

การวิเคราะห์หมึกสีน้ำเงินจากปากกาถูลื่นด้วยเทคนิคThin Layer Chromatography และการวิเคราะห์ภาพ *

Analysis of blue inks from ballpoint pens by thin layer chromatography and image analysis

มยุรี สมบูรณ์ **

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยในครั้งนี้คือ การวิเคราะห์หมึกปากกาถูลื่นสีน้ำเงินบนกระดาษด้วยเทคนิค thin-layer chromatography (TLC) ร่วมกับโปรแกรมวิเคราะห์ภาพของ chromatogram ผลของการวิเคราะห์ที่ได้จะถูกนำมาใช้ประเมินความเหมือนหรือความแตกต่างของหมึกปากกาที่ใช้ นำตัวอย่างปากกาถูลื่นสีน้ำเงินทั้งหมด 28 ยี่ห้อ มาเขียนและระบายลงบนกระดาษ จากการศึกษาค้นคว้าทดลองในการสกัดหมึก พบว่าตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุด คือ methanol และเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสมคือระบบตัวทำละลาย *n*-butanol / ethanol / H₂O (50:15:10, v/v/v) แผ่น TLC ที่ได้จะนำไปสแกนด้วยเครื่องสแกนเนอร์ที่ใช้ในสำนักงาน (300 dpi) และบันทึกเป็นแฟ้มประเภท bitmap (bmp) จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ภาพ ซึ่งโปรแกรมจะอ่านและเปรียบเทียบค่าความเข้มของ สีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน (RGB) บนภาพ TLC ผลจากการวิเคราะห์ภาพบนแผ่น TLC เดียวกันที่เตรียมโดยการเขียนและการระบายของปากกาแท่งเดียวกันจำนวน 15 ยี่ห้อ พบว่าสามารถแยกได้ถูกต้อง 70.4% และ 61.5% ตามลำดับ แต่เมื่อนำหมึกของปากกาแท่งเดียวกันจำนวน 5 ยี่ห้อ มาวิเคราะห์บนแผ่น TLC ต่างแผ่นกัน ผลที่ได้มีความถูกต้องเพียง 18.5% และ 6.7% จากการเขียนและการระบายตามลำดับ และเมื่อนำปากกาจำนวน 25 ยี่ห้อ มาเขียน และระบายบนกระดาษ สำหรับการวิเคราะห์ เพื่อแยกชนิดของปากกาพบว่าสามารถแยกได้ 36.0% และ 2.0% ตามลำดับ ผลการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นความเป็นไปได้ในการใช้วิธี TLC ร่วมกับโปรแกรมวิเคราะห์ภาพเพื่อตรวจพิสูจน์เอกสารทางนิติวิทยาศาสตร์

Abstract

The aim of this work is to analyse blue ballpoint pen inks on documents by the technique of thin-layer chromatography (TLC) coupled with an image analysis of the chromatogram. The results were then used to evaluate the similarity and difference of the inks used. Twenty-eight blue ballpoint pens of different brands were selected for this study. The most suitable solvent used for the extraction of ink was

* บทความนี้เป็นบทความจากผลงานวิจัยที่ผู้เขียนบทความเรียบเรียงจากวิทยานิพนธ์เรื่อง การวิเคราะห์หมึกสีน้ำเงินจากปากกาถูลื่นด้วยเทคนิคThin Layer Chromatography และการวิเคราะห์ภาพ โดยมี อาจารย์ ดร.ศุภชัย สุภลักษณ์นารี อาจารย์ประจำภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร นครปฐม เป็นที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และ อาจารย์ ดร. ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง เป็นที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

** สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร นครปฐม

methanol. The dissolved ink solution was then analysed by TLC using a solvent system of *n*-butanol / ethanol / H₂O (50:15:10, v/v/v) as a mobile phase. The chromatogram of the ink was digitized by using an ordinary office scanner (300 dpi) and the image was saved as a bitmap (bmp) file. The red, green and blue (RGB) profiles of the image were processed and used to distinguish the ink by a computer software. For fifteen pens of different brands, when the inks were analysed on the same TLC plate, 70.4 % of the chromatogram images obtained from the written entries can be correctly identified as similar while 61.5 % of the images from painted entries was evaluated correctly as those from the same pen. However, when the inks were applied on different TLC plates, for a selected set of 5 pens, only 18.5% and 6.7% of the images can be correctly identified as the image from the same pen in written and painted formats respectively. In the differentiation study of 25 brands of pens, the method can differentiate the inks correctly with the percentages of 36.0% and 2.0% for the written and painted documents respectively. The result from the present work demonstrates the feasibility of the TLC and color image analysis technique in forensic examination of documents.

บทนำ

การวิเคราะห์หมึกปากกาถูกกลืน เป็นกระบวนการที่มีความสำคัญต่อกระบวนการทางนิติวิทยาศาสตร์ ซึ่งเมื่อมีการเขียนปากกาถูกกลืนลงบนเอกสารใดๆ แล้ว สีของหมึกปากกาถูกกลืนที่ปรากฏบนเอกสารจะไม่สามารถบอกละเอียดของปากกาถูกกลืนนั้นได้ เช่น ชนิดของปากกา หรือ ระยะเวลาในที่เขียน เป็นต้น โดยทั่วไปได้มีการศึกษาเกี่ยวกับชนิดของน้ำหมึกที่เขียนเอกสารด้วยสองเหตุผลหลักๆ ดังนี้

1. เพื่อเปรียบเทียบหมึกปากกาที่ใช้ในการเขียนลงบนเอกสารในชุดเดียวกัน หรือสองชุดขึ้นไปว่าเป็นปากกาชนิดเดียวกันหรือไม่ เช่น ทำการตรวจสอบว่า เช็ค ใบเสร็จรับเงิน พินัยกรรม หรือใบบัญชีต่างๆ ได้ถูกเปลี่ยนหรือแก้ไขเพิ่มเติมรายละเอียดลงไปหรือไม่

2. เพื่อระบุถึงอายุของหมึกปากกาที่ใช้เขียนในเอกสารที่เกิดการสงสัยว่าการเขียนครั้งนั้นเกิดขึ้นเมื่อไร เช่น ใบสั่งแพทย์ พินัยกรรม และเอกสารภาษีรายได้ เป็นต้น

น้ำหมึกปากกาถูกกลืนมีส่วนประกอบที่สำคัญคือ สารตัวนำ (vehicle) เป็นสารที่เติมลงในน้ำหมึกเพื่อการละลาย หรือการพาสารสี รวมไปถึงความคล่องตัวในการไหลของถูกกลืน สารสี (dyes and pigment) เป็นส่วนประกอบที่ให้สีกับน้ำหมึก บางครั้งมักจะใช้มากกว่า 1 ชนิด เช่น ในสูตรของน้ำหมึกสีน้ำเงินจะมีองค์ประกอบของ copper phthalocyanine, nigrosin, solvent fast blue และ luxol fast orange เป็นต้น เรซิน (resin) เป็นสิ่งที่เพิ่มเข้าไปในน้ำหมึกถูกกลืนเพื่อเติมเต็มในสูตร และเพื่อปรับในเรื่องความหนืดของน้ำหมึก เป็นต้น (อรอุษา, 2542) สำหรับส่วนประกอบที่อยู่ในน้ำหมึกนั้น ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ในการใช้งานตามแต่ละคุณสมบัติที่ผู้ผลิตแต่ละรายต้องการ เช่น ความเหนียวหนืด ลักษณะการแห้งตัว สี การไหล การทนความร้อน การทนแสง หรือการทนน้ำ เป็นต้น ซึ่งผู้ผลิตแต่ละรายก็จะมีสูตรน้ำหมึกไม่เหมือนกัน ในส่วนนี้จะประโยชน์มากที่จะนำมาวิเคราะห์ความแตกต่างกันของน้ำหมึกได้

การแยกส่วนประกอบของน้ำหมึกมีวิธีการวิเคราะห์ที่หลากหลาย เช่น Thin-Layer Chromatography, TLC (Djavanshir,2008) ; High-Performance Liquid Chromatography, HPLC (Ashwini, 2006) ; UV - VIS spectrophotometers (Craig D, 2008) ; Infrared spectroscopy, IR (Xiang-feng, 2008) และ Flourier Transform Infrared microscopy, FT-IR (Wenxuan He, 2002) เป็นต้น

สำหรับในงานวิจัยนี้จะใช้เทคนิค thin-layer chromatography (TLC) ซึ่งจะแยกหมึกออกเป็นแถบๆ แยกออกเป็นสีต่างๆ โดยหมึกแต่ละชนิดจะแยกกันตามส่วนประกอบที่มีในน้ำหมึก นอกจากนี้ยังใช้โปรแกรมที่ออกแบบมาเพื่อวิเคราะห์ความเข้มสีของหมึกแต่ละชนิดที่แตกต่างกัน วิธีการ TLC เป็นวิธีการตรวจพิสูจน์เบื้องต้นที่มีประสิทธิภาพ เป็นวิธีที่ใช้อย่างกว้างขวาง เพราะทำได้สะดวก รวดเร็ว ราคาถูก และใช้ตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ในปริมาณน้อย ผลการทดลองที่ได้เรียกว่า chromatogram การศึกษาในครั้งนี้ได้นำหมึกปากกาถูกลิ้นสีน้ำเงินที่เขียนลงบนเอกสารมากกว่าสองชนิดมาเปรียบเทียบกัน เพื่อตรวจสอบว่าหมึกที่ใช้เหล่านั้นเหมือนกันหรือแตกต่างกัน ในขั้นตอนการเปรียบเทียบได้นำภาพสแกนของ TLC chromatogram ที่สแกนด้วยเครื่องสแกนเนอร์ที่มีใช้ทั่วไปตามสำนักงาน มาวิเคราะห์ความเหมือนความแตกต่างด้วยโปรแกรมการวิเคราะห์ภาพ โดยโปรแกรมจะวิเคราะห์ความเหมือนและความแตกต่างของความเข้ม สีแดง (R, red) สีเขียว (G, green) และสีน้ำเงิน (B, blue) ตลอดจนการเปรียบเทียบตำแหน่งของสีบนภาพ chromatogram ซึ่งจะเป็นวิธีที่ใช้ยืนยันความเหมือนหรือความแตกต่างของหมึกปากกา ได้ทั้งตำแหน่งและความเข้มสี ทำให้ผลการทดลองมีความถูกต้องมากขึ้น นอกจากนี้ยังเป็นการพัฒนาวิธีการตรวจสอบชนิดของหมึกปากกาถูกลิ้นได้อีกด้วย

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อเปรียบเทียบหมึกปากกาถูกลิ้นสีน้ำเงินแต่ละชนิดที่เขียนหรือระบายบนเอกสาร
2. เพื่อพัฒนาการวิเคราะห์หมึกปากกาถูกลิ้นโดยเทคนิค thin-layer chromatography

วิธีการวิจัย

การเตรียมตัวอย่าง

ในการทดลองจะใช้หมึกปากกาถูกลิ้นสีน้ำเงิน 28 ชนิด ตามตารางที่ 1 ซึ่งเตรียมตัวอย่าง 2 แบบดังนี้คือ การเขียนบนกระดาษเพื่อการวิเคราะห์ที่สามารถนำไปใช้ได้จริง และระบายบนกระดาษเพื่อให้สามารถสกัดหมึกออกจากกระดาษได้ปริมาณความเข้มข้นสูงซึ่งเมื่อนำไปทำ TLC จะให้ความเข้มสีของ chromatogram ที่ชัดเจน การเตรียมตัวอย่างในการทดลองนี้ไม่มีการควบคุมน้ำหนักมือสำหรับการเขียนและการระบาย หมึกปากกบบนกระดาษ กระดาษที่ใช้เป็นชนิดเดียวกันตลอดการทดลอง ในการทดลองใช้ กระดาษ double A จากนั้นนำมาเจาะด้วยตัวเจาะกระดาษเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 6 mm แล้วนำไปทำการทดลองต่อไป

ตารางที่ 1 ปากกาลูกกลิ้งสีน้ำเงินที่นำมาศึกษา

ตัวอย่างที่	ชื่อยี่ห้อหรือรุ่นปากกาลูกกลิ้งสีน้ำเงิน
1	FABER- CASSELL Need Ball 1444 0.5 mm. S-fine Blue Made In Malaysian
2	GOLD POINT 881 0.5 Gold BKL
3	LANCER Spiral 0.5 825
4	QUANTUM Gelobal 1233 Made In India
5	HORSE Ball Pen 0.7 mm. Swiss Technique
6	AH 505 AIHAO
7	ไม่มีชื่อ
8	QUATUM GELO Gelobal 007 Made In India
9	ไม่มีชื่อ
10	TEX Mc 228 1.0 mm. 122
11	H-667 Swiss Technique
12	0.7 Tungstem European
13	M & G Yuppie 0.5 mm.
14	BKL® 045 Reynolds 0.5 France Technique 0.8
15	LINC® Glycer (Supper Smooth Ball Pen) Fine
16	ไม่มีชื่อ
17	STAEADTLER Noris Stick 434 F (Germany)
18	FASTER CX 606
19	G'Soft Fizz HI grip 0.38
20	STABILO Liner 308 (Blue Medium)
21	DBP-0049 0.5 @ Disney Based On the winie pooh By AA Milne and E.H
22	Shepard.
23	BIC Bu2 0.5
24	DIAMOND 6080
25	PENCOM Fine 0.5 mm. P.20
26	UNI Laknock Fine Made In Japan
27	FASTER 505 Made In Korea
28	PAPER : MATE Kilometrico Viz 2

การศึกษาตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดหมึกออกจากกระดาษ

ในการทดลองนี้ใช้ตัวทำละลาย 11 ชนิด มาใช้สกัดเพื่อหาตัวทำละลายที่ดีที่สุด ตัวทำละลายที่ใช้ดังตารางที่ 2 นำตัวอย่างจากการระบายที่เจาะแล้วจำนวน 10 ชิ้น ใส่ในหลอดทดลอง 11 หลอด เติมสารละลายแต่ละชนิดลงในหลอดทดลอง หลอดละ 1 ชนิดด้วยปริมาณ 1 ml เขย่าประมาณ 1 min จากนั้นสังเกตสีและความเข้มข้นของสารละลายน้ำหมึก นำสารละลายที่มีความเข้มข้นสูงไป spot บนแผ่น TLC เพื่อเลือก chromatogram ที่ดีที่สุด และเลือกใช้ตัวทำละลายนั้นในการทดลองต่อไป

ตารางที่ 2 ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดหมึกปากกาออกจากกระดาษ

ชนิดที่	ชื่อตัวทำละลาย
1	ethyl acetate
2	ethanol
3	acetic acid
4	acetone
5	<i>n</i> - butanol
6	1,2 – dichloroethane
7	<i>n</i> – buthyl acetate
8	1,1,2,2 – tetrachloroethane
9	cyclohexane
10	methanol
11	pyridine

การศึกษาเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ทำ TLC

ทำการศึกษาชนิดของเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ทำ TLC โดยทดลองใช้เฟสเคลื่อนที่ 5 ระบบ ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 เฟสเคลื่อนที่ 5 ระบบที่ใช้ในการศึกษา

ระบบที่	เฟสเคลื่อนที่	อัตราส่วน (v/v/v)
1	<i>n</i> -butanol : ethanol : H ₂ O	50 : 15 : 10
2	ethyl acetate : cyclohexane : methanol : NH ₃	70 : 15 : 10 : 5
3	ethyl acetate : butanol : NH ₃	60 : 35 : 5
4	ethyl acetate : ethanol : H ₂ O	70 : 35 : 30
5	toluene : acetone : ethanol : NH ₃	30 : 60 : 7 : 2

การทำ TLC ของตัวอย่างปากกาถูกลิ้นสีน้ำเงิน 28 ตัวอย่าง

นำตัวอย่างที่เตรียมจากการเขียนและการระบาย 28 ตัวอย่างนำมาสกัด และทำ TLC ตามสถานะที่ได้จากผลการทดลองใน ข้อ 2 และ 3 นำแผ่น TLC silica gel 6 F₂₅₄ (aluminums sheet, 10 x 20 cm) ไปอบที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 20 min ทำให้เย็นโดยใส่ไว้ใน dessicator นำสารละลายน้ำหมึกที่สกัดจากสารละลายที่เลือกในผลการทดลองในข้อ 2.1 มา spot ลงบนแผ่น TLC ปริมาณ 5 µl นำแผ่น TLC มา run เป็นเวลา 60 min แล้วนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 20 min จากนั้นนำ แผ่น TLC chromatogram

การสแกน และเตรียมภาพ TLC เพื่อไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม

เมื่อได้ TLC chromatogram แล้วนำมาสแกนด้วยเครื่องสแกนเนอร์รุ่น Canol Lide 100 (300 dpi) และบันทึกเป็นแฟ้มประเภท bitmap (bmp) หลังจากนั้นนำภาพที่สแกนได้มาตัดให้เหลือภาพละ 1 ตัวอย่างด้วยโปรแกรม microsoft office picture manager ให้เป็นภาพขนาดความกว้าง 120 pixel โดยตัวให้แถบของตัวอย่างหมึกปากกาอยู่ตรงกลาง ส่วนความยาวตัดให้มีขนาดตามระยะการเคลื่อนที่ของเฟสเคลื่อนที่ จากนั้นนำภาพไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ภาพ

การเปรียบเทียบภาพ TLC ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ภาพ

โดยนำแผ่น TLC 2 ภาพที่ตัดแล้วมาเปรียบเทียบ ซึ่งโปรแกรมวิเคราะห์ภาพจะออกแบบให้วิเคราะห์ค่าความเข้มของแม่สีทั้ง 3 คือสีแดง (R, red) สีเขียว (G, green) สีน้ำเงิน (B, blue) เปรียบเทียบจากค่า coefficient of determination (r^2) ของแต่ละสีโดยกำหนดให้ Rr^2 , Gr^2 และ Br^2 เป็นค่า r^2 ของสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน ตามลำดับ ถ้าเปรียบเทียบแล้วภาพ TLC คู่ใดมีค่า r^2 เข้าใกล้ 1 หมายถึงภาพ TLC ที่นำมาเปรียบเทียบนั้นมีความสัมพันธ์กันมากหรือภาพ TLC ที่นำมาเปรียบเทียบนั้นมีความเหมือนกันมาก ในทางตรงกันข้ามถ้า r^2 เข้าใกล้ 0 หมายถึงภาพ TLC ที่นำมาเปรียบเทียบมีความสัมพันธ์ กันน้อยหรือภาพ TLC ที่นำมาเปรียบเทียบมีความเหมือนกันน้อย (พิสมัย, 2550) และค่า r^2 ของทั้ง 3 สีมาคำนวณความสัมพันธ์ตามสมการ 1 โดยกำหนดเป็นค่า score ซึ่ง $W1$, $W2$ และ $W3$ เป็นน้ำหนักของแต่ละสี ซึ่งในการทดลองนี้กำหนดให้เท่ากับ 1

$$\text{Score} = [W1 \times Rr^2 + W2 \times Gr^2 + W2 \times Br^2] / W1 + W2 + W3 \quad (1)$$

ผลการทดลองและการอภิปรายผล

การศึกษาตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดหมีก

จากการศึกษาสารละลายที่ใช้ในการสกัดหมีกปากกาที่เขียน และระบายลงในกระดาษ จากการสังเกตสี และความเข้มข้นของสารละลาย พบว่า *n*-buthyl acetate และ cyclohexane ไม่สามารถสกัดหมีกออกจากกระดาษได้ ส่วนตัวทำละลาย 9 ชนิดที่เหลือสามารถสกัดหมีกปากกาออกจากกระดาษออกมาได้ พบว่าความเข้มข้นของสารละลายพบว่ามี 4 ชนิดที่ให้ความเข้มข้นสูงกว่าสารละลายตัวอื่นๆ คือ ethyl acetate, *n* – butanol, pyridine และ methanol ผู้ทำการทดลองจึงเลือกตัวทำละลาย methanol มาใช้ในการทดลองหาเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสมต่อไป ด้วยเหตุผลคือ methanol มีกลิ่นฉุนน้อยที่สุด และเป็นพิษน้อยที่สุด จากตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด ผลดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ความสามารถในการละลายของตัวทำละลายที่ใช้สกัดหมีกบนกระดาษ

ตัวทำละลาย	การละลาย	สี	ความเข้มข้น
1) ethyl acetate	ละลาย	ม่วง	มาก
2) ethanol	ละลาย	สีน้ำเงิน	ปานกลาง
3) acetic acid	ละลาย	สีน้ำเงิน	ปานกลาง
4) acetone	ละลาย	สีน้ำเงิน	ปานกลาง
5) <i>n</i> - butanol	ละลาย	สีน้ำเงิน	มาก
6) 1,2 – dichloroethane	ละลาย	สีน้ำเงิน	ปานกลาง
7) <i>n</i> – buthyl acetate	ไม่ละลาย	ไม่มีสี	ไม่ละลาย
8) 1,1,2,2 – tetrachloroethane	ละลาย	สีน้ำเงิน	ปานกลาง
9) cyclohexane	ไม่ละลาย	ไม่มีสี	ไม่ละลาย
10) methanol	ละลาย	สีน้ำเงิน	มาก
11) pyridine	ละลาย	สีน้ำเงิน	มาก

การศึกษาเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ทำ TLC

สำหรับการทดลองหาเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสมที่ใช้ในการทำ TLC ในการทดลองนี้ใช้ methanol ในการสกัดหมีกออกจากกระดาษตามผลการทดลองในข้อ 1 การวัดผลการทดลองจะสังเกตจากความคมชัดในการแยกตามเกณฑ์คะแนน ซึ่งได้ผลการทดลองดังตารางที่ 5 เฟสเคลื่อนที่ที่ดีที่สุดคือ *n*-butanol : ethanol : H₂O (50 : 15 : 10, v/v/v) เพราะสามารถแยกแถบของหมีกปากกาถูกกลืนได้ชัดเจนที่สุด ผลดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ผลการศึกษาเฟสเคลื่อนที่ 5 ระบบ ที่ใช้ในการทำ TLC

ระบบเฟสเคลื่อนที่	อัตราส่วน (v/v/v)	A	B	คะแนนรวม
1) <i>n</i> -butanol : ethanol : H ₂ O	50 : 15 : 10	4	5	9
2) ethyl acetate : cyclohexan : methanol : NH ₃	70 : 15 : 10 : 5	1	1	2
3) ethyl acetate : butanol : NH ₃	60 : 35 : 5	1	1	2
4) ethyl acetate : ethanol : H ₂ O	70 : 35 : 30	4	3	7
5) toluene : acetone : ethanol : NH ₃	30 : 60 : 7 : 2	2	1	2

หมายเหตุ A : ความคมชัดของโครมาโทแกรม

B : การแยกของโครมาโทแกรม

1 = คมชัดน้อยที่สุด / การแยกไม่ดี

4 = คมชัดมาก / การแยกดี

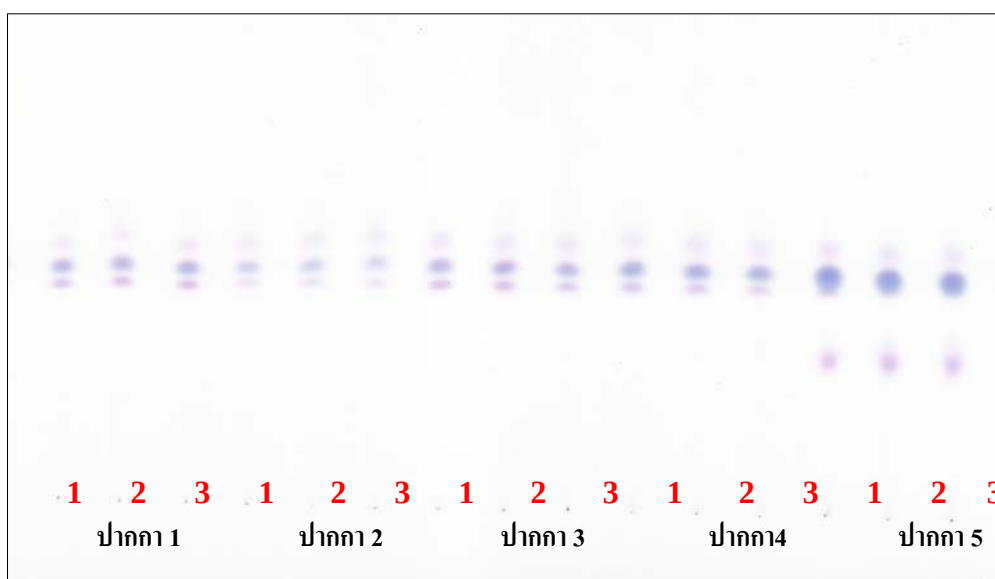
2 = คมชัดน้อย / การแยกได้น้อย

5 = คมชัดมากที่สุด / การแยกดีที่สุด

3 = คมชัดปานกลาง / การแยกได้ดีปานกลาง

การทำ TLC ของตัวอย่างปากกาลูกลื่นสีน้ำเงิน 28 ตัวอย่าง

การศึกษาสภาวะที่ใช้ในการทำ TLC สรุปได้ดังนี้คือใช้ methanol ในการสกัดหมึกออกจากกระดาสเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้คือ *n*-butanol : ethanol : H₂O (50 : 15 : 10, v/v/v) เมื่อทำ TLC ตามเวลาแล้ว แล้วนำไปสแกนด้วยเครื่องสแกนเนอร์ จะได้ภาพ chromatogram ดังภาพที่ 1 หลังจากนั้นนำภาพ TLC ที่ได้มาตัดให้เหลือภาพละ 1 ตัวอย่าง เพื่อไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ภาพ

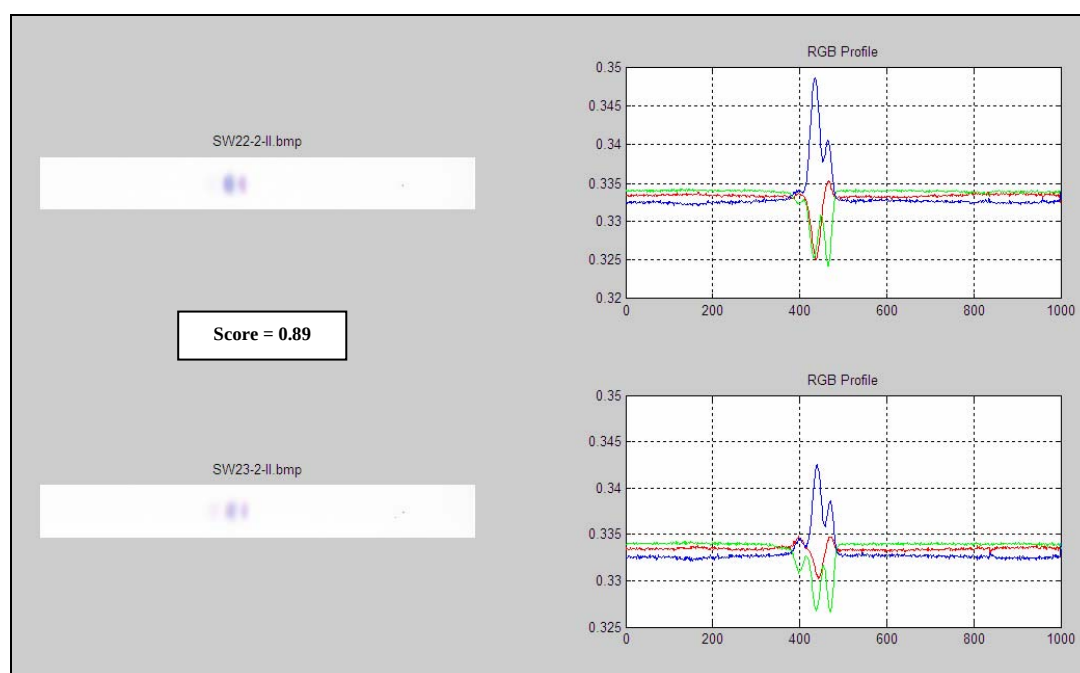


ภาพที่ 1 Chromatogram ของตัวอย่างหมึกปากกาลูกลื่นสีน้ำเงินบนแผ่น TLC

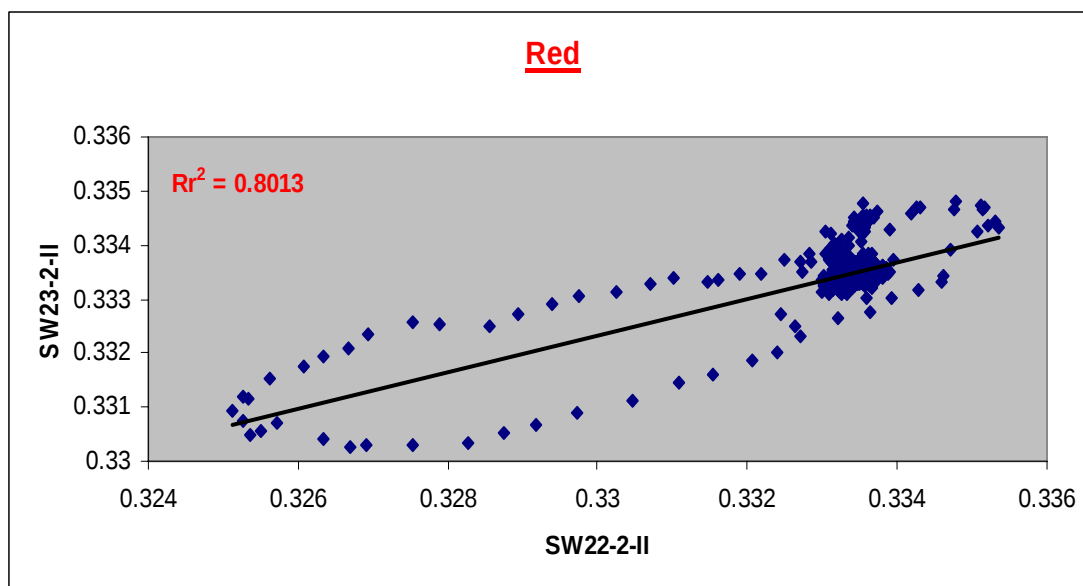
การวิเคราะห์เปรียบเทียบภาพด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ภาพ

โปรแกรมวิเคราะห์ภาพแสดงผลเป็นกราฟของ สีแดง (R, red) สีเขียว (G, green) สีน้ำเงิน (B, blue) ของแต่ละตัวอย่าง โดยแกน X เป็นความยาวของภาพมีค่า 0 – 1000 pixels แกน Y เป็นค่าความเข้ม RGB สัมพัทธ์ แสดงตัวอย่างดังภาพที่ 2

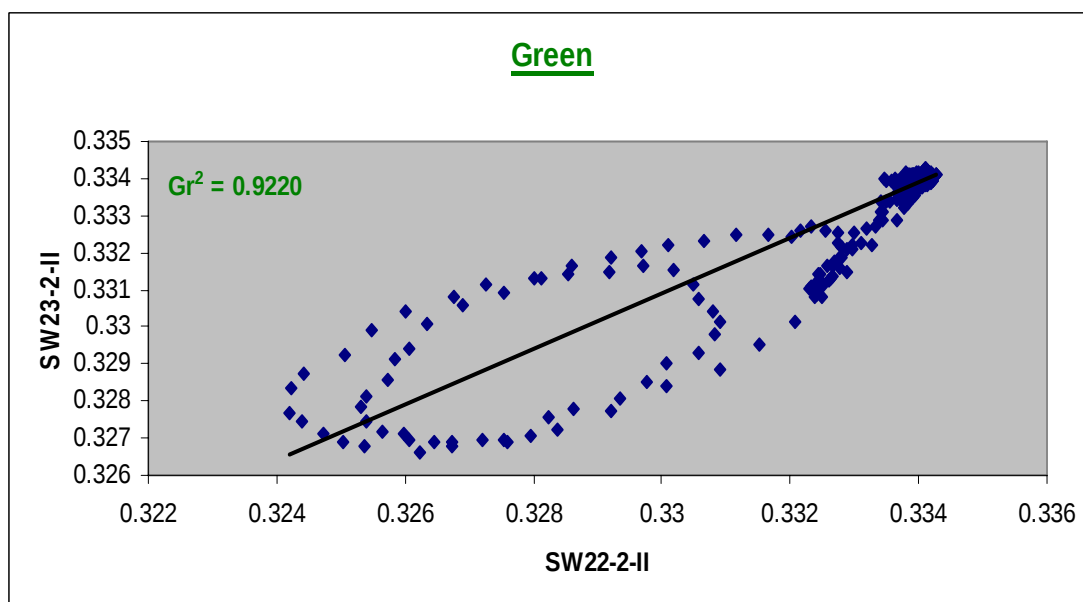
จากนั้นสร้างกราฟความสัมพันธ์ของสีและตำแหน่ง chromatogram ในภาพ TLC 2 ภาพโดยแยกเป็นกราฟความสัมพันธ์ของสีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน เพื่อหา r^2 ดังภาพที่ 3, 4 และ 5 ตามลำดับ Rr^2 , Gr^2 และ Br^2 ที่ได้จากกราฟจะถูกนำมาคำนวณหาค่า score ซึ่งถ้า score ที่ได้มีค่าเข้าใกล้ 1 แสดงว่าภาพ TLC ที่นำมาเปรียบเทียบกันนั้นมีแนวโน้มที่จะเหมือนกันหรือกล่าวได้ว่ามีแนวโน้มเป็นปากกาเขียนเหมือนกัน และในทางตรงข้ามถ้า score มีค่าเข้าใกล้ 0 แสดงว่ามีแนวโน้มที่จะแตกต่างกันหรือมีแนวโน้มที่จะเป็นปากกาต่างยี่ห้อกัน ซึ่งจะนำ r^2 ของ RGB มาคำนวณเป็นค่า score อีกครั้งเพื่อเปรียบเทียบความเหมือนความแตกต่าง



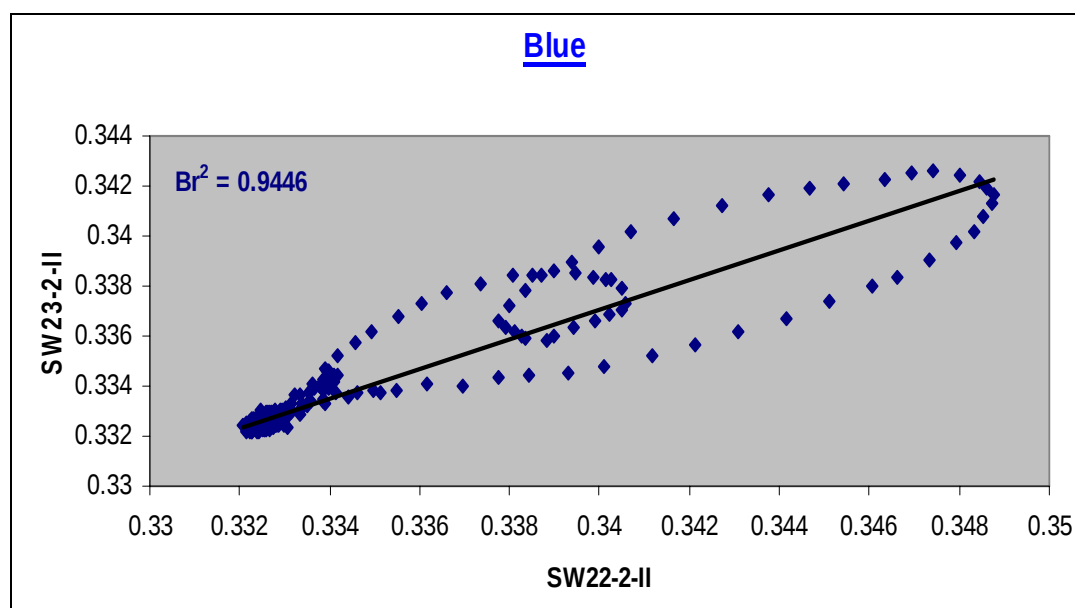
ภาพที่ 2 กราฟการวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรม แสดงผลเป็น RGB



ภาพที่ 3 กราฟความสัมพันธ์สีแดง (R, red) แสดง R^2 ของตัวอย่าง SW22-2-II และ SW23-2-II



ภาพที่ 4 กราฟความสัมพันธ์สีเขียว (G, green) แสดง Gr^2 ของตัวอย่าง SW22-2-II และ SW23-2-II



ภาพที่ 5 กราฟความสัมพันธ์สีน้ำเงิน (B, blue) แสดง Br^2 ของตัวอย่าง SW22-2-II และ SW23-2-II

ผลการหาเกณฑ์การพิจารณาความเหมือนและความแตกต่างของปากกา

การหาเกณฑ์พิจารณาความเหมือนและความแตกต่างของปากกานั้น จะเปรียบเทียบภาพ TLC 252 คู่ ของตัวอย่างที่อยู่บนแผ่นเดียวกันที่เขียนและระบายโดยปากกาแท่งเดียวกันจำนวน 28 ยี่ห้อ นำ score ตัวอย่างจากเขียนและการระบาย มาคำนวณเพื่อหาค่าเฉลี่ย และ ค่าต่ำสุดของข้อมูล โดยนำมาตั้งเกณฑ์การวิเคราะห์คือ ถ้า score มีค่า $\geq$ ค่าเฉลี่ยแสดงว่าเป็นหมึกปากกาลูกล้นสีน้ำเงินที่มียี่ห้อเดียวกัน ถ้า score ที่ได้อยู่ระหว่าง ค่าเฉลี่ยและค่าต่ำสุด จะไม่สามารถระบุว่าเป็นหมึกปากกาลูกล้นสีน้ำเงินที่มาจากยี่ห้อเดียวกันหรือต่างกัน และถ้า score มีค่า $\leq$ ค่าต่ำสุด แสดงว่าเป็นหมึกปากกาลูกล้นสีน้ำเงินต่างยี่ห้อกันซึ่งจากการวิเคราะห์ จากการนำข้อมูลมาวิเคราะห์ได้ผลดังนี้คือ score ของตัวอย่างจากการเขียนมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.93 และค่าต่ำสุดเท่ากับ 0.59 ส่วนตัวอย่างจากการระบายมีค่าเฉลี่ยและค่าต่ำสุด มีค่าเท่ากับ 0.89 และ 0.22 ตามลำดับ จากการทดลองได้เกณฑ์พิจารณาดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 เกณฑ์สำหรับใช้พิจารณาความเหมือนและความแตกต่างของหมึกปากกา

Score		เกณฑ์การพิจารณา
จากการเขียน	จากการระบาย	
≥ 0.93	≥ 0.89	แสดงว่าเป็นหมึกปากกาลูกล้นสีน้ำเงินที่มียี่ห้อเดียวกัน
0.59-0.92	0.23-0.88	ระบุไม่ได้ว่าเป็นหมึกปากกาลูกล้นสีน้ำเงินยี่ห้อเดียวกันหรือต่างกัน
≤ 0.58	≤ 0.22	แสดงว่าเป็นหมึกปากกาลูกล้นสีน้ำเงินต่างยี่ห้อกัน

ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบภาพที่อยู่บนแผ่น TLC แผ่นเดียวกัน

การวิเคราะห์จะเปรียบเทียบภาพ TLC 135 คู่ โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบภาพ TLC ที่อยู่บนแผ่น TLC เดียวกัน ที่เขียนและระบายโดยปากกาแท่งเดียวกันจำนวน 15 ยี่ห้อ ซึ่งได้นำ score ของภาพ TLC 135 คู่มาวินิจฉัยผลตามเกณฑ์การพิจารณา ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 7 ซึ่งผลที่ได้ทั้งจากการเขียนและการระบาย การวิเคราะห์ผลมีความถูกต้อง 70.4 % และ 61.15 % ตามลำดับ ตารางที่ 7

ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบภาพที่อยู่บนแผ่น TLC ต่างแผ่นกัน

การวิเคราะห์จะเปรียบเทียบภาพ TLC 135 คู่ โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบภาพ TLC ที่อยู่บนแผ่น TLC ต่างแผ่นกัน ที่เขียนและระบายโดยปากกาแท่งเดียวกันจำนวน 5 ยี่ห้อ ซึ่งได้นำ score ของภาพ TLC 135 คู่มาวินิจฉัยผลตามเกณฑ์การพิจารณา ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 7 ซึ่งผลที่ได้ทั้งจากการเขียนและการระบาย การวิเคราะห์พบว่าการวิเคราะห์ผลมีความถูกต้อง 18.5 % และ 6.7 % ตามลำดับ ตารางที่ 7

เปรียบเทียบความเหมือนความแตกต่างของปากกาลูกลื่นสีน้ำเงิน 25 ยี่ห้อ

การวิเคราะห์จะเปรียบเทียบภาพ TLC 50 คู่ โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบภาพ TLC ที่อยู่บนแผ่น TLC แผ่นเดียวกัน ที่เขียนและระบายโดยปากกาต่างแท่งกันจำนวน 25 ยี่ห้อ ซึ่งได้นำ score ของภาพ TLC ทั้ง 50 คู่มาวินิจฉัยผลตามเกณฑ์การพิจารณา ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ผลการวิเคราะห์หมึกปากกาลูกลื่นสีน้ำเงินที่เขียนและระบายบนกระดาษ

วิธีการเปรียบเทียบ ตัวอย่าง ผลการแยก ความแตกต่างของ ยี่ห้อปากกา	ปากกาแท่งเดียวกัน				ปากกาต่างแท่งกัน	
	แผ่นเดียวกัน (15 ยี่ห้อ)		ต่างแผ่นกัน (5 ยี่ห้อ)		แผ่นเดียวกัน (25 ยี่ห้อ)	
	เขียน	ระบาย	เขียน	ระบาย	เขียน	ระบาย
เป็นปากกาเดียวกัน (%)	70.4	61.5	18.5	6.7	10.0	10.0
เป็นปากกาต่างยี่ห้อ (%)	0	0.7	50.4	4.4	36.0	2.0
ไม่สามารถสรุปได้ (%)	29.6	37.8	31.1	88.9	54.0	88.0
ความถูกต้อง (%)	70.4	61.5	18.5	6.7	—	—

สรุปผล และการอภิปรายผลการวิจัย

เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ของตัวอย่างที่เตรียมจากเขียนและการระบายพบว่า ตัวอย่างจากการเขียนสามารถวิเคราะห์ได้ถูกต้องมากกว่าการระบายทั้งการวิเคราะห์บน TLC แผ่นเดียวกันและต่างแผ่นกัน ดังผลการทดลองในตารางที่ 7 ทั้งนี้เนื่องจากการเขียนหมึกปากกาลงบนกระดาษนั้นมีความสม่ำเสมอในการเขียน ทำให้ในส่วนของการสารสี (dyes and pigments) สามารถกระจายตัวได้ดีในตัวทำละลายที่ใช้สกัด ส่วนตัวอย่างจากการระบายนั้นมีการเขียนทับกันของเส้นหมึกเข้าไปมาอาจทำให้สารสีเกิดการจับตัวกัน เมื่อสกัดออกมาจะทำให้สารสีกระจายตัวได้ไม่ดีในตัวทำละลายที่ใช้สกัด ทำให้เมื่อนำมาทำ TLC ได้ chromatogram ที่ไม่สม่ำเสมอส่งผลต่อความถูกต้อง

ส่วนการวิเคราะห์ตัวอย่างที่อยู่บนแผ่น TLC เดียวกันนั้นมีความถูกต้องมากกว่าการวิเคราะห์ตัวอย่างที่อยู่บนแผ่น TLC ต่างแผ่นกัน ทั้งจากการเขียนและการระบายดังผลในตารางที่ 7 การวิเคราะห์บนแผ่น TLC เดียวกันมีสภาวะทุกอย่างเหมือนกัน ระยะเวลาในการทำเท่ากัน การเคลื่อนที่เฟสเคลื่อนที่เท่ากัน จึงทำให้ผลการทดลองมีความถูกต้องมากกว่าการวิเคราะห์บน TLC ต่างแผ่นกัน และสำหรับการเปรียบเทียบปากกาลูกกลิ้งสีน้ำเงินเขียนบนกระดาษ 25 ยี่ห้อพบว่าปากกาอีโค่เดียวกัน 10 % เป็นปากกาคนละยี่ห้อกัน 36 % และยังไม่สามารถระบุได้ 54% ทั้งนี้ในการทดลองแยกความเหมือน และความแตกต่างของปากกาได้ไม่ถึง 50 % ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าตัวอย่างหมึกปากกาลูกกลิ้งสีน้ำเงินที่ใช้โดยทั่วไปมีส่วนประกอบของหมึกปากใกล้เคียงกันหรือบางยี่ห้ออาจใช้หมึกปากกาที่มาจากแหล่งผลิตเดียวกัน

การศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปใช้วิเคราะห์ปากกาลูกกลิ้งสีน้ำเงิน ที่ใช้เขียนบนเอกสารที่ต้องสงสัยว่าเป็นแท่งเดียวกันหรือไม่ได้โดยวิธีง่ายๆ โดยใช้เทคนิค TLC และการวิเคราะห์ภาพด้วยโปรแกรม ซึ่งสามารถนำวิธีนี้ไปปรับใช้เพื่อให้เกิดประโยชน์ในทางนิติวิทยาศาสตร์ต่อไป

ข้อเสนอแนะ

สำหรับการศึกษาเกี่ยวกับการเปรียบเทียบหมึกปากกาลูกกลิ้งสีน้ำเงิน ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาตั้งแต่การเตรียมตัวอย่างไปจนถึงการวิเคราะห์ผลเปรียบเทียบ จากการศึกษาดังกล่าวผู้ทำวิจัยจึงมีข้อเสนอแนะสำหรับผู้สนใจจะศึกษา ดังนี้คือ

1. การเปรียบเทียบหมึกปากกาลูกกลิ้งสีน้ำเงินควรทำในแผ่น TLC เดียวกัน เพื่อควบคุมการทดลองให้อยู่ภายใต้สภาวะเดียวกัน ป้องกันความคลาดเคลื่อน
2. ภาพสแกน TLC chromatogram ที่นำมาตัด ควรตัดให้มีความกว้างและความยาวของภาพที่นำมาเปรียบเทียบเท่ากันทั้งสองภาพเพื่อป้องกันการคลาดเคลื่อน เมื่อวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม
3. การศึกษาควรทราบส่วนประกอบที่แน่นอนของหมึกปากกาลูกกลิ้ง เพื่อยืนยันความถูกต้องในการวิเคราะห์เปรียบเทียบ

บรรณานุกรม

ภาษาไทย

พิสมัย หาญมงคลพิพัฒน์. หลักสถิติ 1. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2550.
อรอุษา สรวารี. สารเคลือบผิว (สี วาร์นิช และแล็กเกอร์). พิมพ์ครั้งที่ 1 : พิมพ์ที่โรงพิมพ์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2542.

ภาษาอังกฤษ

- Ashwini Kher, Mary Mulholland, Elinore Green and Brian Reedy. "Forensic classification of ballpoint pen inks using high performance liquid chromatography and infrared spectroscopy with principal components analysis and linear discriminant analysis." *Vibrational Spectroscopy* 40 (2006) : 270-277.
- Craig D. Adam, Sarah L. Sherratt and Vladimir L. Zholobenko. "Classification and individualization of black ballpoint pen inks using principal component analysis of UV-vis absorption spectra." *Forensic science International* 174 (2008) : 16-25.
- Djavanshir Djozan, Tahmineh Baheri and Ghader Karimian. "Forensic discrimination of blue ballpoint pen inks based on thin layer chromatography and image analysis." *Forensic science international* 179 (2008) : 199-205.
- Wenxuan He, Robert Shanks and Gandara Amarasinghe. "Analysis of additives in polymers by thin-layer chromatography couple with fourier transform-infrared microscopy." *Vibration spectroscopy* 30 (2002) : 147-156.
- Xiang-Feng Wang, Jing Yu, Meng-Xia Xie, Ya-Tong Yao and Jie Han. "Identification and dating of the fountain pen ink entries on documents by ion-pairing high-performance liquid chromatography." *Forensic science international* 180 (2008) : 43-39.