิสามารถนำมาตรวจหาหมู่เลือด และเอ็นไซม์ต่าง ๆ ได้ หมู่เลือดที่ให้ในการตรวจ คือหมู่ A.B.O และเอ็นไซม์ที่ควรหาคือ P.O.M (Phospho-glucomutase Phenotypes) อาจนำคราบทีสงสัยจะเป็นอสุจิมาตรวจหา H.L.A.(Human Histocompatibility Leucocyte Antigen) เปรียบเทียบกับ H.L.A.ของอสุจิของผู้ต้องหาได้ นอกจากนั้นอาจหาD.N.A. (Desoxyribonucleicacid) จากคราบที่สงสัย เป็นอสุจิในระยะเวลาถึง 1 เดือน เปรียบเทียบกับลักษณะ DNA จากผู้ต้องหา

3.3 การตรวจทางเคมี ส่วนประกอบของน้ำอสุจิ นอกเหนือจากตัวอสุจิแล้วยังมีสารเคมีหลายชนิด การตรวจคราบอสุจิ จึงตรวจหาสารเคมีเหล่านั้น ถ้าพบสารเคมีเหล่านั้นก็แสดงว่าคราบนั้นน่าจะเป็นอสุจิ การตรวจสารเคมีนี้ไม่อาจยืนยันได้แน่นอนเหมือนกรณีที่ตรวจพบตัวอสุจิ เพราะสารเคมีดังกล่าวมิได้มีอยู่เฉพาะแต่ในน้ำอสุจิเท่านั้น

ในน้ำอสุจิมีสารประกอบหลายชนิด เช่น Citric acid Flavin เอ็นไซม์แอซิดฟอสฟาเตสและสารแสดงหมู่เลือด การตรวจทางเคมีในปัจจุบัน เป็นการตรวจหาเอ็นไซม์แอซิดฟอสฟาเตสซึ่งมีปริมาณสูงมากในน้ำอสุจิ โดยใช้น้ำยา alpha – napthyl phosphate และ Brentamine Fast Blue B ทำปฏิกิริยากับคราบอสุจิซึ่งจะเกิดตะกอนสีม่วงขึ้นมา แสดงว่ามีเอ็นไซม์แอซิดฟอสฟาเตสอยู่ แต่เนื่องจากเอ็นไซม์ตัวนี้อยู่ในส่วนอื่นๆ ของร่างกายด้วย เช่น น้ำเมือกของผู้หญิงเองแต่ปริมาณน้อยกว่ามาก การตรวจใช้การจับเวลาหากเกิดสีม่วงภายใน 60 วินาที ถือว่าให้ผลบวกคือมีเอ็นไซม์แอซิดฟอสฟาเตสซึ่งสามารถตรวจพบได้ภายในระยะเวลาประมาณ 3 วัน หลังร่วม

ประเวณี เมื่อการตรวจให้ผลบวกก็จะสรุปว่าน่าจะเป็นคราบอสุจิ การจะยืนยันว่าเป็นคราบอสุจิจะต้องตรวจพบตัวอสุจิ สำหรับในกรณีคนที่เป็นหมัน สามารถยืนยันได้ด้วยการตรวจโปรตีน P30 ซึ่งสามารถพบได้จากคราบอสุจิที่มีอายุนานถึง 6 เดือน การตรวจ P30 ยังสามารถยืนยันได้ว่าเป็นคราบอสุจิของมนุษย์หรือไม่

3.3.1 การตรวจโฆลีน คือการตรวจหาสารโฆลีน (Choline) ซึ่งมีอยู่ในน้ำอสุจิ วิธีนี้เป็นวิธีเก่าเรียกว่า การทดสอบฟลอเรนซ์ (Florence test) วิธีนี้ใช้วิธีเคมีร่วมกับการตรวจทางกล้องจุลทรรศน์ วิธีการก็คือการละลายคราบ ที่สงสัยลงบนแผ่นกระจกที่สำหรับตรวจทางกล้องจุลทรรศน์แล้วทิ้งไว้ให้แห้ง หยดน้ำยาที่ตรวจหาโฆลีนลงไปข้างๆ บริเวณ ที่มีคราบ ถ้ามีสารโฆลีนจะเกิดผลึกเป็นรูปแท่งเกิดขึ้น ผลึกนี้ต้องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ในปัจจุบันวิธีนี้ใช้กันน้อย เพราะมีความไม่แน่นอนอยู่มากและการตรวจก็ไม่ไวพอ การตรวจวิธีนี้ ถ้าให้ผลบวกก็แสดงเพียงว่าคราบนั้นน่าจะเป็นน้ำอสุจิได้

3.3.2 การตรวจหาสารอะศิดฟอสฟาเตส (Acid phosphatase test) สารนี้เป็นเอ็นไซม์ที่มาจากต่อมลูกหมาก (Prostate gland) และมีอยู่ในน้ำอสุจิเป็นปริมาณสูง ได้มีผู้พยายามดัดแปลงวิธีการตรวจสารนี้อย่างง่าย ๆ โดยใช้ น้ำยา หยดลงไป ในสิ่งที่สงสัยว่าจะเป็นคราบอสุจิ ถ้ามีอะศิดฟอสฟาเตสปริมาณมากพอจะทำให้เกิดสีขึ้นภายใน เวลาที่กำหนด ซึ่งการทดสอบดังกล่าวนี้จะถือว่าให้ผลบวก แสดงว่าสิ่งนั้นน่าจะเป็นคราบอสุจิ

เนื่องจากน้ำยาที่ใช้ทดสอบนี้ ต้องใช้ทีละน้อยเพราะมีราคาแพง สิ่งที่นำมาตรวจต้องแบ่งมาเป็นชิ้นเล็กๆ เช่น ก้อนสำลีทีป้ายจากบริเวณอวัยวะสืบพันธุ์หรือป้ายจากภายในช่องคลอดเวลาตรวจ ต้องตัดแบ่งมาเพียงชิ้นเล็ก ๆ ขนาด ปลายนิ้วก้อย สำหรับคราบที่ติดตามเสื้อผ้าหรือตามที่ต่าง ๆ เวลานำมาตรวจต้องใช้ก้อนสำลีชิ้นป้ายเอามา หรือถ้าเป็น คราบเก่าที่แห้งมากเวลานำมาตรวจอาจ ใช้กระดาษกรองสีขาวชุบน้ำกลั่นแล้วนำไปกดทับบริเวณคราบ เพื่อให้คราบละลายติดมาที่กระดาษ แล้วจึงตัดกระดาษออกเป็นเศษเล็กนำไปตรวจอีกทีหนึ่ง ในกรณีเช่นนี้เมื่อหยดน้ำยาลงบนกระดาษ ถ้ามีสารอะศิดฟอสฟาเตสที่กระดาษจะปรากฏสี (สีแดงหรือม่วงแล้วแต่น้ำยาที่ใช้) ให้เห็นได้ที่กระดาษ

3.4. การตรวจว่าเป็นคราบอสุจิของใคร สามารถตรวจได้โดยตรวจหาหมู่เลือดในคราบอสุจิ เช่นเดียวกับการตรวจหาหมู่เลือดในน้ำลาย นอกจากนั้นยังตรวจหาหมู่ของเอ็นไซม์ที่มีอยู่ในน้ำอสุจิได้ด้วย ปัจจุบันนี้ยังสามารถตรวจสารพันธุกรรม (DNA TYPING) จากตัวอสุจิเพื่อเปรียบเทียบกับ ตัวอสุจิ เลือดหรือเซลล์ อื่น ๆ ของร่างกาย ผู้ต้องสงสัย เพื่อพิสูจน์ตัวบุคคลได้ด้วย

เซลล์ของเยื่อบุช่องคลอดนั้นส่วนหนึ่งจะมีลักษณะพิเศษคือมีสารที่เรียกว่า กลัยโคเจน (Glycogen) อยู่ในเซลล์เป็นจำนวนมากและสารนี้เมื่อถูกกับน้ำยาลูกอล (Lugol's solution) จะเกิดสี น้ำตาลไหม้ หรือสีช็อคโกแล็ต ดังนั้นแผ่นกระจกที่แตะบริเวณคออวัยวะเพศชายตามที่กล่าวมาแล้วในหัวข้อ 2.4.2 เมื่อนำ มาตรวจในห้องปฏิบัติการโดยหยดน้ำยาลูกอลลงไป แล้วนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ถ้ามีเซลล์ที่มีเม็ดสีช็อกโกแล็ต เป็นจุด ๆ ติดอยู่ในเซลล์ แสดงว่าเซลล์นั้นเป็นเซลล์ที่มีจากเยื่อบุช่องคลอดซึ่งเป็นผลจากการร่วม ประเวณีใหม่ ๆ

4. ความรู้เกี่ยวกับเส้นใยสำลี และผ้า

4.1 สำลีหรือฝ้าย (Cotton) เป็นเส้นใยธรรมชาติที่ได้จากพืชเป็นส่วนขนติดรอบเมล็ดเส้นใยฝ้ายได้จากการนำเมล็ดฝ้าย (สมอฝ้าย) มาผ่านกระบวนการหีบ ฝ้ายเพื่อแยกเส้นใย (Cotton lint) และเมล็ด (Seed) ออกจากกัน ส่วนที่เป็นเส้นใยหรือเป็นขนที่มีลักษณะเป็นปุย ก็จะนำไปอัดเป็นเบล (bale) เพื่อนำไปผ่านกระบวนการปั่นด้ายผลิตเป็นเส้นด้ายฝ้ายต่อไป

4.1.1 **ชนิดของเส้นใยฝ้าย** เส้นใยสั้น 3/8-3/4 นิ้ว มีใยหยาบใช้ทำอุปกรณ์ที่ใช้ในการผ่าตัด, เส้นใยปานกลาง 13/16 -1 1/4 นิ้ว ค่อนข้างขาวแข็งแรง ใช้ผลิตผ้าฝ้าย 100% และผ้าใยผสม, เส้นใยยาว 1 1/2 -2 1/2 นิ้วเส้นใยละเอียด แข็งแรง มันเงา ใช้ผลิตผ้าคุณภาพสูง

4.1.2 สมบัติทางกายภาพและเคมีของเส้นใยฝ้าย

ลักษณะทางกายภาพ เส้นใยสั้น (0.125-2.5 นิ้ว) เส้นผ่านศูนย์กลาง 16-20 ไมครอน ภาคตัดตามยาวบิดเป็นเกลียวคล้ายริบบิ้น (Convolution)(150-300ต่อนิ้ว) ภาคตัดตามขวางคล้ายไต-ถั่ว สีโดยทั่วไปมีสีครีม อิทธิพลของดินที่เพาะปลูก และธรรมชาติของสิ่งแวดล้อมทำให้ปุยฝ้ายมีสีออกเหลือง หรือสีออกเทาได้ ความเงา ขึ้นกับพันธุ์ฝ้าย และปริมาณสารขี้ผึ้งที่หุ้มปุยฝ้าย ถ้าขี้ผึ้งมีปริมาณมากจะทำให้ปุยฝ้ายมีความมันขึ้น ฝ้ายมีความชื้นรีเกนมาตรฐาน 8.5% ความแข็งแรงขณะแห้ง 3.0 -5.5 กรัม/ denier และขณะเปียกจะเป็น 110 - 130% ของความแข็งแรงขณะแห้ง มีความยืดหยุ่นน้อยมาก ส่วนการยืดตัวเมื่อขาด 3-7% การคืนตัวจากแรงอัดต่ำ ทนความร้อนได้ดี ความถ่วงจำเพาะ 1.5 ความสมบูรณ์ของฝ้าย mature fiber มีลักษณะการบิดตัวที่ทำมุม 200 - 300 กับแนวแกนของเส้นใย ส่วน immature fiberไม่ปรากฏลักษณะการบิดตัวของ Cell แต่จะเป็นลักษณะแถบแบนๆ

สมบัติทางเคมี เป็นเส้นใยเซลลูโลส ประกอบด้วย Anhydroglucose unit ส่วนประกอบทางเคมี มีเซลลูโลส 94.0 %, โปรตีน 1.3%, สารเพคติน 1.2%, ขี้ผึ้ง (wax) 0.6%, เถ้า (ash) 1.2%, ติดไฟและลุกไหม้เร็ว กลิ่นเหมือนกระดาษไหม้ไฟ มีปฏิกริยาไวต่อแสง UV โดยทำให้ความเหนียวของเส้นใยลดลง 50 -70% เกิดการพองหดตัว มีความเงามันเพิ่มขึ้น และมีการดูดซึมสีย้อมได้ดี ถ้าทำการ

ชุบมัน (mercerize) ด้วย ด่าง(โซดาไฟ) 27% ที่อุณหภูมิต่ำ แต่ถ้ามีอุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้ ความเหนียวของฝ้ายลดลง ไม่ทนต่อกรดอนินทรีย์ที่มีความเข้มข้นสูง เช่นกรดกำมะถัน กรดเกลือ ทนต่อกรดอินทรีย์ที่ระเหยได้ เช่นกรดน้ำส้ม ทนสารละลายอินทรีย์ สารซักฟอก การย้อมสี

4.2 เส้นใยพอลิเอไมด์ (Nylon)

4.2.1 เส้นใยไนล่อน เป็นเส้นใยสังเคราะห์ที่มีกลุ่มเอไมด์ (-NHCO-) อยู่ในโครงสร้างโมเลกุล

4.2.2 ชนิดของเส้นใยไนล่อน มี 2 ชนิด คือ ความเหนียวปกติ, ความเหนียวสูงมีน้ำหนักโมเลกุล 12,000 - 22,000 โดยสารตั้งต้น ไนลอน 6,6 คือ hemamethylene diamine + adipic acid และไนลอน 6 คือ carprolactam

4.2.3 การใช้งานของไนล่อน ใช้ทำพรม ทำเป็นเสื้อผ้าเครื่องนุ่งห่ม โดยเฉพาะชุดชั้นใน ใช้ทำเป็นผ้าสำหรับตกแต่งบ้าน ใช้เป็นชุดอาบน้ำ ถุงเท้า ถุงมือ ถุงน่อง และใช้ในอุตสาหกรรม เช่น สายพาน ผ้ากรอง แห อวน เชือก ร่มชูชีพ สกรีน ยางรถยนต์ กระโจมผ้าใบ

5. หลักการพื้นฐานและทฤษฎีของเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์

5.1 ความรู้พื้นฐานสเปกโทรสโคปี (Spectroscopy)

สเปกโทรสโคปี (Spectroscopy) เป็นการศึกษาอันตรกิริยา (interaction) ระหว่างสสาร (matter) กับ รังสีแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic radiation) ที่เกิดจากการเปลี่ยนระดับพลังงานของอิเลคตรอน (electronic) การเปลี่ยนระดับพลังงาน การหมุน (rotation) และการสั่นสะเทือน (vibration) ของโมเลกุล จากสเปกตรัมของโมเลกุลจะทำให้ทราบข้อมูลหลายอย่างเกี่ยวกับโครงสร้างของโมเลกุลของสสารและสมบัติทางเคมี เช่น

สมมาตรของโมเลกุล (symmetry)

ความยาวพันธะ (bond length)

มุมพันธะ (bond angle)

ความแข็งแรงของพันธะ (bond strength)

การเปลี่ยนแปลงภายในและระหว่างโมเลกุล

หรืออีกนัยหนึ่ง สเปกโทรสโคปี อาจหมายถึง การตรวจสอบ และการบันทึกพลังงานที่เปลี่ยนไปของนิวเคลียส อะตอม ไอออน หรือโมเลกุลพลังงานที่เปลี่ยนไปนี้เกิดจากการปลดปล่อย (emission) การดูดกลืน (absorption) หรือการกระเจิง (scattering) ของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า

รังสีแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic radiation)

รังสีแม่เหล็กไฟฟ้า เป็นพลังงานรูปหนึ่งที่ประกอบด้วยสนามแม่เหล็กและสนามไฟฟ้าซึ่งเคลื่อนที่ไปในทิศทางเดียวกันแต่อยู่ในระนาบตั้งฉากซึ่งกันและกันโดยสมบัติจะเป็นปฏิกิริยาร่วมระหว่างสนามไฟฟ้าและสนามแม่เหล็ก

รังสีแม่เหล็กไฟฟ้าแสดงสมบัติ 2 ประการคือ เป็นทั้งคลื่น และอนุภาค

1. สมบัติความเป็นคลื่น (wave) ได้แก่ ปรากฏการณ์ต่าง ๆ เช่น การหักเห การสะท้อนการเสริมหรือการหักล้างกัน การกระจาย การแทรกสอด เป็นต้น

2. สมบัติความเป็นอนุภาค (particle) ซึ่งอนุภาคของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าเรียกว่าโฟตอน (photon) หรือควอนตัม (quantum) ซึ่งมีพลังงานที่แน่นอนและเคลื่อนที่ไปด้วยความเร็วแสง

ช่วงของสเปคตรัมของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (Electromagnetic spectrum)

คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่นำมาใช้ประโยชน์ทางเคมี มีช่วงคลื่นตั้งแต่ รังสีแกมม่า (gamma ray) จนถึงคลื่นวิทยุ (radio wave)

ช่วงคลื่นวิทยุ (Radio-frequency region) อยู่ในช่วงความถี่ 3×10^{6} ถึง 3×10^{10} Hz หรือมีความยาวคลื่นประมาณ 1m ถึง 1 cm การเปลี่ยนแปลงของพลังงานในช่วง 10^{-3} 10 ถึง J mol^{-1} เกิดจากการเปลี่ยนแปลงสปิน (spin) ของนิวเคลียส (nucleus) หรืออิเลคตรอน (electron) แล้วเกิดอันตรกิริยากับสนามแม่เหล็กของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่ความถี่ที่เหมาะสม เทคนิคที่เกี่ยวข้องคือ nuclear magnetic resonance (NMR), electron spin resonance (ESR) spectroscopy

ช่วงคลื่นไมโครเวฟ (Microwave region) อยู่ในช่วงความถี่ 3×10^{10} ถึง 3×10^{12} Hz หรือมีความยาวคลื่นประมาณ1 cm ถึง 100 μm การเปลี่ยนแปลงของพลังงานเกิดจากการหมุนของโมเลกุล (rotation) ความแตกต่างของระดับพลังงานของการหมุนอยู่ในช่วง 102 J mol^{-1} การหมุนของโมเลกุล จะเกิดสนามไฟฟ้า (electricfiled) ที่เกิดอันตรกิริยากับส่วนที่เป็นสนามไฟฟ้าของคลื่นไมโครเวฟและให้ไมโครเวฟสเปคตรัมออกมา เทคนิคที่เกี่ยวข้องคือ microwave spectroscopy

ช่วงคลื่นอินฟราเรด (Infrared region) อยู่ในช่วงความถี่ 3×10^{12} ถึง 3×10^{14} Hz หรือมีความยาวคลื่นประมาณ 100 μm ถึง 1 μm การเปลี่ยนแปลงของพลังงานที่เกี่ยวข้องเกิดจากการสั่นของโมเลกุล (vibration) ความแตกต่างของระดับพลังงานของการสั่นอยู่ในช่วง 104 J mol^{-1} เทคนิคที่เกี่ยวข้องคือ Infrared spectroscopy (IR), Raman spectroscopy

ช่วงคลื่นวิสิเบิลและอัลตราไวโอเลต (Visible and Ultraviolet region) อยู่ในช่วงความถี่ 3×10^{14} ถึง 3×10^{16} Hz หรือมีความยาวคลื่นประมาณ 1 μm ถึง 10 mm การเปลี่ยนแปลงของพลังงานที่เกี่ยวข้องเกิดจากการเปลี่ยนระดับพลังงานของอิเลคตรอนความแตกต่างของระดับ

พลังงานของอิเลคตรอนวงนอกสุดประมาณ 100 kJ mol^{-1} เทคนิคที่เกี่ยวข้องคือ UV-Visible spectroscopy

ช่วงคลื่นรังสีเอกซ์ (X-ray region) อยู่ในช่วงความถี่ $3 \times 10^{16} - 3 \times 10^{18}$ Hz เทคนิคที่เกี่ยวข้องคือ X-ray diffractometry

ช่วงคลื่นรังสีแกมม่า (gamma-ray region) อยู่ในช่วงความถี่ $3 \times 10^{18} - 3 \times 10^{20}$ Hz

5.2 ความรู้พื้นฐานของอินฟราเรด สเปกโทรสโคปี (Infrared Spectroscopy)

อินฟราเรด สเปกโทรสโคปี (Infrared Spectroscopy) เป็นเทคนิคอย่างหนึ่งที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์ ตรวจสอบพิสูจน์และศึกษาเกี่ยวกับโมเลกุลของสาร ซึ่งอาจอยู่ในสถานะของแข็ง ของเหลว หรือแก๊ส โดยจะให้ข้อมูลซึ่งเป็นข้อมูลที่เกี่ยวกับการสั่น (Vibration) และการหมุน (Rotation) ของโมเลกุล เทคนิคนี้มีข้อแตกต่างกับเทคนิครามานสเปกโทรสโคปี (Raman-spectroscopy) ตรงที่กลไกของการเกิดอันตรกิริยาระหว่างรังสี (Radiation) กับโมเลกุลหรือ molecular species เท่านั้น อินฟราเรดสเปกโทรสโคปีเป็นเรื่องที่เกี่ยวกับการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดของสาร แต่รามานสเปกโทรสโคปีเป็นเรื่องของการชนแบบไม่ยืดหยุ่น (inelastic collision) ระหว่างโฟตอนกับโมเลกุลของสาร พลังงานบางส่วนถูกถ่ายเทไปยังโมเลกุลทำให้เกิดการสั่นและการหมุนของโมเลกุลแล้วเกิดการกระเจิงออกไป

อินฟราเรด สเปกโทรสโคปี (Infrared Spectroscopy)

อินฟราเรดให้ข้อมูลที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพในการหาหมู่ฟังค์ชันในโมเลกุลของสารประกอบอินทรีย์ ย่านอินฟราเรดในสเปคตรัมของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่ให้ประโยชน์มากที่สุดต่อนักเคมีอินทรีย์คือ ย่านความถี่ระหว่าง 4,000–650 ซม$^{-1}$ (ซม$^{-1}$ เป็นหน่วยของจำนวนคลื่นต่อวินาที หรือเรียกว่า เลขคลื่น) และความยาวคลื่นระหว่าง 2.5–15 ไมโครเมตร (1 ไมโครเมตร (μm) = 10^{-6} เมตร)

การดูดกลืนรังสีอินฟราเรดตรงกับพลังงานในช่วง 2-10 กิโลแคลอรี่ต่อโมล พลังงานของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าในย่านนี้ก่อให้เกิดการสั่นแบบยืด (stretching) และแบบงอ (bending) ของพันธะในโมเลกุลของสาร การดูดกลืนรังสีอินฟราเรดเป็นขบวนการควันไทส์ (quantized) กล่าวคือ การที่สารจะดูดกลืนรังสีอินฟราเรดนั้น ความถี่ของรังสีที่ถูกดูดกลืนจะต้องตรงกับความถี่ของการสั่นของพันธะเท่านั้น

นอกจากนี้ การสั่นของพันธะทุกประเภทในโมเลกุลมิได้ให้พีคใน IR สเปคตรัมเสมอไป การสั่นของพันธะที่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงไดโพลโมเมนต์ (dipole moment) เท่านั้นที่จะมี พีค

ปรากฏใน IR สเปคตรัม ตัวอย่างเช่น การสั่นของพันธะ C=C ใน RCH=CHR ไม่มีพีคใน IR สเปคตรัม ส่วนการสั่นของ C=O ในสารประกอบคาร์บอนิลเกิดพีคที่มีความเข้มสูงใน IR สเปคตรัม โดยทั่วไป แถบที่เกิดใน IR สเปคตรัม เกิดจากการสั่นแบบพื้นฐาน ได้แก่ การยืดและ การงอ ยังมีแถบที่มีความเข้มต่ำเกิดที่ความถี่ 2 เท่า 3 เท่า หรือ 4 เท่าของความถี่แบบ พื้นฐาน แถบเหล่านี้เรียกว่า overtone ซึ่งเกิดเมื่อความถี่พื้นฐานมีความเข้มสูง

บางครั้ง อาจมีแถบเกิดที่ความถี่ที่เป็นผลบวกหรือผลต่างของความถี่แบบพื้นฐาน แถบเหล่านี้เรียกว่า combination bands ถ้า overtone หรือ combination bands เกิดใกล้กับแถบ พื้นฐาน ผลก็คือ ทำให้ความเข้มของแถบพื้นฐานลดลง แต่ไปเพิ่มความเข้มของ overtone และ combination bands ปรากฏการณ์นี้ คือเกิด Fermi resonance และพีคทั้งคู่บางครั้งเรียกว่า Fermi doublet

ตารางที่ 2 การดูดกลืนรังสีอินฟราเรดของหมู่ฟังชันต่างๆ ในย่านความถี่ 4,000–650 ซม$^{-1}$

cm^{-1}	**หมู่ฟังค์ชัน**	**รายละเอียด**
3600-3400	O–H stetching	3650-3590 cm^{-1} (sh, w) แอลกอฮอลอิสระ 3400-3200 cm^{-1} (b) แอลกอฮอลที่เกิดพันธะไฮโดรเจน 3400-2400 cm^{-1} (vs, vb) กรดคาร์บอกซิลิก
3500-3200	N–H stretching	3200-3400 cm^{-1}(m) 1^{O} เอมีนและเอมีด มี 2 แถบ 3200-3400 cm^{-1}(w) 2^{O} เอมีนและเอมีด มี 1 แถบ
3300 (vs)	=C–H stretching	3300 cm^{-1} อัลไคน์ที่มี =C–H ที่ปลายโซ่
3100-3000 (w, sh)	=C–H stretching	อัลคีนและเบนซีน (อาจมีหลายพีค)
3000-2800	C–H stretching	หมู่ CH_3 , CH_2 และ CH ของอัลเคน
2850-2780	C–H stretching	แอลดีไฮด์
2250-2225	C=N stretching	ไนทริล (m)
2260-2100	C=C stretching	อัลไคน์ (w) โมเลกุลที่สมมาตรจะไม่มีแถบนี้ปรากฏ
1820-1760 (s)	C=O stretching	แอนไฮไดรด์ (s) มี 2 แถบ
1800 (s)	C=O stretching	กรดคลอไรด์
1770 (s)	C=O stretching	แกมม่า-แลกโตน
1735 (s)	C=O stretching	เอสเทอร์
1725 (s)	C=O stretching	แอลดีไฮด์
1715 (s)	C=O stretching	คีโตน

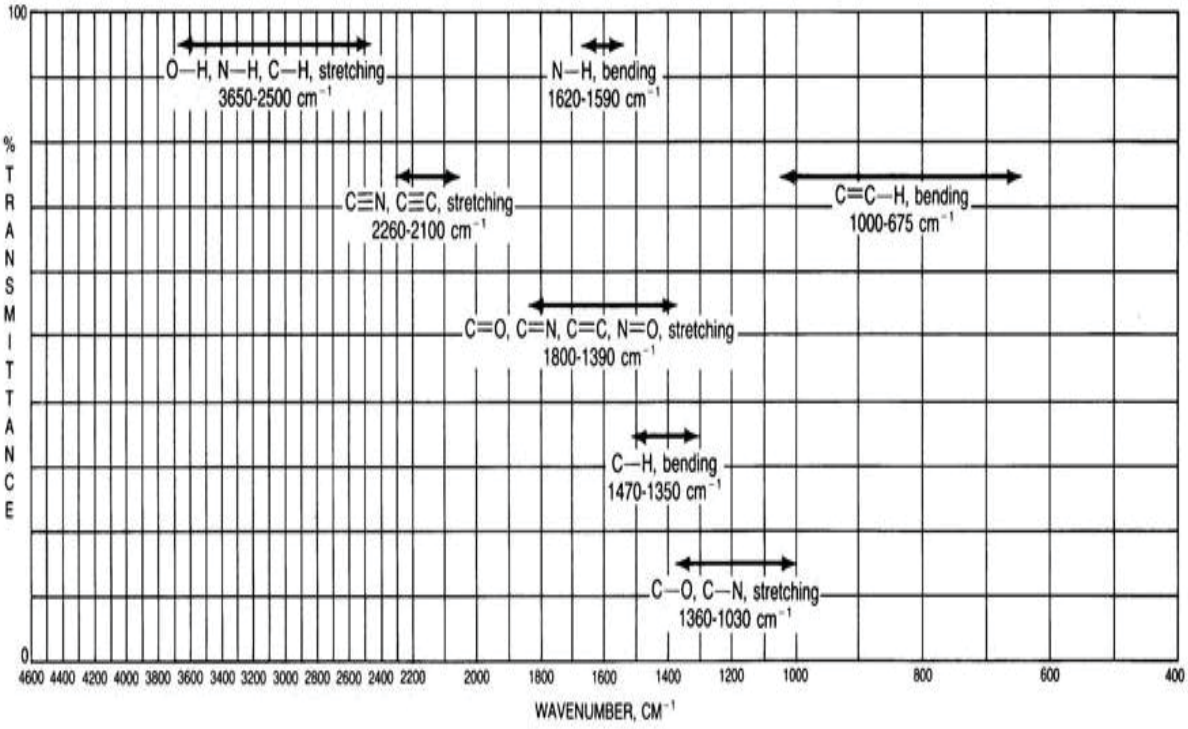
ตารางที่ 2 การดูดกลืนรังสีอินฟราเรดของหมู่ฟังชันต่างๆ ในย่านความถี่ 4,000–650 ซม$^{-1}$ (ต่อ)

cm^{-1}	**หมู่ฟังค์ชัน**	**รายละเอียด**
1710 (s)	C=O stretching	กรดคาร์บอกซิลิก
1690-1650 (s)	C=O stretching	เอไมด์
1650-1600 (w)	C=C stretching	อัลคีน
1650-1590 (s-m)	N–H bending	1^{O} เอมีน
1650-1550 (w)	N–H bending	2^{O} เอมีน
1620-1590 (s)	N–H bending	1^{O} เอมีด
1550-1510 (s)	N–H bending	2^{O} เอมีด
1600, 1580, 1500 และ1450	C=C stretching	เบนซีนและเบนซีนที่มีหมู่แทนที่ ความเข้มไม่แน่นอน อาจมี 2 , 3 หรือมีทั้ง 4 แถบ
1520 (s) และ 1350 (s)	NO2 bending	สารประกอบไนโตร
1465-1450	C–H bending	หมู่ CH_2
1450-1375	C–H bending	หมู่ CH_3
1400-1000	C–F stretching	สารประกอบฟลูออไรด์
1300-1150	CH_2–X	สารประกอบเฮโลเจน
1300-1000	C–O stretching	อีเธอร์และเอสเทอร์
1220	C–O stretching	ฟีนอล
1150	C–O stretching	3° แอลกอฮอล
1100	C–O stretching	2^{O} แอลกอฮอล
1050	C–O stretching	1^{O} แอลกอฮอล
990 และ 910	C–H (OOP bending)	อัลคีน (หมู่แทนที่ 1 หมู่ , RCH=CH_2)
970	C–H (OOP bending)	อัลคีน (หมู่แทนที่ 2 หมู่ , trans)
890	C–H (OOP bending)	อัลคีน (หมู่แทนที่ 2 หมู่ , R_2C=CH_2)
815	C–H (OOP bending)	อัลคีน (หมู่แทนที่ 3 หมู่ , R_2C=CHR)
700-690	C–H (OOP bending)	อัลคีน (หมู่แทนที่ 2 หมู่ , cis)
750 และ 690	C–H (OOP bending)	เบนซีน (หมู่แทนที่ 1 หมู่)
750	C–H (OOP bending)	เบนซีน (หมู่แทนที่ 2 หมู่แบบ ออโท)

ตารางที่ 2 การดูดกลืนรังสีอินฟราเรดของหมู่ฟังชันต่างๆ ในย่าน ความถี่ 4,000–650 ซม$^{-1}$ (ต่อ)

cm^{-1}	**หมู่ฟังค์ชัน**	**รายละเอียด**
780 และ 700	C–H (OOP bending)	เบนซีน (หมู่แทนที่ 2 หมู่ แบบ เมตา)
825-800	C–H (OOP bending)	เบนซีน (หมู่แทนที่ 2 หมู่ แบบ พารา)
800-600	C–Cl	สารประกอบคลอไรด์
600-500	C–Br	สารประกอบโบรไมด์
~ 500	C–I	สารประกอบไอโอไดด์

คำย่อ : s = ความเข้มสูง , vs = ความเข้มสูงมาก , m = ความเข้มปานกลาง , w = ความเข้มต่ำ , vw = ความเข้มต่ำมาก , Sh = แหลมคม, b = กว้าง, vb = กว้างมาก, OOP = out – of – plane (การสั่นออกนอกระนาบ)



ภาพที่ 5 ความถี่ของการดูดกลืนรังสีอินฟาเรดของหมู่ฟังก์ชันที่สามัญบางชนิด

ที่มา : ความถี่ย่านรังสี IR ที่เป็นลักษณะพิเศษของหมู่ฟังก์ชันบางหมู่, อ้างถึงใน วิชัย ริ้วตระกูล, **การประยุกต์สเปคโตรสโคปีในเคมีอินทรีย์**(กรุงเทพมหานคร:โรงพิมพ์นำอักษรการพิมพ์, 2526), 72

5.3 เครื่องมือที่ใช้บันทึก IR สเปคตรัม

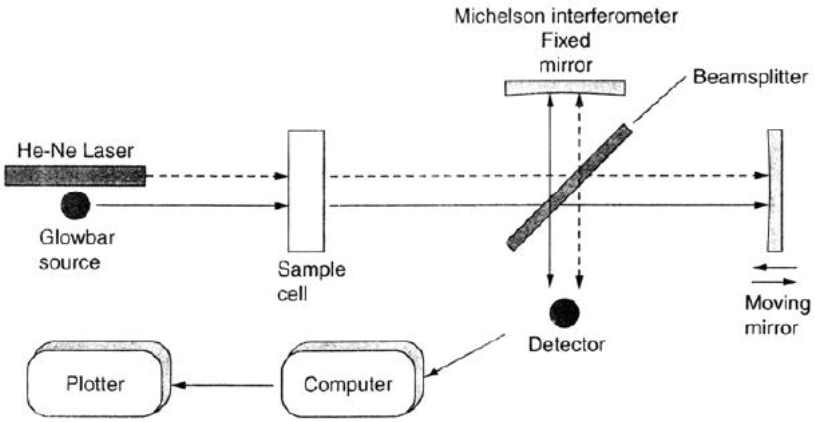
เครื่องมือที่ใช้บันทึก IR สเปคตรัม คือ IR สเปคโตรมิเตอร์ ซึ่งอาจเป็นแบบธรรมดาหรือ FTIR สเปคโตรมิเตอร์

5.3.1 IR สเปคโตรมิเตอร์แบบธรรมดา

IR สเปคโตรมิเตอร์แบบธรรมดาประกอบด้วยแหล่งกำเนิดรังสีเป็น Nernst glower ซึ่ง เป็นสารผสมของออกไซด์ของ zirconium, yttrium และ thorium จะถูกเผาด้วยไฟฟ้าแรงสูงและให้กำเนิดรังสี IR รังสี IR จะถูกแยกออกเป็นลำรังสีสองลำโดยการสะท้อนด้วยกระจก ลำรังสีลำหนึ่งจะผ่านเซลล์ของสารตัวอย่าง อีกลำหนึ่งเรียกว่า ลำรังสีอ้างอิงซึ่งจะผ่านเซลล์สารอ้างอิง ลำรังสีที่ผ่านสารตัวอย่างและลำรังสีอ้างอิงจะวิ่งไปยัง beam chopper ซึ่งเป็นเสี้ยวกระจกเงาที่หมุนได้

5.3.2 FTIR สเปคโตรมิเตอร์

หัวใจของ FTIR สเปคโตรมิเตอร์ เป็น Michelson interferometer ดังแสดงในรูปที่ 5 ใน FTIR สเปคโตรมิเตอร์ รังสี IR จากแหล่งกำเนิด Globar ผ่านสารตัวอย่าง และต่อไปยัง beam splitter (อุปกรณ์แยกลำรังสี) ซึ่งจะแยกลำรังสีที่ผ่านสารตัวอย่างแล้วกึ่งหนึ่งไปยังกระจกที่หมุนได้ (moving mirror) และสะท้อนลำรังสีอีกกึ่งหนึ่งไปยังกระจกที่ยึดกับที่ ทั้งลำรังสีที่สะท้อนและที่ผ่านสารตัวอย่าง (Transmitted beam) จะถูกสะท้อนกลับไปที่ beam splitter



ภาพที่ 6 Michelson interferometer ใน FTIR สเปคโตรมิเตอร์

ที่มา : ธีรยุทธ วิไลวัลย์ , **อินฟราเรด สเปกโตรสโคปี**, เข้าถึงเมื่อ 25 มกราคม 2555

เข้าถึงได้จาก http://www.chemistry.sc.chula.ac.th/course_info/2302275/ir-265.pdf

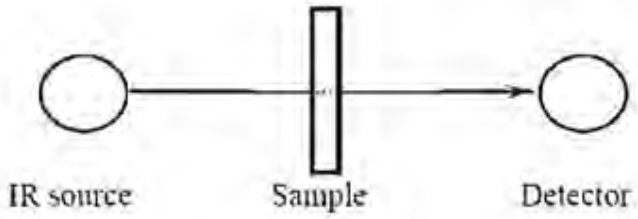
หลักการทำงานของ FTIR เป็นเทคนิคในการวิเคราะห์สารชนิดหนึ่งที่มีประสิทธิภาพและนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี เนื่องจากการวิเคราะห์ที่ไม่ยุ่งยาก

ประกอบกับการ Sampling technique ที่หลากหลายทำให้สามารถประยุกต์ใช้กับตัวอย่างได้ทุกสถานะ ไม่ว่าจะเป็นของแข็ง ของเหลว ก๊าซ หลักการจะมีการกระตุ้นสารด้วยพลังงานแสง เมื่อแสงอินฟราเรด (Infrared light) ที่ความยาวคลื่นต่างๆ ผ่านสู่สารอินทรีย์ พันธะเคมีในโมเลกุลของสารจะดูดกลืนพลังงานที่ความยาวคลื่นหนึ่ง ข้อมูลนี้จะถูกประมวลโดยคอมพิวเตอร์โดยการใช้สมการดิฟเฟอร์เรนเชียล (Differential equation) ที่เรียกว่า Fourier transform ซึ่งจะคำนวณพลังงานของแต่ละความยาวคลื่นและแปลผลออกมาเป็นสเปกตรัม เนื่องจากสารแต่ละชนิดให้สเปกตรัมที่มีลักษณะเฉพาะจึงสามารถนำมาเปรียบเทียบกับสเปกตรัมของสารที่มีอยู่ในฐานข้อมูล เพื่อใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์และบ่งชี้ชนิดของสารตัวอย่าง

โดยเทคนิคการวัดด้วย FTIR มีการ Sampling หลายเทคนิค เช่น Transmission, Attenuated Total Reflectance Spectroscopy (ATR) เป็นต้น

5.3.2.1 Transmission

หลักการของเทคนิคนี้คือแสงอินฟราเรดจะส่องผ่านตัวอย่างและตกสู่ตัวตรวจวัดสัญญาณ สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งตัวอย่างที่เป็นของแข็ง ของเหลว และก๊าซ สำหรับตัวอย่างที่เป็นผงสามารถทำการวิเคราะห์ได้ในรูปของ KBr pellet หรือ Nujol mull ส่วนตัวอย่างที่เป็นฟิล์ม เช่น ฟิล์มโพลิเมอร์นั้นสามารถทำการวิเคราะห์ได้ทันทีโดยไม่จำเป็นต้องมีการเตรียมตัวอย่างเลย ถ้าหากฟิล์มมีความหนาไม่เกิน 10-20 ไมโครเมตร หรือหากโพลิเมอร์อยู่ในรูปอื่นอาจทำการวิเคราะห์ได้โดยละลายโพลิเมอร์ให้อยู่ในรูปของสารละลายแล้ว Cast ลงบน Transmission window และทำการวิเคราะห์ได้ทันที สเปคตรัมที่ได้จากเทคนิคนี้เป็นสัดส่วนโดยตรงกับความหนาและความเข้มข้นของตัวอย่าง อย่างไรก็ตามเทคนิคนี้มีข้องจำกัดคือไม่สามารถใช้วิเคราะห์ตัวอย่างที่มีความหนามากๆ ได้ โดยไม่ทำลายตัวอย่าง ไม่สามารถใช้วิเคราะห์ฟิล์มบางที่เคลือบอยู่บน Substrate ที่ทึบแสงและในกรณีที่ไม่สามารถเตรียมตัวอย่างให้บางหรือมีความเข้มข้นต่ำๆได้



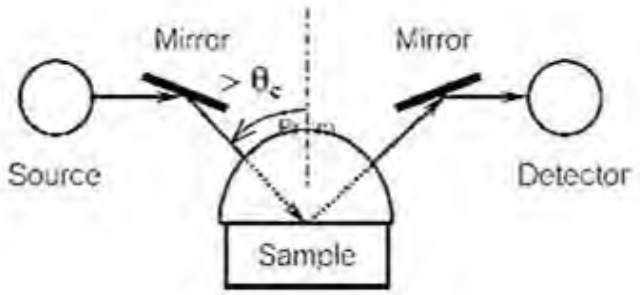
ภาพที่ 7 หลักการทำงานของเทคนิค Transmission

มา : ธีรยุทธ วิไลวัลย์, **อินฟราเรด สเปกโตรสโคปี**, เข้าถึงเมื่อ 25 มกราคม 2555

เข้าถึงได้จาก http://www.chemistry.sc.chula.ac.th/course_info/2302275/ir-265.pdf

5.3.2.2 Attenuated Total Reflectance Spectroscopy (ATR)

ATR เป็นเทคนิคที่ใช้สำหรับการศึกษาพื้นผิวของวัตถุ และวิธีนี้สามารถใช้ได้ดีกับตัวอย่างที่มีลักษณะทึบแสงหรือมีความหนามากเกินกว่าที่จะวิเคราะห์ด้วยวิธี Transmission ได้ อาศัยหลักการของ Internal total reflection กล่าวคือแสงอินฟราเรดจะเดินทางจากตัวกลางที่มีค่าดัชนีหักเหสูงกว่า (ATR prism) มาตกกระทบที่บริเวณรอยต่อระหว่าง ATR prism กับตัวอย่างที่มีค่าดัชนีหักเหแสงต่ำกว่าด้วยมุมตกกระทบที่มากกว่ามุมวิกฤต เนื่องจากในเทคนิค ATR นั้นแสงอินฟราเรดไม่ได้ส่องผ่านตัวอย่าง แต่จะเกิดการสะท้อนกลับที่บริเวณผิวหน้าของตัวอย่างซึ่งทำให้เกิดสนามไฟฟ้าขึ้นที่บริเวณดังกล่าว สนามไฟฟ้านี้จะ Penetrate เข้าไปในตัวอย่าง โดยความแรงของสนามไฟฟ้าจะมากที่สุดบริเวณผิวหน้าของตัวอย่าง และลดลงแบบ exponential ไปตามความลึกจนกระทั่งเป็นศูนย์ในที่สุด ซึ่งความลึกที่สนามไฟฟ้าลดลงเป็นศูนย์นั้นเพียงแค่ประมาณ 1-2 ไมโครเมตร จากผิวหน้าของตัวอย่างเท่านั้น ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากเทคนิคนี้จึงเป็นข้อมูลเชิงผิวของตัวอย่าง เทคนิคนี้สามารถประยุกต์ใช้กับตัวอย่างทั้งที่เป็นของเหลวและของแข็ง อย่างไรก็ตามเทคนิค ATR เป็นเทคนิคที่ต้องอาศัยการสัมผัสกันระหว่าง ATR prism กับตัวอย่างและคุณภาพของการสัมผัสดังกล่าวโดยตรง ดังนั้นสำหรับตัวอย่างที่สามารถสัมผัสกับ prism ได้ดีเช่น ของเหลวหรือของแข็งที่นุ่มและยืดหยุ่นได้นั้นสามารถทำการตรวจวิเคราะห์ได้ทันที แต่หากเป็นของแข็งที่ผิวหน้าไม่เรียบจำเป็นจะต้องเตรียมตัวอย่างให้มีผิวหน้าเรียบก่อน จึงทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ATR ได้



ภาพที่ 8 หลักการทำงานของเทคนิค Attenuated Total Reflectance

ที่มา : ธีรยุทธ วิไลวัลย์, **อินฟราเรด สเปกโตรสโคปี**, เข้าถึงเมื่อ 25 มกราคม 2555

เข้าถึงได้จาก http://www.chemistry.sc.chula.ac.th/course_info/2302275/ir-265.pdf

6. บทความและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Barcot O และคณะ ได้ทำการวิจัยและตีพิมพ์ในวารสาร Applied Spectroscopy ในปี 2006 มีการวิเคราะห์และบันทึกข้อมูลไว้ว่า เทคนิค FTIR สามารถแสดงสเปกตรัมของตัวอสุจิและน้ำอสุจิของมนุษย์ได้ และเทคนิคนี้มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างในวิธีการตรวจที่ง่าย โดยการกำหนดของ band ได้อ้างอิงมาจากแหล่งกำเนิดการรวมลักษณะของตัวอสุจิ (Sperm specific doublet) ซึ่งพิจารณา ณ ตำแหน่ง band ที่ความยาวคลื่น 968 cm^{-1} และ 981 cm^{-1} เพื่ออธิบายสเปกตรัมที่มีความจำเพาะและมีความสัมพันธ์กับตัวอสุจิ เช่น ความเข้มข้น, ความเร็วในการเคลื่อนที่ (VSL), จังหวะสัญญาณความถี่ (BCF) ดังนั้น พารามิเตอร์ของสเปกตรัมแบบง่ายนี้ได้ถูกทดสอบและวิเคราะห์เชื่อมโยงความสัมพันธ์เพื่อให้ทราบถึงเอกลักษณ์ของอสุจิ ซึ่งพบว่าบริเวณ band ของสเปกตรัม Amide I ระหว่างความยาวคลื่น 1700 cm^{-1} และ 1590 cm^{-1} มีความสัมพันธ์จำเพาะกับความเข้มข้นของอสุจิ และ band ที่มีความยาวคลื่นระหว่าง 1119 cm^{-1} และ 943 cm^{-1} ถูกกำหนดให้เป็นบริเวณแสดงเอกลักษณ์จำเพาะของปริมาณกรดนิวคลีอิกซึ่งสัมพันธ์กับโปรตีน และตำแหน่ง band ที่ความยาวคลื่นระหว่าง 3678 cm^{-1} และ 2749 cm^{-1} ส่วนใหญ่เป็นไขมันและโปรตีน อีกทั้งผลการวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า เทคนิค FTIR มีประโยชน์เพื่อช่วยส่งเสริมการศึกษาเกี่ยวกับหน้าที่ของเซลล์และเนื้อเยื่อด้วย

Kelly Virkler และ Igor K. Lednev ได้ทำการวิจัยและตีพิมพ์ในวารสาร Forensic Science International ในปี 2008 โดยนำวัตถุพยายานที่เป็นคราบน้ำอสุจิ สารคัดหลั่งจากช่องคลอด เหงื่อ น้ำลาย และเลือด ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Confocal Raman spectroscopy ที่การกระตุ้น 785 nm. ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่า สามารถแยกสารคัดหลั่ง 5 ชนิดจากตัวอื่นๆได้ โดยการเปลี่ยนแปลงของเส้นสเปกตรัมรามาน อีกทั้งแสงเลเซอร์ที่ใช้ในการทดสอบนั้นไม่ทำลายตัวอย่าง โดยสัญญาณรามานของสารคัดหลั่งแต่ละชนิดจะมีความจำเพาะและสัมพันธ์กับองค์ประกอบที่มีอยู่ในตัวอย่างนั้นๆ ซึ่งวัตถุพยานคราบน้ำอสุจิของมนุษย์ มีสัญญาณรามานที่แตกต่างกับของสุนัข อย่างชัดเจน การศึกษาเบื้องต้นนี้ แสดงถึงประสิทธิภาพที่ดีของรามานสเปกโทรสโคปี ที่ไม่ทำลายหลักฐาน สามารถยืนยันและคัดแยกสารคัดหลั่งจากร่างกายของมนุษย์ ซึ่งนำไปใช้ตามจุดประสงค์ทางนิติวิทยาศาสตร์ได้

คุณสุทธิดา บุญญภัทร ได้นำเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) มาใช้ในการตรวจประมาณหาอายุของคราบน้ำอสุจิ ทำการทดลองโดยนำน้ำอสุจิของมนุษย์มาหยดลงบนกระจกสไลด์แล้วปล่อยไว้ที่อุณหภูมิห้องที่ระยะเวลาต่างๆกัน จากนั้นนำมาเตรียมตัวอย่างโดยใช้วิธี KBr disc และวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FTIR สเปกตรัม IR ของตัวอย่างแสดงองค์ประกอบของโปรตีนจากแบนด์ที่เด่นของพีค Amide I ในช่วงเลขคลื่น 1700 – 1600 cm^{-1} และพีค Amide II

ในช่วงเลขคลื่น 1590 – 1480 cm^{-1} องค์ประกอบของกรดนิวคลีอิคจากแบนด์ที่เลขคลื่น 1245 cm^{-1} และ 1080 cm^{-1} ซึ่งแสดงถึงการยืดหดแบบไม่สมมาตรและสมมาตรของหมู่ฟอสเฟต ตามลำดับ จากนั้นวัดพื้นที่ใต้พีคระหว่าง 1080 cm^{-1} และ 1500 cm^{-1} (A_{1800}) และคำนวนเป็นอัตราส่วนของพื้นที่ที่วัดได้กับพื้นที่ของพีคที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเวลาผ่านไปในช่วง 860 – 820 cm^{-1}(A_{1800}) แล้ว เมื่อนำอัตราส่วนของพีคมาพลอตกราฟเทียบกับอายุของตัวอย่าง พบว่า มีการลดลงเป็นเส้นตรงอย่างมีนัยสำคัญ สามารถประมาณอายุของคราบอสุจิได้ใกล้เคียงกับอายุจริงของอสุจิ ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการประมาณอายุของคราบอสุจิในที่เกิดเหตุได้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาวิจัยเรื่อง การตรวจหาคราบอสุจิโดยใช้เทคนิค Attenuated Total Reflection Infrared Spectroscopy (ATR-IR) เป็นการวิจัยวิเคราะห์เชิงทดลอง มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาคราบอสุจิด้วยเทคนิค ATR-IR และวิธีทดสอบ Acid phosphates (AP test) โดยนำน้ำอสุจิจากอาสาสมัครมาหยุดลงบนในสำลีและหยดลงบนแผ่นกระจกสไลด์ แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลา 1,3,7 และ 14 วัน จากนั้นนำมาตรวจวิเคราะห์หาคราบอสุจิด้วยเทคนิค ATR-IRและวิธี AP testโดยมีขั้นตอนในการดำเนินการวิจัยดังนี้

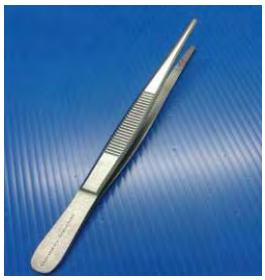
1. อุปกรณ์ สารเคมี และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1.1 **อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย**

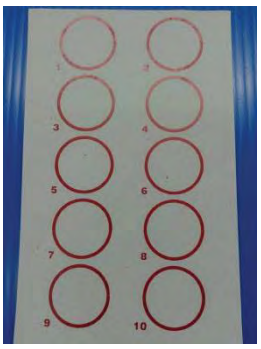
ตารางที่ 3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

อุปกรณ์	รูปภาพ
1.1.1 ภาชนะเก็บตัวอย่างอสุจิ	
1.1.2 ไม้ก้านพันสำลี (Cotton Swabs)	

ตารางที่ 3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย (ต่อ)

อุปกรณ์	รูปภาพ
1.1.3 แผ่นกระจกสไลด์ (Slide)	
1.1.4 ผ้าตัดขนาด 1X1 นิ้ว	
1.1.5 ถุงใส่ตัวอย่าง	
1.1.6 Forceps	

ตารางที่ 3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย (ต่อ)

อุปกรณ์	รูปภาพ
1.1.7 Automatic pipette และ Tip	
1.1.8 หลุมทดสอบ (well plate)	
1.1.9 นาฬกาสำหรับจับเวลา	
1.1.10 กรรไกร	

1.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

ตารางที่ 4 สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

น้ำยา/แหล่งที่มา	รูปภาพ
1.2.1 น้ำยาตรวจหาเอนไซม์ Acid phosphates ของบริษัท Sigma	

1.3. เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

ตารางที่ 5 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

เครื่องมือ/แหล่งที่มา	รูปภาพ
1.3.1 เครื่อง Attenuated Total Reflection Infrared Spectroscopy (ATR-IR) ยี่ห้อ Perkin Elmer รุ่น Universal ATR sampling accessory	

2. ตัวอย่างอสุจิที่ใช้ในการวิจัย

น้ำอสุจิจากอาสาสมัครเพศชายอายุระหว่าง 20-45 ปี จำนวน 3 คน

3. วิธีการทดลอง

ตัวอย่างอสุจิที่ใช้ในการวิจัย ให้อาสาสมัครทำการเก็บน้ำอสุจิด้วยวิธีช่วยตัวเองสำเร็จความใคร่ (Masturbation) ใส่ภาชนะเก็บตัวอย่างเป็นพลาสติกปากกว้างที่สะอาด

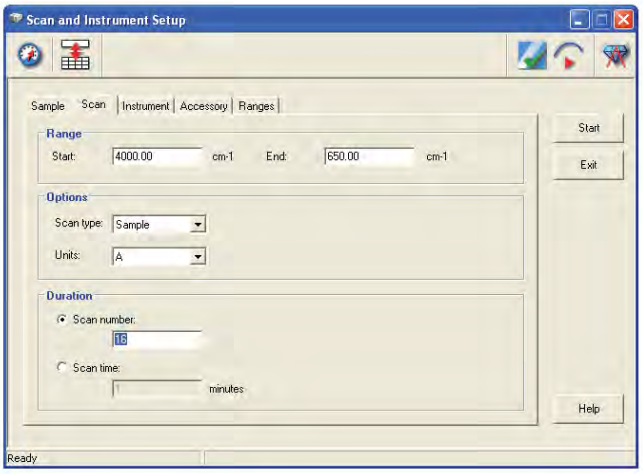
3.1 การศึกษาผลการตรวจหาอสุจิด้วยเทคนิค Attenuated Total Reflection Infrared Spectroscopy (ATR-IR) เป็นการวิจัยเชิงทดลอง ซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบว่า เครื่อง ATR-IR สามารถตรวจหาอสุจิได้อย่างมีประสิทธิภาพ

3.1.1 ใช้โปรแกรม Spectrum และตั้งสภาวะการทำงานของเครื่อง ATR-IR ที่ใช้ในการวิจัย ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 การตั้งสภาวะการทำงานของเครื่อง ATR-IR ที่ใช้ในการวิจัย

Cell	Diamond cell
Scan range	4000-660 cm^{-1}
Scan	16 ครั้ง
Resolution	2cm^{-1}
Force	80

3.1.1.1 โดยเข้าไปที่ Scan and Instrument setup และทำการตั้งค่า ดังภาพที่ 9



ภาพที่ 9 สภาวะที่ใช้ใน ATR-IR Setup

3.1.2 ทำการ Run background ตรวจความพร้อม ใช้งานของ Diamond cell

3.1.3 นำตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ใส่ลงบนช่องสำหรับวางตัวอย่าง ด้านบนเซลล์จะมีตัวหมุนสำหรับกดให้ตัวอย่างสัมผัสกับผิวเซลล์ใช้แรงกดประมาณ 80 แล้วจึงเริ่มสแกนตัวอย่าง ดังภาพที่ 10

ภาพที่ 10 การวางและหมุนกดตัวอย่าง บนเครื่อง ATR-IR

3.1.4 บันทึกผลสเปกตรัม (Spectrum) ที่ได้นำหมู่ฟังก์ชัน (Functional group) ที่พบเป็นองค์ประกอบของตัวอย่าง ไปวิเคราะห์ต่อไป

3.2 การศึกษาปริมาณอสุจิในสำลีที่สามารถตรวจวัดได้ด้วยเทคนิค ATR-IR เป็นการวิจัยเชิงทดลอง โดยมีวัตถุประสงค์คือต้องการหาปริมาณอสุจิที่เหมาะสมสำหรับนำไปเป็นข้อมูลในการเลือกและทดสอบในงานวิจัยนี้ต่อไปมีวิธีการคือ

3.2.1 นำอสุจิปริมาณ 50, 100, 150, 200, 300 และ 400 ไมโครลิตร (μl) มาหยดลงในสำลีแต่ละก้าน

3.2.2 พึ่งให้แห้งโดยอุณหภูมิห้องก่อนเก็บใส่ถุงเก็บตัวอย่าง

3.2.3 ทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคATR-IR เช่นเดียวกับในข้อ 3.1.3 และข้อ 3.1.4 โดยก่อนทำตัวอย่างต้องนำสำลีเปล่าๆที่ไม่มีคราบอสุจิมาทดสอบก่อน เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบและนำไปวิเคราะห์หาคราบอสุจิต่อไป

3.3 การศึกษาผลการตรวจวิเคราะห์หาอสุจิที่อยู่ในสำลีด้วยเทคนิค ATR-IR และวิธีการทดสอบ Acid phosphatase activity (AP test) มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาคราบอสุจิที่อยู่ในสำลีซึ่งเก็บในระยะเวลาต่างๆด้วยเทคนิค ATR-IR และวิธี AP test

3.3.1 การตรวจหาคราบอสุจิด้วยเทคนิค ATR-IR

3.3.1.1 นำน้ำอสุจิปริมาณ 150 µl มาหยดลงในสำลี

3.3.1.2 พึ่งให้แห้งโดยอุณหภูมิห้องก่อนเก็บใส่ถุงเก็บตัวอย่าง

3.3.1.3 เก็บไว้เป็นระยะเวลา 1, 3, 7 และ 14 วัน

3.3.1.4 ทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคATR-IR เหมือนข้อ 3.1.3

3.3.1.5 นำสเปกตรัมที่ได้มาวิเคราะห์ เพื่อทำการเปรียบเทียบผลการตรวจหาคราบอสุจิที่เก็บไว้เป็นระยะเวลาต่างๆ

3.3.2 การตรวจหาคราบอสุจิด้วยวิธี AP test โดย Brentamine fast blue test

การเตรียมน้ำยาทดสอบ

1. ผสมสารละลาย A (Alpha-Naphthyl acid) กับสารละลาย B (Brentamine fast blue) ในอัตราส่วน 9:1
2. นำไปกรองด้วยตัวกรองหรือกระดาษกรอง
3. เก็บสารละลายที่เตรียมไว้ในขวดสีชาเพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

วิธีการทดสอบ AP test

1. ทำตัวควบคุมในการทดสอบ เพื่อดูคุณภาพของนำยาที่นำมาใช้ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 7 ควบคุมคุณภาพการทดสอบ AP test

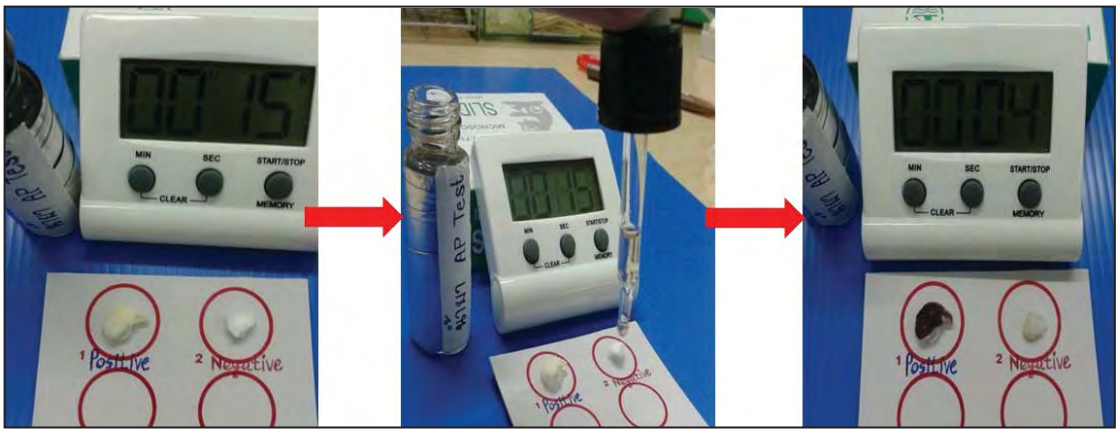
Control	**สิ่งที่ใช้ทดสอบ**
Positive control	สำสีที่มีอสุจิ
Negative control	สำลีที่มีน้ำกลั่น

2. นำสำลีเดิมที่มีคราบอสุจิที่ใช้ในการทดสอบด้วยเทคนิค ATR-IR ในเบื้องต้นมาทดสอบโดยวิธี AP test ต่อโดยใส่ในหลุมทดสอบตามลำดับ
3. หยดน้ำยา AP test ที่เตรียมไว้ลงหลุมทดสอบทั้งหลุมตัวควบคุมและหลุมตัวอย่าง

4. การอ่านผลทดสอบ ดูตามตารางที่ 8

ตารางที่ 8 การอ่านและสรุปผลทดสอบ

การอ่านผล	ผลการทดสอบ
เกิดการเปลี่ยนเป็นสีม่วง ภายใน 15 วินาที	Positive
ไม่มีการเปลี่ยนแปลงสี ภายใน 60 วินาที	Negative



ภาพที่ 11 การทำ Control AP test

3.4 การศึกษา อุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บตัวอย่าคราบอสุจิ ที่มีผลต่อการตรวจวิเคราะห์ ด้วยเทคนิค ATR-IR มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบผลการตรวจหาคราบอสุจิด้วย ATR-IR ซึ่งอุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บตัวอย่างมีความแตกต่างกัน

3.4.1 นำอสุจิปริมาณ 150 µl มาหยดลงในสำลีและหยดลงบนแผ่นกระจกสไลด์

3.4.2 พึ่งให้แห้งโดยอุณหภูมิห้องก่อนเก็บใส่ถุงเก็บตัวอย่าง

3.4.3 แยกเก็บไว้ในที่อุณหภูมิห้อง (22-25°C) และในตู้เย็น (2-6°C) เป็นเวลา 1, 3, 7 และ 14 วัน

3.4.4 ทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคATR-IR เหมือนข้อ 3.1.3

3.4.5 นำสเปกตรัมที่ได้มาวิเคราะห์ เพื่อเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บตัวอย่างคราบอสุจิที่มีต่อการตรวจด้วยเทคนิค ATR-IR

3.5 การศึกษา ผลการตรวจวิเคราะห์สารคัดหลั่งต่างๆ และเลือด จากร่างกายมนุษย์ ด้วยเทคนิคATR-IRมีวัตถุประสงค์เพื่อต้องการทราบและเปรียบเทียบความแตกต่างของผลการตรวจสารคัดคลั่งอื่นๆและเลือดกับอสุจิ ด้วย ATR-IR

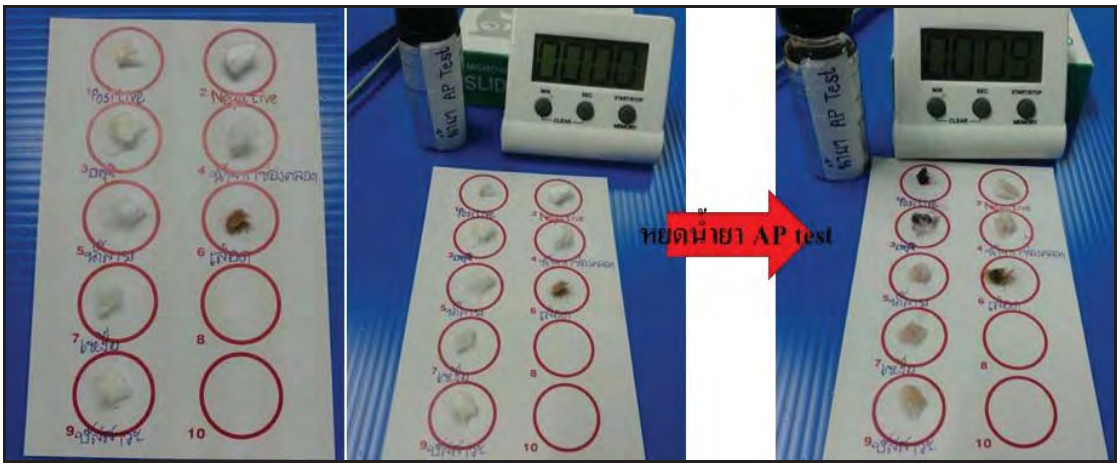
3.5.1 นำสารคัดหลั่งคือ น้ำลาย (Saliva), เหงื่อ (Sweat), ปัสสาวะ (Urine), น้ำจากช่องคลอด (Vaginal fluid) และเลือด (Blood) หยดใส่ในลำลี

3.5.2 พึ่งให้แห้งโดยอุณหภูมิห้องก่อนเก็บใส่ถุงเก็บตัวอย่าง

3.5.3 ทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคATR-IR เหมือนข้อ 3.1.3

3.5.4 นำสเปกตรัมที่ได้มาวิเคราะห์ เพื่อเปรียบเทียบกับสเปกตรัมของคราบอสุจิว่ามีเหมือนหรือแตกต่างกันอย่างไร

3.5.4 นำตัวอย่างเดิมมาทำการทดสอบด้วยวิธี AP test เหมือนข้อ 3.3.2



ภาพที่ 12 การทดสอบสารคัดหลั่งต่างๆ และเลือดด้วยวิธี AP test

3.6 กรณีศึกษา นำตัวอย่างวัตถุพยานที่เป็น vaginal swab ในคดีข่มขืนมาตรวจหาคราบอสุจิด้วยเทคนิคATR-IRซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจพิสูจน์หาคราบอสุจิจากวัตถุพยานจริงด้วยเทคนิค ATR-IR และวิธีทดสอบ AP test

3.6.1 นำวัตถุพยาน vaginal swab ที่ได้มาจดบันทึกเวลาและวันที่ตรวจเก็บ

3.6.2 พึ่งให้แห้งโดยอุณหภูมิห้องก่อนเก็บใส่ถุงเก็บตัวอย่าง

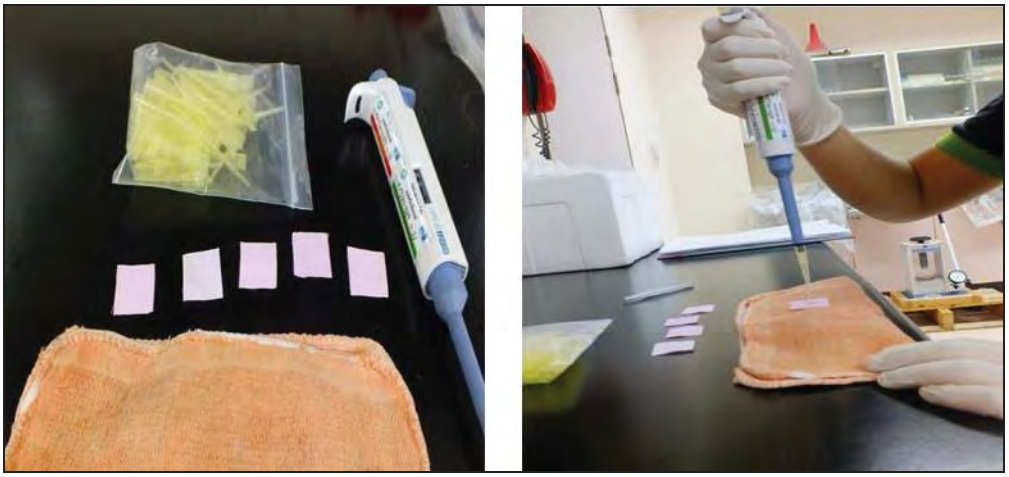
3.6.3 ทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคATR-IR เช่นเดียวกับในข้อ 3.1.3

3.6.4 นำสเปกตรัมที่ได้มาวิเคราะห์ เพื่อเปรียบเทียบกับสเปกตรัมของคราบอสุจิว่ามีเหมือนหรือแตกต่างกันอย่างไร

3.7 ศึกษาการตรวจวิเคราะห์หาคราบอสุจิที่อยู่ในผ้า ด้วยเทคนิคATR-IR มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาคราบอสุจิในวัตถุชนิดที่เป็นผ้า ซึ่งเก็บไว้เป็นระยะเวลาต่างๆ

3.7.1 นำผ้ามาตัดเป็นขนาด 1 ตารางนิ้ว เท่าๆกันทุกชิ้น

3.7.2 หยดอสุจิปริมาณ 100, 150, 200 และ 300 μl ลงบนผ้า ดังรูปภาพที่ 13



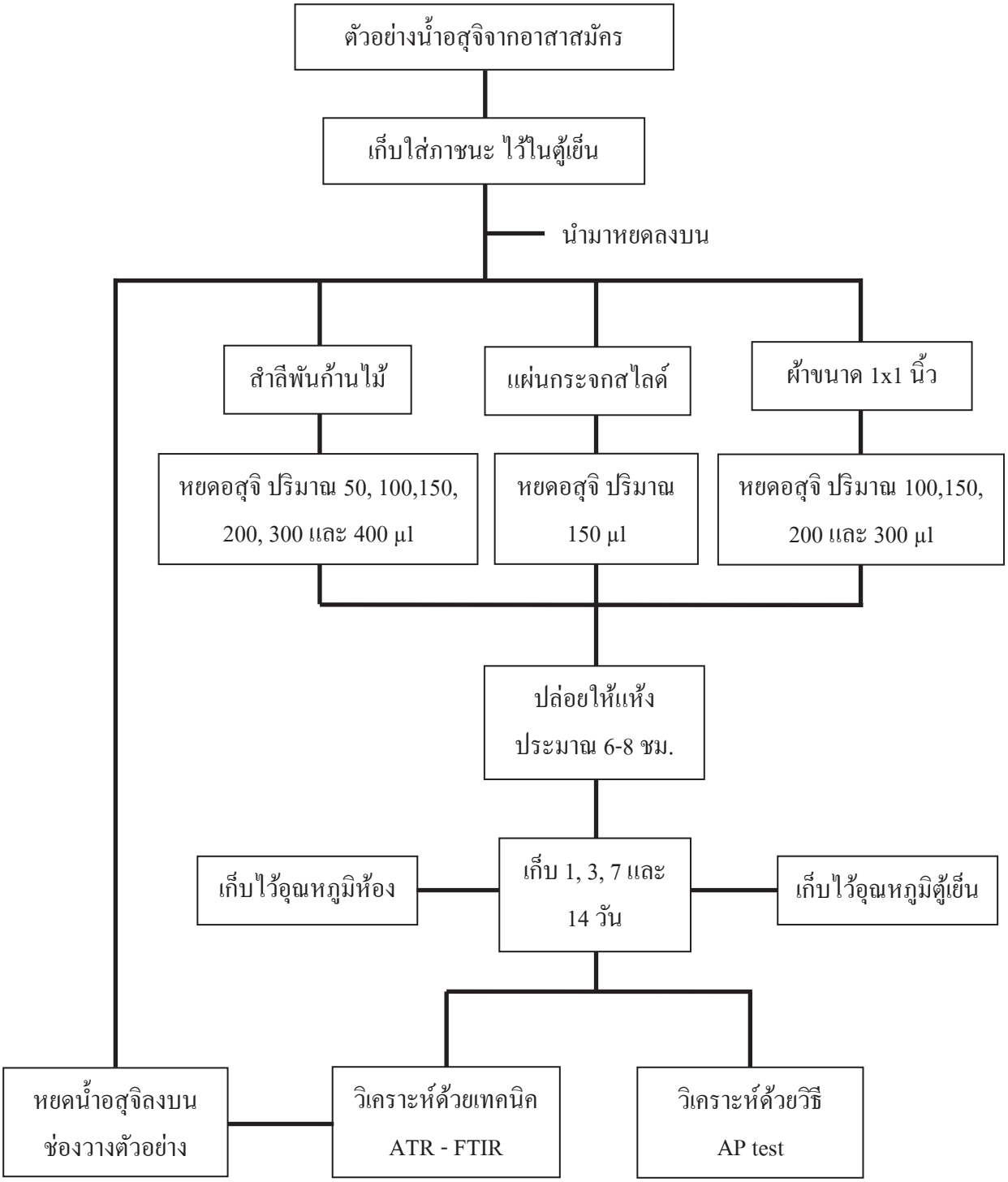
ภาพที่ 13 การหยดอสุจิลงบนผ้า

3.6.2 พึ่งให้แห้งโดยอุณหภูมิห้องก่อนเก็บใส่ถุงเก็บตัวอย่าง

3.6.3 ทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคATR-IR เหมือนข้อ 3.1.3 และทำซ้ำจนครบทั้ง 4 ตัวอย่างตามอสุจิปริมาณต่างๆดังกล่าวข้างต้น

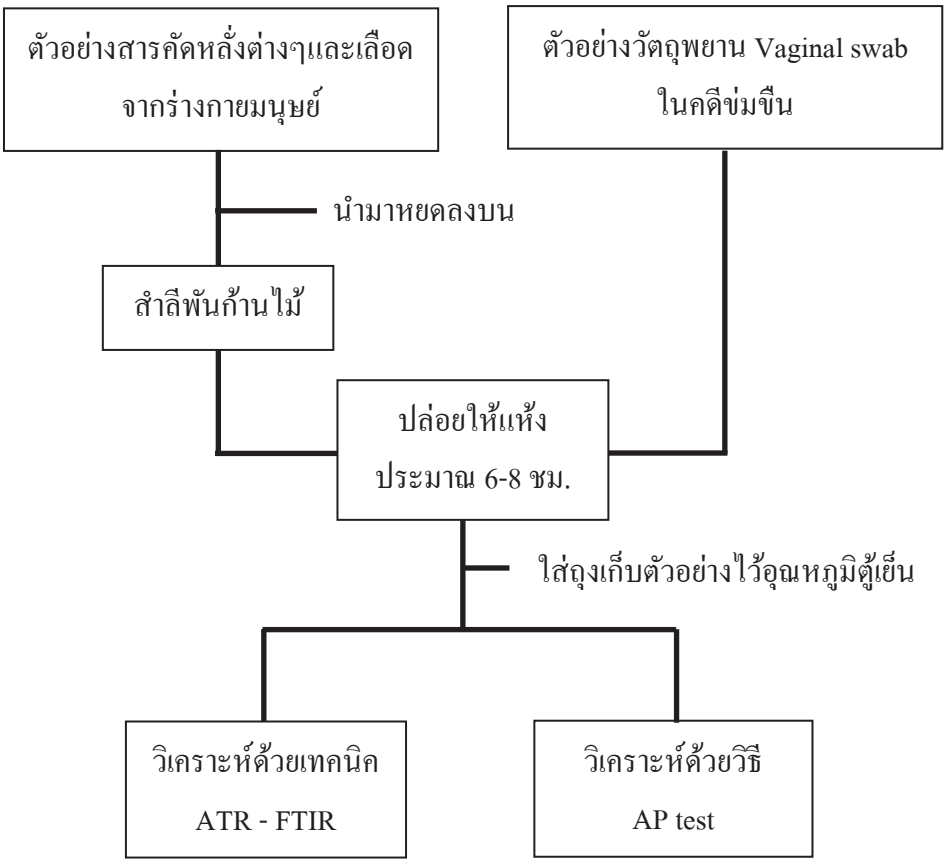
3.6.4 นำสเปกตรัมที่ได้มาวิเคราะห์

แผนผังการทดลอง



ภาพที่ 14 แผนผังวิธีการทดลองในงานวิจัย 1

แผนผังการทดลอง (ต่อ)



ภาพที่ 15 แผนผังวิธีการทดลองในงานวิจัย 2

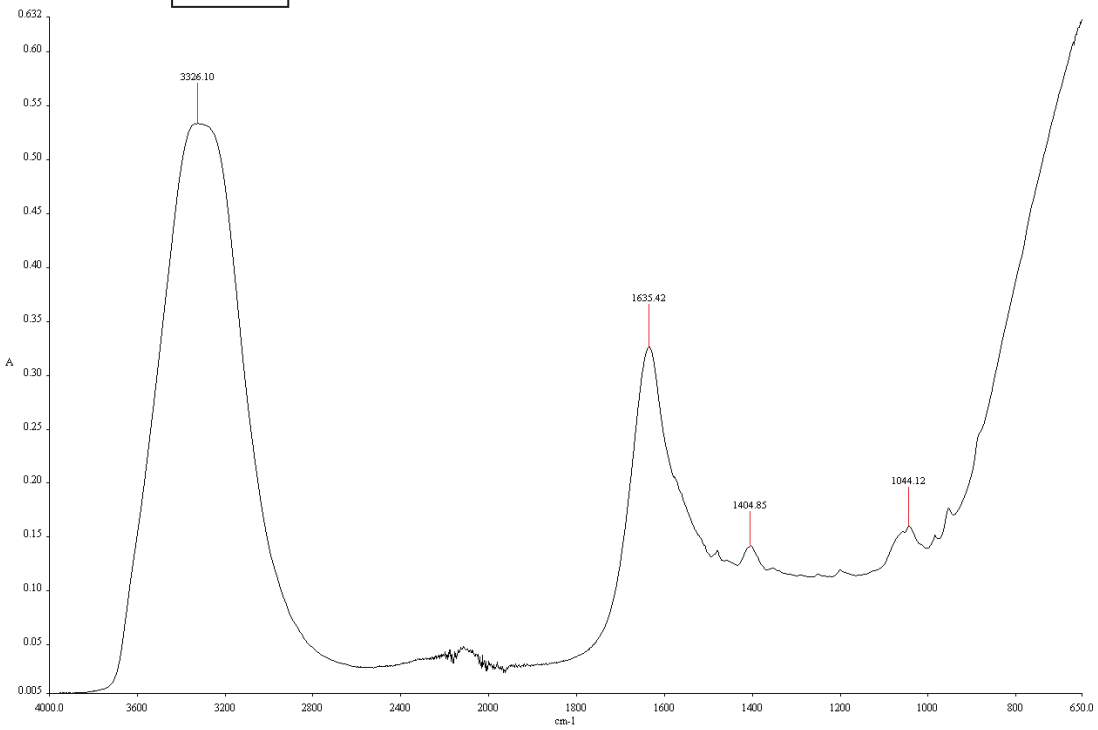
บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

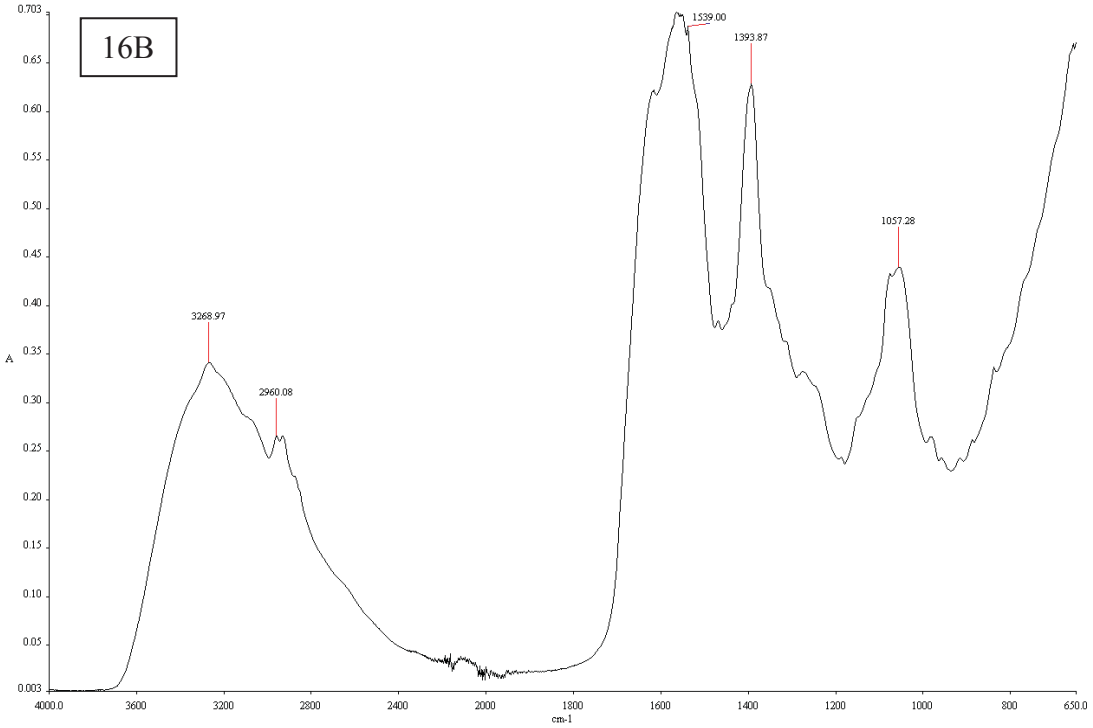
การตรวจหาคราบอสุจิโดยใช้เทคนิค Attenuated Total Reflection Infrared Spectroscopy (ATR-IR) เป็นวิธีวิเคราะห์ซึ่งไม่ทำลายตัวอย่างและมีขั้นตอนที่สะดวกรวดเร็ว สามารถตรวจแยกองค์ประกอบของตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ได้ และการตรวจหาหาคราบอสุจิด้วยวิธี Acid phosphatase activity (AP test) ซึ่งเป็นวิธีการแบบคัดกรองเบื้องต้นที่นิยมใช้อยู่ในปัจจุบัน เนื่องจากมีความไวและความจำเพาะต่ออสุจิ ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาและแบ่งเป็นวิธีต่างๆดังนี้

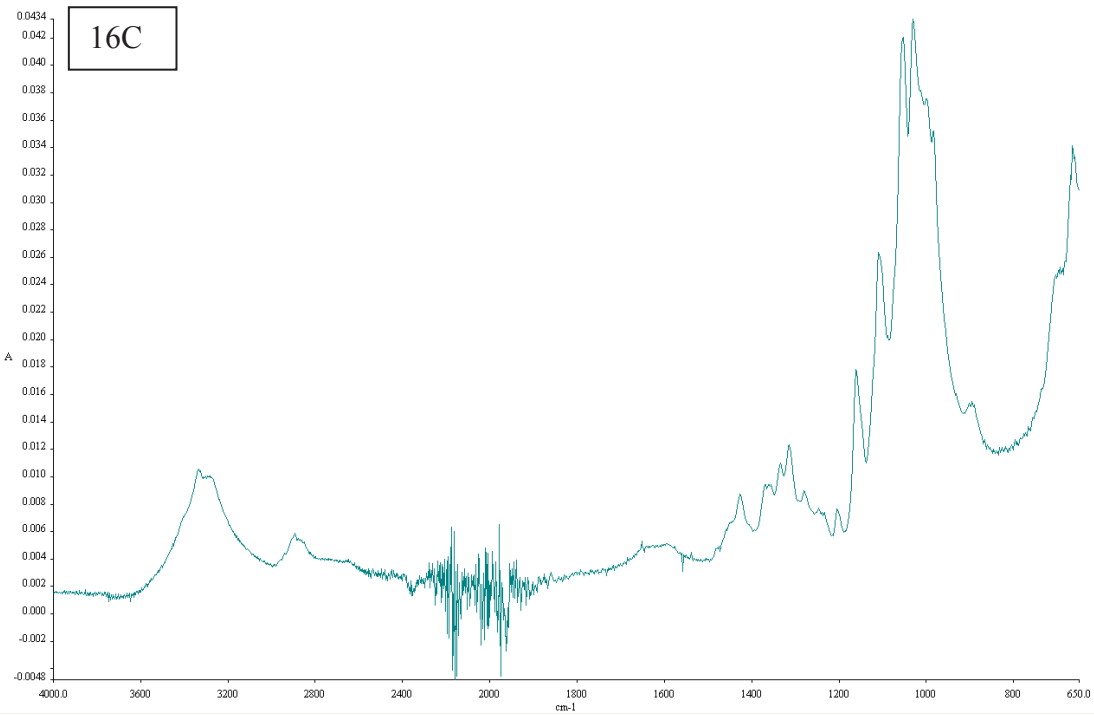
1. การวิเคราะห์อสุจิด้วยเครื่อง ATR-IR

จากการนำตัวอย่างน้ำอสุจิมาทดสอบด้วยเทคนิค ATR-IR โดยใช้เลขคลื่น 4000-650 cm^{-1} พบว่าได้สเปกตรัม (spectrum) ดังภาพที่ 16A และจากการนำคราบอสุจิหยดลงบนแผ่นกระจกสไลด์ปล่อยให้แห้งประมาณ 6-8 ชั่วโมงแล้วนำมาตรวจด้วยเทคนิค ATR-IR ได้สเปกตรัมดังภาพที่ 16B ส่วนการนำสำลีที่ใช้ในงานวิจัยมา ทดสอบด้วยเทคนิค ATR-IR แสดงผลสเปกตรัมดังภาพที่ 16C

16A







ภาพที่ 16 Infrared spectrum โดย 16A คือ อสุจิ, 16B คือ อสุจิที่หยดบนแผ่นสไลด์ปล่อยให้แห้ง และ 16C คือ สำลี

จากภาพที่ 16 จะเห็นได้ว่าสเปกตรัม ของอสุจิ (16A) มีหมู่ฟังก์ชัน (Functional group) ปรากฏพีค (Peak) ชัดเจนที่ช่วงเลขคลื่น 3200-2800 cm^{-1}คือ –OH stretching ซึ่งเป็นองค์ประกอบของน้ำและที่ช่วงเลขคลื่น 1690-1650 cm^{-1} มีพีคของ Amide I ซ้อนทับอยู่กับพีคของน้ำด้วยส่วนสเปกตรัมของน้ำอสุจิที่หยดลงบนแผ่นกระจกสไลด์ปล่อยให้แห้งแล้วนำมาทดสอบด้วยเทคนิค ATR-IR พบว่าได้สเปกตรัม (16B) ซึ่งปรากฏพีคของน้ำและพีคที่เด่นชัดของโปรตีน Amide I และ Amide II ที่ช่วงเลขคลื่น 1590-1480 cm^{-1} และองค์ประกอบของกรดนิวคลีอิกจากพีดของ Asymmetric phosphate ที่เลขคลื่น 1245 cm^{-1}และ Symmetric phosphate ที่เลขคลื่น 1080 cm^{-1} พบได้ทั้งในภาพ (16A) และ (16B) แต่แตกต่างกันที่รูปแบบและค่าการดูดกลืนแสง ส่วนสเปกตรัมของสำลี (16C) ในช่วงเลขคลื่น 1200-1000 cm^{-1} ปรากฏพีคที่เป็นองค์ประกอบของเซลลุโลสซึ่งมีหมู่ไฮดรอกซิล(-OH)ทำปฏิกิริยากับหมู่คาร์บอนิล (C=0) ของแอลดีไฮด์ได้อะซิตอลประกอบอยู่และพบพีคของ Methyl group ($-CH_3$) ในช่วง 1480-1350 cm^{-1} ดังนั้นผู้วิจัยจึงไม่นำพีคของกรดนิวคลีอิกมาพิจารณาเพื่อศึกษาหาคราบอสุจิที่หยดลงในสำลี เพราะอาจมีการรบกวนได้จากพีคอื่นๆ ที่เป็นองค์ประกอบในสำลีที่นำมาทดสอบ จากการทดลองที่1 ทำให้ทราบว่าเทคนิค ATR-IR สามารถวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันและองค์ประกอบของตัวอย่างน้ำอสุจิได้โดยพิจารณาจากพีคที่เด่นชัดคือพีค Amide I และ Amide II

2. การวิเคราะห์คราบอสุจิที่ปริมาณต่างๆ ในสำลี ด้วยเครื่อง ATR-IR

จากการตรวจหาคราบอสุจิด้วยเทคนิค ATR-IR ที่ปริมาณ50,100, 150, 200, 300 และ 400 ไมโครลิตร(µl) พบว่าในสำลีที่หยดน้ำอสุจิปริมาณ 50 µl ปรากฏพีค Amide I, Amide II ไม่ชัดเจน แต่จะเห็นได้ชัดเมื่อในสำลีมีอสุจิปริมาณตั้งแต่ 100 µl ซึ่งมีค่าการดูดกลืนแสงแสดงดังตารางที่ 9 ความสัมพันธ์ของปริมาณอสุจิที่หยดลงในสำลีกับค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงเลขคลื่นต่างๆ

ปริมาณอสุจิที่หยดลงในสำลี (µl)	ช่วงค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) โดยประมาณ	
	พีคAmide I (1690-1650 cm^{-1})	พีคAmide II (1590-1480 cm^{-1})
100	0.020	0.018
150	0.034	0.030
200	0.051	0.044
300	0.054	0.048
400	0.059	0.051

จากตารางที่ 9 แสดงให้เห็นว่า เทคนิค ATR-IR สามารถตรวจหาคราบอสุจิได้ แม้ในสำลีจะมีอสุจิที่ปริมาณเพียง 100 µl ก็สามารถตรวจพบพีคที่เป็นองค์ประกอบของคราบอสุจิคือ พีค Amide และ Amide II ได้ แต่มีค่าการดูดกลืนแสงน้อยกว่าเมื่อเทียบกับปริมาณ 150, 200, 300 และ 400 µl ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าค่าการดูดกลืนแสงแปลผันตรงกับปริมาณของอสุจิในสำลี

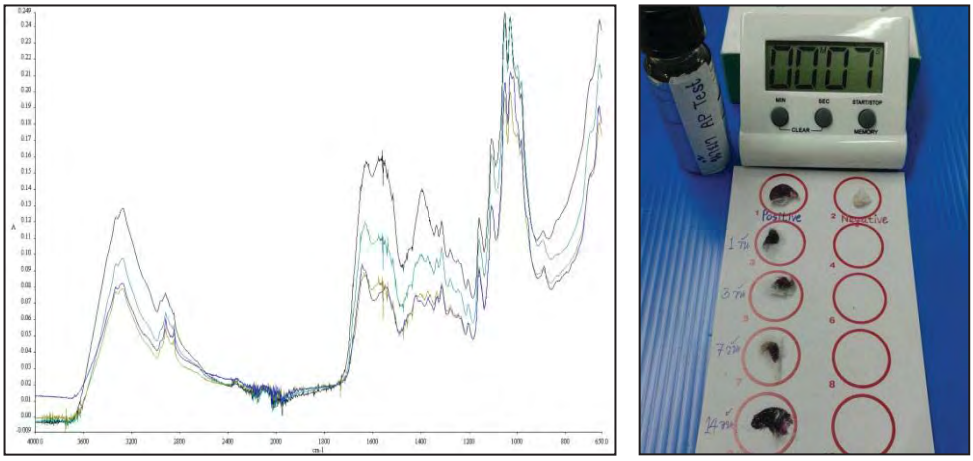
3. การตรวจวิเคราะห์หาคราบอสุจิในสำลีที่เก็บไว้เป็นระยะเวลาต่างๆ ด้วยเทคนิค ATR-IR และวิธีการทดสอบ Acid phosphatase activity (AP test)

การนำสำลีที่มีคราบอสุจิไปเก็บไว้เป็นระยะเวลา 1, 3, 7 และ 14 วัน แล้วตรวจหาคราบอสุจิด้วยเทคนิค ATR-IR โดยใช้เลขคลื่น 4000-650 cm^{-1} จากนั้นนำตัวอย่างเดิมไปทดสอบต่อด้วยวิธี AP test พบว่าเทคนิค ATR-IR สามารถตรวจพบคราบอสุจิได้เช่นเดียวกับวิธี AP test แม้ตัวอย่างจะเก็บไว้นานถึง 14 วัน ผลแสดงดังตารางที่ 10 และภาพที่ 17

ตารางที่ 10 ผลการตรวจด้วยเทคนิค ATR-IR และ วิธี AP test

เก็บตัวอย่าง (วัน)	**วิธีการตรวจวิเคราะห์**	
	ATR-IR	**AP test**
1	✓	✓
3	✓	✓
7	✓	✓
14	✓	✓

✓ คือ สามารถตรวจพบและคาดว่าเป็นอสุจิได้



ภาพที่ 17 (ซ้าย) สเปกตรัมของคราบอสุจิในสำลีที่เก็บไว้ระยะเวลาต่างๆ โดยเส้นสีดำคือ 1 วัน, สีฟ้าคือ 3 วัน, สีเขียวคือ 7 วัน และสีน้ำเงินคือ 14 วัน, (ขวา) การทดสอบหาคราบอสุจิด้วยวิธี AP test

4.การตรวจวิเคราะห์คราบอสุจิที่เก็บไว้ในอุณหภูมิต่างๆด้วยเทคนิค ATR-IR

การตรวจหาคราบอสุจิที่หยดลงในสำลี และอสุจิที่หยดลงบนแผ่นกระจกสไลด์ ในปริมาณ 150 µl จากนั้นเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้อง(22-25°C) และในตู้เย็น (2-8°C) เป็นเวลา 1, 3, 7 และ 14 วัน แล้วนำมาตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ATR-IR โดยใช้ความยาวคลื่นที่เลขคลื่น 4000-650 cm^{-1} ผลปรากฏสเปกตรัมที่แสดงองค์ประกอบของอสุจิ ที่ชัดเจนคือพีคAmide I ในช่วง 1690-1650 cm^{-1} และพีคAmide II ในช่วง 1590-1480 cm^{-1} มีค่าการดูดกลืนแสงดังตารางที่ 11

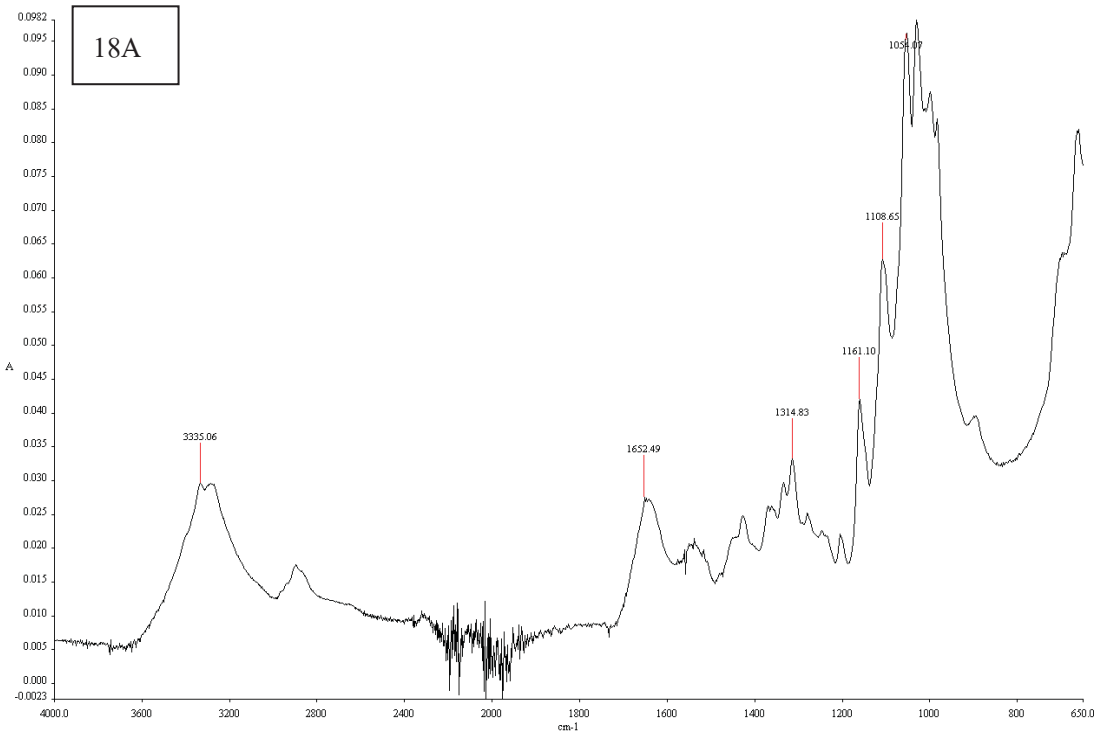
ตารางที่ 11 ค่าการดูดกลืนแสงของสเปกตรัมคราบอสุจิที่เก็บไว้ ณ อุณหภูมิต่างๆ

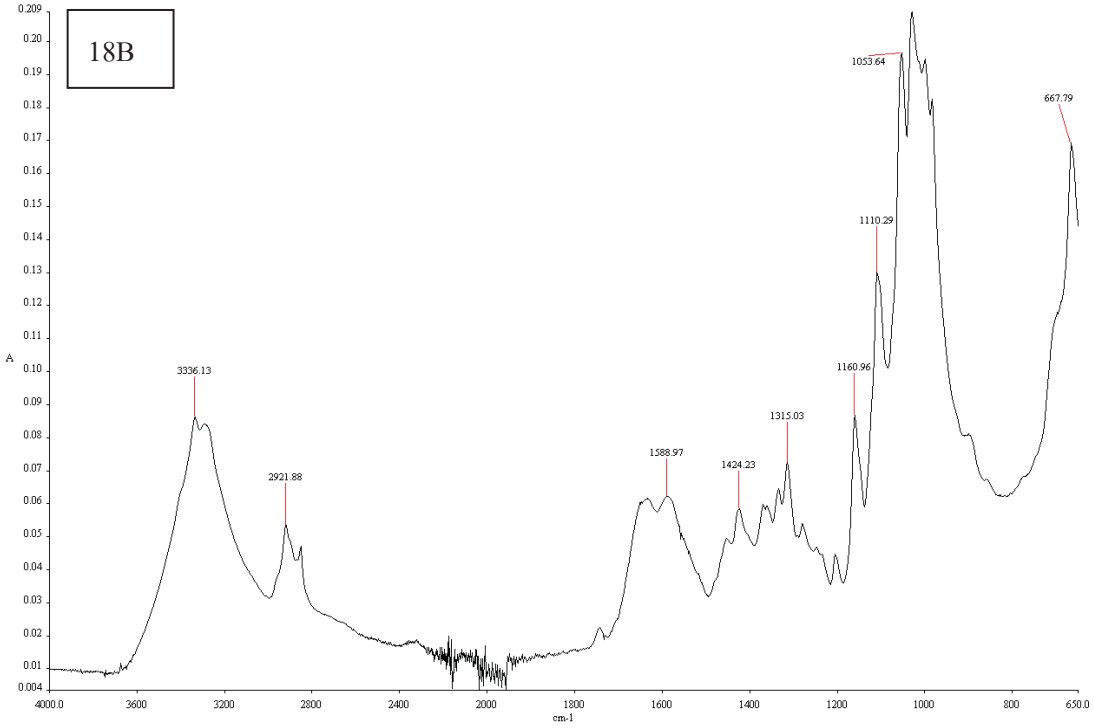
สเปกตรัม	ช่วงค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)			
	คราบอสุจิบนแผ่นกระจกสไลด์		คราบอสุจิในสำลี	
	ตู้เย็น (2-8°C)	อุณหภูมิห้อง (22-25°C)	ตู้เย็น (2-8°C)	อุณหภูมิห้อง (22-25°C)
พีคAmide I (1690-1650 cm^{-1})	0.54 - 0.60	0.52 – 0.61	0.09 – 0.16	0.03 – 0.04
พีคAmide II (1590-1480 cm^{-1})	0.59 - 0.75	0.56 – 0.66	0.08 – 0.16	0.02 – 0.04

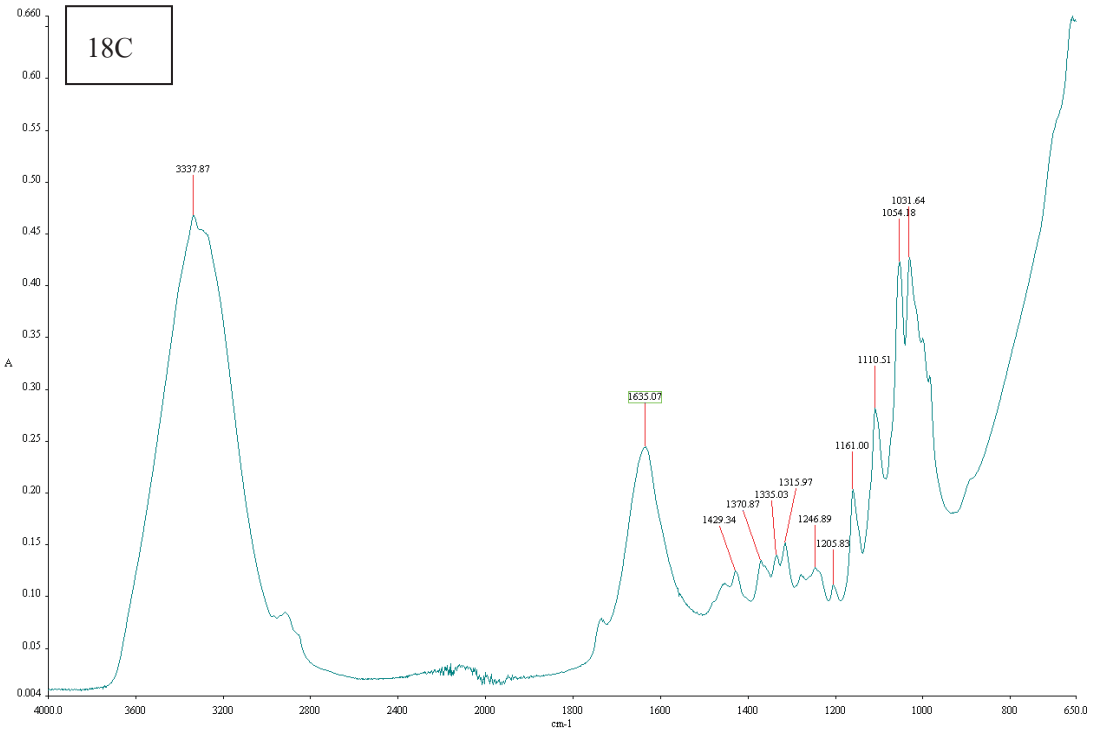
จากตารางที่ 11 จะเห็นได้ว่าคราบอสุจิบนแผ่นกระจกสไลด์และในสำลีที่ปริมาณเท่าๆกัน แต่เก็บไว้ในสภาวะอุณหภูมิแตกต่างกัน สามารถตรวจพบพีคที่เป็นองค์ประกอบของคราบอสุจิ ซึ่งมี ทั้งพีคAmide I และพีคAmide II ได้ โดยให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ไม่แตกต่างกันมาก ดังนั้น สามารถสรุปได้ว่าอุณหภูมิในการเก็บตัวอย่างสำลีที่มีคราบอสุจิและอสุจิที่หยดลงบนแผ่นกระจกสไลด์ไว้ในตู้เย็นหรือในห้องก็ไม่ส่งผลต่อการตรวจหาคราบอสุจิด้วยเทคนิค ATR-IR

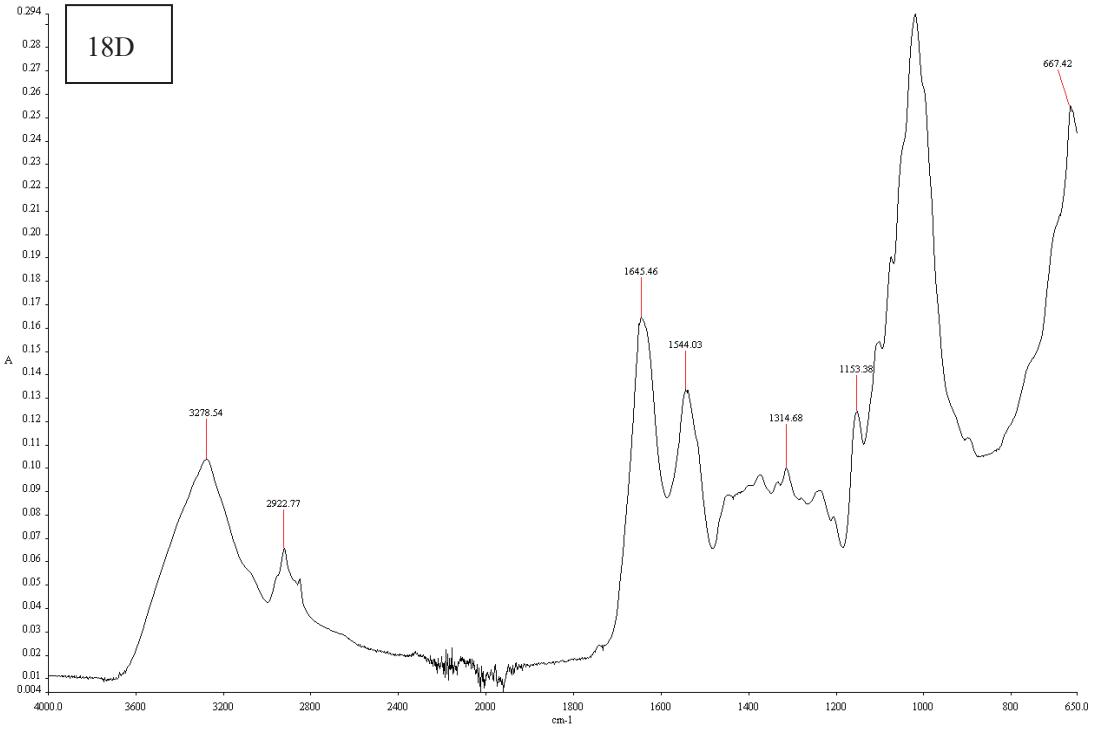
5. การตรวจวิเคราะห์สารคัดหลั่งต่างๆ จากร่างกายมนุษย์ด้วยเทคนิค ATR-IR

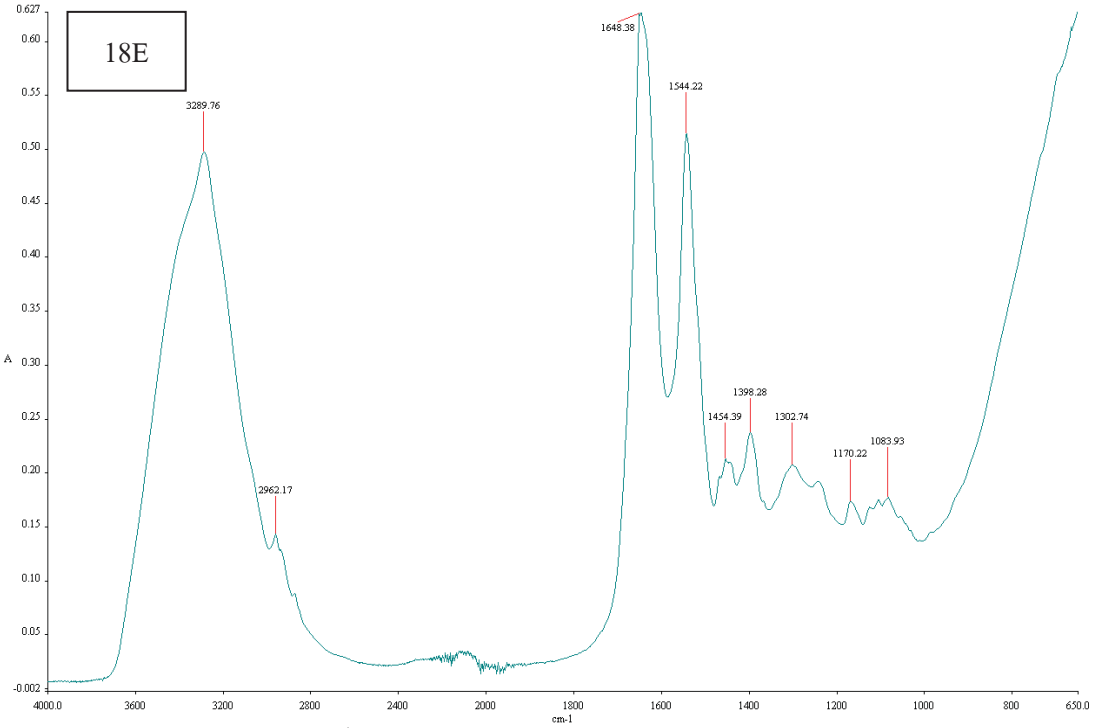
จากการนำสารคัดหลั่งต่างๆจากร่างกายมนุษย์ ได้แก่ น้ำลาย (Saliva), เหงื่อ (Sweat), ปัสสาวะ (Urine), สารคัดหลั่งจากช่องคลอด (Vaginal fluid) และ เลือด (Blood) มาหยดลงในสำลี แล้วตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ATR-IR ได้สเปกตรัมรูปดังภาพ 18


18A
A
cm-1
3335.06
1652.49
1314.83
1161.10
1108.65
1054.07


18B
A
cm-1
3336.13
2921.88
1588.97
1424.23
1315.03
1160.96
1110.29
1053.64
667.79


18C
3337.87
1635.07
1429.34
1370.87
1335.03
1315.97
1246.89
1205.83
1161.00
1110.51
1054.18
1031.64
A
cm-1


18D
3278.54
2922.77
1645.46
1544.03
1314.68
1153.38
667.42
A
cm-1

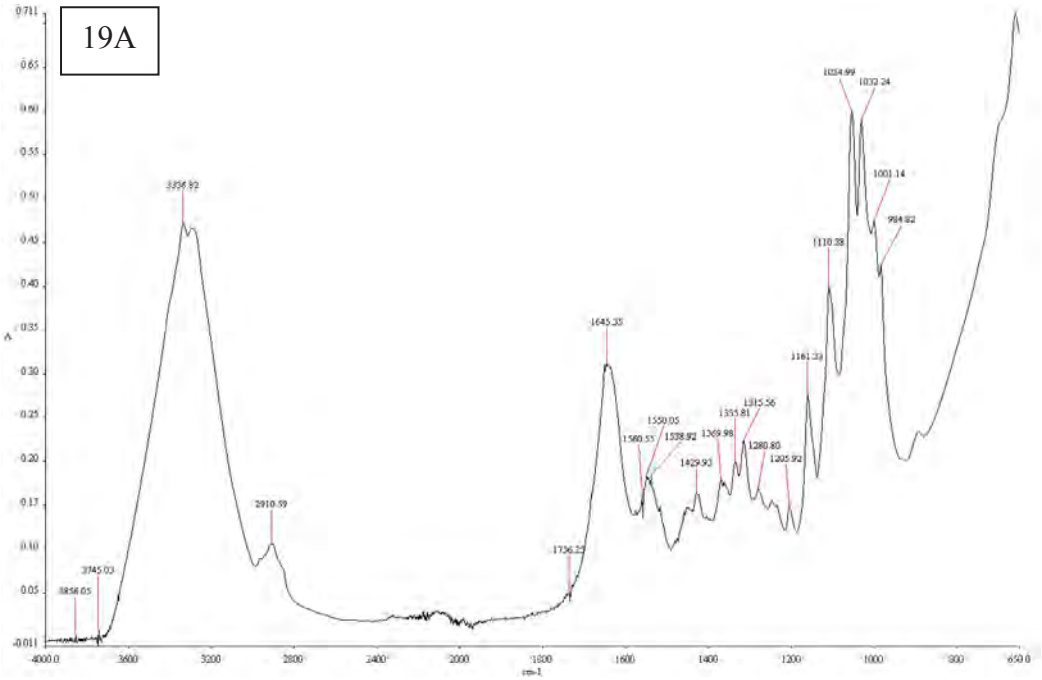


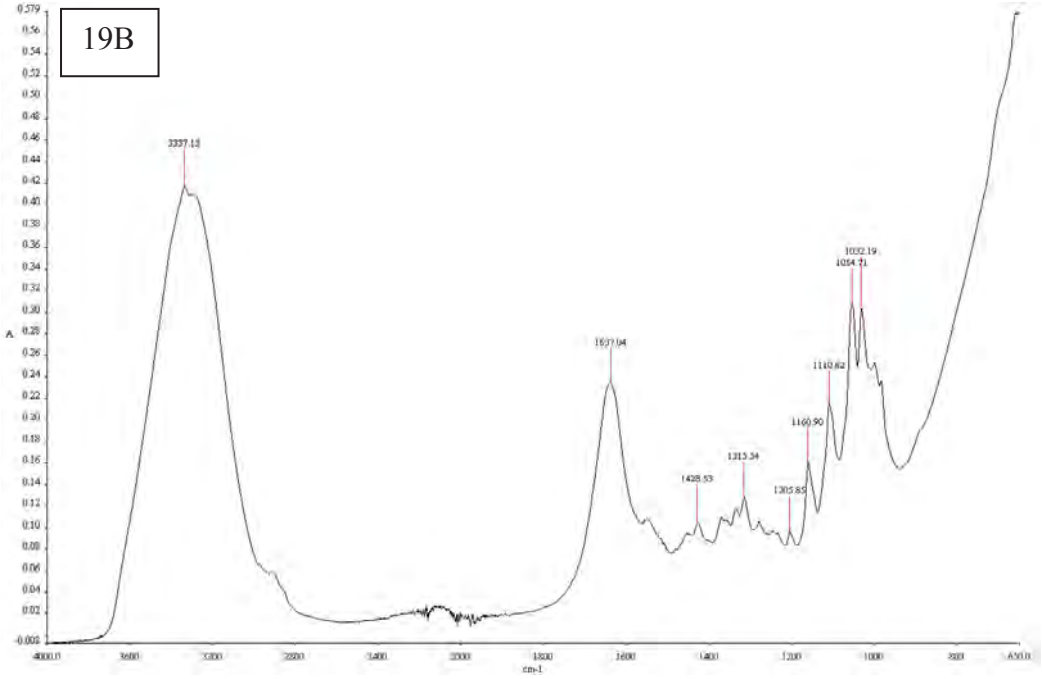
ภาพที่ 18A คือสเปกตรัมของ น้ำลาย (Saliva), 18B คือ เหงื่อ (Sweat), 18C คือปัสสาวะ (Urine), 18D คือ สารคัดหลั่งจากช่องคลอด (Vagina fluid) และ 18E คือ เลือด (Blood)

จากภาพที่ 18A-18E สเปกตรัมของสารคัดหลั่งต่างๆ และเลือด ปรากฏพีคที่เป็นองค์ประกอบโปรตีนคือ Amide I ในช่วง 1690-1650 cm^{-1} และ Amide II ในช่วง 1590-1480 cm^{-1} เช่นเดียวกับอสุจิแต่ทั้งนี้รูปแบบของพีคในแต่ละช่วงเลขคลื่นจะมีความแตกต่างกัน ดังนั้นจะเห็นได้ว่าเทคนิค ATR-IR สามารถแยกหมู่ฟังก์ชันองค์ประกอบของตัวอย่างได้ ซึ่งสเปกตรัมจะมีลักษณะเฉพาะของตัวอย่างแต่ละชนิด

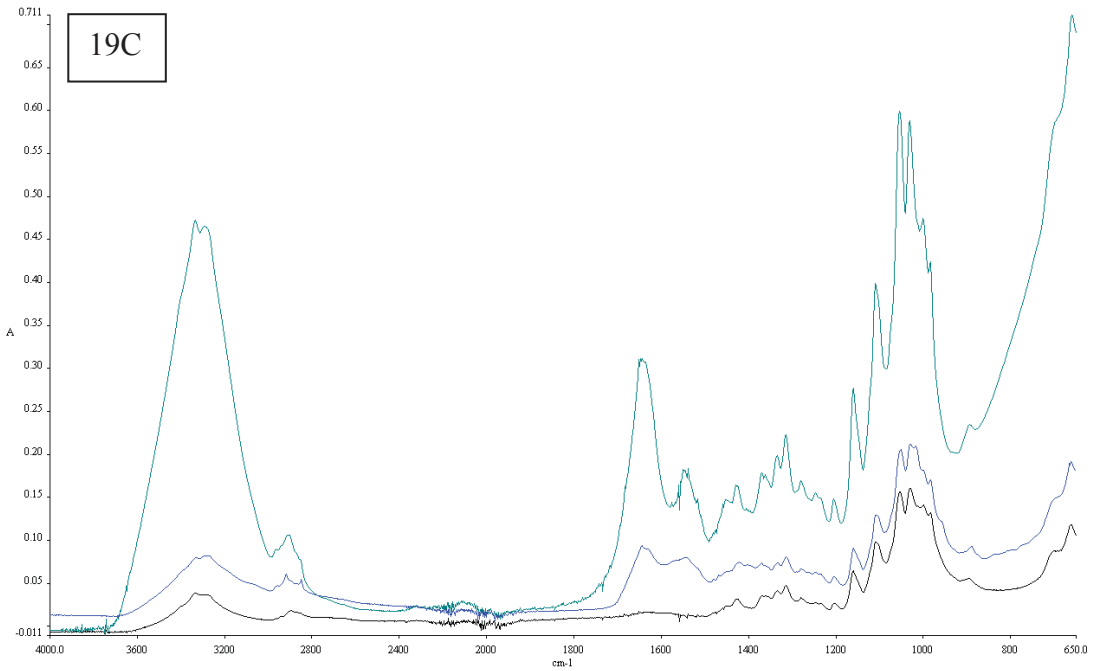
6.การตรวจวิเคราะห์หาคราบอสุจิจากวัตถุพยานในคดีข่มขืนที่เป็น vaginal swab ด้วยเทคนิค ATR-IR

จากการตรวจหาคราบอสุจิจากวัตถุพยานที่เป็น Vaginal swab ในคดีข่มขืนกระทำชำเรา โดยตรวจด้วยเทคนิค ATR-IR หลังจากเก็บตัวอย่างมาแล้ว 14 วัน และนำตัวอย่างเดิมมาตรวจวิเคราะห์ซ้ำหลังจากเก็บตัวอย่างมาแล้ว 28 วัน ให้สเปกตรัม ดังภาพ 19A และ 19B ตามลำดับ





ภาพที่ 19A คือสเปกตรัมของวัตถุพยาน Vagina swab หลังจากเก็บตัวอย่างมาแล้ว 14 วัน และ 19B คือนำตัวอย่างเดิมมาตรวจวิเคราะห์ซ้ำหลังจากเก็บตัวอย่างมาแล้ว 28

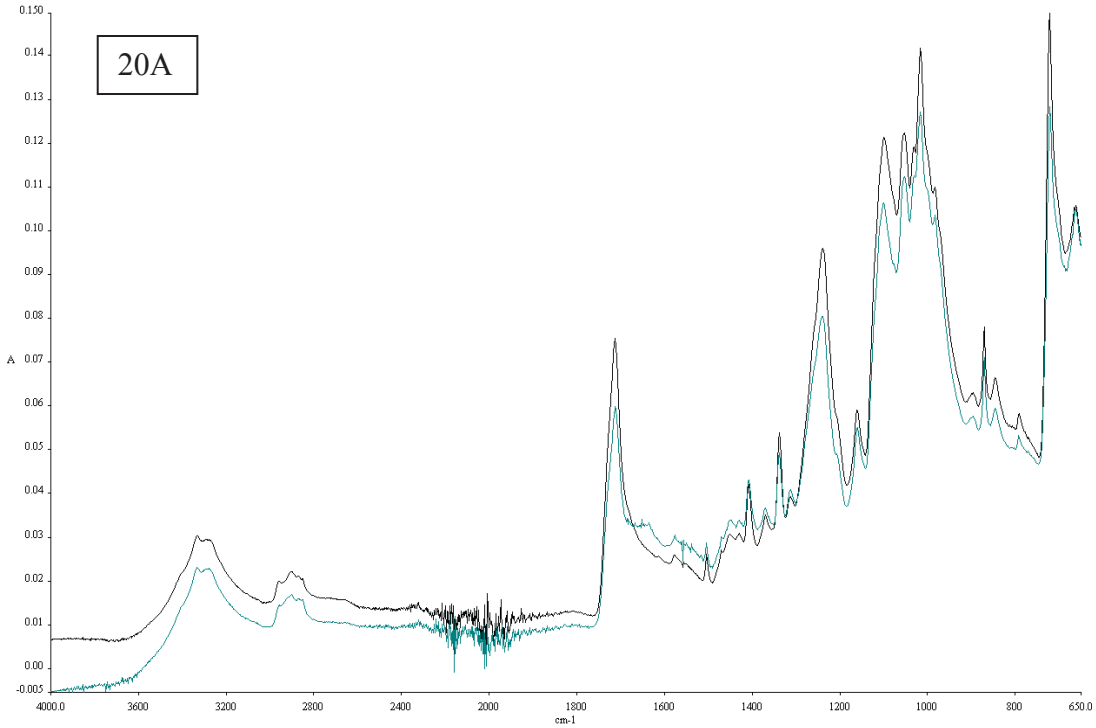


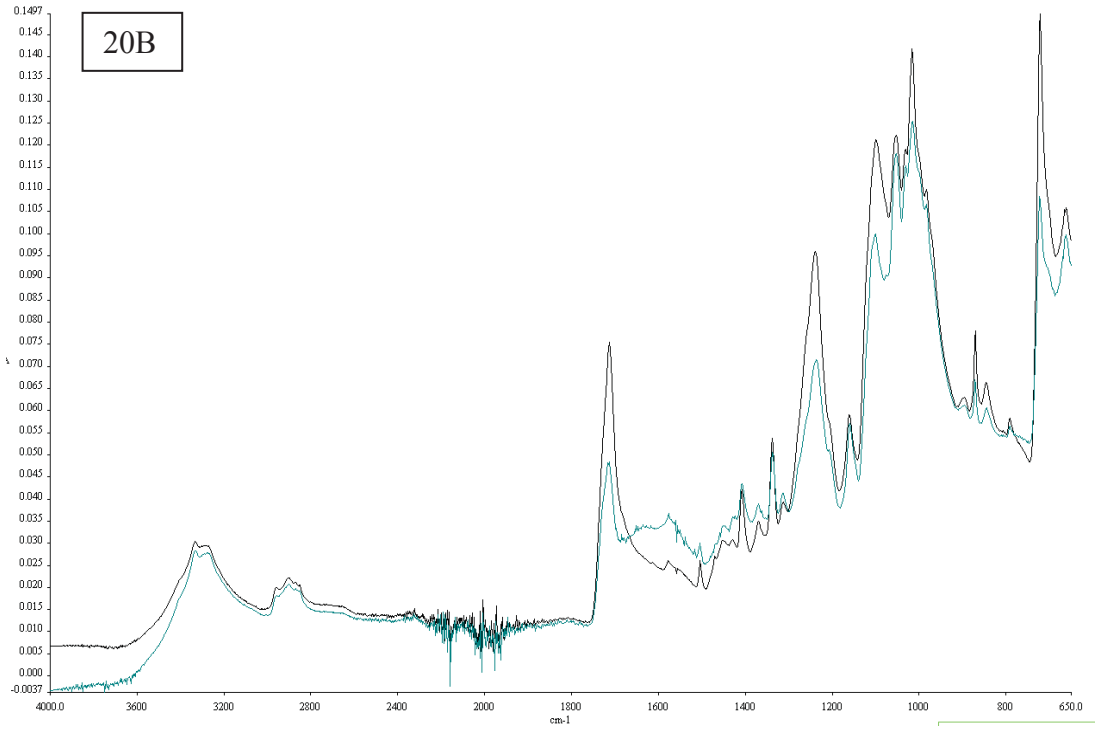
ภาพที่ 19C สเปกตรัมเส้นสีดำ คือสำลี, สีน้ำเงินคือ คราบอสุจิที่ทดลองหยดลงในสำลี, สีฟ้าคือวัตถุพยาน Vaginal swab

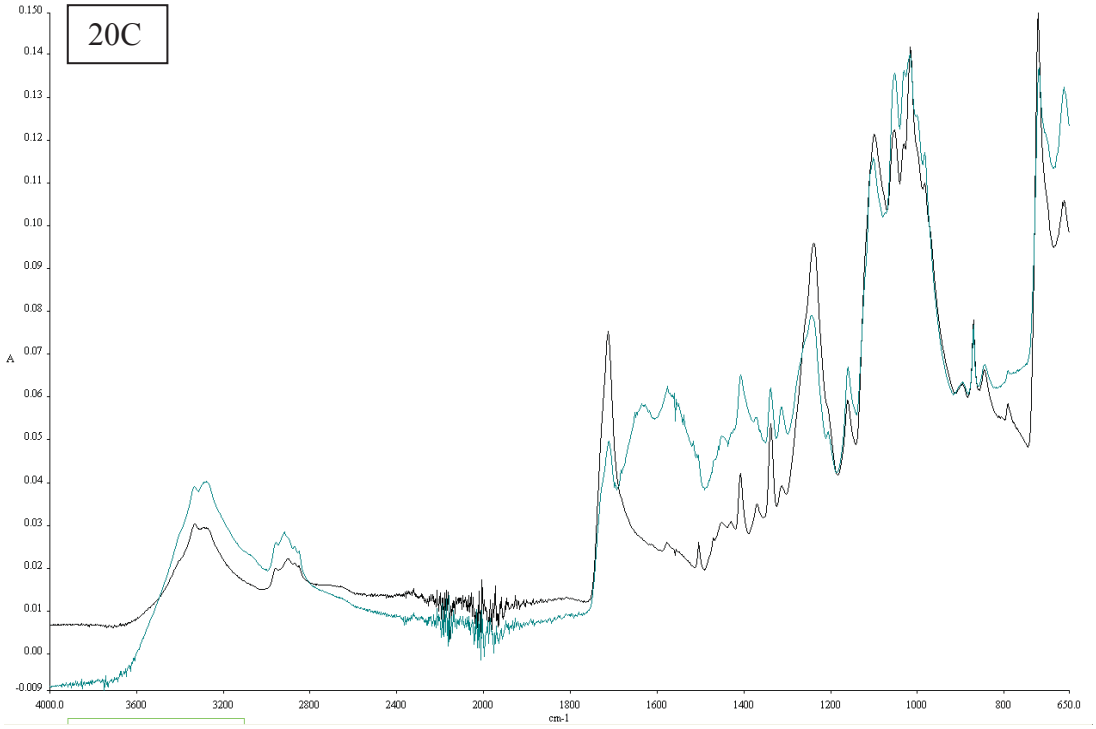
จากภาพที่ 19 พบว่าวัตถุพยานในคดีข่มขืนที่เป็น Vaginal swab ซึ่งนำมาตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ATR-IR ในภาพ 19A และ 19B ปรากฏทั้งพีค Amide I ในช่วง 1690-1650 cm^{-1} และ Amide II ในช่วง 1590-1480 cm^{-1} อย่างเห็นได้ชัด และให้รูปแบบที่คล้ายกับสเปกตรัมของอสุจิ แต่ค่าการดูดกลืนแสงจะลดลงเมื่อเก็บตัวอย่างไว้ระยะเวลานานขึ้น เมื่อพิจารณาจากภาพที่ 19C เป็นการเทียบกันระหว่างสเปกตรัมของวัตถุพยานกับอสุจิที่ทดลองหยดลงในสำลี ซึ่งอาจแปลผลได้ว่าตรวจพบสิ่งที่คาดว่าเป็นคราบอสุจิในวัตถุพยานที่นำมาวิเคราะห์ ดั้งนั้นเทคนิค ATR-IR สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจหาคราบอสุจิจากวัตถุพยานได้จริง แต่ทั้งนี้ต้องนำผลการตรวจวิเคราะห์ไปประเมินร่วมกับผลจากเทคนิคอื่นด้วย โดยในงานวิจัยนี้ได้ทำการทดสอบร่วมกับวิธี AP Test พบว่าให้ผลเป็นบวกซึ่งสอดคล้องกัน แสดงว่าในวัตถุพยานที่นำมาตรวจวิเคราะห์ในครั้งนี้มีคราบอสุจิอยู่จริง

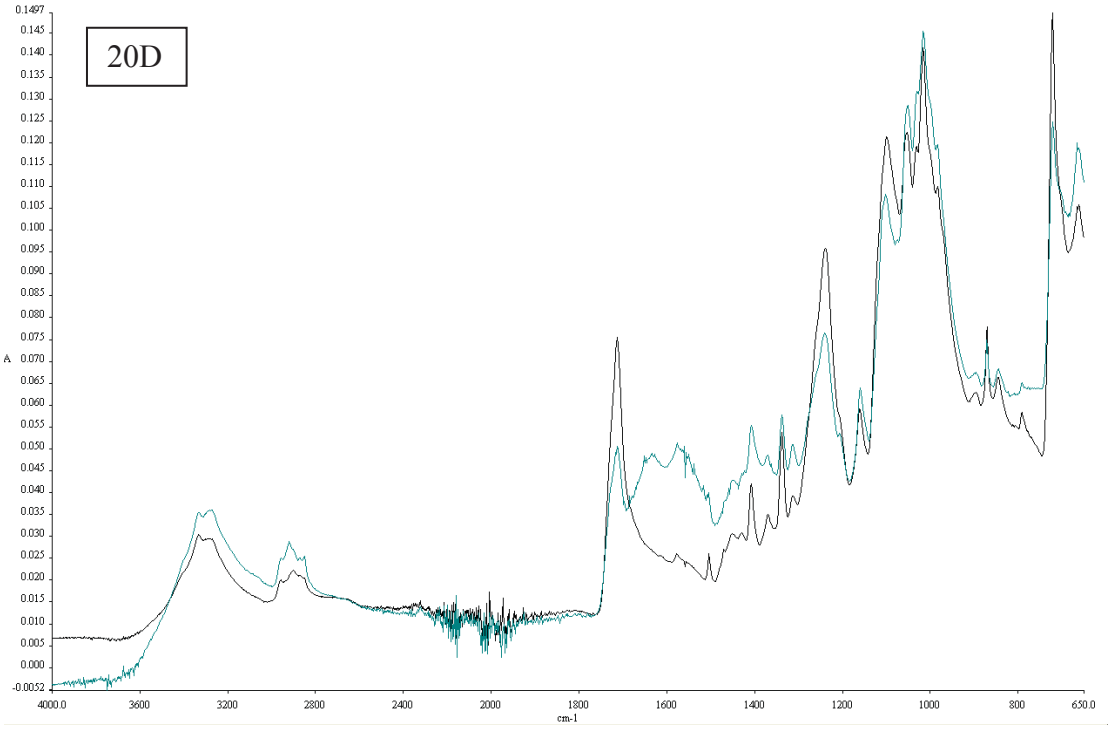
7. การตรวจวิเคราะห์หาคราบอสุจิที่อยู่ในผ้า ด้วยเทคนิค ATR-IR

การตรวจหาคราบอสุจิที่อยู่ในผ้าขนาด 1 ตารางนิ้ว ซึ่งหยดอสุจิปริมาณ 100, 150, 200 และ 300 µl แล้วนำตรวจด้วยเทคนิค ATR-IR ได้สเปกตรัมดังภาพที่ 20









ภาพที่ 20A- 20D สเปกตรัมของผ้าและผ้าที่มีคราบอสุจิในปริมาณ 100 µl (20A),150 µl (20B), 200 µl (20C),, และ300 µl (20D) ตามลำดับ โดยสเปกตรัมเส้นสีดำ คือ สเปกตรัมของผ้า และสเปกตรัมเส้นสีฟ้า คือสเปกตรัมของผ้าที่มีคราบอสุจิอยู่

จากภาพที่ 20 จะเห็นว่าเมื่อหยดอสุจิปริมาณ 100 μl ลงในผ้า แสดงผลสเปกตรัมที่เป็นของอสุจิไม่ชัดเจน อาจเนื่องจากปริมาณอสุจิน้อยเกินไปจึงมีการบดบังด้วยพีคที่เป็นหมู่ฟังก์ชั่นของเส้นใยผ้า เพราะผ้าที่เป็นเส้นใยสังเคราะห์จะมีองค์ประกอบเป็นเซลลูโลสอยู่ในโครงสร้างโมเลกุล แต่ถ้าในผ้าที่มีอสุจิปริมาณ 150 μl เป็นต้นไปจะปรากฏพีคในช่วง 1690-1650 cm^{-1} คือAmide I และในช่วง 1590-1480 cm^{-1} คือ Amide II อย่างชัดเจน ดังนั้นแม้ว่าวัตถุพยานจะเป็นคราบอสุจิปริมาณเพียง 150 μl ที่อยู่บนผ้า ก็สามารถตรวจพบด้วยเทคนิค ATR-IR ได้

บทที่ 5
สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

1. สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

การตรวจวิเคราะห์คราบอสุจิด้วยเทคนิค ATR-IR โดยทำการทดสอบกับทั้งอสุจิที่เป็นน้ำ อสุจิที่หยดลงบนแผ่นกระจกสไลด์ อสุจิที่หยดลงในสำลีพันก้านไม้ อสุจิที่หยดลงในผ้า และตัวอย่างวัตถุพยานที่คาดว่าจะมีคราบอสุจิวิเคราะห์ร่วมกับผลของวิธี AP test จากผลการตรวจด้วยเทคนิค ATR-IR พบว่าแสดงสเปกตรัมของอสุจิ ซึ่งมีหมู่ฟังก์ชัน C = O stretching ของพีค Amide I ปรากฏอยู่ที่ 1690-1650cm^{-1} และพีค Amide II ปรากฏที่ 1590-1480cm^{-1} ได้อย่างชัดเจน เมื่อนำมาหักลบแล้วสามารถแยกออกจากสเปกตรัมที่เป็นของสำลีและผ้าได้ แต่ในพีคของกรดนิวคลีอิกที่เลขคลื่น 1245 cm^{-1} และ 1080cm^{-1} รวมทั้งพีคที่เป็นเอกลักษณ์ของอสุจิที่เลขคลื่น 960 cm^{-1} และ 890 cm^{-1} (BarcotและBalarin 2007:61) ไม่ปรากฏชัดเจน เนื่องจากในสำลีและผ้ามีองค์ประกอบอื่น เช่น เซลลูโลส จึงทำให้บดบังพีคดังกล่าว

จากการศึกษาพบว่าในตัวอย่างสำลีที่มีปริมาณอสุจิเพียง 100 µl ก็สามารถตรวจวัดด้วยเทคนิค ATR-IR ได้ และการเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้องหรือเก็บไว้ในตู้เย็นก็ให้ผลต่อการตรวจที่ไม่แตกต่างกันแต่สำหรับตัวอย่างคราบอสุจิที่อยู่ในสำลีหากเก็บไว้ในตู้เย็น จะให้ค่าการตรวจวัดด้วยเทคนิค ATR-IR ที่ดีกว่าการเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง และพบว่าทั้งเทคนิค ATR-IR และวิธีAP test สามารถตรวจพบคราบอสุจิได้แม้เก็บไว้นานถึง 14 วัน แต่ในวิธีที่ใช้เทคนิค ATR-IR แสดงสเปกตรัมของหมู่ฟังก์ชันที่เป็นองค์ประกอบจะมีค่าการดูดกลืนแสงลดลงตามระยะเวลาที่นานขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของคุณสุทธดา บุญญาภัทร ที่ทำการศึกษาในปี 2011 พบว่าความสัมพันธ์อัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคAmide I กับพีคที่เลขคลื่น 860-820 cm^{-1} ซึ่งเป็นพีคที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเวลาผ่านไปมีการลดลงเป็นเส้นตรงอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิขององค์ประกอบโปรตีน Amide I และ Amide II ในน้ำอสุจิ

ผลจากการนำสำลีที่มีสารคัดหลั่งต่างๆ และเลือดมาตรวจด้วยเทคนิค ATR-IR พบว่าให้สเปกตรัมที่มีหมู่ฟังชันคล้ายกันกับอสุจิ ซึ่งทั้งพีค Amide I และ Amide II ยังคงปรากฏให้เห็นในทุกตัวอย่างแต่รูปแบบของพีดมีความแตกแต่กัน แสดงให้เห็นถึงความเป็นเอกลักษณ์เฉพาะของตัวอย่างแต่ละชนิด ซึ่งสัมพันธ์และเป็นไปตามงานวิจัยของ Kelly และ Ledneyในปี 2008 โดยพบว่า

เทคนิคสเปกโทรสโคปี (Spectroscopy) มีประสิทธิภาพในการแยกความแตกต่างของสารคัดหลั่งจากร่างกายมนุษย์ได้ดั้งนั้นจึงนำเทคนิค ATR-IR มาใช้ตรวจหาหมู่ฟังก์ชันองค์ประกอบที่อยู่ในตัวอย่าง ซึ่งผลจาการตรวจหาคราบอสุจิในวัตถุพยานซึ่งเป็นสำลีที่ป้ายจากช่องคลอดในคดีข่มขืน แสดงสเปกตรัมที่ได้ปรากฏพีค Amide I และ Amide II อย่างชัดเจนและมีรูปแบบของพีคในแต่ละช่วงเลขคลื่นคล้ายกับสเปกตรัมของอสุจิ สามารถบอกได้ว่าในวัตถุพยานดังกล่าวนี้มีองค์ประกอบที่คาดว่าเป็นอสุจิอยู่ ทั้งนี้ต้องประเมินร่วมกับผลของการทดสอบหาคราบอสุจิโดยวิธีอื่นๆ ด้วย ซึ่งในการทดสอบนี้ใช้วิธี AP test พบว่าให้ผลบวก จึงสามารถคาดได้ว่าในวัตถุพยานอาจจะมีคราบอสุจิอยู่ ซึ่งสอดคล้องกันกับผลจากเทคนิค ATR-IR แต่ทั้งนี้จากงานวิจัยของ คุณวิชาญ เปี้ยวนิ่ม และคณะใน ปี 2013 ได้กล่าวไว้ว่า ในการตรวจหาคราบอสุจิจากวัตถุพยานที่เป็นหลักฐานในคดีข่มขืนทางเพศ ควรทำการทดสอบแบบคัดกรองในขั้นเบื้องต้นทั้ง 3 วิธีคือ AP activity test ร่วมกับ PSA detection และ Spermatozoa examination เพื่อความสอดคล้องของผลการทดสอบและให้มีความน่าเชื่อถือยิ่งขึ้น

ส่วนการทดลองหยดอสุจิในปริมาณต่างๆลงบนผ้า แล้วตรวจด้วยเทคนิค ATR-IR พบว่าได้สเปกตรัมที่ปรากฏหมู่ฟังก์ชันของอสุจิ ซึ่งเมื่อพิจารณาจากพีค Amide I และ Amide II สามารถแยกความแตกต่างระหว่างสเปกตรัมของคราบอสุจิกับสเปกตรัมของผ้าได้ ในผ้าที่มีคราบอสุจิตั้งแต่ 150 μl เป็นต้นไป อาจเนื่องมาจากในผ้าที่เป็นเส้นใยสังเคราะห์จะมีองค์ประกอบที่ทำให้บดบังพีคดังกล่าว แต่เมื่อนำมาหักลบจากพีคของผ้าก็สามารถตรวจหาคราบอสุจิได้

จากงานวิจัยนี้จะเห็นได้ว่าเทคนิค ATR-IR สามารถนำไปประยุกต์ใช้ตรวจหาคราบอสุจิจากวัตถุพยานที่เป็นสำลีป้ายจากช่องคลอดของผู้เสียหายในคดีข่มขืนทางเพศ และผ้าต่างๆ ในสถานที่เกิดเหตุ ซึ่งตัวอย่างอาจจะมีปริมาณไม่มาก เทคนิคนี้ก็สามารถตรวจได้โดยมีขั้นตอนในการตรวจที่สะดวกรวดเร็วสามารถจำแนกหมู่ฟังก์ชันที่เป็นองค์ประกอบในโครงสร้างโมเลกุลของตัวอย่างที่นำมาตรวจได้ ซึ่งไม่ต้องใช้สารเคมีใดๆ จึงไม่ทำลายวัตถุพยานและสามารถนำตัวอย่างเดิมไปตรวจต่อด้วยวิธี AP test, PSA detection และ Spermatozoa examination ก่อนการนำไปตรวจยืนยันหรือตรวจหาสารพันธุกรรมเพื่อระบุเอกลักษณ์บุคคลในขั้นต่อไป ซึ่งสามารถประหยัดค่าใช้จ่ายได้ถึงแม้ว่าในปัจจุบันวิธี ATR-IR ยังไม่ได้ถูกนำมาใช้เพื่อการตรวจหาคราบอสุจิจากวัตถุพยาน แต่วิธีนี้อาจให้ข้อมูลที่สามารถนำไปใช้สำหรับการสืบสวนสอบสวนในคดีข่มขืนทางเพศได้ และเป็นประโยชน์ทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ช่วยในกระบวนการยุติธรรมสู่การนำตัวผู้กระทำผิดมาดำเนินคดีตามกฎหมายต่อไปได้

2. ข้อเสนอแนะ

ในงานวิจัยเป็นการทดลองภายในห้องที่ควบคุมสภาพแวดล้อมจำกัด และมีการจำลองสถานการณ์โดยการหยดอสุจิลงบนสำลีพันก้านไม้และผ้าปูที่นอนเท่านั้น การศึกษาวิจัยเพิ่มเติมครั้งต่อไปอาจจะมีความหลากหลายของวัตถุรองรับคราบอสุจิเช่นกระดาษ พรมเป็นต้น หรือเพิ่มระยะเวลาในการเก็บตัวอย่างให้นานขึ้น หรือนำวัตถุพยานที่มีตัวรบกวนการตรวจอันเนื่องมาจากอุณหภูมิและการเก็บที่ไม่เหมาะสม เช่นวัตถุพยานที่ขึ้นรา เป็นต้นมาทำการทดสอบ เพื่อทำให้งานวิจัยทรงคุณค่าและเกิดประโยชน์มากยิ่งขึ้น

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

ณรงค์ ไชยสุต. **วิธีการวิเคราะห์โดยอุปกรณ์**. พิมพ์ครั้งที่ 9. กรุงเทพมหานคร: มหาวิทยาลัยรามคำแหง, 2548

นเรศวร สุขเจริญ. **การกรวดน้ำอสุจิและการทำงานของอสุจิ**. กรุงเทพมหานคร: บริษัทเท็กซ์แอนด์เจอร์นัล พลับลิเคชัน จำกัด, 2543

รำแพน พรเทพเกษมสันต์. **กายวิภาคศาสตร์และสรีรวิทยาของมนุษย์**. พิมพ์ครั้งที่ 3. ศิลปาบรรณาคาร, 2538

วิชัย ริ้วตระกูล และคณะ.**การประยุกต์สเปคโตรสโคปีในเคมีอินทรีย์**. กรุงเทพมหานคร: ห้องเรียน, 2526

ศุภชัย ใช้เทียมวงศ์. **เคมีวิเคราะห์**. พิมพ์ครั้งที่ 11. กรุงเทพมหานคร: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2552.

อรรถพล แช่มรัมย์ และคณะ. **นิติวิทยาสาสตร์ 1 เพื่อการสืบสวนสอบสวน**. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพมหานคร: บริษัททีซีจี พริ้นติ้ง จำกัด.2546.

การอ้างอิงจากฐานข้อมูลออนไลน์

ธีรยุทธ วิไลวัลย์. **อินฟราเรด สเปกโตรสโคปี**. เข้าถึงเมื่อ 25 มกราคม2555. เข้าถึงได้จาก http://www.chemistry.sc.chula.ac.th/course_info/2302275/ir-265.pdf

ประสิทธิพร ดอนแก้ว**. ระบบสืบพันธุ์**. เข้าถึงเมื่อ 25 กุมภาพันธ์ 2556. เข้าถึงได้จาก http://blog.school.net.th/blogs.prasitporn.phd/2008/08/19/-16

ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศกลาง. **สถิติคดีอาญา 5 ประเภท**. เข้าถึงเมื่อ 25 มกราคม 2556. เข้าถึงได้จาก http://statistic.ftp.police.go.th/dn_main.htm

ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศกลาง. **การตรวจทางห้องปฏิบัติการในคดีความผิดทางเพศ**. เข้าถึงเมื่อ 25มกราคม2556. เข้าถึงได้จากhttp://www.ifm.go.th/articles/article003.

ภาษาอังกฤษ

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

O.,Barcot, Blarin, M., Gamlim, O., D., Romac P., and Brnjis-Kraljevic, J. "**Investigation of Spermatozoa and Seminal Plasma by Fourier Transform Infrared Spectroscopy.**" Applied Spectroscopy 61 (November 2007)

Sturt, H. James, and Jon J. Nordby."**Forensic Science: An Introduction to Scientific and Investigative Techniques.3rd ed.**" United States of America: Taylor&Francis, 2005.

Vichan Peonim, et al."**Comparison between prostate specific antigen and acid phosphatase for detection of semen in vaginal swabs from raped women.**", Forensic and Legal Medicine 2013; 20: 578-581

Willott GM, and Allard IE., "**Spermatozoa their persistence after sexual intercourse.**" Forensic SciInt 19, 1982: 135-154

ภาคผนวก

เอกสารชี้แจงข้อมูลผู้เข้าร่วมงานวิจัย

เนื่องด้วยดิฉัน นางสาวกัญญารัตน์ ติ๊บกรณ์ นักศึกษาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ กำลังทำวิทยานิพนธ์ในหัวข้อเรื่อง “การตรวจหาคราบอสุจิโดยใช้เทคนิค Attenuated Total Reflection Infrared Spectroscopy” จึงใคร่ขอความร่วมมือจากท่านเข้าร่วมการวิจัยครั้งนี้ ในการกรอกรายละเอียดข้อมูลส่วนบุคคลตามแบบสอบถาม และเก็บตัวอย่างน้ำอสุจิ เพื่อนำมาดำเนินการทดลองทางวิทยาศาสตร์อย่างเป็นระบบ ทั้งนี้ข้อมูลทั้งหมดที่ท่านได้กรอกจะถูกเก็บไว้เป็นความลับ การทดลองนี้จะไม่ส่งผลใดๆ ต่อท่าน แต่จะเป็นประโยชน์ทางนิติวิทยาศาสตร์โดยส่วนรวม ท่านสามารถสอบถามข้อสงสัยในการวิจัยได้โดยตรงกับผู้วิจัยและมีสิทธิ์ที่จะปฏิเสธการเข้าร่วมการวิจัยในครั้งนี้ได้ทันทีที่ท่านต้องการ

สำหรับผู้เข้าร่วมการวิจัย

ข้าพเจ้าได้อ่าน หรือได้รับคำอธิบายตามรายละเอียดด้านบนนี้แล้ว มีความเข้าใจและยินดีที่จะเข้าร่วมการวิจัยครั้งนี้

ลงชื่อ.....

(ผู้เข้าร่วมการวิจัย)

ลงชื่อ.....

(พยาน)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ข้อมูลสอบถามส่วนบุคคล

ชื่อ-สกุล .....อายุ.....ปี

อาชีพ.....

วันที่เก็บตัวอย่าง.....เวลา.....น.

ภาชนะที่บรรจุ.....

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-ชื่อสกุล นางสาวกัญญารัตน์ ติ๊บกรณ์

ที่อยู่ เลขที่ 485 All Smile Mansion ถนนปู่เจ้าสมิงพราย ตำบลสำโรงใต้ อำเภอพระประแดง จังหวัดสมุทรปราการ 10130

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2554 สำเร็จการศึกษาปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคนิคการแพทย์) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยพะเยา

พ.ศ. 2555 ศึกษาต่อระดับปริญญามหาบัณฑิต สาขานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ประวัติการทำงาน

พ.ศ. 2555 – ปัจจุบัน ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์และชันสูตรโรค โรงพยาบาลวิภารามชัยปราการ จังหวัดสมุทรปราการ