

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ADLİ TIP ANABİLİM DALI

FARKLI YÜZEYLER ÜZERİNDEKİ SEMEN LEKESİ YAŞININ
ATR-FTIR SPEKTROSKOPİSİ İLE TESPİTİ

Dr. Muhammet SOYYIĞIT

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

ANKARA

2023

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ADLİ TIP ANABİLİM DALI

FARKLI YÜZEYLER ÜZERİNDEKİ SEMEN LEKESİ YAŞININ
ATR-FTIR SPEKTROSKOPİSİ İLE TESPİTİ

Dr. Muhammet SOYYIĞIT

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof.Dr. Ramazan AKÇAN

ANKARA

2023

TEŞEKKÜR

Asistanlığımın ilk gününden itibaren bu tez çalışması da dahil olma üzere her daim beni destekleyen, yardımcı olan, her şeyden önce örnek bir insan ve çok özel bir akademisyen olan, hayatımdaki yerini burada kelimelerle anlatmakta zorlanacağım, değerli hocam Prof. Dr. Ramazan Akçan'a

Her zaman bulunduğu ortamı rahatlatan, nezaketi ve şefkatiyle sürekli sıkıntılarımızda ilgiyle yaklaşan, özellikle adli tıpın sosyal yönünde bizleri geliştiren değerli Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Aysun Balseven Odabaşı'na

Adli tıp ve hukuka bakış açımı değiştiren, öğrencilerine vizyon katan, sosyo-kültürel açıdan da hep kendimizi geliştirmemizi sağlayan Prof. Dr. Ali Rıza Tümer hocama

Otopsi pratiğinde çokça bize katkıda bulunan, bire bir eşlik eden, öğreten ve sürekli asistan odasına küçük hediyeler göndererek bizleri mutlu eden Dr. Öğr. Gör. Mehmet Cavlak'a

Toksikoloji eğitime katkılarıyla Doç. Dr. Mukaddes Gürler'e

Bu çalışmamın başından sonuna kadar her zaman gece gündüz demeden fikirleriyle çabalarıyla bana yardımcı olan Dr. Öğr. Gör. M. Şerif Yıldırım'a

Spektroskopik çalışmalarda bize destek olup yardımcı olan Prof. Dr. Uğur Tamer'e ve yine spektroskopide bana yardımcı olan, sürekli güler yüzüyle, bıkmadan usanmadan hep sorularımı cevaplayan Dr. Öğr. Gör. Ayhan İbrahim Aysal'a

Hacettepe Adli Tıp'a ait en güzel parça olarak hatırlayacağım, sosyo-kültürel anlamda çok özel, çok zeki ve uyumlu insanlardan oluşan, acı-tatlı bir sürü anı biriktirdiğimiz ve bu tez çalışmasında da bana yardımcı olan değerli asistan arkadaşlarıma

Her daim benim mutluluğumu düşünen, bugünlere gelmemdeki en büyük yardımcım güzel aileme

Bir dosttan çok daha fazlası olan Uzm. Dr. Yusuf Selman Çelik'e

Ve tabi ki; tanıdığım andan itibaren her bir saniye yanımda desteğini hissettiğim, en zor zamanlarımda yanımda olan, en güzel anlarımda da kaynağı olan, biricik eşim Dr. Emine Aksoy Soyyiğit'e

Yürekten teşekkür ederim.

ÖZET

SOYYIĞIT, M., Farklı Yüzeyler Üzerindeki Semen Lekesi Yaşının ATR-FTIR Spektroskopi İle Tespiti, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adli Tıp Anabilim Dalı uzmanlık tezi, Ankara, 2023 Adli tıp pratiğinde cinsel dokunulmazlığa karşı işlenen suçlarda olay yerlerinde tespit edilen semen lekeleri soruşturmanın çözümlenmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Semen lekeleri analizleri, suçlunun kimliği ve olayın gerçekleşme zamanı hakkında bilgi vermektedir. Özellikle semen lekeleri yaşının tayinine dair literatürde mevcut olsa da bu çalışmalar adli tıp pratiğinde rutin uygulamaya girmemiştir. Bu çalışmalarda pratik-yöntemsel zorluklar ve fiyat-fayda dengesizliği dikkati çekmektedir. Mevcut yöntemlerin hemen hepsi olay yerlerinden elde edilen materyale zarar verip ileri incelemeye engel olmaktadır. Bu çalışmamızda hem pratik, ucuz, uygulaması kolay, hem numuneye zarar vermeyen bir yöntem geliştirmek adına; olay yerlerinde bulunması muhtemel 7 farklı solid yüzey (ahşap, cam, deri, fayans, karton, metal ve plastik) üzerinde semen lekeleri oluşturarak 2 aylık süreç boyunca farklı zaman aralıklarında ATR-FTIR Spektroskopisi ve kemometrik analizler (PLS-DA) ile ölçümler gerçekleştirdik. Tüm yüzeylerde zaman aralıkları 0-24. saat, 2-6. gün ve 1-8. haftalar olmak üzere 3 farklı gruba ayrılmıştır. Elde edilen spektral verilerin “PLS-DA” kemometrik yöntemiyle değerlendirilmesi sonucunda yöntemin başarısı “EFR” oranı ile belirlenmiş olup bu oran; yöntemin doğruluğunu test etmek amacıyla metoda sunulan bir validasyon verisinin ne kadar başarı oranı ile doğru gruplandırılabilirdiğini göstermektedir. “EFR” değeri ahşap, cam, karton, metal ve plastik yüzeyler için oluşturulan yukarıda bahsedilen her üç zaman aralığında da %100 olarak bulunurken, deri ve fayans için sırasıyla en düşük %99,94 ve %99,95 olarak bulunmuştur. Sonuç olarak ATR-FTIR spektroskopisinin kemometrik yöntemler eşliğinde farklı yüzeyler üzerinde bulunan semen lekelerinin tanınması ve lekenin yaşının tayininde uygun bir yöntem olarak kullanılabileceği gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: Adli Tıp, ATR-FTIR, kemometri, semen, semen lekeleri yaşının tayini

ABSTRACT

SOYYIĞIT, M., Detection of Semen Stains on Different Surfaces by ATR-FTIR Spectroscopy for Age Determination: A Specialization Thesis for the Department of Forensic Medicine at Hacettepe University Faculty of Medicine, Ankara, 2023 In

forensic practice, the examination of semen stains is vital in the investigation of sexual offenses. Analysis of semen stains provides information not only about the identity of the offender but also about the time of the incident. Despite the fact that numerous research have employed various techniques to estimate the age of semen stains, these studies have not yet become routine practices in forensic medicine due to practical, methodological, and cost-benefit challenges. The majority of current techniques cause material recovered from crime scenes to get damaged, which prevents any essential additional analysis. In this research, our goal was to develop a useful, affordable, and non-destructive technique that would facilitate additional material investigation and be simple to use. Seven distinct solid surfaces—wood, glass, leather, tile, cardboard, metal, and plastic—likely to be encountered in interior settings at a crime scene were utilized to create semen stains. We then performed measurements using ATR-FTIR spectroscopy and chemometric analysis (PLS-DA) at different time intervals over a period of two months. Three groups of time intervals—0–24 hours, 2–6 days, and 1–8 weeks—were created for all surfaces. By chemometrically evaluating the acquired spectrum data using the PLS-DA approach, the "EFR" ratio was used to assess the method's success. The validation data demonstrated how accurately the method could group the data into the correct category. The success rate was 100% for all time intervals for wood, glass, cardboard, metal, and plastic surfaces, while for leather and tile, it was found to be the lowest at 99.94% and 99.95%, respectively. In conclusion, this study showed that ATR-FTIR spectroscopy can be used as a effective method for the identification of semen stains on different surfaces and for determining the age of the stain with the aid of chemometric methods.

Keywords: Forensic Medicine, ATR-FTIR, Chemometrics, Semen, Determination of Semen Stain Age

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	xi
ŞEKİLLER.....	xiii
TABLolar.....	xvi
1- GİRİŞ.....	1
2- GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Biyolojik Sıvı Olarak Semen.....	3
2.2. Adli Tıp Uygulamalarında Semenın Önemi.....	6
2.2.1. Olay Yeri ve Semen.....	6
2.2.2 Adli Tıp Uygulamalarında Semen Lekesi ve Yaşının Tayini.....	7
2.3 FTIR (Fourier Transform Infrared) Spektroskopisi.....	9
2.3.1 Elektromanyetik Radyasyon.....	9
2.3.2. Kızılötesi Titreşim Spektroskopisi.....	11
2.3.3. FTIR (Fourier Transform Infrared) Spektroskopisi.....	13
2.3.4. ATR (Attenuated Total Reflectance – Azaltılmış Toplam Yansıtma).....	16
2.3.5. Adli Araştırmalarda FTIR.....	17
2.5.6. ATR-FTIR ve vücut sıvıları.....	17
3- GEREÇ ve YÖNTEM.....	20
3.1 Numuneler ve Hazırlanma Süreci.....	20

3.1.1 Örnek Donörleri ve Semeninin Elde Edilmesi.....	20
3.1.2. Yüzeyleyler.....	21
3.1.3. Numunelerin Yüzeyleyere Transferi	22
3.2. Örnekleme Zamanları.....	26/
3.3. Spektrum Datalarının Elde Edilmesi	26
3.4. Verilerin Kemometrik Yöntemlerle Analizi.....	28
4- BULGULAR.....	31
4.1. Ahşap Yüzeyley Verileri	33
4.1.1. Ahşap Yüzeyley Saatlik veriler	34
4.1.2. Ahşap Yüzeyley Günlük Veriler.....	36
4.1.3. Ahşap Yüzeyley Haftalık Veriler	38
4.2. Cam Yüzeyley Verileri.....	40
4.2.1. Cam Yüzeyley Saatlik veriler	41
4.2.2. Cam Yüzeyley Günlük Veriler	43
4.2.3. Cam Yüzeyley Haftalık Veriler	45
4.3. Deri Yüzeyley Verileri	47
4.3.1. Deri Yüzeyley Saatlik Veriler.....	48
4.3.2 Deri Yüzeyley Günlük Veriler.....	50
4.3.3. Deri Yüzeyley Haftalık Veriler.....	52
4.4. Fayans Yüzeyley Verileri	54
4.4.1. Fayans Yüzeyley Saatlik Veriler	55
4.4.2. Fayans Yüzeyley Günlük Veriler	57
4.4.3. Fayans Yüzeyley Haftalık Veriler	59

4.5. Karton Yüzey Verileri	61
4.5.1. Karton Yüzey Saatlik Veriler.....	62
4.5.2. Karton Yüzey Günlük Veriler.....	64
4.5.3. Karton Yüzey Haftalık Veriler.....	66
4.6. Metal Yüzey Verileri	68
4.6.1. Metal Yüzey Saatlik Veriler	69
4.6.2. Metal Yüzey Günlük Veriler	71
4.6.3. Metal Yüzey Haftalık Veriler	73
4.7. Plastik Yüzey Verileri	75
4.7.1. Plastik Yüzey Saatlik Veriler.....	76
4.7.2. Plastik Yüzey Günlük Veriler.....	78
4.7.3. Plastik Yüzey Haftalık Veriler.....	80
5- TARTIŞMA	82
6- SONUÇ ve ÖNERİLER	90
7- KAYNAKÇA.....	91

SİMGELER ve KISALTMALAR

°C:	Santigrad derece
µl:	Mikrolitre
ACTB:	Aktin Beta
ATR:	Attenuated Total Reflectance (Azaltılmış Total Yansıtma)
CV:	Cross Validation (Çapraz Validasyon)
DNA:	Deoksiribonükleik Asit
DTGS:	Deuterated Triglycine Sulphate (Döteriye Triglisin Sülfat)
EFR:	Efficiency ratio (Başarı/Verimlilik oranı)
FTIR:	Fourier Transform Infrared (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi)
FNR:	False negative rate (Yanlış negatif oranı)
GAPDH:	Gliseraldehit 3-Fosfat Dehidrogenaz
Ge:	Germanyum
GGT:	Gama Glutamil Transferaz
HeNe:	Helyum Neon
kHz:	Kilohertz
LDH:	Laktat Dehidrojenaz
LV:	Latent Variable (Gizli Değişken)
MCT:	Mercury Cadmium Telluride (Cıva-Kadmiyum Tellürit)
PAP:	Prostatik Asit Fosfataz

PLS-DA:	Partial Least Square – Discriminant Analysis (Kısmi En küçük kareler ayrımsal analizi)
PRM1:	Protamin 1
PSA:	Prostat Spesifik Antijen
PPIA:	Peptidilprolil isomeraz A
RMSEC:	Root-mean-square error of calibration (Kalibrasyon hatalarının ortalama karekökü)
RMSECV:	Root-mean-square error of cross validation (çapraz validasyonun kök – ortalama – kare hatası)
RNA:	Ribonükleik asit
rRNA:	Ribozomal ribonükleik asit
TCK:	Türk Ceza Kanunu
TPR:	True positive rate (Gerçek pozitif oranı)
UV:	Ultraviyole
ZnSe:	Çinko selenit

ŞEKİLLER

Şekil 2.1: Erkek ürogenital sistemi	3
Şekil 2.2: Sperm hücresinin anatomisi	4
Şekil 2.3: Seminal sıvıya major katkı sağlayan yapılar	5
Şekil 2.4: Elektromanyetik dalga örneği	9
Şekil 2.5: Elektromanyetik spektrum örneği.....	10
Şekil 2.6: Elektromanyetik spektrum bölgeleri ve kızılötesi bölgesi alt bölgeleri.....	11
Şekil 2.7: Diatomik moleküllerdeki moleküler titreşim türleri	13
Şekil 2.8: ATR-FTIR cihazıyla kaydedilmiş bir spektrum örneği	14
Şekil 2.9 FTIR mekanizması şematik gösterimi	16
Şekil 2.10: ATR çalışma mekanizması	17
Şekil 3.1: Numunelerin elde edilişi	21
Şekil 3.2: Yüzeyle uygulanan transfer öncesi ve transfer anındaki işlemler	22
Şekil 3.3: 0. saat depozisyon zamanlı yüzey örnekleri	23
Şekil 3.4: Örneklerin aktarıldığı yüzeylerin 0. saatteki yakın plan fotoğrafları. Sırasıyla 1- karton 2-metal 3-deri 4- cam yüzey	24
Şekil 3.5: Numunelerin transfer edildiği diğer yüzeylerin 0. saat fotoğrafları	25
Şekil 3.6: Damlatıldıktan sonra 2. saatte kazınan, metal yüzeye uygulanmış semen örneği.....	27
Şekil 3.7: Semen numunesinin yüzeyden kazındıktan sonra ATR-FTIR ölçüm alanına yerleştirilmiş hali.....	27
Şekil 3.8: Çalışmada kullanılan Perkin Elmer üretimi ATR-FTIR cihazı	28
Şekil 3.9: Deney işleyiş süreci şeması	30
Şekil 4.1: Semen lekesi spektrumu	31
Şekil 4.2: Ahşap yüzeye ait 0-24. saat ölçümleri absorbans- dalga boyu grafiği	34
Şekil 4.3: Saatlik ahşap ölçümlerinin diğer (günlük ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği	35
Şekil 4.4: Ahşap yüzeye ait 1-6. gün ölçüm değerleri absorbans-dalga boyu grafiği.....	36

Şekil 4.5: Günlük ahşap yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği	37
Şekil 4.6: Ahşap yüzeye ait 1-8.hafta ölçümleri absorbands-dalga boyu grafiği.....	38
Şekil 4.7: Haftalık ahşap yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve günlük) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği.....	39
Şekil 4.8: Cam yüzeye ait 0-24. saat ölçümleri absorbands-dalga boyu grafiği.....	41
Şekil 4.9: Saatlik cam yüzey ölçümlerinin diğer (günlük ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği.....	42
Şekil 4.10: Cam yüzeye ait 1-6.gün ölçümleri absorbands-dalga boyu grafiği.....	43
Şekil 4.11: Günlük cam yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği.....	44
Şekil 4.12: Cam yüzeye ait 1-8.hafta ölçümleri absorbands-dalga boyu grafiği.....	45
Şekil 4.13: Haftalık cam yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve günlük) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği.....	46
Şekil 4.14: Deri yüzeye ait 0-24. saat ölçümleri absorbands-dalga boyu grafiği.....	48
Şekil 4.15: Saatlik deri yüzey ölçümlerinin diğer (günlük ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği.....	49
Şekil 4.16: Deri yüzeye ait 2-6.gün ölçümleri absorbands-dalga boyu grafiği.....	50
Şekil 4.17: Günlük deri yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği.....	51
Şekil 4.18: Deri yüzeye ait 1-8.hafta ölçümleri absorbands-dalga boyu grafiği.....	52
Şekil 4.19: Haftalık deri yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve günlük) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği.....	53
Şekil 4.20: Fayans yüzeye ait 0-24. saat ölçümleri absorbands-dalga boyu grafiği.....	55
Şekil 4.21: Saatlik fayans yüzey ölçümlerinin diğer (günlük ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği.....	56
Şekil 4.22: Fayans yüzeye ait 2-6.gün ölçümleri absorbands-dalga boyu grafiği.....	57
Şekil 4.23: Günlük fayans yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği.....	58
Şekil 4.24: Fayans yüzeye ait 1-8.hafta ölçümleri absorbands-dalga boyu grafiği.....	59

Şekil 4.25: Haftalık fayans yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve günlük) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği.....	60
Şekil 4.26: Karton yüzeye ait 0-24. saat ölçümleri absorbands-dalga boyu grafiği.....	62
Şekil 4.27: Saatlik karton yüzey ölçümlerinin diğer (günlük ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği.....	63
Şekil 4.28: Karton yüzeye ait 2-6.gün ölçümleri absorbands-dalga boyu grafiği.....	64
Şekil 4.29: Günlük karton yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği.....	65
Şekil 4.30: Karton yüzeye ait 1-8. hafta ölçümleri absorbands-dalga boyu grafiği.....	66
Şekil 4.31: Haftalık karton yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve günlük) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği.....	67
Şekil 4.32: Metal yüzeye ait 0-24. saat ölçümleri absorbands-dalga boyu grafiği.....	69
Şekil 4.33: Saatlik metal yüzey ölçümlerinin diğer (günlük ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği.....	70
Şekil 4.34: Metal yüzeye ait 2-6.gün ölçümleri absorbands-dalga boyu grafiği.....	71
Şekil 4.35: Günlük metal yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği.....	72
Şekil 4.36: Metal yüzeye ait 1-8.hafta ölçümleri absorbands-dalga boyu grafiği.....	73
Şekil 4.37: Haftalık metal yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve günlük) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği.....	74
Şekil 4.38: Plastik yüzeye ait 0-24. saat ölçümleri absorbands-dalga boyu grafiği.....	76
Şekil 4.39: Saatlik metal yüzey ölçümlerinin diğer (günlük ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği.....	77
Şekil 4.40: Plastik yüzeye ait 2-6.gün ölçümleri absorbands-dalga boyu grafiği.....	78
Şekil 4.41: Günlük plastik yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği.....	79
Şekil 4.42: Plastik yüzeye ait 1-8.hafta ölçümleri absorbands-dalga boyu grafiği.....	80
Şekil 4.43: Haftalık plastik yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve günlük) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği.....	81
Şekil 5.1: Çalışmamızda spektrum ölçümlerinde saptadığımız majör pikler.....	83

TABLÖLAR

Tablo 4.1: PLS-DA ayrımı performans parametreleri	32
Tablo 4.2: Ahşap yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata tablosu verileri	33
Tablo 4.3: Ahşap yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata matrisi verileri.....	33
Tablo 4.4: Cam yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata tablosu verileri.....	40
Tablo 4.5: Cam yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata matrisi verileri	40
Tablo 4.6: Deri yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata tablosu verileri.....	47
Tablo 4.7: Deri yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata matrisi verileri	47
Tablo 4.8: Fayans yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata tablosu verileri.	54
Tablo 4.9: Fayans yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata matrisi verileri.....	54
Tablo 4.10: Karton yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata tablosu verileri.	61
Tablo 4.11: Karton yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata matrisi verileri.....	61
Tablo 4.12: Metal yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata tablosu verileri	68
Tablo 4.13: Metal yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata matrisi verileri.....	68
Tablo 4.14: Plastik yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata tablosu verileri.	75

Tablo 4.15: Plastik yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata matrisi verileri.....	75
Tablo 5.1: Semen lekesinde çalışmamızda saptadığımız ve literatürde bahsedilen belirgin pikler ve temel kaynakları.....	84

1- GİRİŞ

Ülkemizde cinsel taciz, istismar ve saldırı vakaları adli yargı sistemi iş yükünde geniş bir yer tutmaktadır. Türk Ceza Kanununda (TCK) cinsel dokunulmazlığa karşı işlenen suçlar; 102 (cinsel saldırı), 103 (çocuğun cinsel istismarı), 104 (reşit olmayanla cinsel ilişki) ve 105 (cinsel taciz). maddelerde tanımlanmıştır. Adalet Bakanlığı Adli Sicil ve İstatistik Genel Müdürlüğü'nden alınan 2021 yılı datalarına göre cinsel dokunulmazlığa karşı işlenen suçlar kapsamında 127.297 başvuru bulunmakta ve bunların 44.880'ini (%35,3) çocukların cinsel istismarı, 33.570'ini (%26,4) cinsel taciz, 26.324'ünü (%20,7) reşit olmayanla cinsel ilişki, 22.517'sini (%17,7) ise cinsel saldırı vakaları oluşturmaktadır [1].

Cinsel dokunulmazlığa karşı işlenen suçlarda olay yerlerinde elde edilen bulgular ve bu bulguların analizi/yorumlanması büyük önem arz etmektedir [2]. Özellikle kan, tükürük, idrar, semen gibi vücut sıvıları olay yerinde bulunması ve olayı aydınlatması açısından önemli deliller olarak kabul edilmektedir. Bunların içerisinde ise cinsel dokunulmazlığa karşı işlenen suçlar söz konusu olduğunda en önde gelen delil semen örneğidir [3].

Olay yerinde tespit edilen materyalin vücut sıvısı olup olmadığı, vücut sıvısı ise semen içerip içermediği ve bu örneğin kime ait olduğu hususları soruşturmanın seyrini etkileyebilmesi açısından önemlidir. Literatürde ve adli tıp pratiğinde semen örneğinin kime ait olduğunun tespiti açısından DNA çalışmaları bulunmakta ve bu çalışmalar DNA sahibini belirlemekte etkin rol oynamaktadır. Ancak DNA kaynağı olan materyalin ve materyalin yaşının örneğin yaşının tespiti konusunda bu yöntemler yetersiz kalmaktadır. Ayrıca mevcut yöntemler doğrultusunda gerçekleştirilen olay yerinden elde edilen ve incelenmekte olan materyale zarar vermekte olup bu durum ihtiyaç halinde ileri inceleme yapılmasının da önüne geçebilmektedir [4].

Adli amaçla yapılan çalışmalarda PSA antijen testi, semenogelin antijen testi, RNA temelli yaklaşımlar gibi çalışmalar semen lekesi veya leke yaşının tespitinde kullanılmaktadır. Bu yöntemler arasında uygulamada hızlı, non-destrüktif, maliyeti düşük bir yöntem henüz bulunmamaktadır[4], [5].

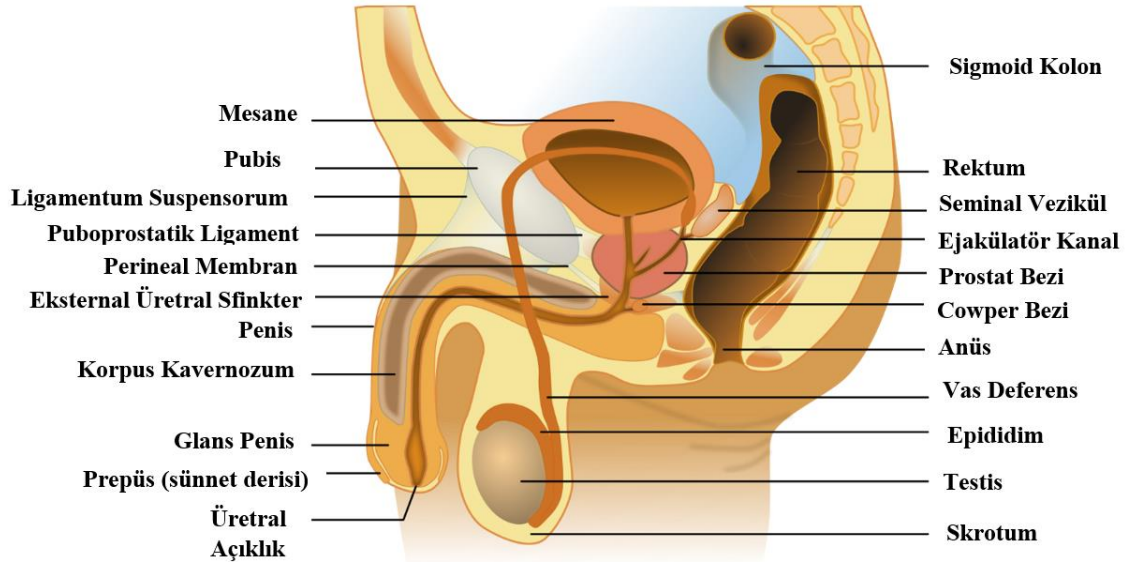
Adli tıp literatüründe son yıllarda FTIR (Fourier Transform Infrared) spektroskopisi ile yapılan çalışma sayısı artmaktadır [6], [7]. ATR-FTIR (Attenuated Total Reflectance – Fourier Transform Infrared), FTIR spektroskopisi yöntemlerinden biri olup, incelenen materyale zarar vermeden, hızlıca, numuneyi ön işlemden geçirmeye ihtiyaç bırakmadan, ileri derecede deneyimli personel ve zaman gerektirmeden incelemeye olanak sağlayan bir yöntemdir. Bu özellikleri ile ATR-FTIR'ın kullanım kolaylığı, etkinlik ve fayda maliyet dengesi açısından konvansiyonel yöntemlere üstün olduğu bilinmektedir [3].

Olay yerinden elde edilen potansiyel materyaller içinde olayın aydınlatılması açısından semen lekesinin değeri göz önüne alındığında, semenin ve yaşının tespitinde halen hızlı, güvenilir, numuneye zarar vermeyen bir yöntem ihtiyacı duyulduğu aşikardır. Literatürde semen yaşının tayinine yönelik yapılan çalışma sayısı son derece az ve kısıtlı kalmaktadır. Bu nedenle yaptığımız bu çalışmada olay yerlerinde bulunması muhtemel, kumaş dışındaki, farklı solid yüzeylerdeki (ahşap, cam, deri, fayans, karton, metal ve plastik) semen lekesinin niteliklerinin ve yaşının tespitini, farklı zaman aralıklarında yüzey özellikleri nedeniyle semen lekesi ve yaşının tespitinin etkilenip etkilenmediğini, ATR-FTIR spektroskopisi ile göstermek amaçlanmıştır. İstatistiksel açıdan anlamlı ve güvenilir sonuçlar elde edebilmek için kemometrik yöntemlerle çalışmadan elde edilen veriler birleştirilmiştir.

2- GENEL BİLGİLER

2.1. Biyolojik Sıvı Olarak Semen

Erkek genital yapılar olan prostat, seminal vezikül, bulboüretal bezler tarafından kollektif bir şekilde oluşturularak epididimis kısmında depolanan semen, ejakülasyonla dış ortama aktarılır (Şekil 2.1) [8], [9]. Ortalama hacmi sağlıklı bir erişkinde 2-5ml arasında değişmekte pH'ı ise 7,2-7,8 aralığında bulunmaktadır [9], [10] Literatüre bakıldığında ortalama semen hacmi 3.4ml olarak görülmektedir [9].



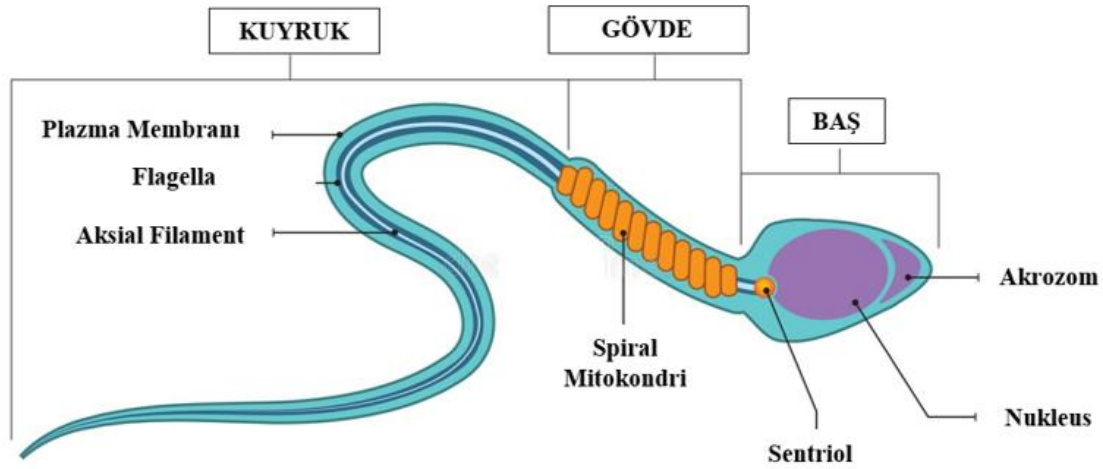
Şekil 2.1: Erkek ürogenital sistemi [11]

Semen yüksek derecede tamponlama özelliğine sahiptir. Bu özelliği sayesinde spermleri asidik kadın iç genital sisteminin etkilerinden koruyabilmektedir Semen osmolaritesi kandan daha yüksek olup içeriğindeki şeker, organik diğer bileşikler ve iyonik tuzlar bu osmolariteyi oluşturmaktadır [9].

Seminal plazmadaki ortalama protein konsantrasyonunun 35-55g/L olduğu bilinmektedir. Semendeki aminoasit içeriği de plazmaya göre yüksek saptanmaktadır.

Özellikle glutamik asit başta olmak üzere aminoasitlerin ejakülasyondan sonra saatler içinde belirgin bir şekilde arttığı çalışmalarda gösterilmiştir [12].

Semen kompleks bir yapıda olup hücresel ve sıvı kısım olmak üzere iki ayrı bölümden oluşur. Hücresel kısmını spermatozoa denilen genetik materyali içeren üreme hücreleri oluşturur. Spermatozoa anatomik olarak üç kısımda incelenir: Birinci bölümü olan baş kısmında kromozomlardan oluşan nükleusu ve fertilizasyon için gerekli enzimleri içeren akrozomlar bulunur. İkinci kısım olan gövdede ise spermin hareketi için gerekli olan enerjiyi üretmek amacıyla bol miktarda mitokondri bulunur. Üçüncü kısmını ise hareketi sağlayan yapı olan kuyruk bulunmaktadır. (Şekil 2.2)



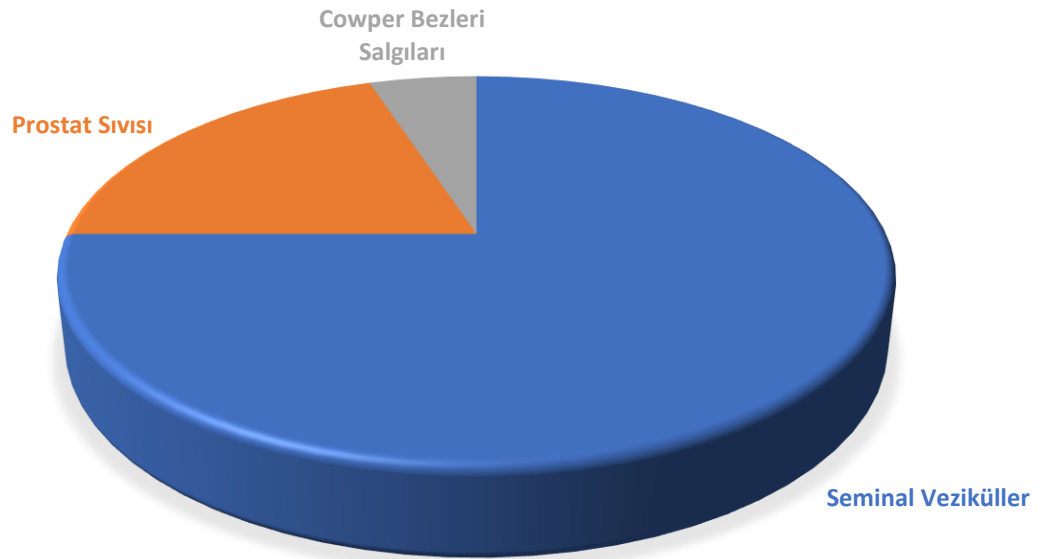
Şekil 2.2: Sperm hücresinin anatomisi [13]

Sıvı kısmı ise daha karmaşık bir yapıda olup ejakülasyondan hemen sonra homojen olmadığı bildirilmektedir [9]. Temel işlevi ejakülasyondan sonra spermler için koruyucu ve besleyici bir ortam oluşturmaktır. Seminal sıvının büyük bir kısmını (%60-75) seminal veziküllere ait salgılar, %15-30'luk kısmını prostat salgıları, %5'lik bölümünü ise bulboüretal bezlere (Cowper bezleri) ait salgılar oluşturur. Seminal veziküllere ait salgıda yüksek miktarda fruktoz ve koagülasyon faktörleri bulunur.

Buradan köken alan fruktoz spermin enerji ihtiyacının büyük bir kısmını karşılamaktadır. Koagülasyon faktörü olarak Semenogelin I, II ve fibronektin bulunur [3]

Prostattan gelen salgıda ise asit fosfataz, PSA (prostat spesifik antijen), albumin gibi proteinler bulunmaktadır. Bunlardan asit fosfataz, semeni asidik ortam koşullarına karşı korumaktadır. PSA ise kallikrein ilişkili peptidazların bir üyesi olup semenin likefaksiyonunda görev almaktadır. Albumin de sperm hücre membranlarındaki kolesterolü yapıdan ayırır [12], [14]. Seminal sıvıdaki magnezyum, kalsiyum gibi elementler de prostattan köken alır. Semendeki kalsiyumun yaklaşık %2-4'lük bir kısmı iyonize halde bulunur.

Seminal sıvının yaklaşık %5'lik kısmını da Cowper bezlerinden gelen ve yoğun müsin içeren salgılar oluşturur. (Şekil 2.3)



Şekil 2.3: Seminal sıvıya major katkı sağlayan yapılar (Şekil yazar tarafından çizilmiştir.)

Ejekülasyondan hemen sonra koagüle olan semenin, sonrasında in vivo dokularda 5 dakika, in vitro koşullarda 20-30 dakika içerisinde likefiye olduğu bilinmektedir. Koagülasyon faktörleri seminal vezikülden gelirken, likefaksiyon ilişkili faktörler prostattan köken almaktadır [9].

2.2. Adli Tıp Uygulamalarında Semenın Önemi

Soruşturmaları aydınlatmada her bir bulgunun veya delilin ayrı ayrı önemli olduğu bilinmekle beraber cinsel saldırı vakalarında en önemli delillerin başında olay yerinde bulunan semen lekesi gelmekte olup tek başına yargılama sürecini etkileme gücüne sahiptir [15]. Görünürlük açısından kan kadar belirgin olmaması, vücut kaynaklı ve vücut dışı organik/inorganik materyallerle karışması, tespitini zorlaştırabilmektedir [2].

Semen lekesinin en önemli özellikleri;

- Mağdurun vücudunda ya da eşyalarında tespit edilmesi olayın gerçekleştiğini gösteren en önemli delildir.
- Tespit edilen semen lekesinden fail/faillerin kimliklendirilmesi yapılabilmektedir.
- Semen lekesi yaşının tespiti ile olayın gerçekleşme zamanı hakkında bilgi vermektedir.
- Semen lekesinin bir insana ait olup olmadığı olay hakkında bilgi sağlayabilmektedir. Wei ve arkadaşlarının 2020 yılında yayınlanan çalışmalarında [16] insan dışında tavşan, köpek, boğa, domuz ve koç semenleri incelenmiş, ATR-FTIR spektroskopisi ve kemometrik yöntemlerin kombine olarak kullanıldığı çalışmada türlere ait semen örnekleri yüksek güvenilirlik düzeyi ile birbirinden ayırt edilebilmiştir. Ayrıca yapılan bu kimliklendirme işleminin incelenen türler azospermik olsa bile etkin olduğu ortaya konmuştur.

2.2.1. Olay Yeri ve Semen

Olay yerlerinde semen lekesi farklı şekillerde ve farklı yüzeylerde bulunabilmektedir. Kurbanın vücudu ve giysileri üzerinde bulunabileceği gibi, zeminde mobilyalarda vb potansiyel yüzeylere de bulaşabilmektedir. [14].

Olay yerinde semen lekesi aramada güncel yaklaşımda ilk akla gelen yöntem UV ışık ile taramadır. UV ışık ile tespit edilen semen lekeleri swablar yardımıyla toplanır. Sonrasında ilk olarak tarama testi olan Asit fosfataz testi uygulanır. Bu testle semen lekeli bulaşmış örnekler mor renk oluşturarak yanıt verirler. Bu testin yalancı negatif çıkma ihtimali göz önünde bulundurularak daha sonra konfirmasyon amacıyla “Christmas Tree” testi ile mikroskopik olarak sperm hücrelerinin görülmesi kesin tespit etme yöntemidir [17], [18].

Asit fosfataz testinin 24 saati geçen örneklerde etkinliğinin belirgin azaldığı bildirilmiştir [19].

Ancak bu yöntemlerin en belirgin dezavantajı destrüktif işlemler olmaları nedeniyle DNA tespitini özellikle az miktarda elde edilen örneklerde zorlaştırması ve numune zarar gördüğü için ileri analizlerde kullanılacak biyolojik material kalmamasıdır [20]. Ayrıca karışık haldeki vücut sıvılarında bileşenler ve örneğin kaynağı hakkında da bilgi vermemektedir [2].

Olay yerlerinde tespit edilen bulguların incelenmesi açısından literatürde önerilen uygulamalar ışığında; ilk işlem bulguların listelenerek not edilmesi, fotoğraflanması ve materialin türüne uygun bir biçimde örneklenip, muhafaza altına alınarak laboratuvara ulaştırılmasıdır. Sıvı semen örnekleri enjektör ya da pipet yardımıyla steril test tüplerine alınmalıdır. Alternatif olarak sıvı semen örnekleri pamuk bezlere emdirilerek kurumaları beklenip sonra paketlenerek ileri incelemeler için laboratuvara gönderilebilir. İç çamaşırı, yatak örtüleri gibi nesnelere üzerindeki lekeler olduğu gibi alınmalıdır. Bu gibi nesnelere üzerindeki lekeler ıslak ise normal oda koşullarında kurumaları beklenmelidir. Lekeler eğer absorbasyon özelliği olmayan hareket ettirilemeyecek yüzeylerde ise numunenin dikkatle kazınarak alınması önerilmektedir [21].

2.2.2 Adli Tıp Uygulamalarında Semen Lekesi ve Yaşının Tayini

Olay yerlerinde bulunan semenden genetik analizler yardımıyla kimlik tespiti yapmak mümkündür. Fakat bulunan bu örneklerden materyalin o alandaki deposizyon

zamanını belirlemek de ayrıca önem arz etmektedir. Literatürde semen yaşının tespitine yönelik olarak farklı yaklaşımlar bulunmaktadır.

Achetib ve arkadaşlarının 2019 yılında yayınlanan [5] çalışmasında semen lekesinde protein ve lipitlerin zamanla serbest radikallerle birleşimiyle oluşan ve “LipOx” diye adlandırdıkları yapıların intrinsik floresan aktivite gösterdiği ve 1,7 gün sapmayla 16 güne kadar semen lekesi yaşının tespit edilebildiğini belirtmişlerdir.

Setzer ve arkadaşlarının tarafından gerçekleştirilen çalışmada [22] kan, tükürük, semen ve vajinal sürüntü örnekleri farklı koşullarda 547 güne kadar incelenmiştir. Bu örneklerden nükleik asit ögeleri farklı zaman aralıklarında analiz edilmiş ve oda koşullarında sabit ışıktaki 90 güne kadar, dış ortam koşullarında ise 7 güne kadar semen lekesinde messenger RNA tespit edilebildiğini, göstermişlerdir.

Alshehhi yaptığı çalışmada [23] ise semen lekelerini oda sıcaklığında ve ışık almayan ortamda 360 gün boyunca bekletip analiz etmiş ve PRM1 belirtecini 90 güne kadar tespit edilebildiğini ortaya koymuştur.

Yine RNA stabilitesini değerlendiren bir başka çalışmada [24] Simard ve arkadaşları semenin de dahil olduğu çeşitli vücut sıvılarını 6 ay süre ile farklı sıcaklıklarda ve farklı zaman aralıklarıyla incelemiş 18s rRNA, ACTB, GAPDH, PPIA belirteçlerine bakmış ve 56 günlük semen lekesini yeni oluşmuş bir lekeden ayırt edebilmişlerdir.

Semen içindeki moleküllere ait enzimatik aktivite de semen yaşı tespitinde adli tıp açısından ilgi çeken bir konu olmuştur. Jimenez- Verdo ve arkadaşları tarafından yapılan ve 1994 yılında yayınlanan çalışmada [25] GGT (gama glutamil transferaz), PAP (prostatic asit fosfataz), PSA (prostat spesifik antijen) ve LDH (laktat dehidrojenaz) gibi moleküllerin semen yaşı ile korrelasyonu değerlendirilmiştir. 6 aya kadar süren ölçümler sonrasında en stabil belirtecin LDH olduğunu, 6 ay sonrasında en iyi korunmuş aktivitenin GGT ve PSA'ya ait olduğunu, GGT'nin semen yaşı tespitinde çalışmadaki en değerli bilgileri veren belirteç olduğu, çalışmada değerlendirilen hiçbir marker'ın semen yaşı tespitinde tek başına anlamlı olmadığını göstermişlerdir.

Semendeki PSA'nın stabilitesini değerlendiren bir başka çalışmada ise 180 gün boyunca farklı sıcaklıklarda bekletilen semen lekeleri incelenmiş, -80 C'de PSA'nın 6 ay boyunca stabil kaldığı, 37 C'de ise sadece 3. güne kadar tespit edilebildiği gösterilmiştir [26].

2.3 FTIR (Fourier Transform Infrared) Spektroksopisi

2.3.1 Elektromanyetik Radyasyon

Birbirine dik olarak birlikte salınım hareketi gösteren elektriksel ve manyetik dalgalardan oluşan enerji formuna elektromanyetik radyasyon adı verilmektedir (şekil 2.4).



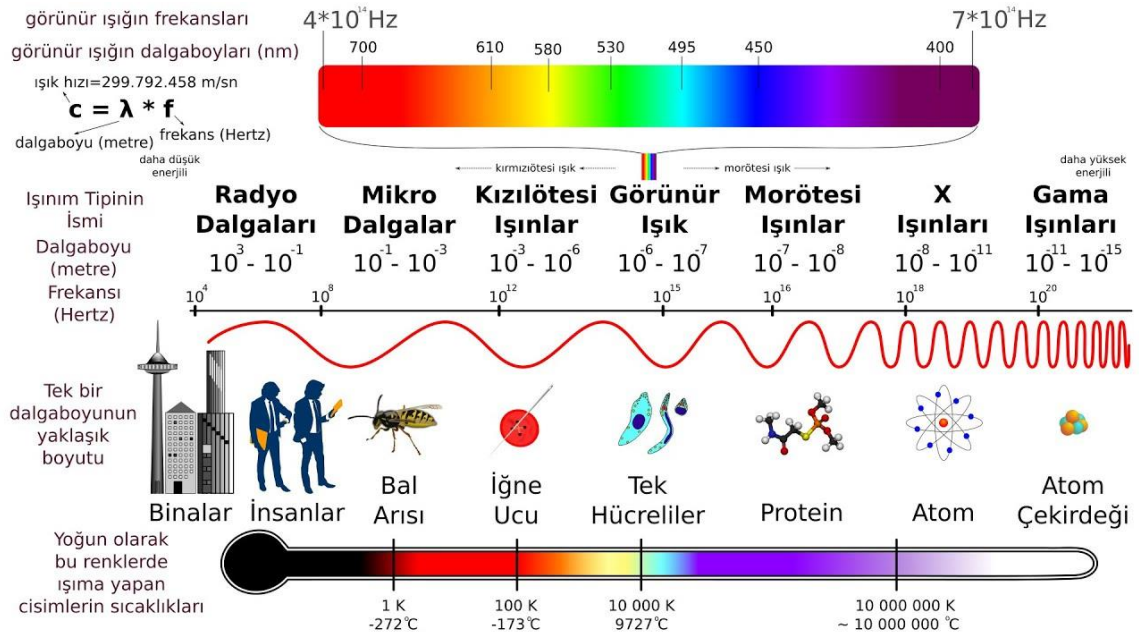
şekil 2.4: Elektromanyetik dalga rneği (Kırmızı dalga: Elektriksel dalgayı gösterirken, mavi dalga ise manyetik alanı temsil etmektedir) [27].

Elektromanyetik dalganın dalga boyu aynı doğrultudaki ardışık iki tepe noktasının arasındaki uzaklık olarak tanımlanmaktadır. Elektromanyetik dalganın frekansı ise birim zamandaki salınım sayısı olarak literatürde yer bulmaktadır [3].

Kızılttesi spektroskopide elektromanyetik radyasyon dalgalarının ölümü genellikle dalgaboyu olarak kaydedilmektedir. Elektromanyetik dalganın boyu genellikle cm^{-1} olarak ifade edilir ve bu 1 santimetredeki dalga siklusunu göstermektedir.

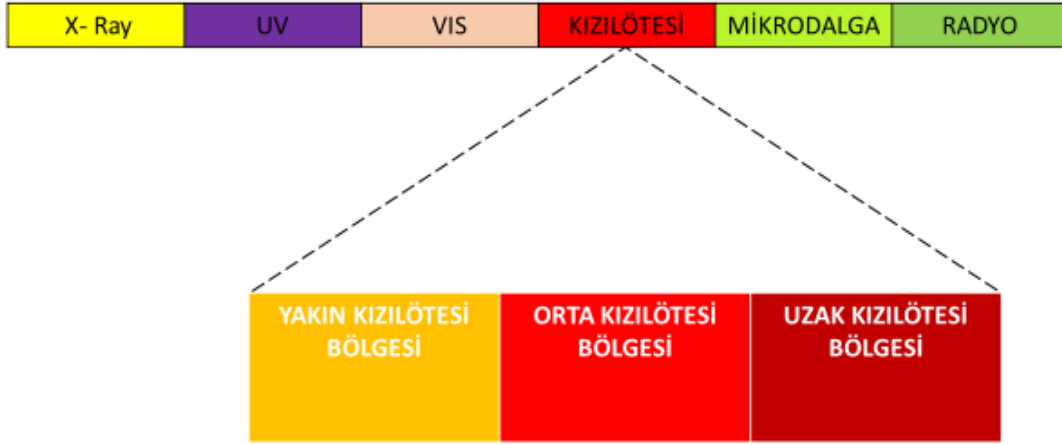
Elektromanyetik radyasyon spesifik dalga boyu değerleri dikkate alınarak farklı bölgelere ayrılmıştır. Düşük enerjili dalgalar düşük amplitüde sahip olup, dalga boyları uzunken; yüksek enerjili dalgalarda amplitüd yüksek olup dalga boyu kısadır.

Elektromanyetik spektrum 7 farklı radyasyon bölgesinden oluşmaktadır. Enerji ve dolayısıyla frekansı düşükten yüksek olana doğru sırasıyla radyo dalgaları, mikrodalgalar, kızılötesi radyasyon, görünür ışık bölgesi, UV ışık bölgesi, X-Ray ve gamma radyasyon bölgesidir (Şekil 2.5). Bu bölgelerden sadece kızılötesi bölgesindeki ışıma, moleküllerle etkileşip titreşimsel hareketler oluşturur [28], [29].



Şekil 2.5: Elektromanyetik spektrum örneği [30]

Kızılötesi bölgesi kendi içinde üç bölgeye ayrılmaktadır. Bunlar yakın ($12.500-4000 \text{ cm}^{-1}$), orta ($4000-400 \text{ cm}^{-1}$) ve uzak ($400-10 \text{ cm}^{-1}$) olarak tanımlanmakta olup biyolojik ve biyomedikal araştırmalarda en sık kullanılan bölge orta kızılötesi bölgesidir (Şekil 2.6) [31].



Şekil 2.6: Elektromanyetik spektrum bölgeleri ve kızılötesi bölgesi alt bölgeleri (yazar tarafından çizilmiştir)

2.3.2. Kızılötesi Titreşim Spektroskopisi

Kızılötesi spektroskopisi elektromanyetik radyasyonu kullanarak moleküllerin kızılötesi bölgesindeki hareketlerini inceler. Bu hareketler moleküllerin kızılötesi radyasyona maruz kaldıktan sonraki titreşimleridir.

Titreşim spektroskopisi iki ana gruba başlıca ayrılmaktadır: FTIR Spektroskopisi ve Raman Spektroskopisi. Her iki yöntemde de elektromanyetik spektrumdaki farklı noktalardan ışık gönderilerek örneklerin absorbe ettiği enerjiye bağlı olarak moleküler bileşenler hakkında bilgi edinilir [32]. Raman Spektroskopisinde görünür bölge, yakın UV (ultraviyole) bölge ve yakın kızılötesi bölgelerinden monokromatik ışık gönderilerek örnek incelenirken, FTIR’da ise kızılötesi bölgesindeki radyasyondan yararlanılmaktadır. [33]. Moleküllerin titreşimi diatomik moleküllerin basit hareketinden başlayıp kompleks polifonksiyonel moleküllerin karmaşık hareketlerine kadar değişebilmektedir [34].

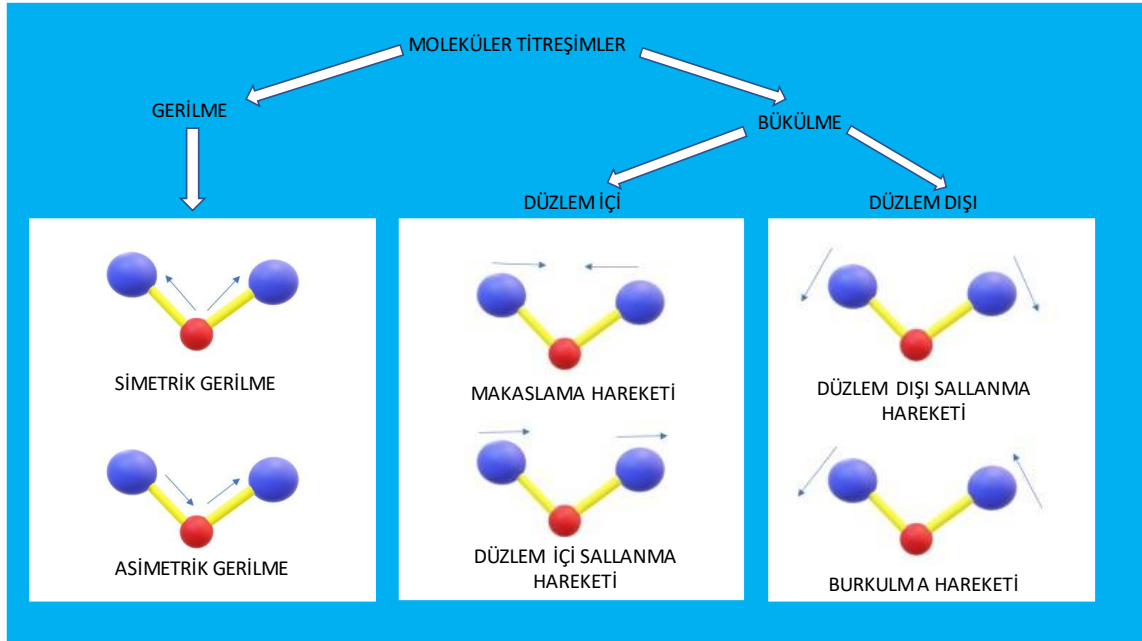
Moleküller üç boyutlu bir uzayda iki belirgin hareket yapar: Translasyonel hareket ve rotasyonel hareket. Translasyonel hareketinde molekül x, y ve z doğrultularında hareket edebilirken, rotasyonel harekette ise molekülün bu doğrultuların birinde kendi etrafındaki hareketidir [35]. Moleküller, içerisindeki bağlar nedeniyle tamamen rijit olmayıp molekülün belirli bir miktarda hareketine izin vermektedir. Molekülün merkezi sabit

kalırken atomlar arasındaki uzaklık ve açı etkene bağlı olarak değişebilmektedir. Belirli dalga boylarında enerjiye tabi tutulan molek leler de bu özellikleri sayesinde periyodik hareketler gösterirler ve buna moleküler titreşim adı verilmektedir [15].

Moleküler titreşim hareketleri gerilme ve bükülme olarak iki başlıkta incelenmektedir. Gerilme iki atom arasındaki uzaklığın periyodik olarak değişimi olarak tanımlanmakta olup kendi içinde simetrik ve anti-simetrik olarak gruplandırılmaktadır. Bükülme ise atomlar arasındaki aının periyodik olarak değişimidir. Düzlem içi sallanma hareketi (rocking), makaslama (scissoring), wagging (düzlem dışı sallanma) ve burkulma (twisting) olarak dört farklı alt gruba ayrılmıştır (şekil 2.7) [36].

Etilen molekülündeki ($H_2C=CH_2$) aynı karbona bağlı iki adet hidrojen atomu düşünüldüğünde;

- Düzlem içi sallanma hareketi (rocking): etilen molekülündeki karbon atomuna bağlı iki hidrojen atomunun saat yönünde ya da tersi yönde birlikte hareket etmesidir.
- Makaslama (scissoring): Aynı düzlemdeki iki molekülün birbirine yaklaşması ya da birbirinden uzaklaşması şeklinde tanımlanmaktadır.
- Düzlem dışı sallanma (wagging): Farklı düzlemlerdeki iki molekülün birbirine yaklaşması ya da birbirinden uzaklaşması olarak tanımlanır.
- Burkulma (twisting): 2 hidrojen atomundan birinin ileri yönde hareket ederken diğerinin farklı bir düzlemde geriye doğru hareketidir [15].



Şekil 2.7: Diatomik moleküllerdeki moleküler titreşim türleri (yazar tarafından çizilmiştir)

Bir moleküldeki atom sayısı N olarak ifade edilirse; eğer molekül lineer bir yapıda ise $3N-5$ sayıda, non-linear yapıda ise $3N-6$ sayıda hareketi mevcuttur [29].

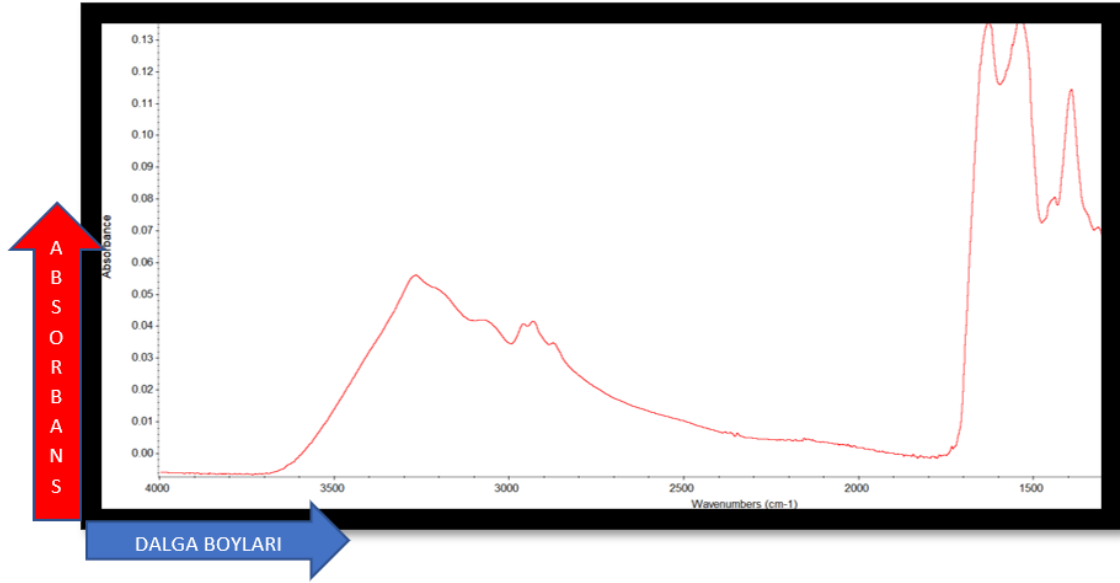
Bir molekülün titreşimi için gereken enerji üç temel faktöre bağlıdır: Titreşimin tipi (gerilme, bükülme vb.), molekülün yapısındaki bağların tipi ve molekülün kütlesi [29], [37]. Ayrıca molekülde bulunan fonksiyonel gruplar da molekülün titreşimsel hareketinde önem arz etmektedir. Moleküler titreşim frekansları $10^{13} - 10^{14}$ Hz arasında değişmektedir.

Elektromanyetik spektrum içerisinde sadece kızılötesi dalgaboyundaki enerji, moleküllerin titreşimini sağlamaktadır [15].

2.3.3. FTIR (Fourier Transform Infrared) Spektroskopisi

Fourier Dönüşümü'nün başlangıcı 1800'lü yıllara dayanmakta olup, Jean Baptise Fourier tarafından geliştirilmiştir. FTIR titreşimsel spektroskopik bir yöntem olup, moleküllerin IR radyasyonu absorbe edip moleküler titreşime dönüştürmesi temeline dayanmaktadır. Kompleks dalga boylarındaki enerjilerin frekans alt birimlerine

ayrılmasında görev üstlenmektedir ve böylece moleküler vibrasyonların bilgisayar ortamında yazılımlarla incelenmesine olanak sağlamaktadır. Her bir farklı molekül için absorbe edilen kızılötesi enerji spesifikdir ve bu genellikle moleküle ait fonksiyonel gruplar sayesinde olmaktadır FTIR spektrumunda “y” aksı molekül tarafından emilen/geçirilen enerji miktarını gösterirken, “x” aksı dalga boyu frekansını göstermektedir (Şekil 2.8) [31], [38].



Şekil 2.8: ATR-FTIR cihazıyla kaydedilmiş bir spektrum örneği. (Yatay eksen dalga boylarını gösterirken, dikey eksen absorptans / tranmitans değerini göstermekte (Şekil yazar tarafından çizilmiştir))

Basitçe bileşenlerine ayrıldığında FTIR cihazlarında 4 temel bileşen ortaya çıkmaktadır: Işık kaynağı, Michelson İnterferometresi, numune alanı ve dedektör [38].

2.3.3.1. Işık kaynağı

HeNe (Helyum Neon) lazer en çok kullanılan ışık kaynağı olup genellikle 5kHz frekansında enerji üretmektedir [39], [40].

2.3.3.2. Michelson İnterferometresi

1891 yılında Albert Abraham Michelson tarafından tasarlanmış olup bu keşif kendisine 1907 yılında Nobel Ödülü'nü kazandırmıştır. Günümüzde de kullanılan birçok interferometrenin öncüsü olduğu bir bileşendir

Işık ayırıcı ve biri sabit biri hareketli olmak üzere iki adet ayna interferometrenin temel bileşenleridir. Işık ayırıcı kızılötesi transparan bir plakadır ve üzerindeki yansıtıcı tabaka sayesinde kaynaktan gelen ışığın %50'sini aynalara yansıtır. Aynalardan yansıyan ışınlar sonrasında tekrar ışık ayırıcına gelir ve burada kombine edilerek dedektöre gönderilir (Şekil 2.9) [38], [41].

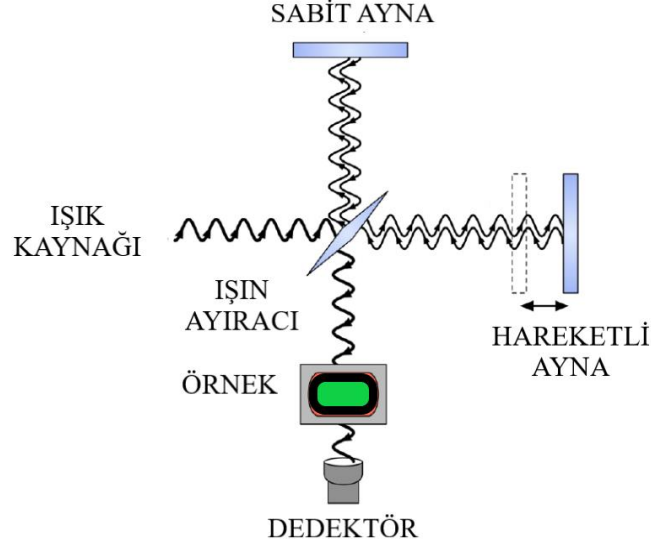
2.3.3.3. Numune alanı/ATR Kristali

Farklı tipte fiziksel (katı/sıvı/bütün/parça) özelliklere sahip numuneler bu alana yerleştirilebilmektedir. Işık ve numunenin etkileşime girdiği alandır.

2.3.3.4. Dedektör

Aynalardan gelip ışık ayırıcında kombine edilen ışıklar numune alanındaki örneğe gönderilir ve buradan da dedektöre geçerek ölçüme olanak sağlar.

FTIR larda kullanılan iki tip dedektör mevcuttur: termal ve fotonik dedektörler. Termal dedektörler kızılötesi radyasyonu ısı olarak kullanırken, fotonik dedektörler ışık olarak kullanmaktadır. FTIR cihazlarında en çok kullanılan dedektörler döteriye trigilisin sülfat (DTGS) ve cıva-kadmiyum-tellürittir (MCT).



Şekil 2.9 FTIR mekanizması şematik gösterimi [42]

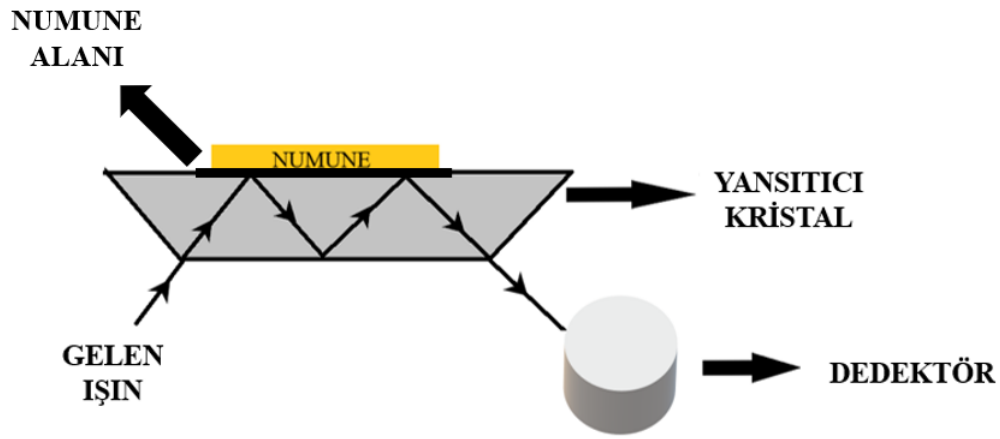
2.3.4. ATR (Attenuated Total Reflectance – Azaltılmış Toplam Yansıtma)

Kızılötesi spektroskopideki en önemli gelişmelerden biri ATR (azaltılmış toplam yansıtma) olmuştur. ATR sayesinde örnek hazırlama olmadan, ileri deneyim gerektirmeden ölçüm yapmak mümkün hale gelmiştir. Çoklu içten yansıtma (MIR), geçici dalga spektrometrisi (EWS) gibi başka adlandırmalar da literatürde mevcuttur.

ATR yöntemi kızılötesi spektroskopilerde en çok kullanılan tekniklerden biridir. Kimyada, biyomedikal mühendislikte ve adli tıp alanlarında ATR-FTIR spektroskopisine sıkça yer verilmektedir. Konvansiyonel FTIR'ların aksine, ATR- FTIR da neredeyse hiç malzeme hazırlığı olmaması, katı ya da sıvı numuneleri analiz edebilmesi ATR yöntemini öne çıkarmaktadır. İç yansıtma materyali ya da kısaca kristal olarak bilinen bileşen ise genellikle Germanium (Ge), Çinko Selenit (ZnSe) ya da elmaştan yapılmaktadır.

Konvansiyonel spektroskopilerin aksine ATR-FTIR'da numune hazırlığı gerekmediğinden, incelenmek istenen materyale zarar vermeden in-vivo ya da in-vitro koşullarda analiz yapılabilmektedir.

Örneğin net spektrumunu elde edebilmek için numune ile kristal tam bir temas halinde olmalıdır (Şekil 2.10). Bu nedenden dolayı ve numuneyi sabit tutabilmek adına ATR-FTIR cihazlarında numuneyi üstten kapatıp kristale doğru iten bir mandal bulunmaktadır. Eğer örnek kristal yüzeyi tam örtmezse mandal da ölçüme karışabileceğinden ölçüm sırasında buna dikkat edilmeli ve numunenin kristal yüzeyi tam olarak kapattığından emin olunmalıdır [3], [38], [41].



Şekil 2.10: ATR çalışma mekanizması (Şekil yazar tarafından çizilmiştir)

2.3.5. Adli Araştırmalarda FTIR

Çalışmanın önceki bölümlerinde FTIR ve semen üzerine yapılan çalışmalardan bahsedilmiş olup bu kısımda FTIR spektroskopisinin semen dışındaki adli tıpta kullanıldığı alanlara kısaca yer verilmiştir.

2.3.6. ATR-FTIR ve vücut sıvıları

Olay yerlerinde bulunması muhtemel bulgular arasında vücut sıvıları da bulunmaktadır. Kan, semen idrar gibi sıvılar kişiselleştirilebilir delil niteliği taşıması ve dolayısıyla soruşturmanın seyrini etkileyebilme potansiyellerinden dolayı adli tıp ve adli bilim araştırmalarının da odak merkezi haline gelmiştir. ATR-FTIR cihazının hızlı ve

non-destrüktif olması nedeniyle de vücut sıvılarını FTIR yardımıyla inceleyen araştırmalar literatürde mevcuttur[7].

Elkins ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptığı çalışmada [43] farklı vücut sıvılarının ayırımında ATR-FTIR başarılı bir yöntem olduğunu göstermiştir.

Orphanau 2015 yılında yayınlanan çalışmasında [3] kan, tükürük, vajinal sıvı ve semenin FTIR yardımıyla birbirinden ayırımının yapılabildiğini göstermiştir.

Takamura ve arkadaşlarının 2018 yılında yaptığı çalışmada [44] önceki çalışmalara benzer şekilde farklı vücut sıvıları kullanılmış ve birbirinden ayırımında FTIR'ın etkisi ortaya konmuştur.

Kan lekesi olay yerlerinde sıkça bulunan ve kimliklendirme gibi çalışmalara uygun olması nedeniyle delil niteliğindeki en önemli vücut sıvılarından biri olarak öne çıkmaktadır [45].

İlk olarak 2008 yılında Lepot ve arkadaşları [46] Raman ve ATR-FTIR kullanarak olay yerlerindeki giysilerden kan lekesinin tespiti üzerine çalışma yayınlamıştır. 2015 yılında Mistek [47] ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada insan ve hayvan kanı ayırımının kemometrik yöntemler eşliğinde FTIR ile yapılabildiğini göstermişlerdir.

Zhang ve arkadaşlarının yaptığı 2018 yılında yayınlanan çalışmada [48] ise bunlara ek olarak dış ortam koşullarında 107 güne kadar kan lekesinin tespitinin mümkün olduğu belirtilmiştir.

Sharma ve arkadaşlarının 2021 yılında yaptığı çalışmada da [49] kan lekesinin diğer vücut sıvılarından %100 doğruluk payı ile ayrılabilirdiğini ve ayrıca kan lekesine benzeyebilecek olan diğer materyallerden (ketçap, şarap vb) ayırımının yapılabildiğini göstermişlerdir.

Lin ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada [50] kan lekesinde yaş tayini için ATR-FTIR kemometri ile birlikte kullanılmış ve sonucunda 1 güne kadar olan kan lekeleri bir günden uzun süre üzerinden geçen kan lekelerinden ayırt edilebilmiştir.

Sharma ve arkadaşlarının 2020 yılında yapmış olduğu çalışmada [51] ise insan, domuz ve keçiye ait kanlar kullanılmış olup, kan lekeleri 175 güne kadar ilk hafta 24 saatlik aralıklarla, sonrasında 1 haftalık aralarla ATR-FITR ve kemometrik yöntemler kombine edilerek incelenmiştir. Yaklaşık $\sim 3 \pm 1$ gün hata payı ile kan lekesi yaşının tespitinin mümkün olduğunu ortaya koymuşlardır.

Sharma ve arkadaşlarının 2020 yılında yaptığı bir başka çalışmada [52] menstrüel kanın venöz kandan spektrometrik ayrımı üzerinde durulmuş, PCA-LDA gibi kemometrik yöntemlerle birlikte kullanıldığında bu ayrımın %100 doğruluk ile yapılabildiğini göstermişlerdir.

Takamura'nın 2017 yılında yayınlanan çalışmasında [53] ise ante-mortem ve postmortem kan, yazarların kendi geliştirdiği ve "multivariate spectral processing" adını verdiği kemometrik yöntemle kombine edildiğinde bu iki farklı tip kanın birbirinden ayrımının yapılabildiğini belirtmişlerdir.

Guiliano ve arkadaşlarının 2020 yılında yayınlanan çalışmasında [54] farklı yaş gruplarından kişilerin kanları ATR-FTIR ile incelenmiş, kemometrik yöntemlerle birlikte %92'ye varan doğruluk payı ile yaş grupları arasında ayırım sağlayabildiklerini göstermişlerdir.

Algethami ve arkadaşlarının 2020 yılında yürütmüş olduğu çalışmada [55] idrarda bazı doping ajanları incelenmiş ve bu maddelerin ve miktarlarının kemometrik yöntemler eşliğinde belirlenebildiğini ortaya koymuşlardır.

Benzer şekilde saç örneklerinde de insan saçı- hayvan saçı ayırımında kemometrik yöntemler ve FTIR kombine edilip anlamlı sonuçlar elde edilen çalışmalar literatürde mevcuttur. [56]

3- GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamız, araştırma görevlisi uzmanlık tezi olarak Hacettepe Üniversitesi Adli Tıp Anabilim Dalı Toksikoloji Laboratuvarında yürütülmüş olup Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun GO 22/1037 proje numarası ve 2022/19-33 karar numarasıyla etik kurul onayını almıştır.

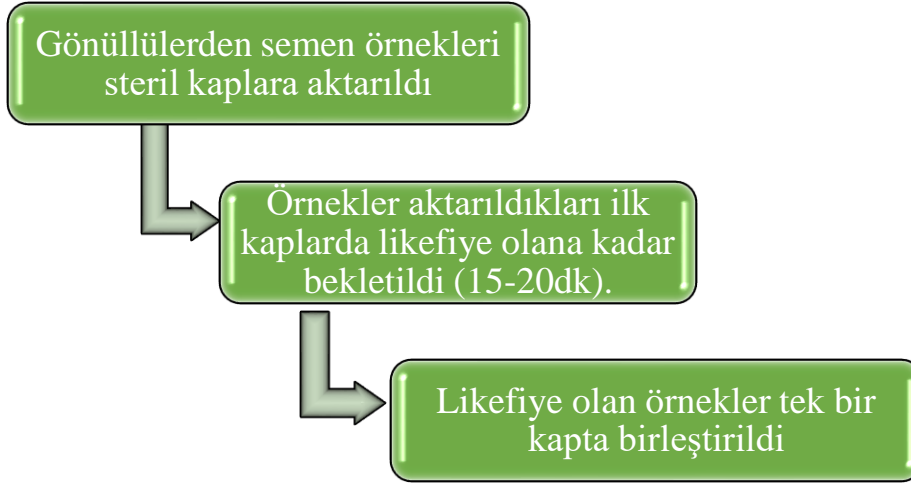
3.1 Numuneler ve Hazırlanma Süreci

3.1.1 Örnek Donörleri ve Semen Elde Edilmesi

Deneyde kullanılan semen numuneleri yaşları 27-42 arasında değişen sağlıklı, ilaç kullanımı olmayan toplam altı erişkin erkek gönüllüden elde edilmiştir.

Yazılı onamları olan ve üç-yedi günlük cinsel perhizi olan altı erkek denekten semen örneği alındıktan sonra semende hücre sayımı ve pH analizi yapılmıştır. Semen numunelerinde pH, sperm sayısı ve morfolojisinin normal sınırlar içinde olduğu saptanmıştır.

Bunlardan rastgele dört tanesi kalibrasyon grubunu oluşturmak için seçilirken kalan ikisi eksternal validasyon grubunu oluşturmuştur. En az 3 gün, en fazla 7 günlük cinsel perhiz sonrası verilen numunelerden önce gönüllülerden yazılı aydınlatılmış onam formunu okumaları sonrası imzaları alınmış ve kendilerine steril kaplar temin edilerek mastürbasyon yoluyla semen örneği vermeleri istenmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1: Numunelerin elde edilişi

3.1.2. Yüzeyler

Suç işlenmiş olay yerlerinde semen lekesinin bulaşabileceği muhtemel solid yüzeylerin simülasyonu için;

- Mobilya ahşabı (laminant kaplı),
- Cam (pencere camı),
- Deri (keçi derisi),
- Metal (çelik sac),
- Plastik (şeffaf, 3mm kalınlığında, elastik),
- Seramik (pürüzsüz yüzeyli beyaz fayans),
- Karton yüzey (hazır kullanım amaçlı ticari olarak marketlerde satılan karton tek kullanımlık tabaklar) seçilmiştir.

Semen örnekleri yukarıda bahsedilen yüzeylere uygulanmadan önce yüzeyler etanol ile temizlenip sonrasında oda koşullarında kurumaları beklenmiştir. Yüzeylerin etanol ile silinmesi yüzey özelliklerini standartize etmek amacıyla yapılmış olup, yüzeylerin fiziksel özellikleri haricindeki interferan faktörlerin, potansiyel kirleticilerin ölçümleri etkilemesinin önüne geçilmesi sağlanmıştır.

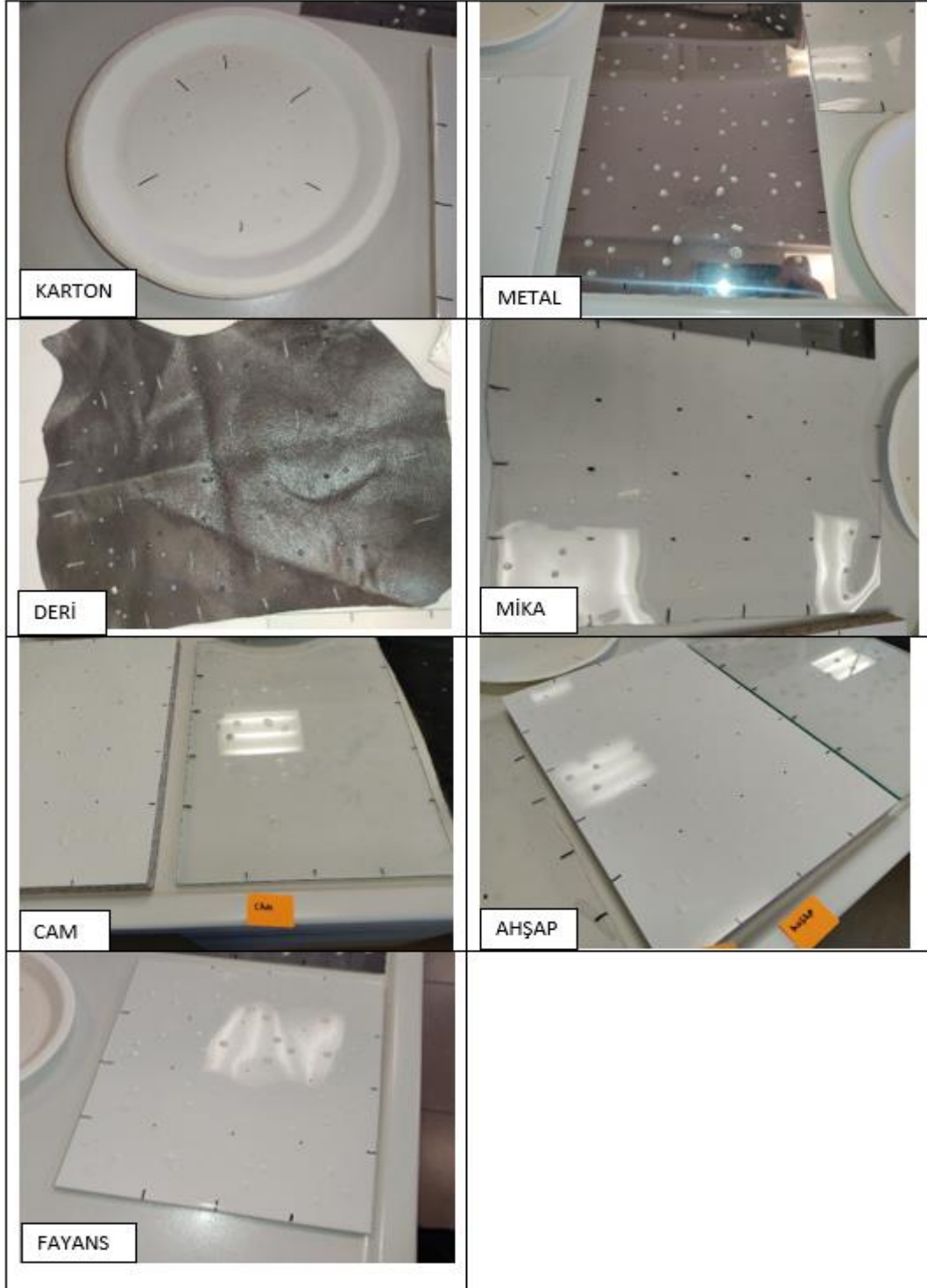
Belirlenen yüzeylerden ahşap, cam, fayans, plastik ve metal A4 kağıdı boyutlarında hazırlanmış olup, deri yüzeyde 35x25cm'lik bir örnek, kartonlarda ise 18cm çapında karton tabaklar kullanılmıştır.

3.1.3. Numunelerin Yüzeyle Transferi

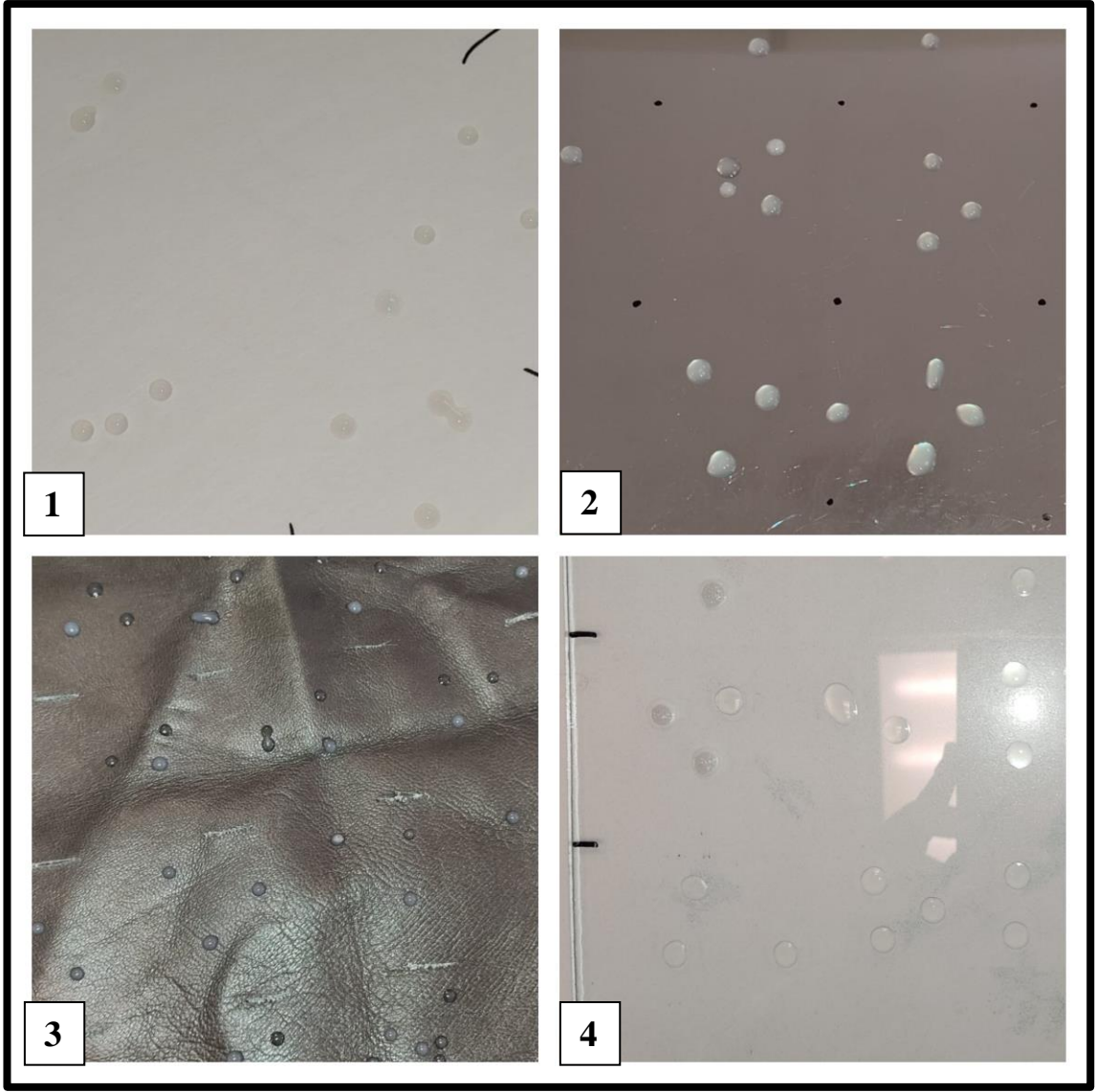
Her yüzey yaklaşık 6x5cm'lik alanlardan oluşan bölgelere ayrılarak semen lekesi transfer alanları oluşturulmuştur. Gönüllülerden elde edilen semen örnekleri steril tek bir kaptan birleştirilerek numuneler arası homojenizasyon sağlanmıştır. Belirlenen her bir alana en az 3 damla olacak şekilde ve en az 60 mikrolitre semen örnekleri damlatılıp oda koşullarında kurumaya bırakılmıştır (şekil 3.2, 3.3, 3.4 ve 3.5). Deri ve karton yüzeydeki lekeler yaklaşık 3 saatte kururken, diğer yüzeylerdeki lekelerde bu sürenin 50-90 dakika arasında değiştiği gözlenmiştir.



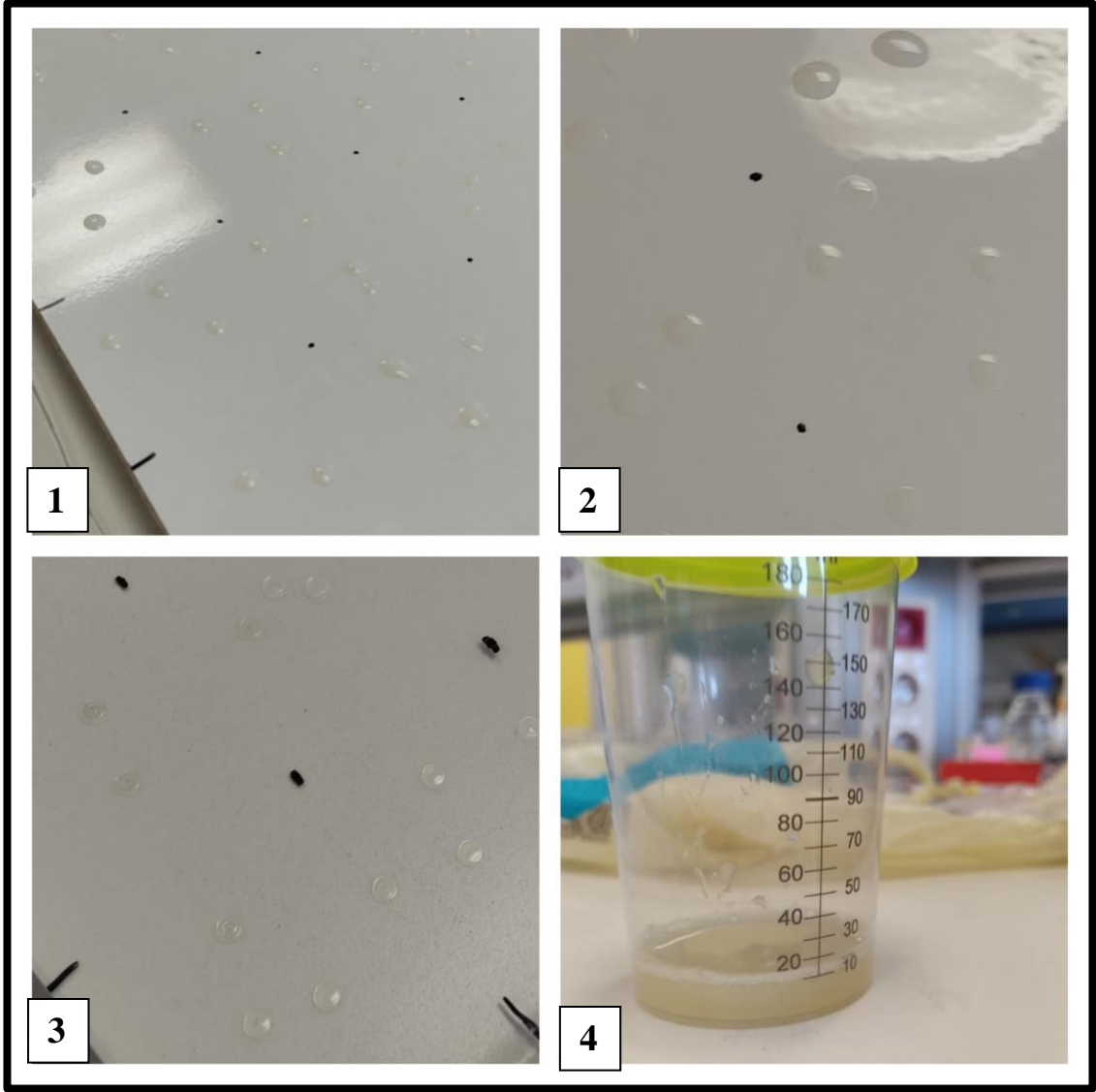
Şekil 3.2: Yüzeyle uygulanan transfer öncesi ve transfer anındaki işlemler



Şekil 3.3: 0. saat depozisyon zamanlı yüzey örnekleri



Şekil 3.4: Örneklerin aktarıldığı yüzeylerin 0. saatteki yakın plan fotoğrafları. Sırasıyla 1- karton 2-metal 3-deri 4- cam yüzey



Şekil 3.5: Numunelerin transfer edildiği diğer yüzeylerin 0. saat fotoğrafları (Sırasıyla 1- ahşap, 2- fayans, 3-plastik. 4.numarlı alt resimde ise numunelerin gönüllülerden alındıktan sonra steril kapta birleştirilmiş görüntüsü bulunmakta).

3.2. Örnekleme Zamanları

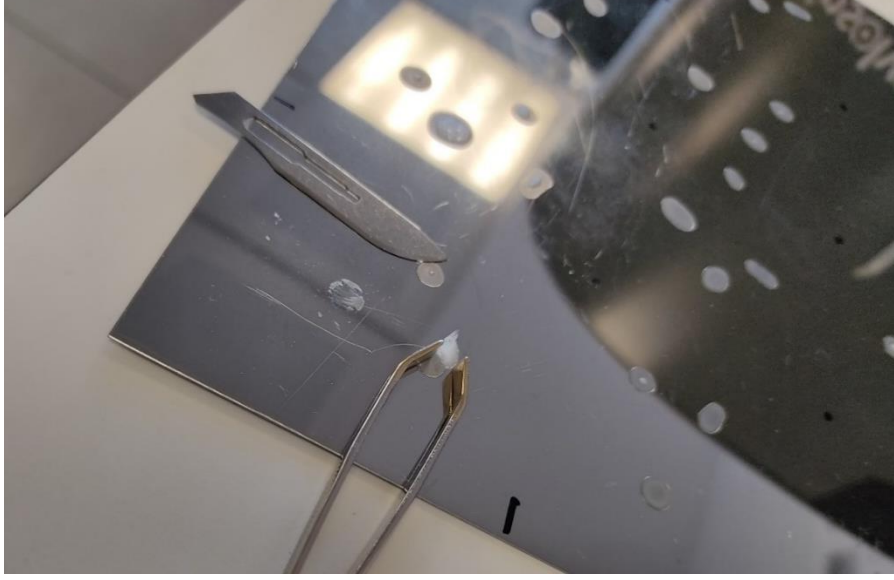
Semen damlatılan yüzeyler kuruma işlemi tamamlandıktan sonra sırasıyla;

- 2, 4, 8, 12 ve 24. saatlerde,
- 2, 3, 4, 5, 6, 7. günlerde,
- 2, 3, 4, 6 ve 8. haftalarda olmak üzere toplam 16 farklı zaman diliminde yüzeylerden alınarak ATR-FTIR ile incelenmiştir. 2. saat ölçümlerinde deri ve kartonda kuruma tamamlanmadığı için ölçüm yapılmamıştır.

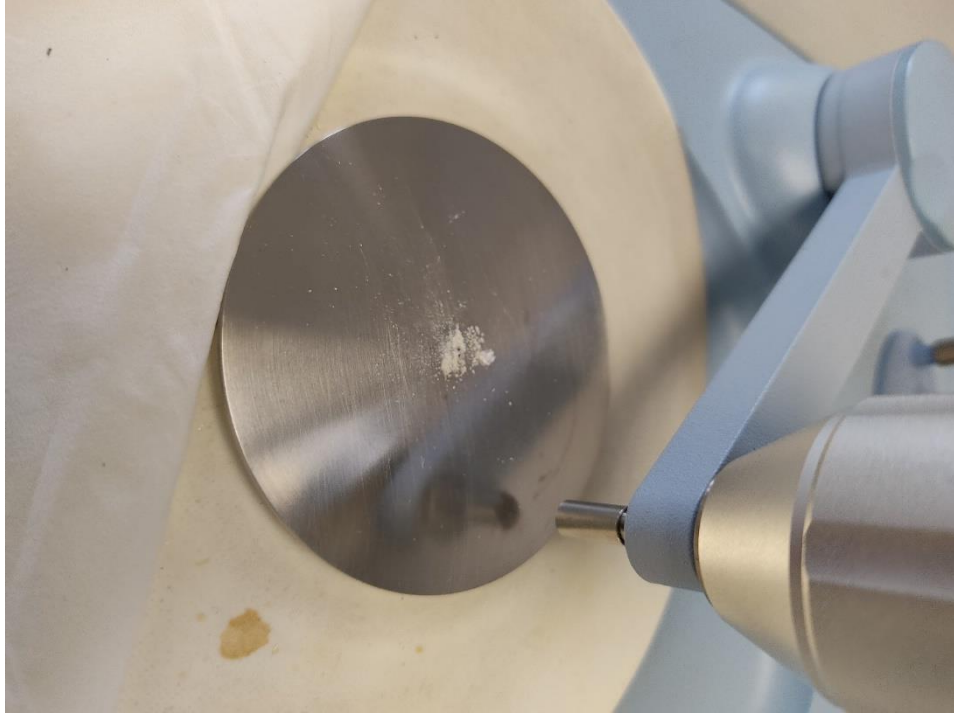
3.3. Spektrum Datalarının Elde Edilmesi

Planlanan zaman dilimi gelen yüzeylerden kurumuş semen lekeleri steril tek kullanımlık bistüri yardımıyla kazınarak çıkarılmıştır (Şekil 3.6). Sadece plastik yüzeyde damlatılan örnekler tek parça halinde cihaza yerleştirilebilmiştir. Diğer yüzeylerde kazınarak elde edilen örnekler görece daha küçük parçalar veya toz halinde bir katman şeklinde ATR-FTIR cihazının kristal yüzeyine yerleştirilmiştir (Şekil 3.7). Ölçümler Perkin Elmer Spectrum 400 FT-IR/FT-NIR cihazında sabit basınç uygulanarak, 4000-650 cm^{-1} spektrumunda 4cm^{-1} çözünürlükte ve 4 tarama sayısı ile yapılmış olup veriler Spectrum 10.5.4 yazılımı üzerinde kaydedilmiştir (Şekil 3.8).

Her zaman aralığındaki 3 farklı lekenin 8 farklı bölgesinden ölçüm alınarak bu ölçümlerden elde edilen spektral verilerin ortalaması elde edilmiştir. Farklı yüzeylerdeki lekelerinin birbiriyle çapraz kontaminasyonunu önlemek için her farklı yüzeye geçişten önce ve sonra cihazın numune konulan kristal yüzeyi etanol ile temizlenip sonrasında “background” ölçümler alınmıştır.



Şekil 3.6: Damlatıldıktan sonra 2. saatte kazınan, metal yüzeye uygulanmış semen örneği.



Şekil 3.7: Semen numunesinin yüzeyden kazındıktan sonra ATR-FTIR ölçüm alanına yerleştirilmiş hali.



Şekil 3.8: Çalışmada kullanılan Perkin Elmer üretimi ATR-FTIR cihazı

3.4. Verilerin Kemometrik Yöntemlerle Analizi

Kemometrik analiz için MATLAB yazılımı (Mathworks Inc. Natick, MA) ve PLS_Toolbox versiyon 8.2 (Eigenvector Research, Inc. Manson, WA) kullanılmıştır. PLS-DA yöntemi örneklerin saatlik, günlük ve haftalık olarak tanımlanması, ayrılması ve leke yaşı tahmini yapılması için kullanılmıştır. Saatlik örnekler (a), günlük örnekler (b), haftalık örnekler (c) olacak şekilde kodlanmış ve PLS-DA analizi bu şekilde gerçekleştirilmiştir. Ayrımlar tüm yüzeyler için ayrı ayrı olarak yapılmıştır. PLS-DA analizi yapılırken “autoscale”, 2. türev, “baseline” ön işlemleri kullanılmıştır. Kullanılan bu ön işlemler spektrumların sadece spesifik bir bölgesi seçilerek değil, tüm spektrum için uygulanmıştır.

Kemometrik yöntemler içinde PLS-DA uzun yıllardır bilinen bir analitik teknik olup, ekstraksiyon ve ayırım işlemlerinde oldukça etkilidir. PLS-DA yöntemi, önceleri regresyon modelleri için kullanılan PLS algoritmasını temel almakta olup, çok boyutlu

verilerde rahatlıkla kullanılabilir. PLS-DA modelleme stratejisi, iki temel prosedürü içerir: PLS-DA bileşenlerinin oluşturulması (boyut azaltma) ve tahmin modelinin oluşturulması (ayrım analizi) [57].

Ayrıca PLS-DA ayrım performansını belirlemek için, gerçek pozitif oranı (TPR), yanlış negatif oranı (FNR), gerçek negatif oran (TNR), yanlış pozitif oran değeri (FPR) gibi performans değerleri belirlenmiştir. Bunun için aşağıdaki denklemler kullanılmıştır.

$$1- STR = TPR / (TPR + FNR)$$

$$2- SPR = TNR / (TNR + FPR)$$

$$3- EFR = 100 - (FPR + FNR)$$

Çalışmamızda farklı yüzeyler üzerine transfer edilen semen lekelerinin yaşını tayin edebilmek için PLS-DA modeli oluşturulmuştur. Model oluşturma sürecinde 852 ölçüm kalibrasyon için, 112 ölçüm ise validasyon için kullanılmıştır. Lekeden yaş tayininde PLS-DA modeli oluşturmak için 7 farklı solid yüzeye ait tüm ölçümler eğitim veri seti şeklinde uygulanmıştır. PLS-DA analizi sonucunda, farklı yüzeyler üzerindeki semen lekelerinin farklı zaman aralıklarında birbirinden rahatlıkla ayrılabilirdiği gösterilmiştir. Sonuçların doğruluğunu ortaya koymak adına validasyon testleri uygulanmış ve her yüzey için ayrı ayrı yürütülen incelemede hiçbir spektrum kendi zaman aralığı dışında saptanmamıştır.

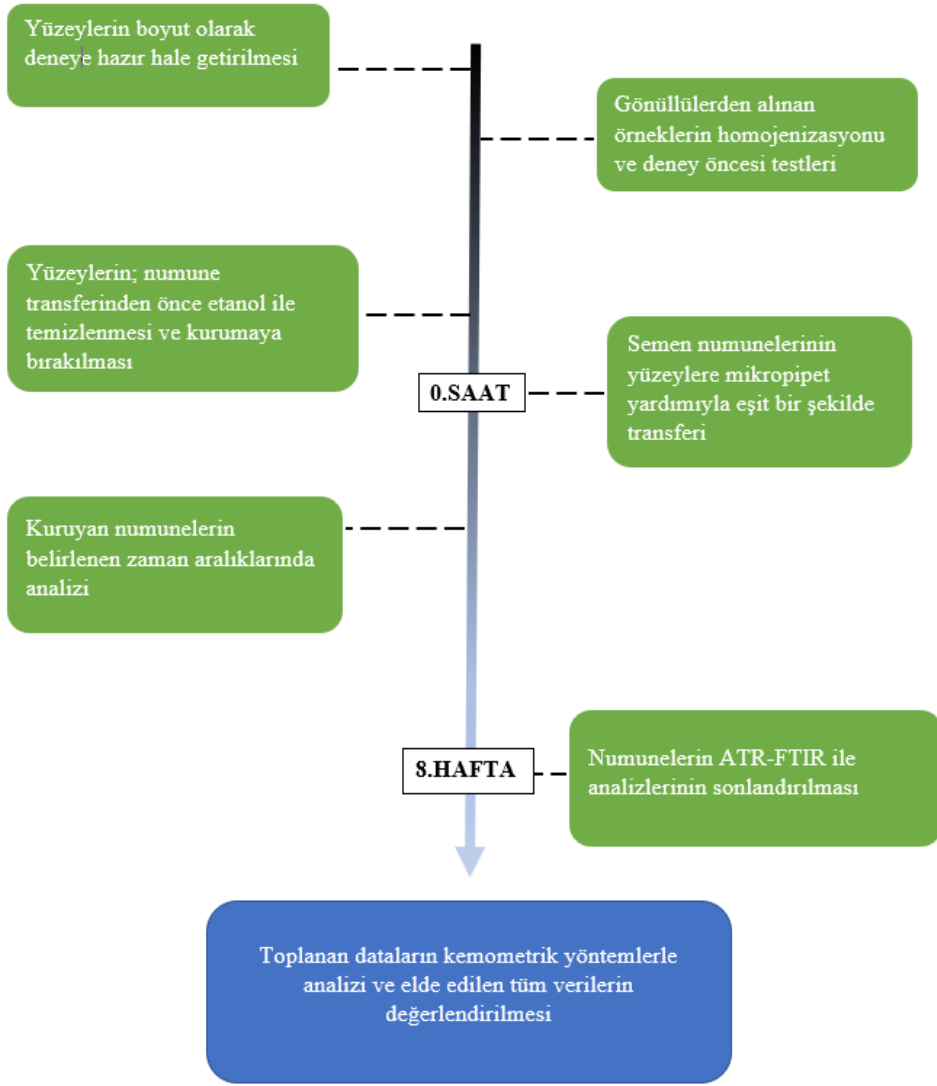
Gizli değişkenler, istatistiksel modellemelerde, özellikle büyük veri setleri üzerinde çalışırken, veri setinin boyutunu azaltmak ve bir regresyon modelinde bağımlı değişkenin bazı özellikleri açıklanamıyorsa, bu özellikleri açıklamak için kullanılır. Bu sayede, modelin doğruluğu artırılabilir ve daha iyi sonuçlar elde edilebilir [58].

Tüm yüzeylerde eğitim seti oluşturulurken çapraz validasyon için “Venetian Blind” yöntemi uygulanmış olup, LV (latent variable / gizli değişken) sayısı yüzeye göre farklı seçilmiştir. Ahşap yüzeyden elde edilen örneklerin ayrımında LV 4, Cam yüzeyden elde edilen örneklerin ayrımında LV 8, deri yüzeyden elde edilen örneklerin ayrımında LV 9, fayans yüzeyden elde edilen örneklerin ayrımında LV 7, karton yüzeyden elde

edilen örneklerin ayırımında LV 8, metal yüzeyden elde edilen örneklerin ayırımında LV 8 ve lastik yüzeyden elde edilen örneklerin ayırımında LV 4 olarak belirlenmiştir.

Kemometrik analizler yapılırken LV gizli değişken; RMSEC, kalibrasyon hatalarının ortalama karekökü; RMSECV, kök ortalama kareler hatası çapraz doğrulama; STR, seçicilik oranı; SPR, özgüllük oranı; TPR, gerçek pozitif oranı; FNR, yanlış negatif oranı; EFR, verimlilik oranı parametreleri baz alınmıştır.

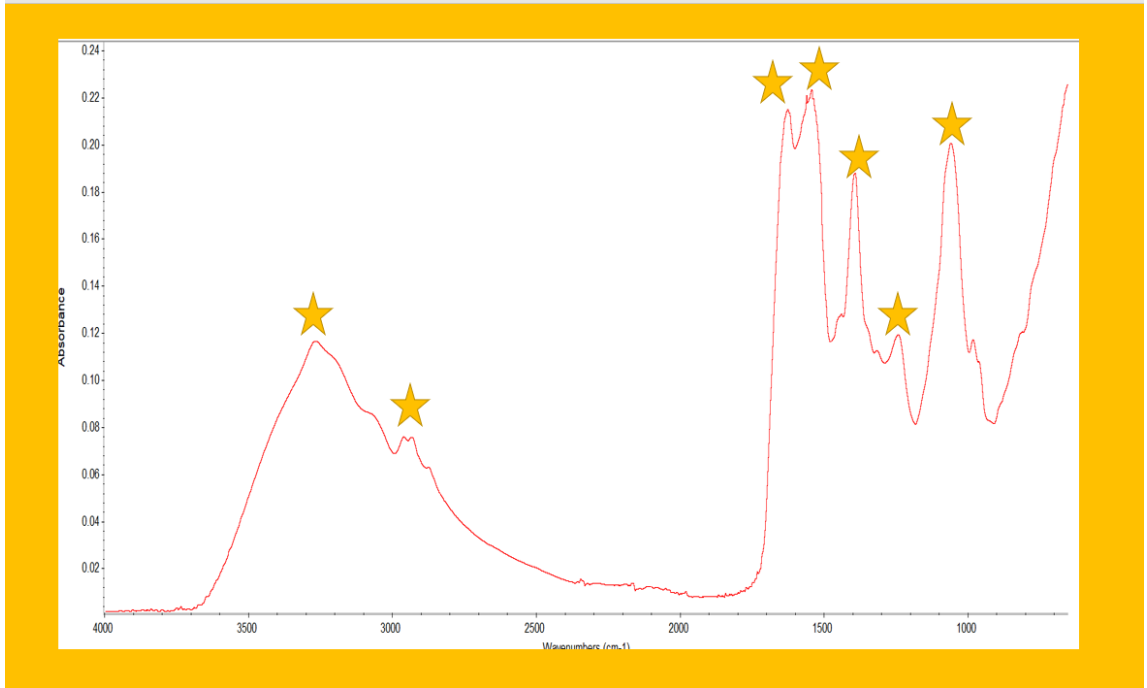
Deneyin genel işleyiş süreci şematik olarak şekil 3.9’da gösterilmiştir.



Şekil 3.9: Deney işleyiş süreci şeması

4- BULGULAR

Yapılan spektroskopik ölçümler sonucunda 4000cm⁻¹ – 650 cm⁻¹ aralığında 7 adet majör pik tespit edilmiştir. Bu pikler sırasıyla 3267cm⁻¹, 2961 cm⁻¹, 1630 cm⁻¹, 1542 cm⁻¹, 1392cm⁻¹, 1240 cm⁻¹, 1058cm⁻¹ ve 981 cm⁻¹ dalga boylarında yer almaktadır (Şekil 4.1). Bu piklerin yer aldığı ana yapılar ve oluşum nedenlerine tartışma bölümünde yer verilmiştir.



Şekil 4.1: Semen lekesi spektrumu (Yıldızla işaretlenen alanlar tespit edilen majör pikleri göstermektedir.)

Çalışmada uygulanan kemometrik PLS-DA yönteminin başarısı “EFR” oranı ile belirlenmekte olup; bu oran ahşap, cam, karton, metal ve plastik yüzeylerde tüm zaman aralıklarında %100 olarak bulunurken, deri ve fayans için sırasıyla %99,94 ve %99,95 olarak bulunmuştur. Her bir yüzeye ait hata tabloları ve hata matrisleri oluşturulmuş olup, hata tablolarında her bir zaman aralığı grubuna metodu test etmek amacıyla sunulan veri sayısını ve yöntemin bunlardan kaçını doğru gruplandırabildiği takip eden alt başlıklarda verilmiştir.

Tablo 4.1: PLS-DA ayırımı performans parametreleri

	Ahşap Yüzey	Cam Yüzey	Deri Yüzey	Fayans Yüzey	Karton Yüzey	Metal Yüzey	Plastik Yüzey
LV	4	8	9	7	8	8	4
REMSEC	0.153868 ^a 0.119622 ^b 0.147153 ^c	0.156402 ^a 0.140732 ^b 0.136801 ^c	0.168399 ^a 0.143712 ^b 0.159722 ^c	0.182538 ^a 0.158108 ^b 0.135811 ^c	0.116897 ^a 0.139605 ^b 0.144771 ^c	0.152429 ^a 0.163958 ^b 0.142014 ^c	0.15192 ^a 0.159227 ^b 0.136312 ^c
RMSECV	0.208973 ^a 0.164634 ^b 0.182342 ^c	0.210631 ^a 0.19011 ^b 0.167767 ^c	0.251058 ^a 0.204885 ^b 0.236758 ^c	0.244984 ^a 0.195301 ^b 0.180826 ^c	0.178465 ^a 0.188602 ^b 0.197349 ^c	0.2123 ^a 0.236665 ^b 0.201 ^c	0.20519 ^a 0.2154 ^b 0.172438 ^c
STR (%)	100 ^a 100 ^b 100 ^c	100 ^a 100 ^b 100 ^c	100 ^a 100 ^b 0.9457 ^c	100 ^a 0.9 ^b 100 ^c	100 ^a 100 ^b 100 ^c	100 ^a 100 ^b 100 ^c	100 ^a 100 ^b 100 ^c
SPR (%)	100 ^a 100 ^b 100 ^c	100 ^a 100 ^b 100 ^c	100 ^a 0.9615 ^b 100 ^c	100 ^a 100 ^b 0.95 ^c	100 ^a 100 ^b 100 ^c	100 ^a 100 ^b 100 ^c	100 ^a 100 ^b 100 ^c
TPR (%)	1 ^a 1 ^b 1 ^c	1 ^a 1 ^b 1 ^c	1 ^a 1 ^b 0.9444 ^c	1 ^a 0.9 ^b 1 ^c	1 ^a 1 ^b 1 ^c	1 ^a 1 ^b 1 ^c	1 ^a 1 ^b 1 ^c
FNR (%)	0 ^a 0 ^b 0 ^c	0 ^a 0 ^b 0 ^c	0 ^a 0 ^b 0.0556 ^c	0 ^a 0.1 ^b 0 ^c	0 ^a 0 ^b 0 ^c	0 ^a 0 ^b 0 ^c	0 ^a 0 ^b 0 ^c
EFR (%)	100 ^a 100 ^b 100 ^c	100 ^a 100 ^b 100 ^c	100 ^a 99.96 ^b 99.94 ^c	100 ^a 99.9 ^b 99.95 ^c	100 ^a 100 ^b 100 ^c	100 ^a 100 ^b 100 ^c	100 ^a 100 ^b 100 ^c

(^asaatlik örnekler; ^bgünlük örnekler, ^chaftalık örnekler; LV gizli değişken; RMSEC, kalibrasyon hatalarının ortalama karekökü; RMSECV, kök ortalama kareler hatası çapraz doğrulama; STR, seçicilik oranı; SPR, özgülük oranı; TPR, gerçek pozitif oranı; FNR, yanlış negatif oranı; EFR, verimlilik oranı.)

4.1. Ahşap Yüzey Verileri

Ahşap yüzeydeki lekelerin analizinde, geliştirilen metodu test etmek amacıyla sunulan veri sayısı ve yöntemin bunlardan kaçını doğru gruplandırabildiği, hata tablosu (Tablo 4.2) ve hata matrisinde (tablo 4.3) sunulmuştur.

Tablo 4.2: Ahşap yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata tablosu verileri

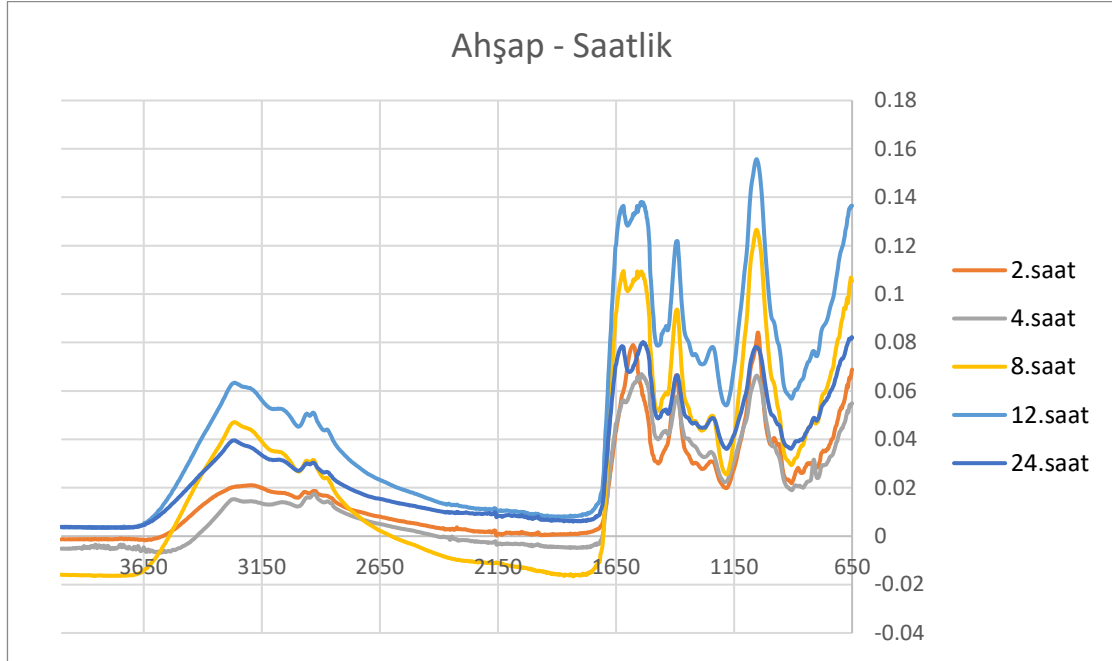
Hata Tablosu – Ahşap			
	a	b	c
a olarak tahmin edilen	11	0	0
b olarak tahmin edilen	0	11	0
c olarak tahmin edilen	0	0	13

Tablo 4.3: Ahşap yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata matrisi verileri

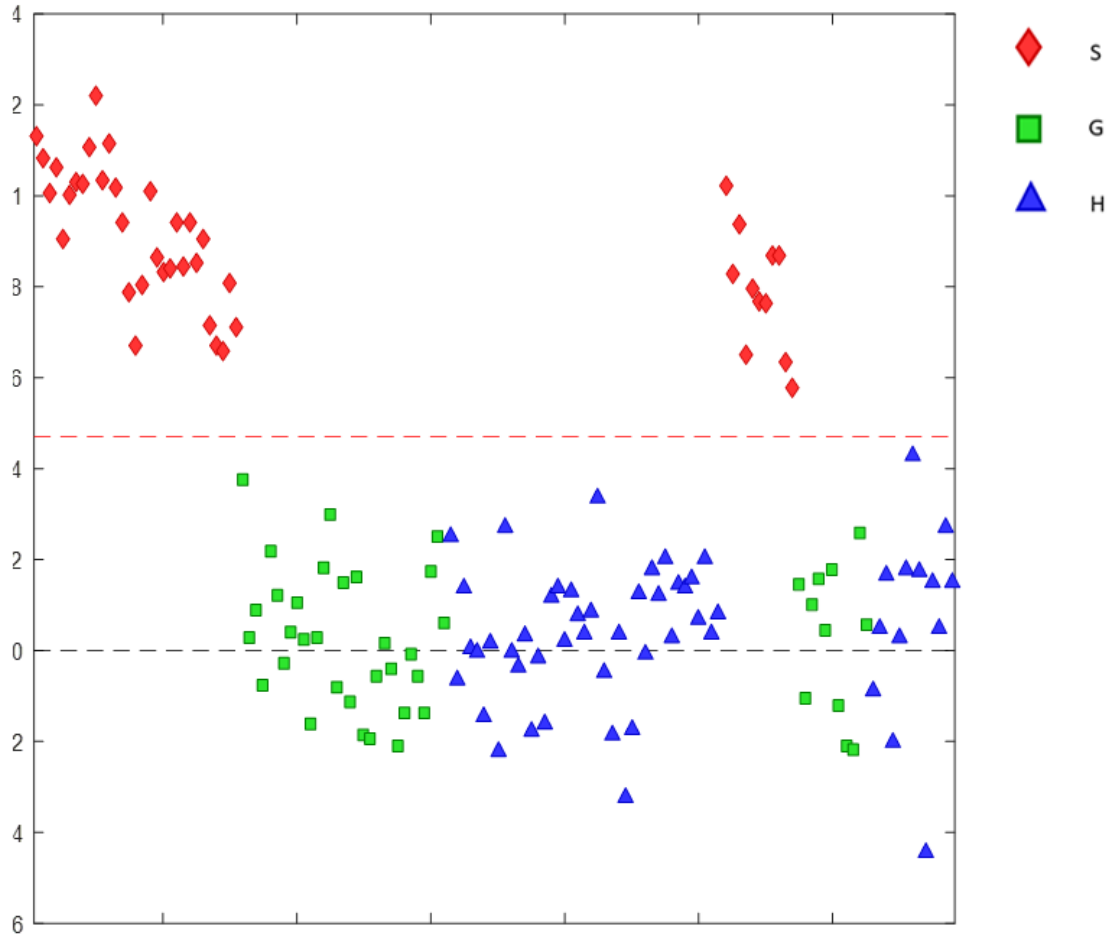
Hata Matrisi – Ahşap									
Sınıf	TPR	FPR	TNR	FNR	N	Err	P	F1	EFR %
a	1.00000	0.00000	1.00000	0.00000	11	0.00000	1.00000	1.00000	100
b	1.00000	0.00000	1.00000	0.00000	11	0.00000	1.00000	1.00000	100
c	1.00000	0.00000	1.00000	0.00000	13	0.00000	1.00000	1.00000	100

4.1.1. Ahşap Yüzey Saatlik veriler

Ahşap yüzeyde 0-24. saat arasında belirlenen zaman dilimlerinde gerçekleştirilen ATR-FTIR ölçümlerine ait spektrum verisi şekil 4.2’de, gruplandırılan verilerin saatlik verilerin ayırımı gösteren PLS-DA grafiği de şekil 4.3’te sunulmuştur.



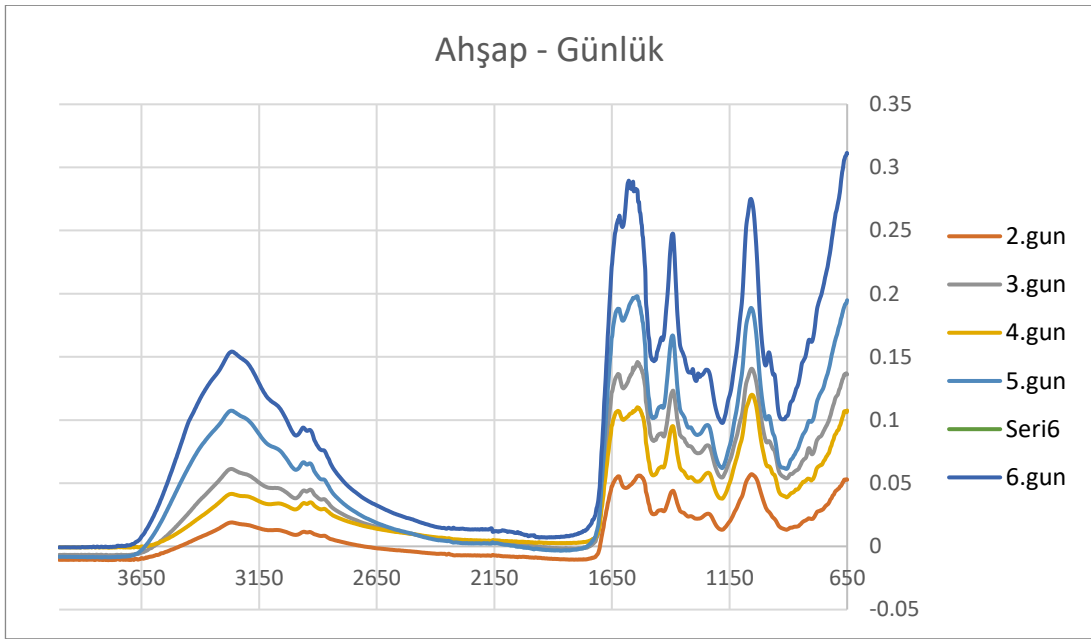
Şekil 4.2: Ahşap yüzeye ait 0-24. saat ölçümleri absorbans- dalga boyu grafiği (yatay eksen dalga boyunu, dikey eksen absorbans değerini göstermektedir.)



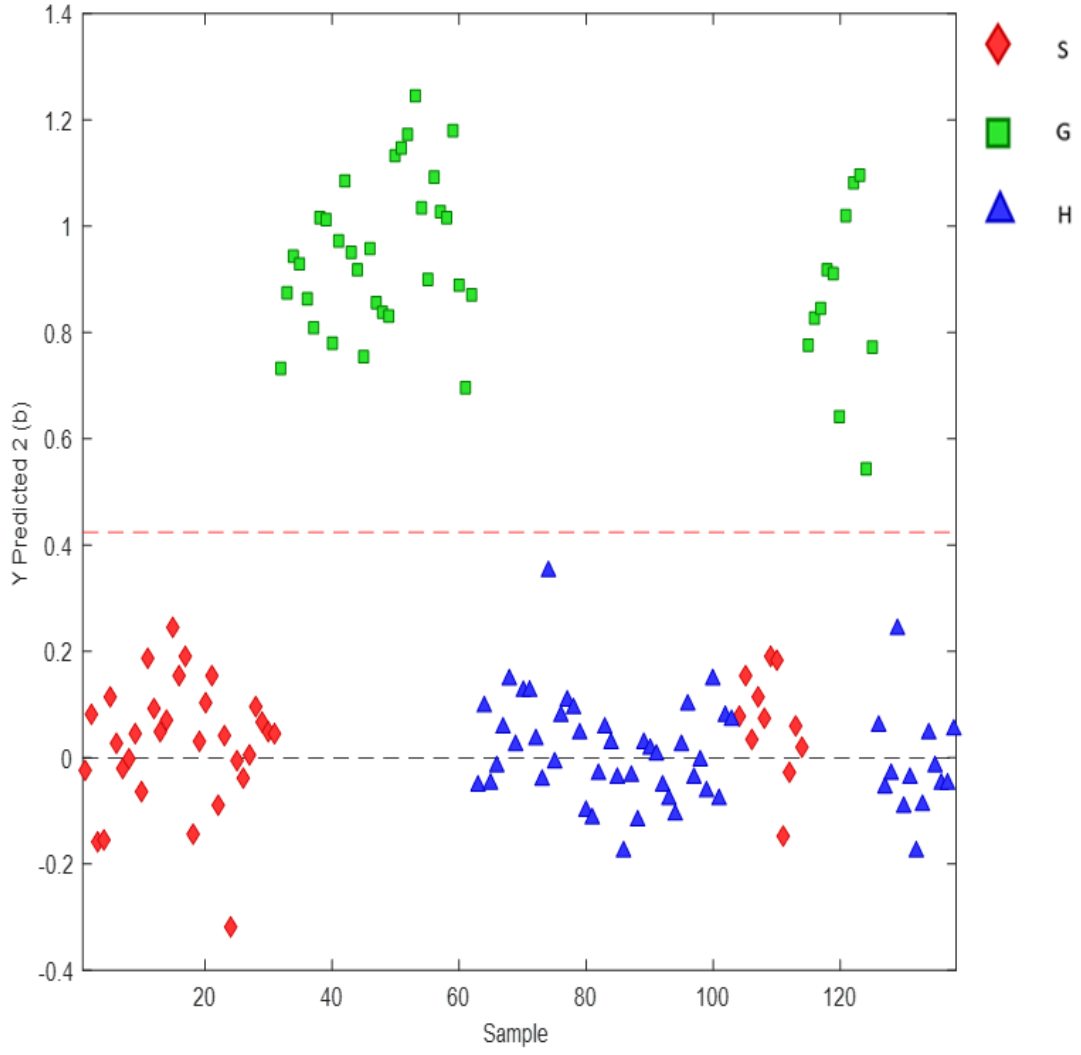
Şekil 4.3: Saatlik ahşap ölçümlerinin diğer (günlük ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği (S: saatlik ölçümler, G: günlük ölçümler, H: haftalık ölçümler)

4.1.2. Ahşap Yüzey Günlük Veriler

Ahşap yüzeyde 2-6. günler arasında belirlenen zaman dilimlerinde gerçekleştirilen ATR-FTIR ölçümlerine ait spektrum verisi şekil 4.4'te, gruplandırılan verilerden; günlük verilerin diğer zaman dilimlerinden ayrımını gösteren PLS-DA grafiği de şekil 4.5'te sunulmuştur.



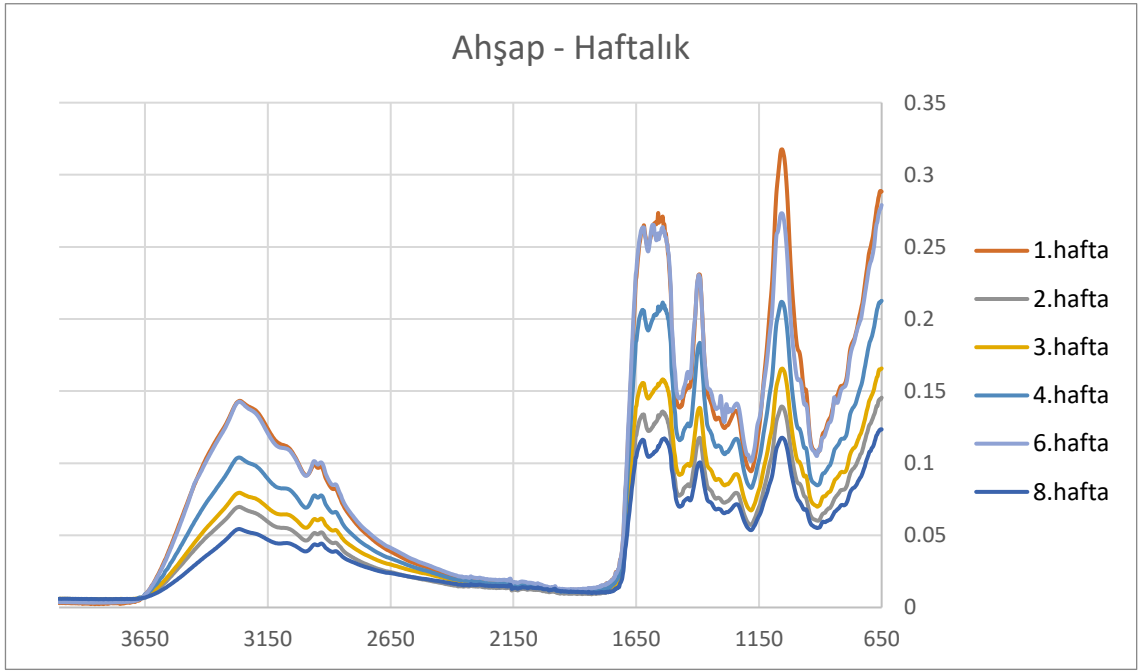
Şekil 4.4: Ahşap yüzeye ait 1-6. gün ölçüm değerleri absorbans-dalga boyu grafiği (yatay eksen dalga boyunu, dikey eksen absorbans değerini göstermektedir.)



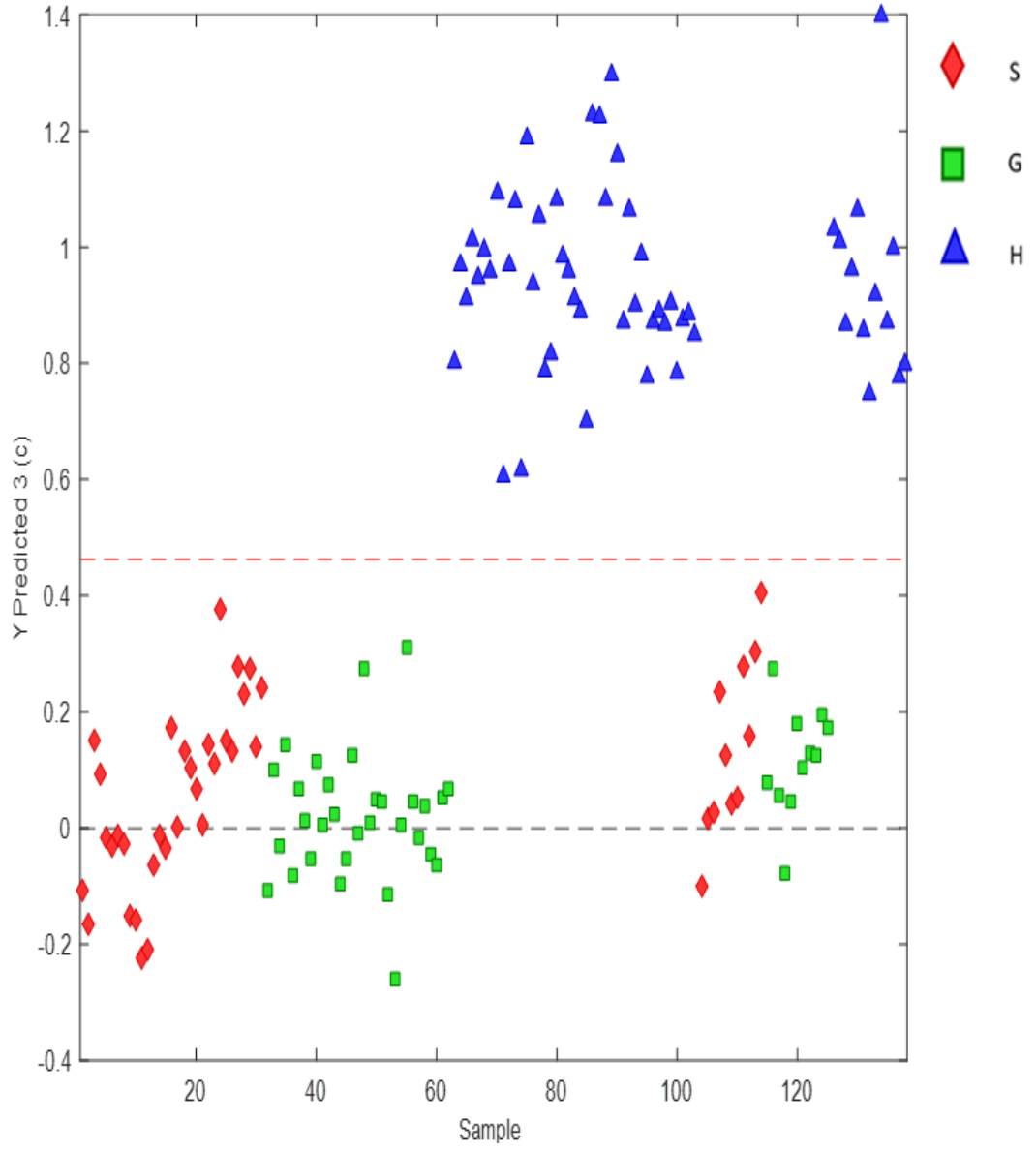
Şekil 4.5: Günlük ahşap yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği (S: saatlik ölçümler, G: günlük ölçümler, H: haftalık ölçümler)

4.1.3. Ahşap Yüzey Haftalık Veriler

Ahşap yüzeyde 1-8 hafta arasında belirlenen zaman dilimlerinde gerçekleştirilen ATR-FTIR ölçümlerine ait spektrum verisi şekil 4.6’da, gruplandırılan verilerden; haftalık verilerin diğer zaman dilimlerinden ayrımını gösteren PLS-DA grafiği de şekil 4.7’de sunulmuştur.



Şekil 4.6: Ahşap yüzeye ait 1-8.hafta ölçümleri absorbans-dalga boyu grafiği (yatay eksen dalga boyunu, dikey eksen absorbans değerini göstermektedir.)



Şekil 4.7: Haftalık ahşap yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve günlük) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği (S: saatlik ölçümler, G: günlük ölçümler, H: haftalık ölçümler)

4.2. Cam Yüzey Verileri

Cam yüzeydeki lekelerin analizinde, geliştirilen metodu test etmek amacıyla sunulan veri sayısı ve yöntemin bunlardan kaçını doğru gruplandırabildiği, hata tablosu (Tablo 4.4) ve hata matrisinde (tablo 4.5) sunulmuştur.

Tablo 4.4: Cam yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata tablosu verileri.

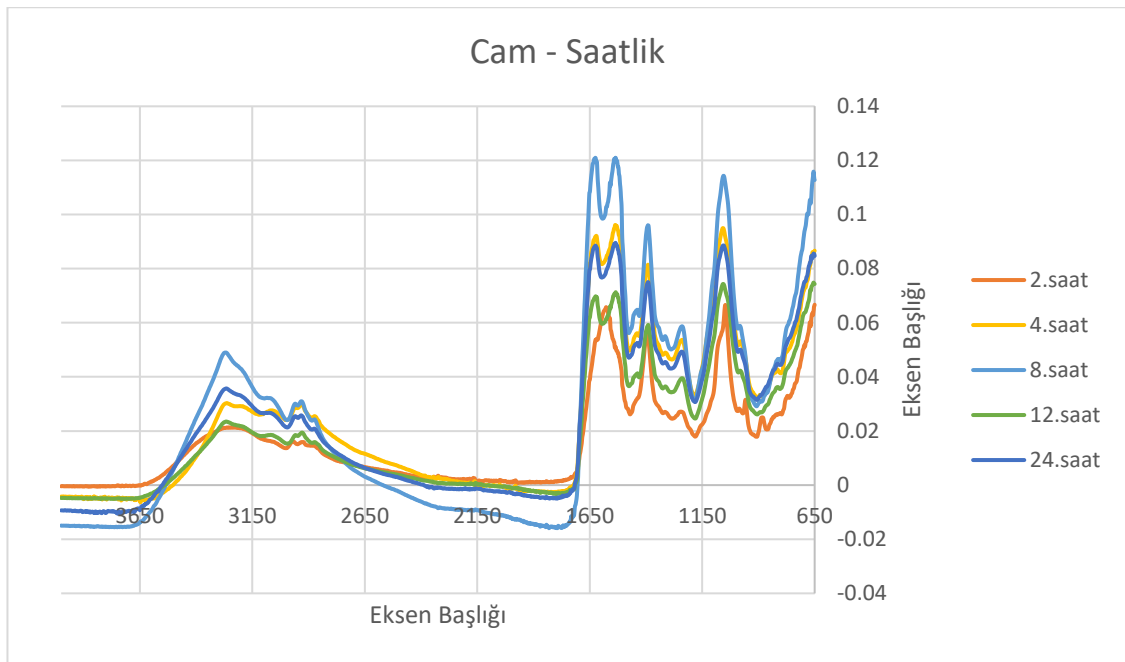
Hata Tablosu – Cam			
	a	b	c
a olarak tahmin edilen	9	0	0
b olarak tahmin edilen	0	10	0
c olarak tahmin edilen	0	0	11

Tablo 4.5: Cam yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata matrisi verileri

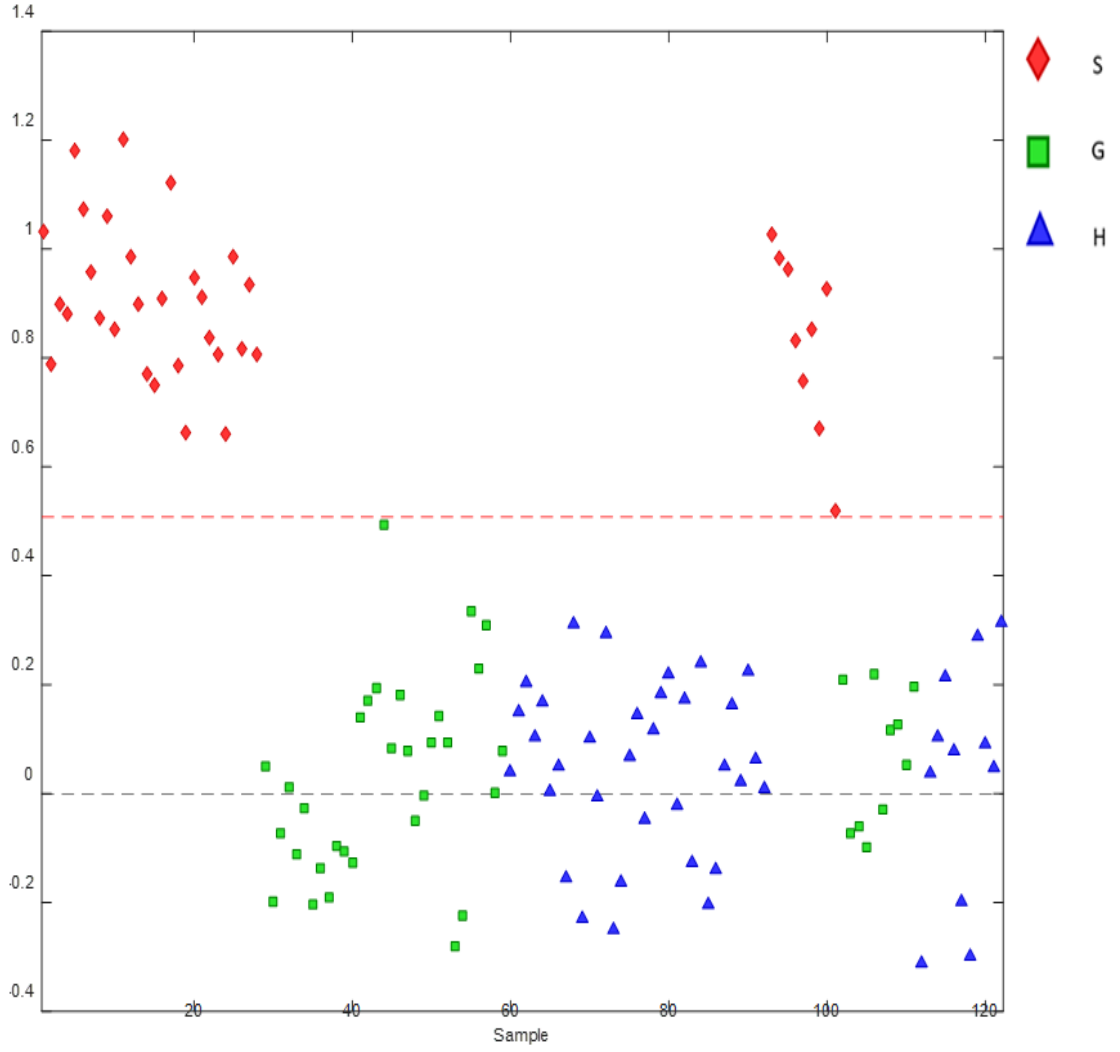
Hata Matrisi – Cam									
Sınıf	TPR	FPR	TNR	FNR	N	Err	P	F1	EFR %
a	1.00000	0.00000	1.00000	0.00000	9	0.00000	1.00000	1.00000	100
b	1.00000	0.00000	1.00000	0.00000	10	0.00000	1.00000	1.00000	100
c	1.00000	0.00000	1.00000	0.00000	11	0.00000	1.00000	1.00000	100

4.2.1. Cam Yüzey Saatlik veriler

Cam yüzeyde 0-24. saatler arasında belirlenen zaman dilimlerinde gerçekleştirilen ATR-FTIR ölçümlerine ait spektrum verisi şekil 4.8’de, gruplandırılan verilerden; saatlik verilerin diğer zaman dilimlerinden ayrımını gösteren PLS-DA grafiği de şekil 4.9’da sunulmuştur.



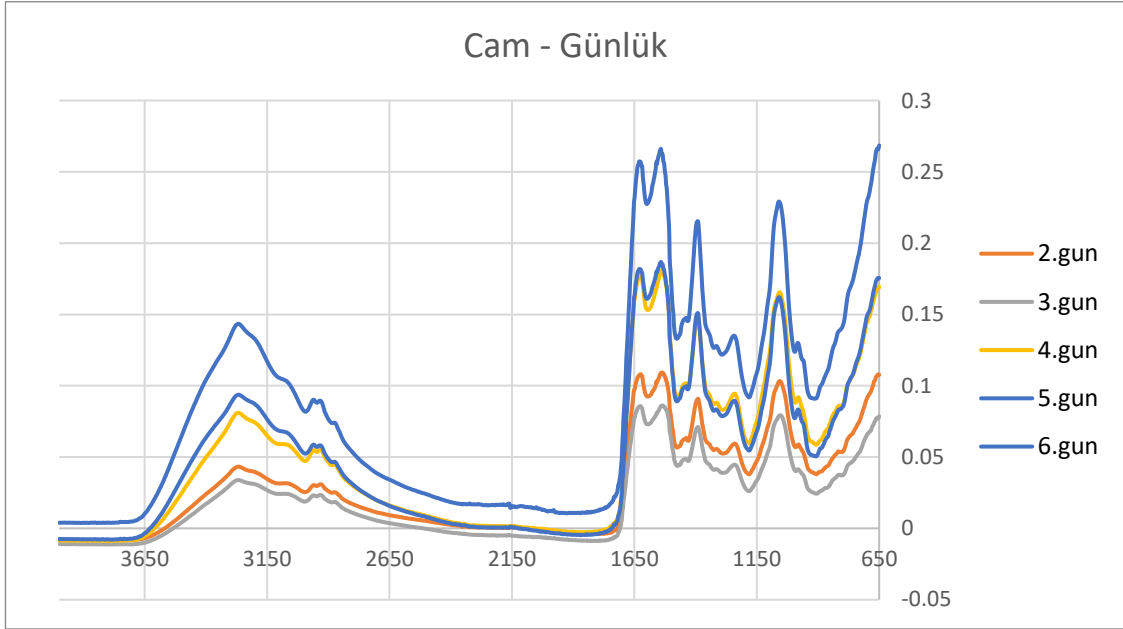
Şekil 4.8: Cam yüzeye ait 0-24. saat ölçümleri absorban-dalga boyu grafiği (yatay eksen dalga boyunu, dikey eksen absorban değeri göstermektedir.)



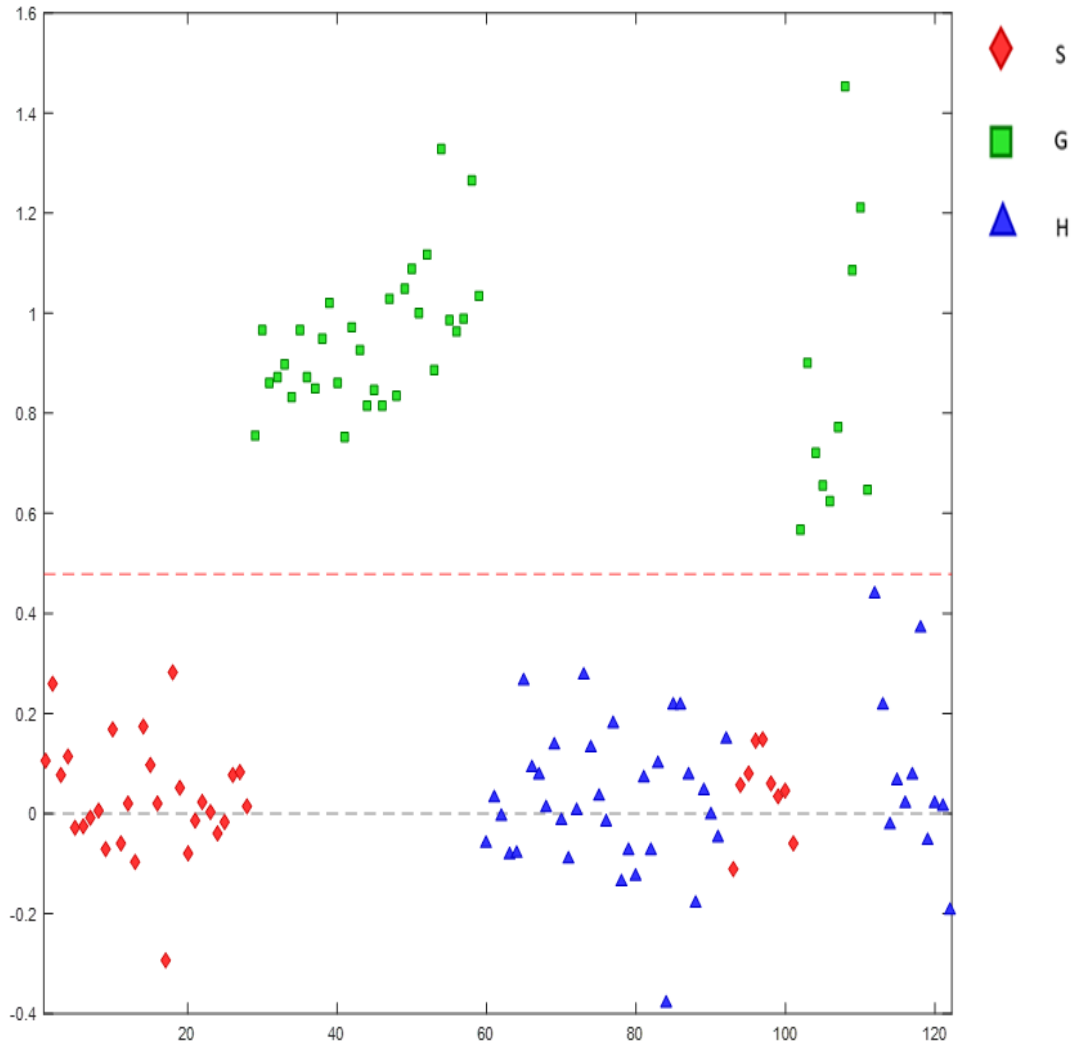
Şekil 4.9: Saatlik cam yüzey ölçümlerinin diğer (günlük ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği (S: saatlik ölçümler, G: günlük ölçümler, H: haftalık ölçümler)

4.2.2. Cam Yüzey Günlük Veriler

Cam yüzeyde 2-6. günler arasında belirlenen zaman dilimlerinde gerçekleştirilen ATR-FTIR ölçümlerine ait spektrum verisi şekil 4.10'da, gruplandırılan verilerden; günlük verilerin diğer zaman dilimlerinden ayrımını gösteren PLS-DA grafiği de şekil 4.11'de sunulmuştur.



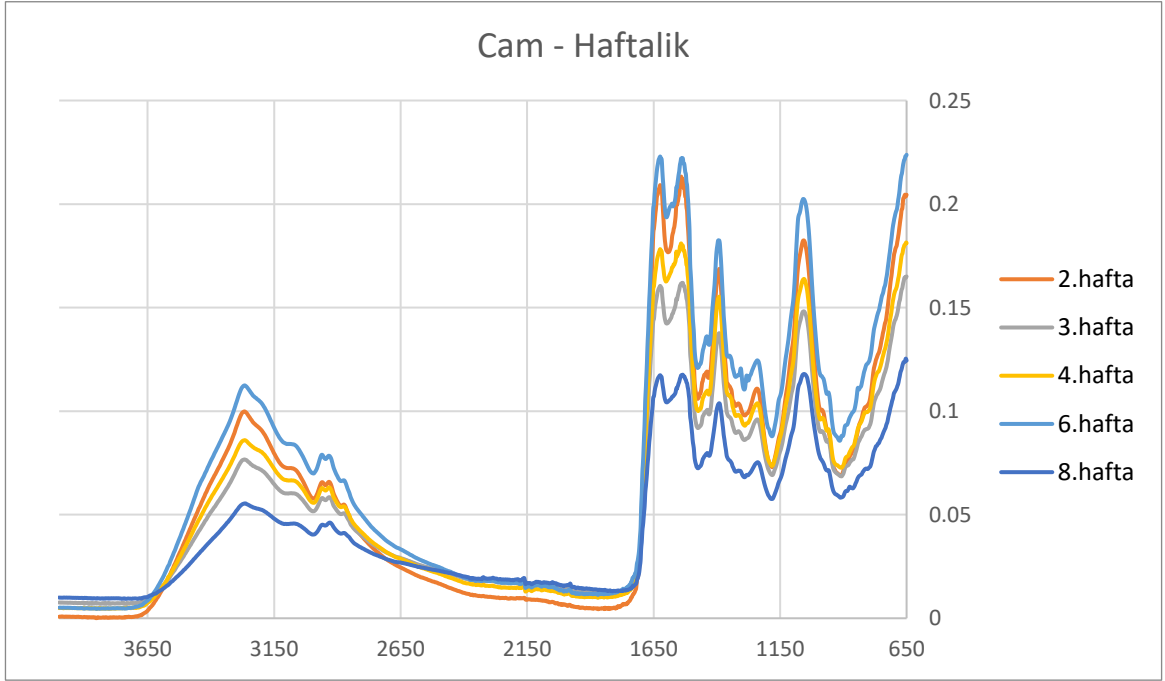
Şekil 4.10: Cam yüzeye ait 1-6.gün ölçümleri absorban-dalga boyu grafiği (yatay eksen dalga boyunu, dikey eksen absorban değerini göstermektedir.)



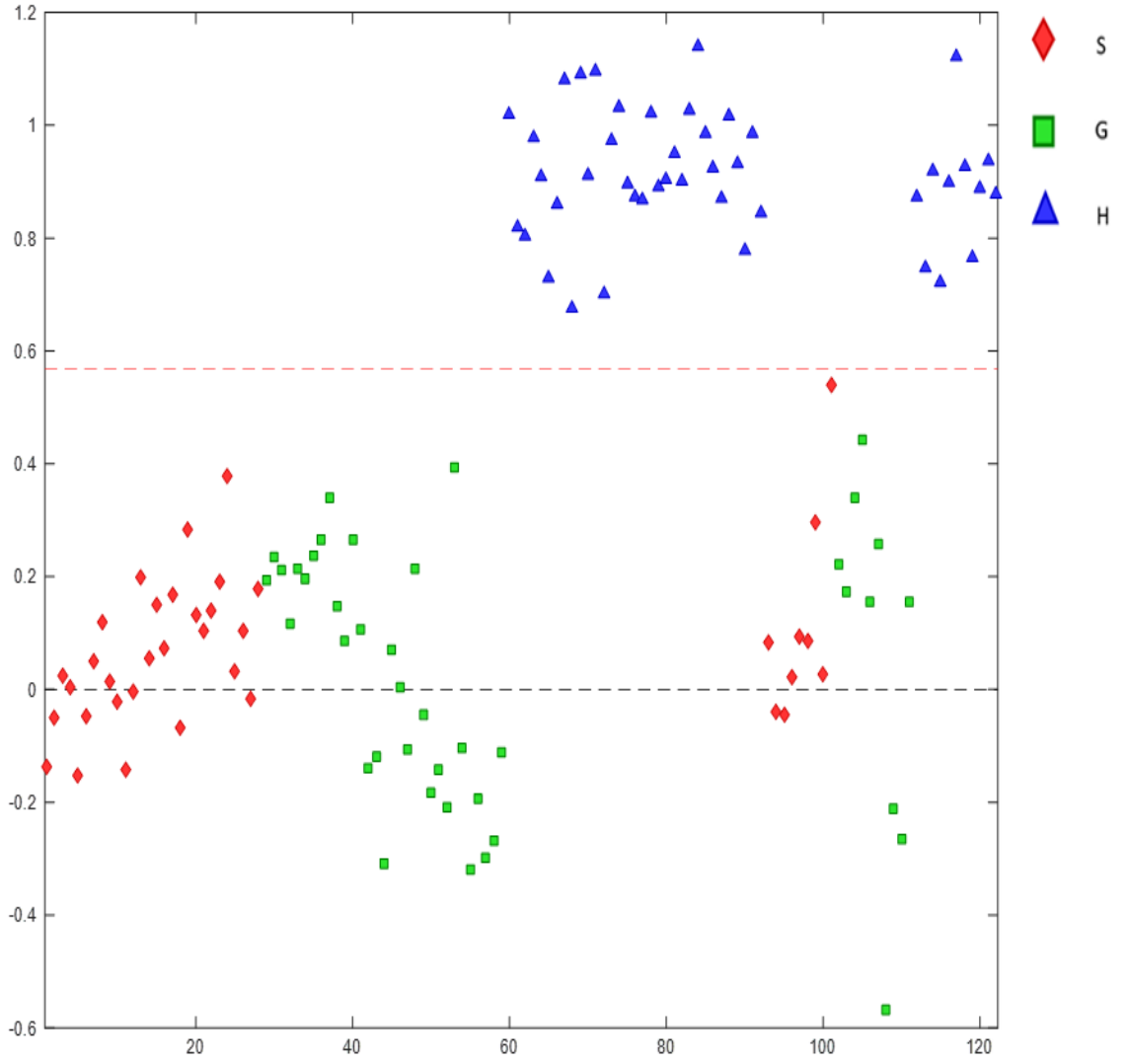
Şekil 4.11: Günlük cam yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği (S: saatlik ölçümler, G: günlük ölçümler, H: haftalık ölçümler)

4.2.3. Cam Yüzey Haftalık Veriler

Cam yüzeyde 1-8. haftalar arasında belirlenen zaman dilimlerinde gerçekleştirilen ATR-FTIR ölçümlerine ait spektrum verisi şekil 4.12’de, gruplandırılan verilerden; haftalık verilerin diğer zaman dilimlerinden ayrımını gösteren PLS-DA grafiği de şekil 4.13’de sunulmuştur.



Şekil 4.12: Cam yüzeye ait 1-8.hafta ölçümleri absorbans-dalga boyu grafiği (yatay eksen dalga boyunu, dikey eksen absorbans değerini göstermektedir.)



Şekil 4.13: Haftalık cam yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve günlük) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği (S: saatlik ölçümler, G: günlük ölçümler, H: haftalık ölçümler)

4.3. Deri Yüzey Verileri

Deri yüzeydeki lekelerin analizinde, geliştirilen metodu test etmek amacıyla sunulan veri sayısı ve yöntemin bunlardan kaçını doğru gruplandırabildiği, hata tablosu (Tablo 4.6) ve hata matrisinde (tablo 4.7) sunulmuştur.

Tablo 4.6: Deri yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata tablosu verileri.

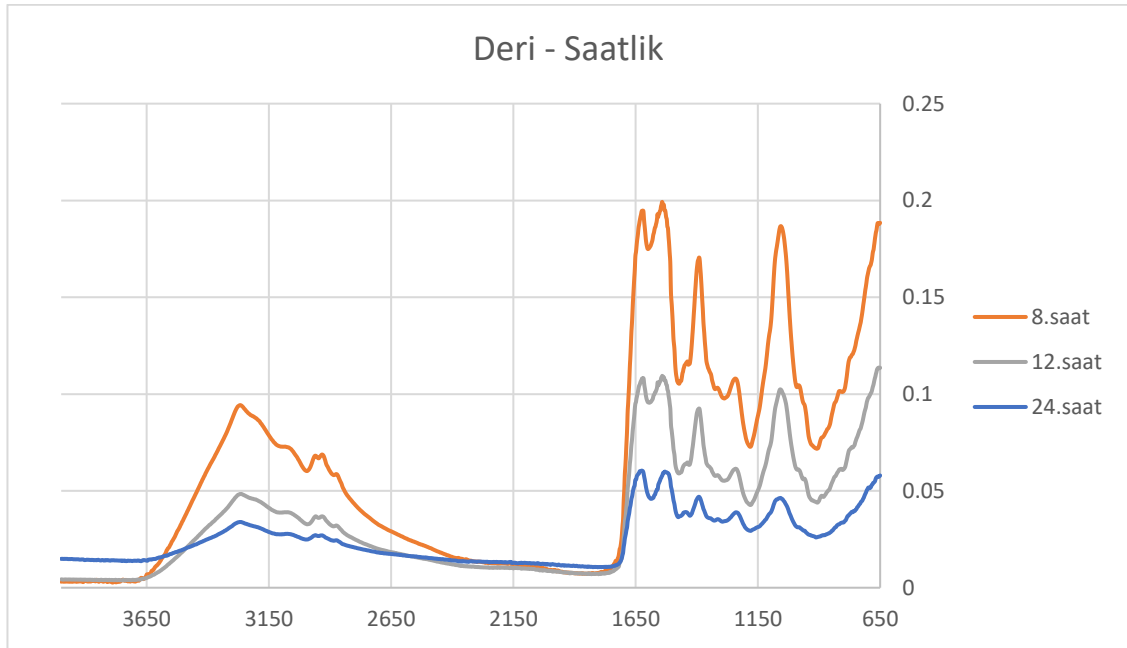
Hata Tablosu – Deri			
	a	b	c
a olarak tahmin edilen	8	0	0
b olarak tahmin edilen	0	13	1
c olarak tahmin edilen	0	0	17

Tablo 4.7: Deri yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata matrisi verileri

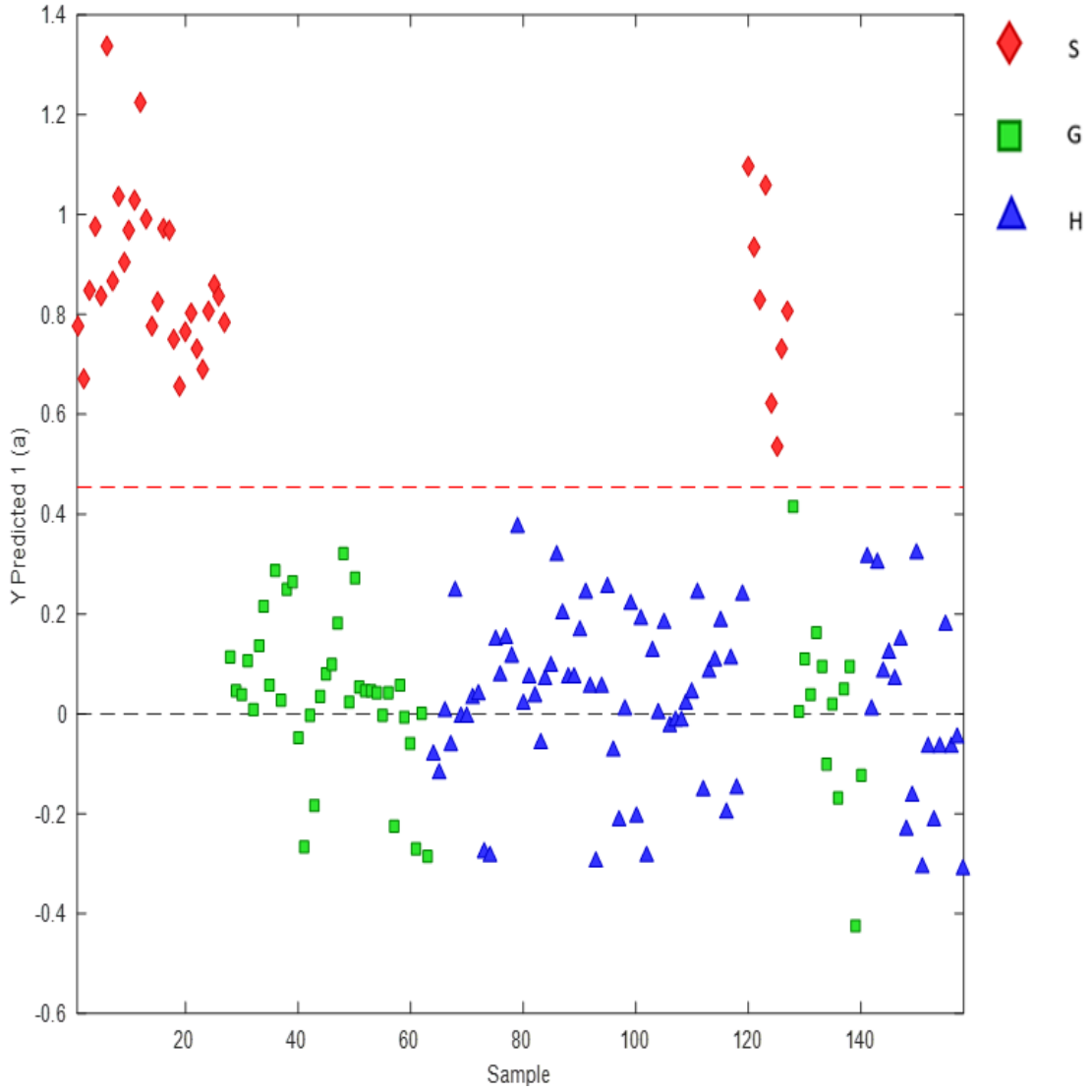
Hata Matrisi – Deri									
Sınıf	TPR	FPR	TNR	FNR	N	Err	P	F1	EFR %
a	1.00000	0.00000	1.00000	0.00000	8	0.00000	1.00000	1.00000	100
b	1.00000	0.03846	0.96154	0.00000	13	0.02564	0.92857	0.96296	99.96
c	0.94444	0.00000	1.00000	0.05556	18	0.02564	1.00000	0.97143	99.94

4.3.1. Deri Yüzey Saatlik Veriler

Deri yüzeyde 0-24. saatler arasında belirlenen zaman dilimlerinde gerçekleştirilen ATR-FTIR ölçümlerine ait spektrum verisi şekil 4.14’te, gruplandırılan verilerden; saatlik verilerin diğer zaman dilimlerinden ayırımı gösteren PLS-DA grafiği de şekil 4.15’te sunulmuştur.



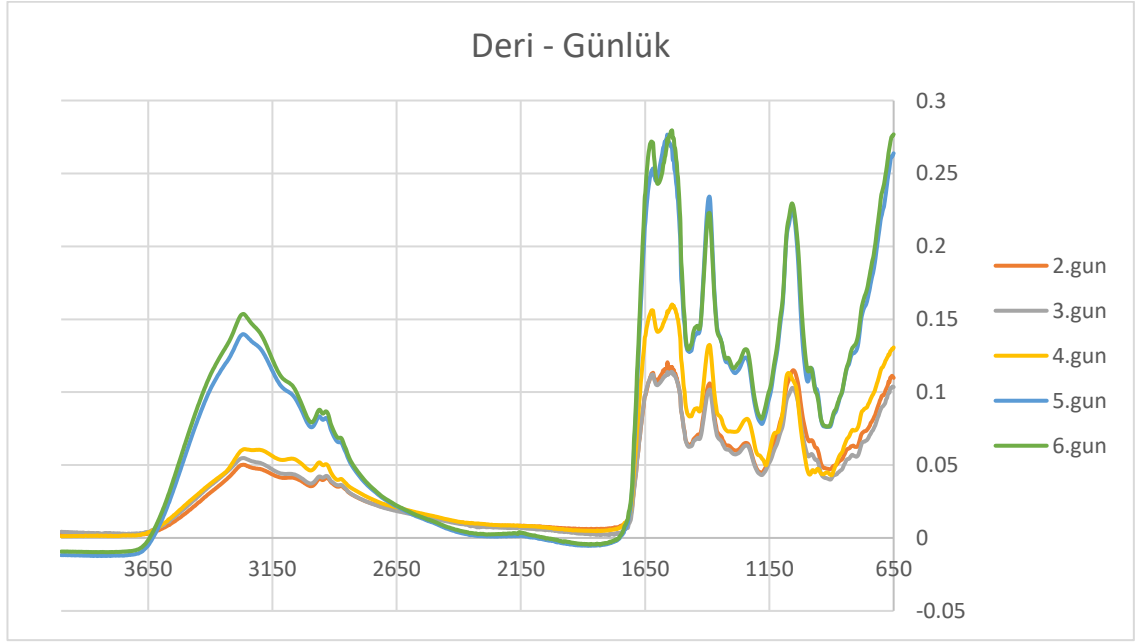
Şekil 4.14: Deri yüzeye ait 0-24. saat ölçümleri absorbans-dalga boyu grafiği (yatay eksen dalga boyunu, dikey eksen absorbans değerini göstermektedir.)



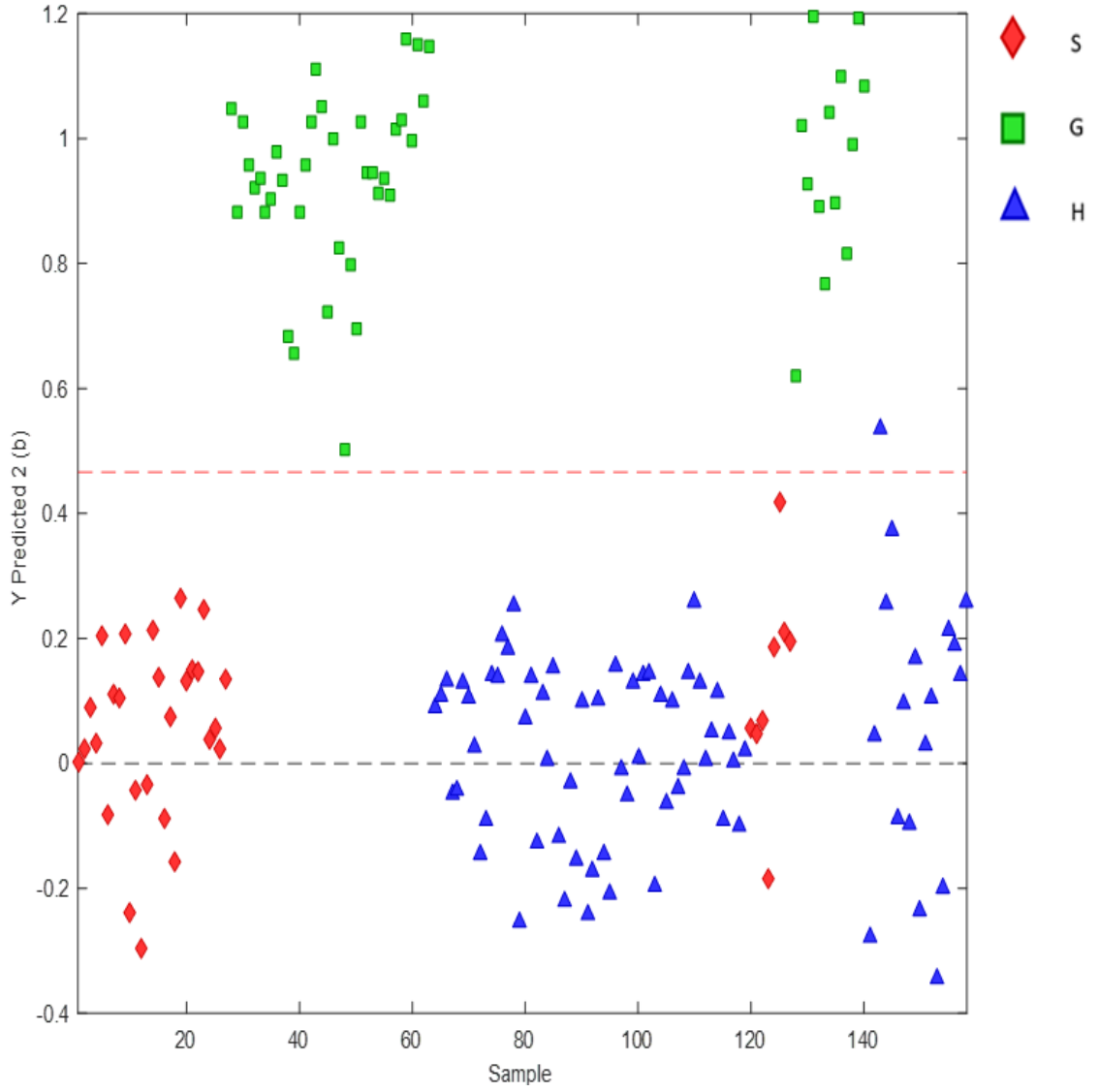
Şekil 4.15: Saatlik deri yüzey ölçümlerinin diğer (günlük ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği (S: saatlik ölçümler, G: günlük ölçümler, H: haftalık ölçümler)

4.3.2 Deri Yüzey Günlük Veriler

Deri yüzeyde 2-6. günler arasında belirlenen zaman dilimlerinde gerçekleştirilen ATR-FTIR ölçümlerine ait spektrum verisi şekil 4.16'da, gruplandırılan verilerden; günlük verilerin diğer zaman dilimlerinden ayrımını gösteren PLS-DA grafiği de şekil 4.17'de sunulmuştur.



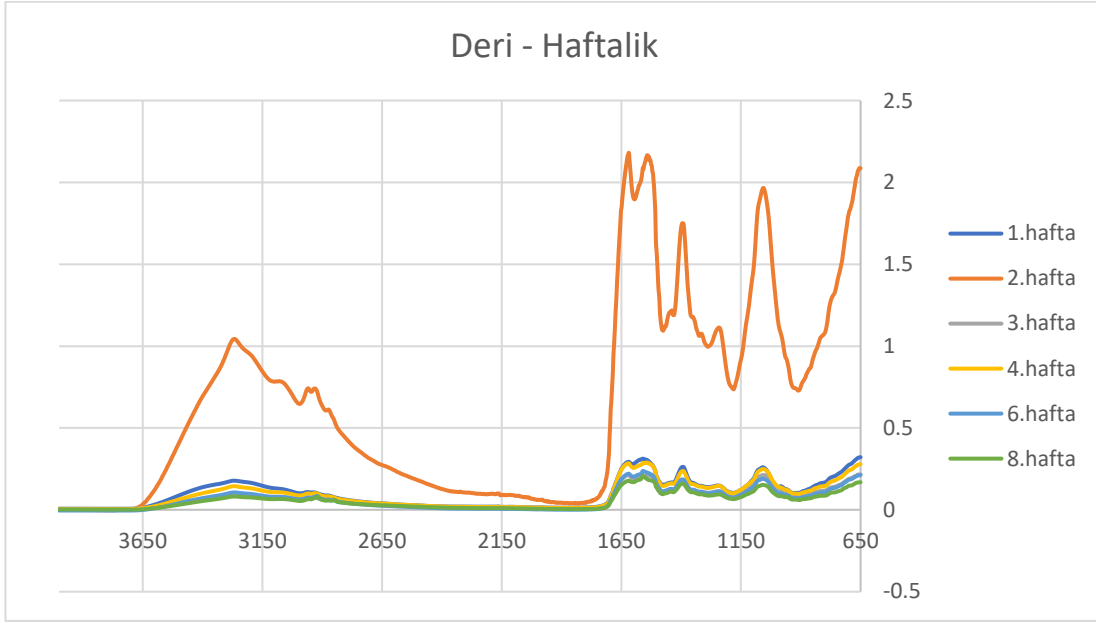
Şekil 4.16: Deri yüzeye ait 2-6.gün ölçümleri absorban-dalga boyu grafiği (yatay eksen dalga boyunu, dikey eksen absorban değerini göstermektedir.)



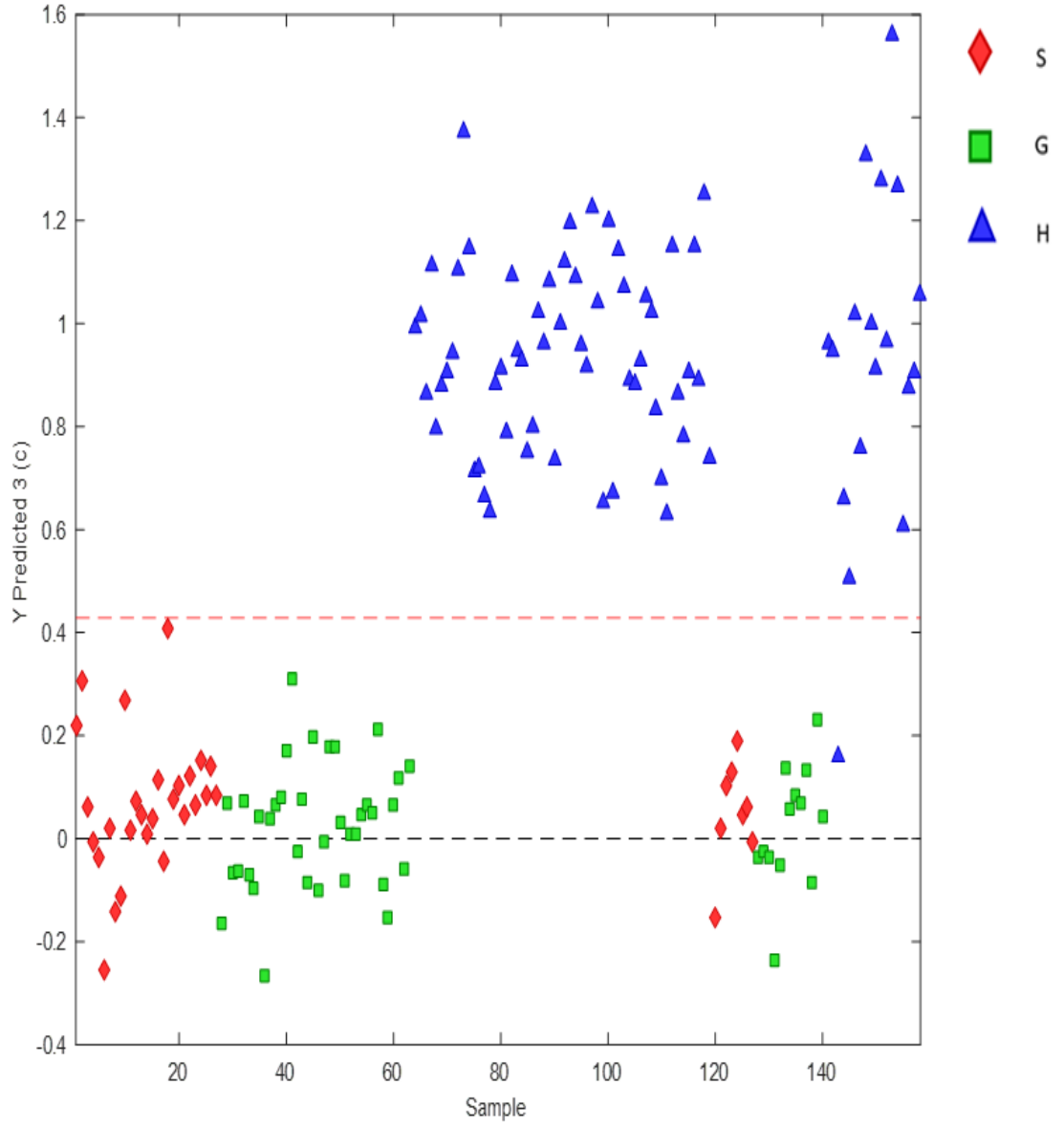
Şekil 4.17: Günlük deri yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği (S: saatlik ölçümler, G: günlük ölçümler, H: haftalık ölçümler)

4.3.3. Deri Yüzey Haftalık Veriler

Deri yüzeyde 1-8. haftalar arasında belirlenen zaman dilimlerinde gerçekleştirilen ATR-FTIR ölçümlerine ait spektrum verisi şekil 4.18’de, gruplandırılan verilerden; haftalık verilerin diğer zaman dilimlerinden ayrımını gösteren PLS-DA grafiği de şekil 4.19’da sunulmuştur.



Şekil 4.18: Deri yüzeye ait 1-8.hafta ölçümleri absorbans-dalga boyu grafiği (yatay eksen dalga boyunu, dikey eksen absorbans değerini göstermektedir.)



Şekil 4.19: Haftalık deri yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve günlük) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği (S: saatlik ölçümler, G: günlük ölçümler, H: haftalık ölçümler)

4.4. Fayans Yüzey Verileri

Fayans yüzeydeki lekelerin analizinde, geliştirilen metodu test etmek amacıyla sunulan veri sayısı ve yöntemin bunlardan kaçını doğru gruplandırabildiği, hata tablosu (Tablo 4.8) ve hata matrisinde (tablo 4.9) sunulmuştur.

Tablo 4.8: Fayans yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata tablosu verileri.

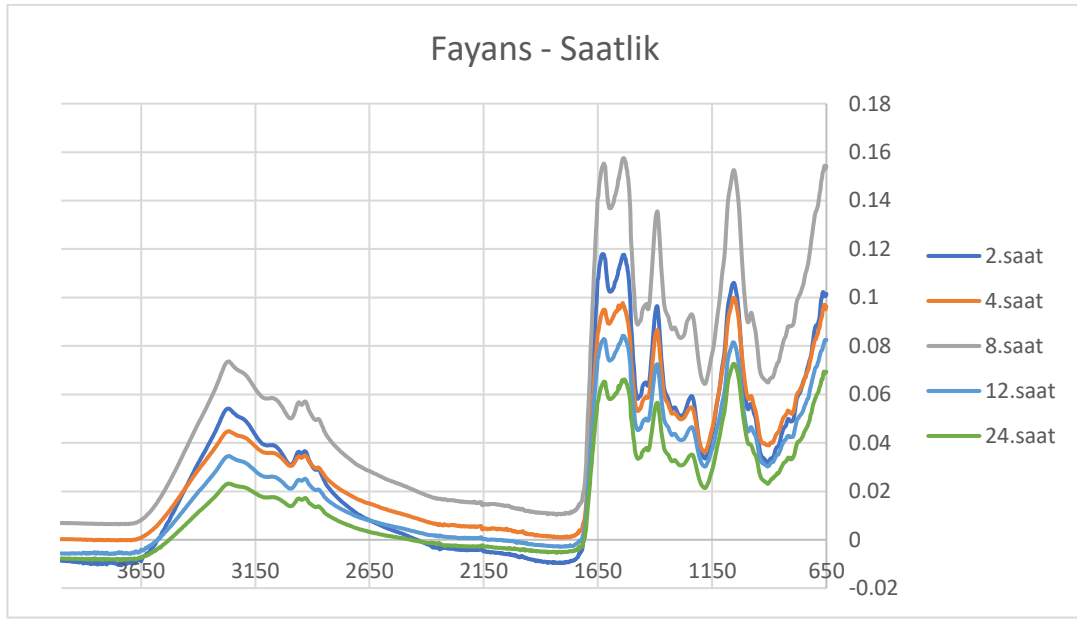
Hata Tablosu – Fayans			
	a	b	c
a olarak tahmin edilen	10	0	0
b olarak tahmin edilen	0	9	0
c olarak tahmin edilen	0	1	13

Tablo 4.9: Fayans yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata matrisi verileri

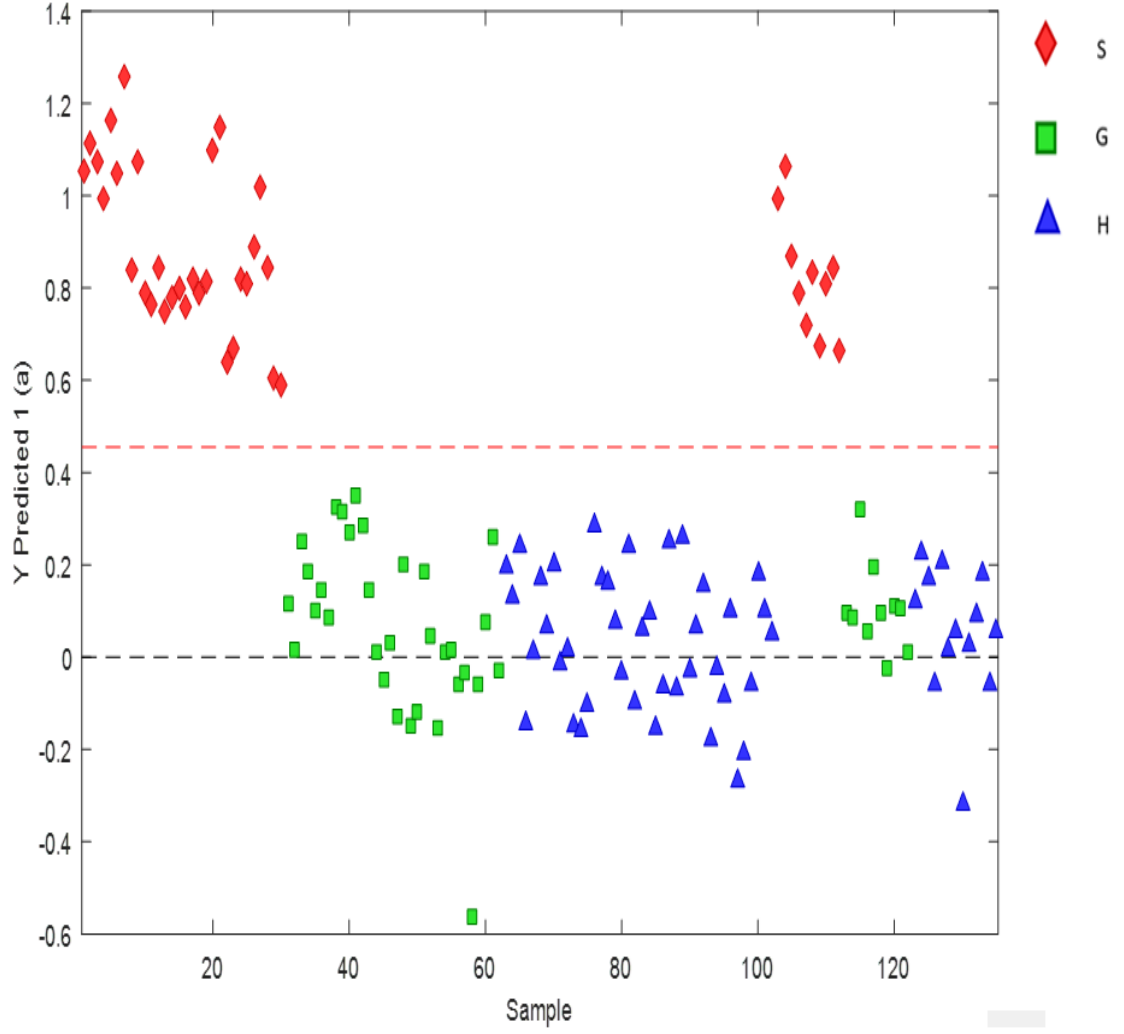
Hata Matrisi – Fayans									
Sınıf	TPR	FPR	TNR	FNR	N	Err	P	F1	EFR %
a	1.00000	0.00000	1.00000	0.00000	10	0.00000	1.00000	1.00000	100
b	0.90000	0.00000	1.00000	0.10000	10	0.03030	1.00000	0.94737	99.9
c	1.00000	0.05000	0.95000	0.00000	13	0.03030	0.92857	0.96296	99.95

4.4.1. Fayans Yüzey Saatlik Veriler

Fayans yüzeyde 0-24. saatler arasında belirlenen zaman dilimlerinde gerçekleştirilen ATR-FTIR ölçümlerine ait spektrum verisi şekil 4.20’de, gruplandırılan verilerden; saatlik verilerin diğer zaman dilimlerinden ayrımını gösteren PLS-DA grafiği de şekil 4.21’de sunulmuştur.



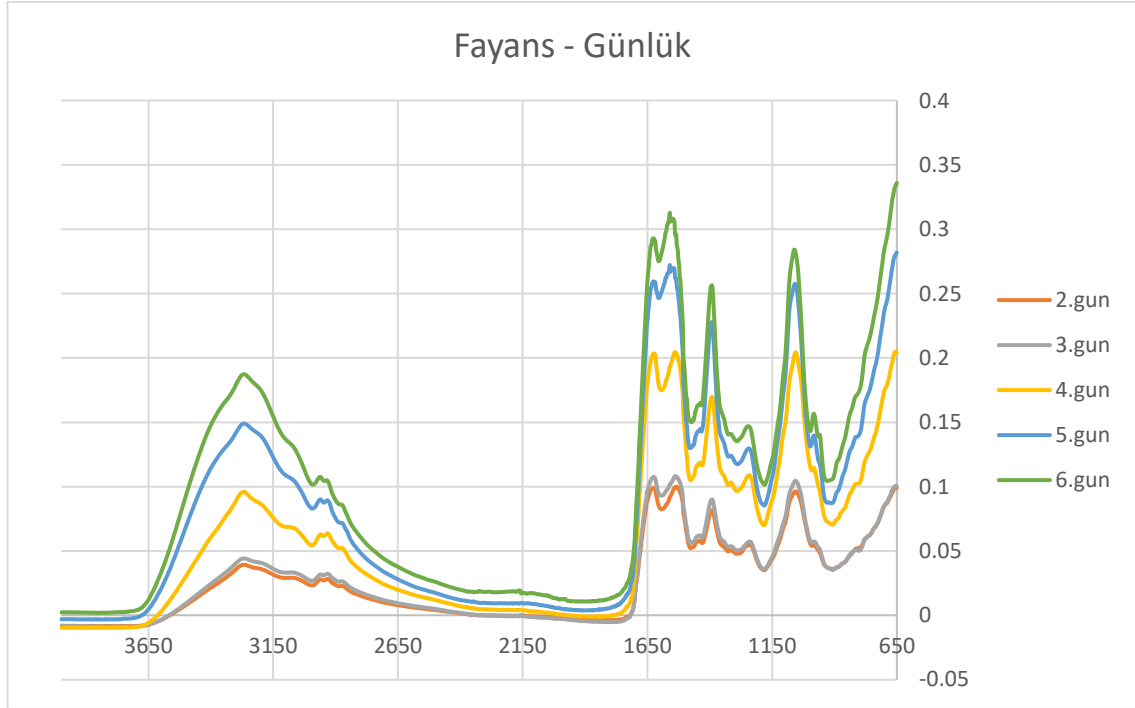
Şekil 4.20: Fayans yüzeye ait 0-24. saat ölçümleri absorbans-dalga boyu grafiği (yatay eksen dalga boyunu, dikey eksen absorbans değerini göstermektedir.)



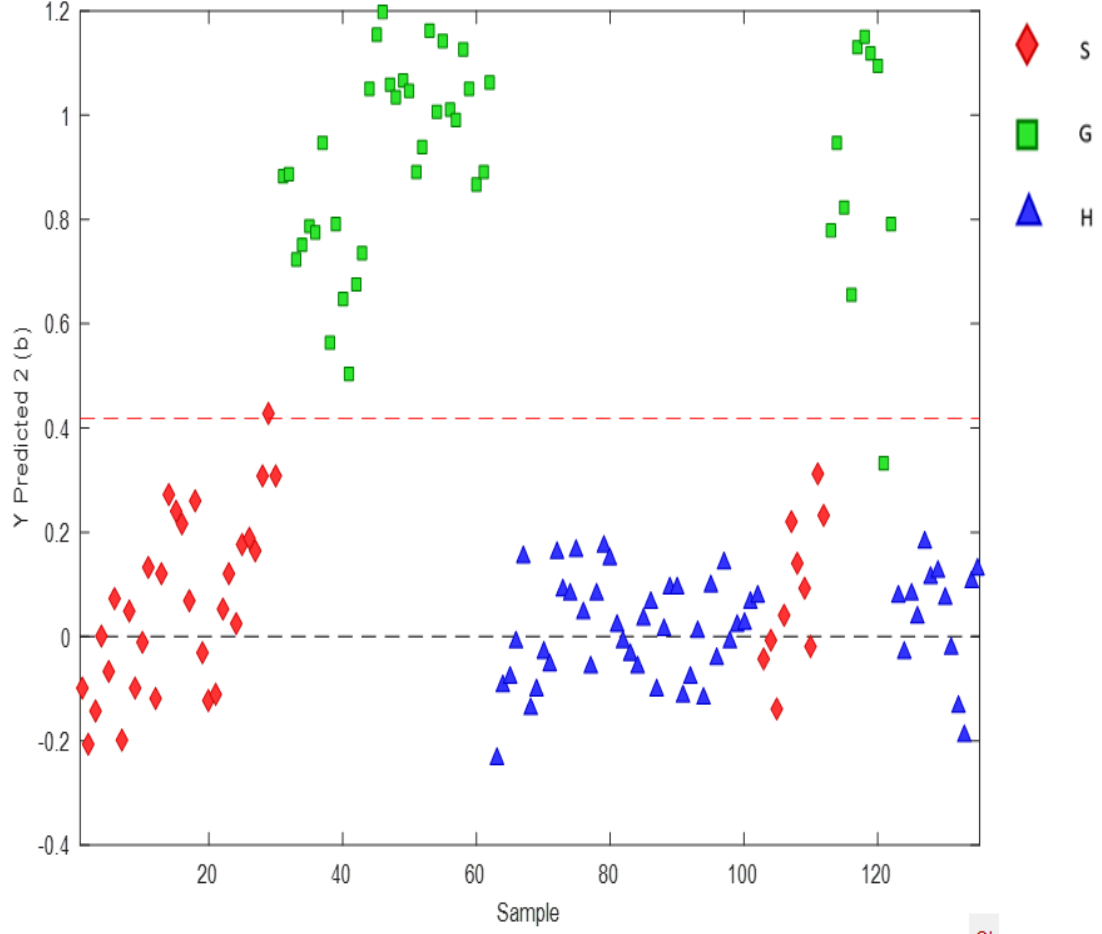
Şekil 4.21: Saatlik fayans yüzey ölçümlerinin diğer (günlük ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği (S: saatlik ölçümler, G: günlük ölçümler, H: haftalık ölçümler)

4.4.2. Fayans Yüzey Günlük Veriler

Fayans yüzeyde 2-6. günler arasında belirlenen zaman dilimlerinde gerçekleştirilen ATR-FTIR ölçümlerine ait spektrum verisi şekil 4.22’de, gruplandırılan verilerden; günlük verilerin diğer zaman dilimlerinden ayrımını gösteren PLS-DA grafiği de şekil 4.23’de sunulmuştur.



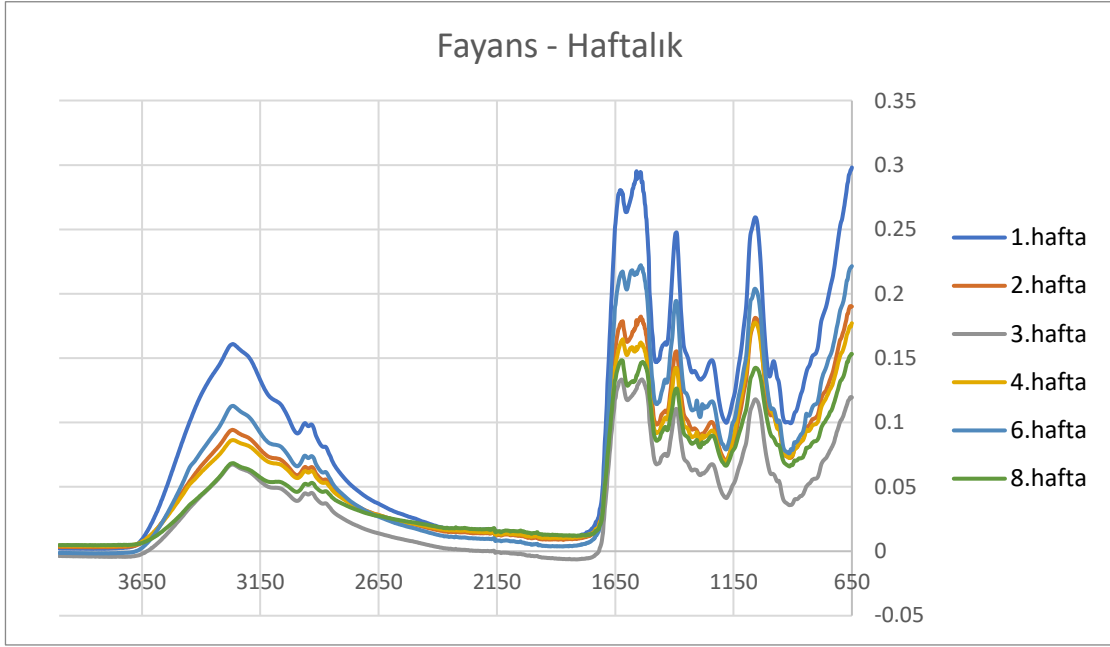
Şekil 4.22: Fayans yüzeye ait 2-6.gün ölçümleri absorban-dalga boyu grafiği (yatay eksen dalga boyunu, dikey eksen absorban değerini göstermektedir.)



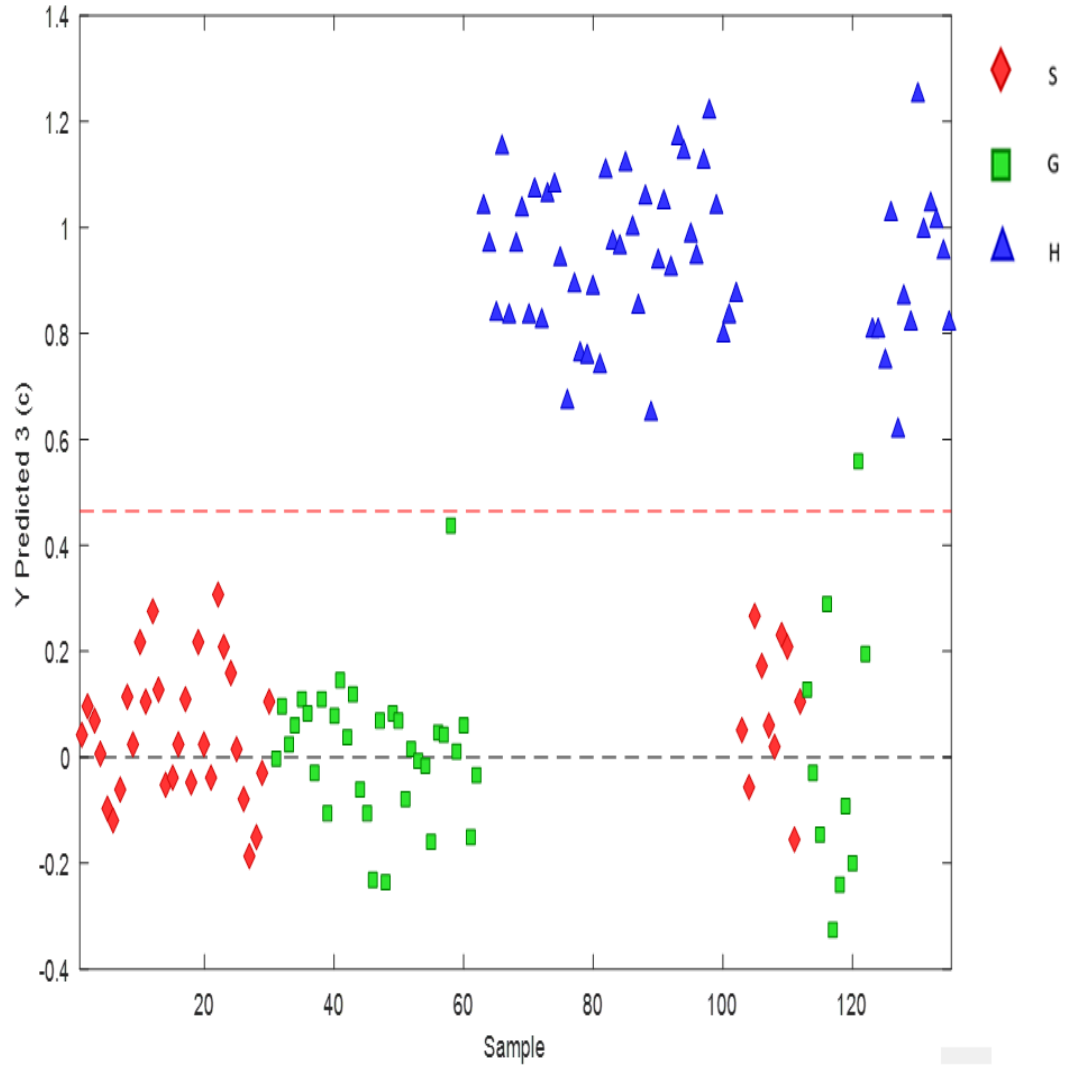
Şekil 4.23: Günlük fayans yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği (S: saatlik ölçümler, G: günlük ölçümler, H: haftalık ölçümler)

4.4.3. Fayans Yüzey Haftalık Veriler

Fayans yüzeyde 1-8. hafta arasında belirlenen zaman dilimlerinde gerçekleştirilen ATR-FTIR ölçümlerine ait spektrum verisi şekil 4.24'te, gruplandırılan verilerden; haftalık verilerin diğer zaman dilimlerinden ayrımını gösteren PLS-DA grafiği de şekil 4.25'te sunulmuştur.



Şekil 4.24: Fayans yüzeye ait 1-8.hafta ölçümleri absorban-dalga boyu grafiği (yatay eksen dalga boyunu, dikey eksen absorban değerini göstermektedir.)



Şekil 4.25: Haftalık fayans yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve günlük) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği (S: saatlik ölçümler, G: günlük ölçümler, H: haftalık ölçümler)

4.5. Karton Yüzey Verileri

Karton yüzeydeki lekelerin analizinde, geliştirilen metodu test etmek amacıyla sunulan veri sayısı ve yöntemin bunlardan kaçını doğru gruplandırabildiği, hata tablosu (Tablo 4.10) ve hata matrisinde (tablo 4.11) sunulmuştur.

Tablo 4.10: Karton yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata tablosu verileri.

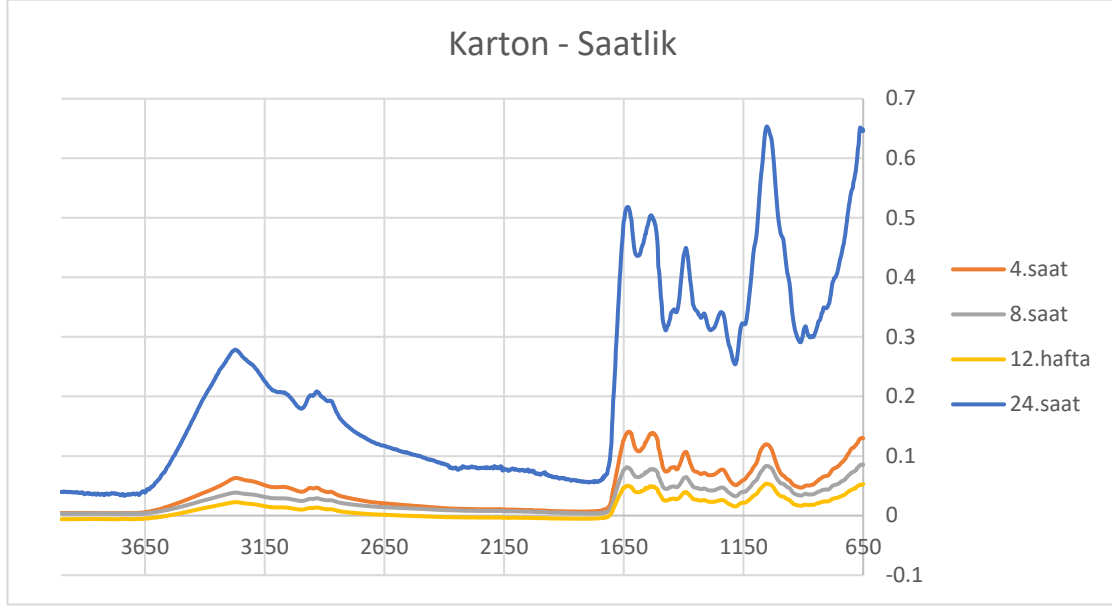
Hata Tablosu – Karton			
	a	b	c
a olarak tahmin edilen	9	0	0
b olarak tahmin edilen	0	12	0
c olarak tahmin edilen	0	0	16

Tablo 4.11: Karton yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata matrisi verileri

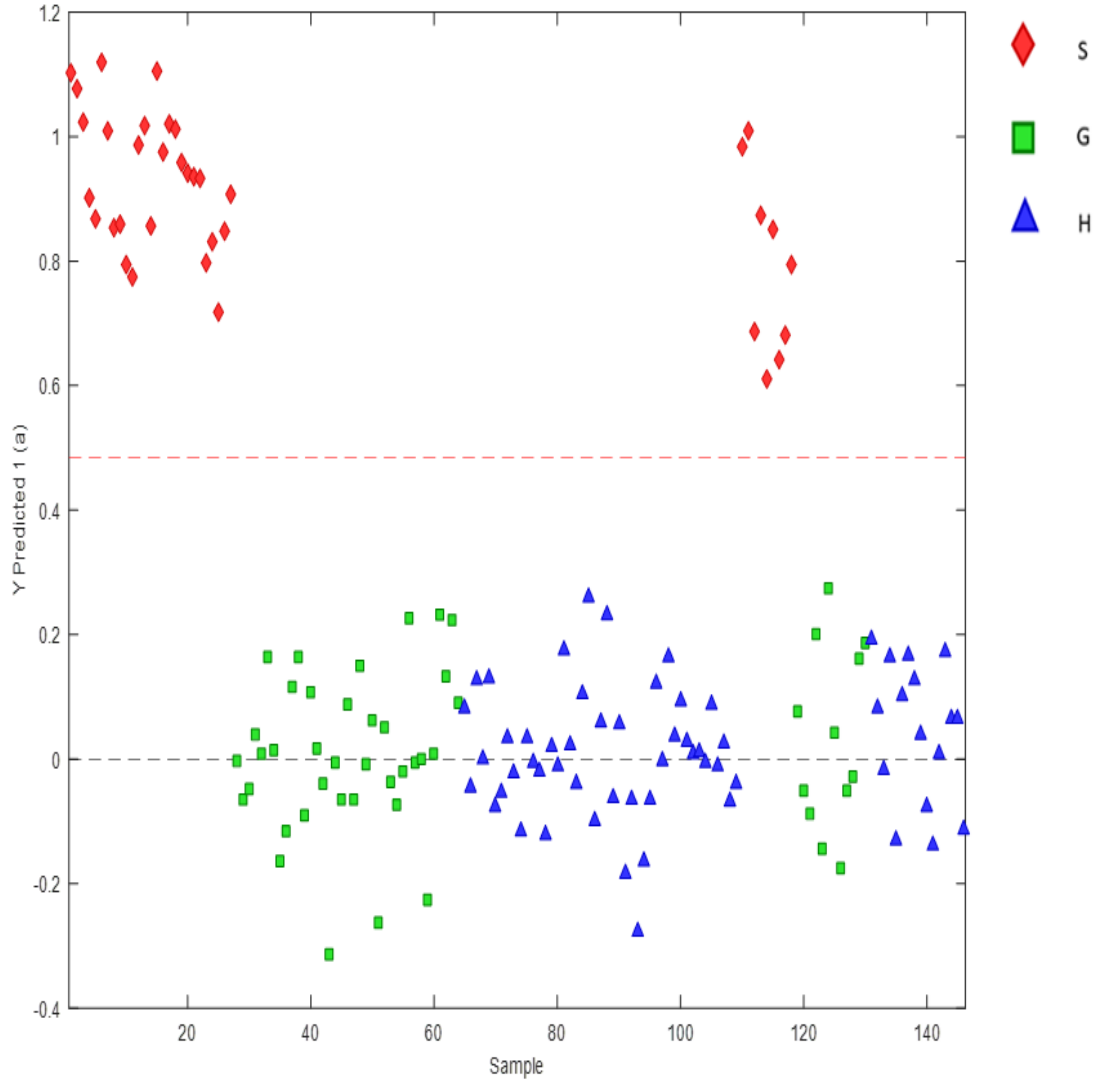
Hata Matrisi – Karton									
Sınıf	TPR	FPR	TNR	FNR	N	Err	P	F1	EFR %
a	1.00000	0.00000	1.00000	0.00000	9	0.00000	1.00000	1.00000	100
b	1.00000	0.00000	1.00000	0.00000	12	0.00000	1.00000	1.00000	100
c	1.00000	0.00000	1.00000	0.00000	16	0.00000	1.00000	1.00000	100

4.5.1. Karton Yüzey Saatlik Veriler

Karton yüzeyde 0-24. saatler arasında belirlenen zaman dilimlerinde gerçekleştirilen ATR-FTIR ölçümlerine ait spektrum verisi şekil 4.26'da, gruplandırılan verilerden; saatlik verilerin diğer zaman dilimlerinden ayrımını gösteren PLS-DA grafiği de şekil 4.27'de sunulmuştur.



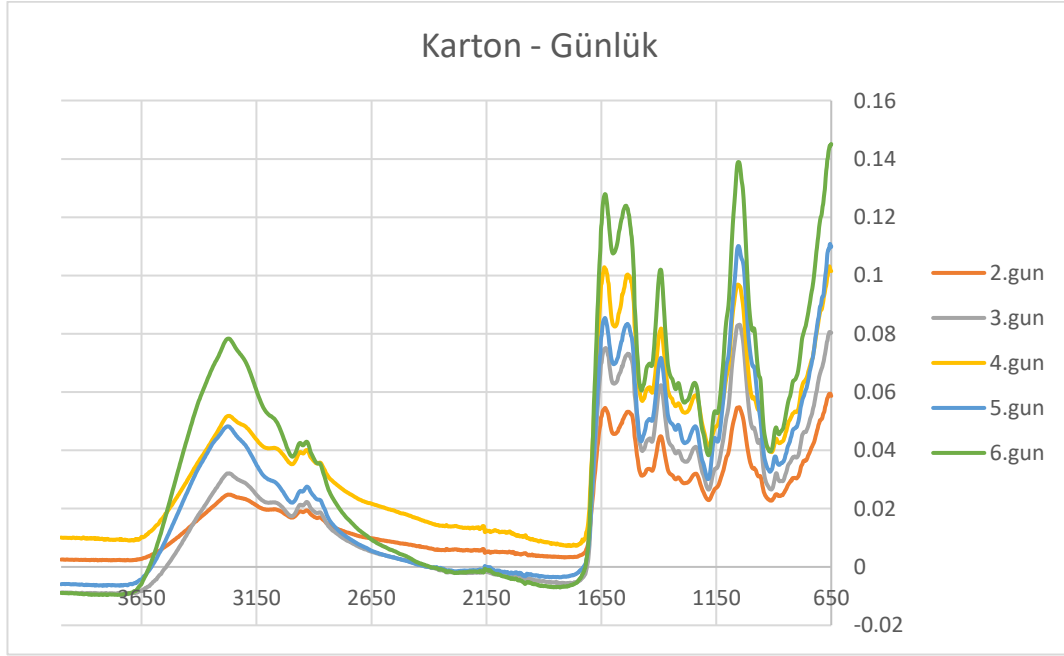
Şekil 4.26: Karton yüzeye ait 0-24. saat ölçümleri absorban-dalga boyu grafiği (yatay eksen dalga boyunu, dikey eksen absorban değerini göstermektedir.)



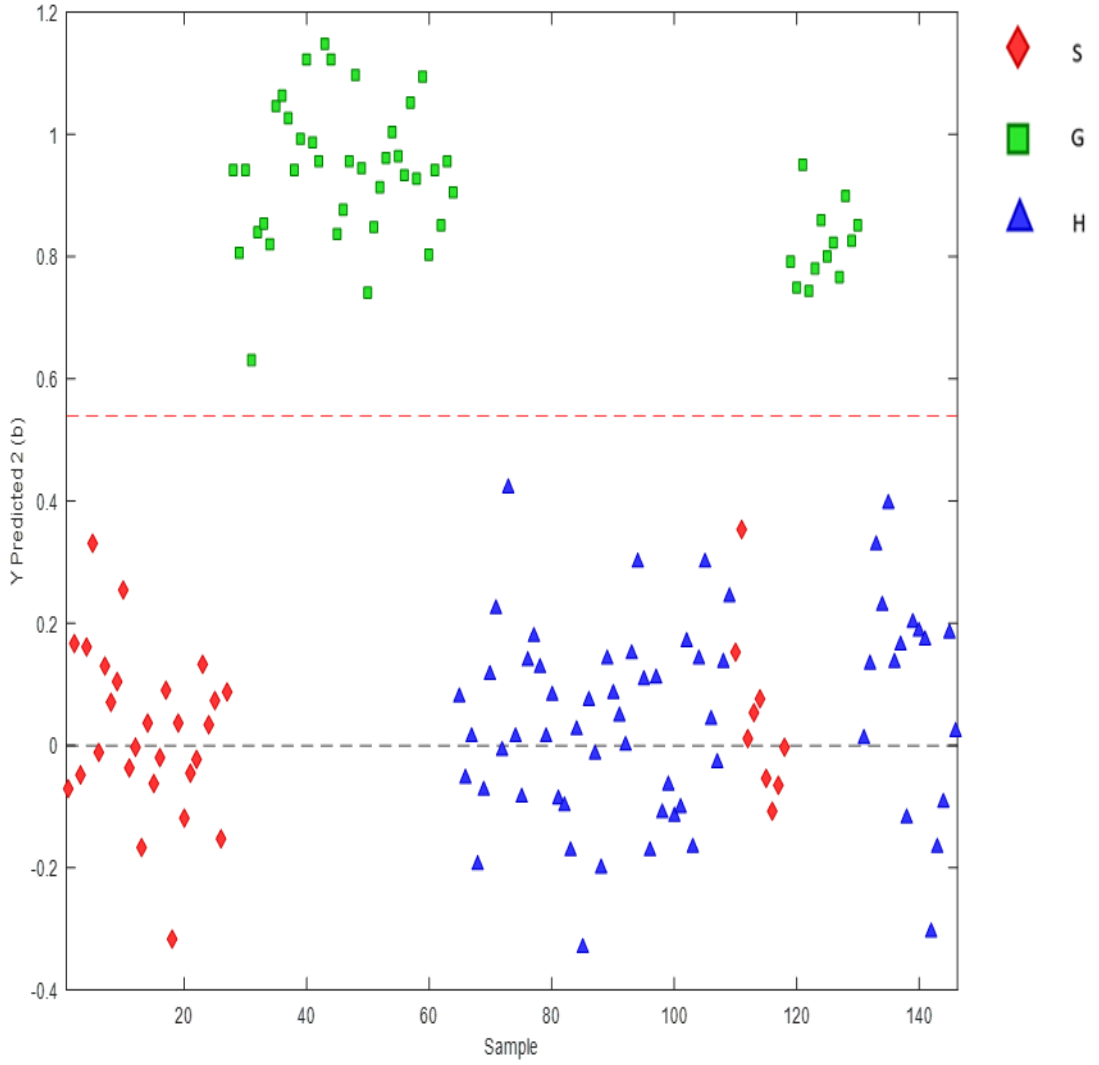
Şekil 4.27: Saatlik karton yüzey ölçümlerinin diğer (günlük ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği (S: saatlik ölçümler, G: günlük ölçümler, H: haftalık ölçümler)

4.5.2. Karton Yüzey Günlük Veriler

Karton yüzeyde 2-6. günler arasında belirlenen zaman dilimlerinde gerçekleştirilen ATR-FTIR ölçümlerine ait spektrum verisi şekil 4.28’de, gruplandırılan verilerden; günlük verilerin diğer zaman dilimlerinden ayrımını gösteren PLS-DA grafiği de şekil 4.29’da sunulmuştur.



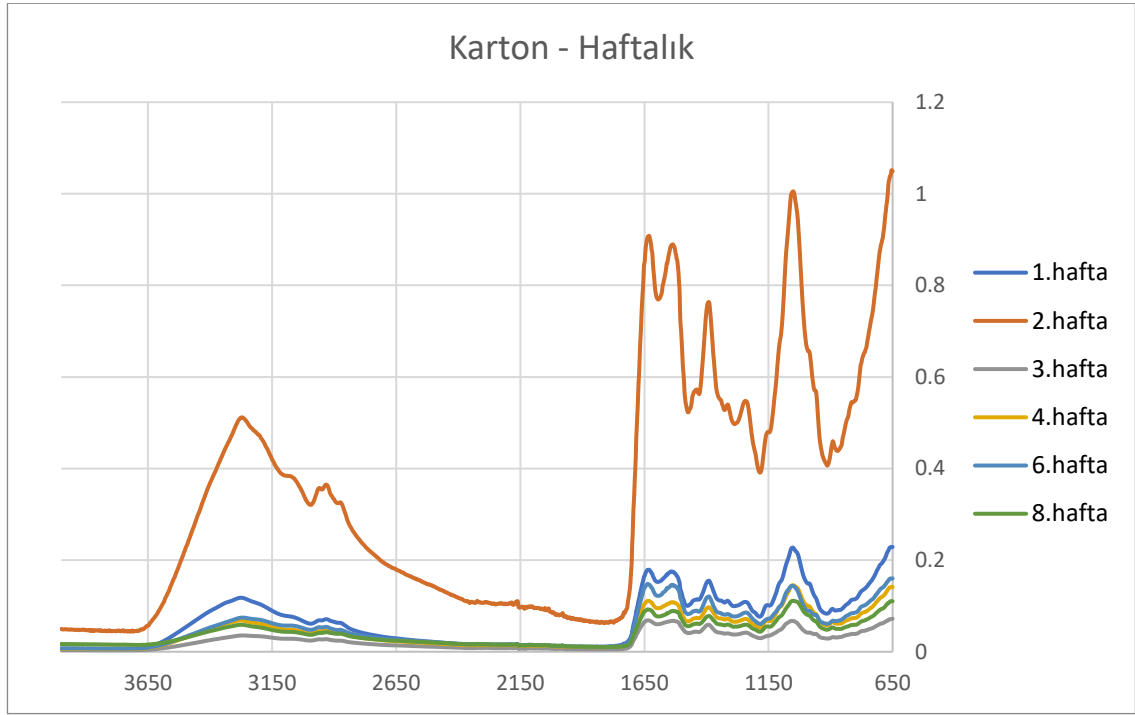
Şekil 4.28: Karton yüzeye ait 2-6.gün ölçümleri absorban-dalga boyu grafiği (yatay eksen dalga boyunu, dikey eksen absorban değerini göstermektedir.)



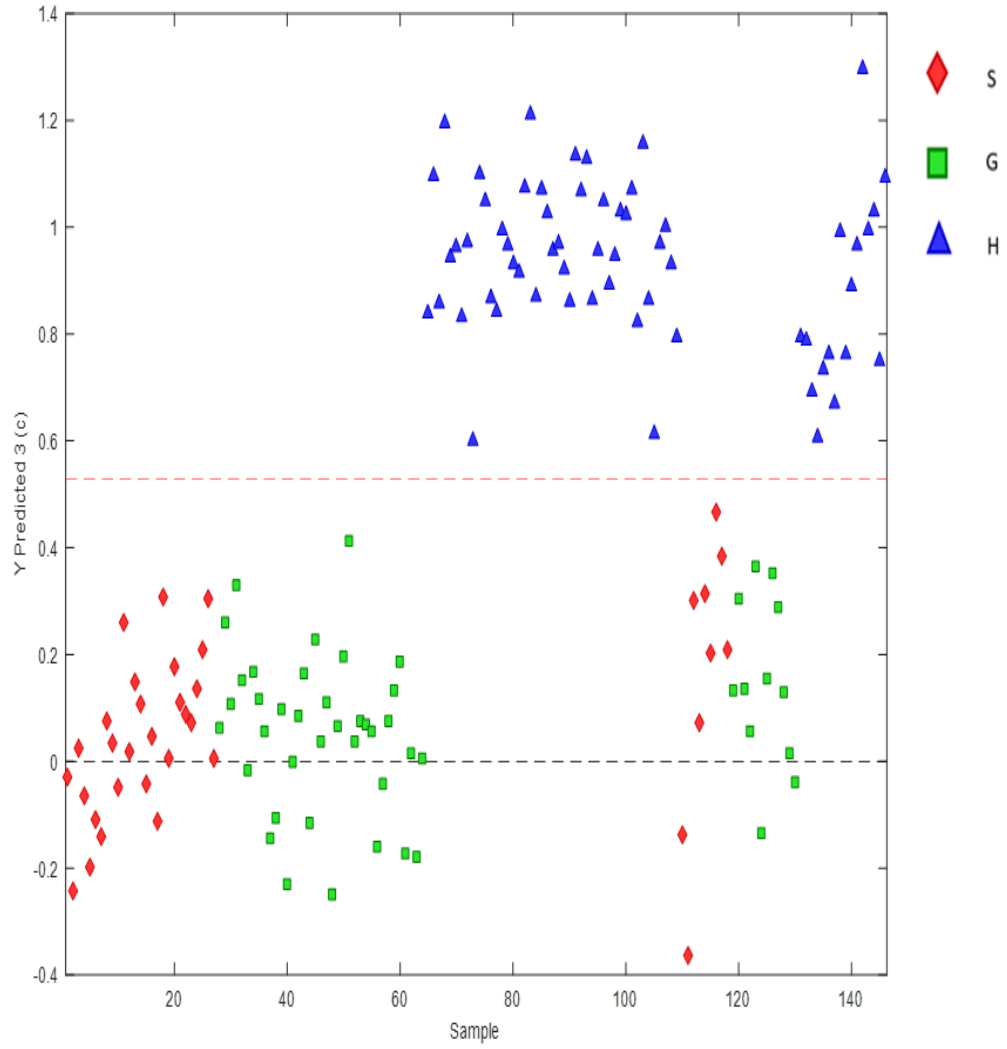
Şekil 4.29: Günlük karton yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği (S: saatlik ölçümler, G: günlük ölçümler, H: haftalık ölçümler)

4.5.3. Karton Yüzey Haftalık Veriler

Karton yüzeyde 1-8. haftalar arasında belirlenen zaman dilimlerinde gerçekleştirilen ATR-FTIR ölçümlerine ait spektrum verisi şekil 4.30'da, gruplandırılan verilerden; haftalık verilerin diğer zaman dilimlerinden ayrımını gösteren PLS-DA grafiği de şekil 4.31'de sunulmuştur.



Şekil 4.30: Karton yüzeye ait 1-8. hafta ölçümleri absorban-dalga boyu grafiği (yatay eksen dalga boyunu, dikey eksen absorban değerini göstermektedir.)



Şekil 4.31: Haftalık karton yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve günlük) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği (S: saatlik ölçümler, G: günlük ölçümler, H: haftalık ölçümler)

4.6. Metal Yüzey Verileri

Metal yüzeydeki lekelerin analizinde, geliştirilen metodu test etmek amacıyla sunulan veri sayısı ve yöntemin bunlardan kaçını doğru gruplandırabildiği, hata tablosu (Tablo 4.12) ve hata matrisinde (tablo 4.13) sunulmuştur.

Tablo 4.12: Metal yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata tablosu verileri

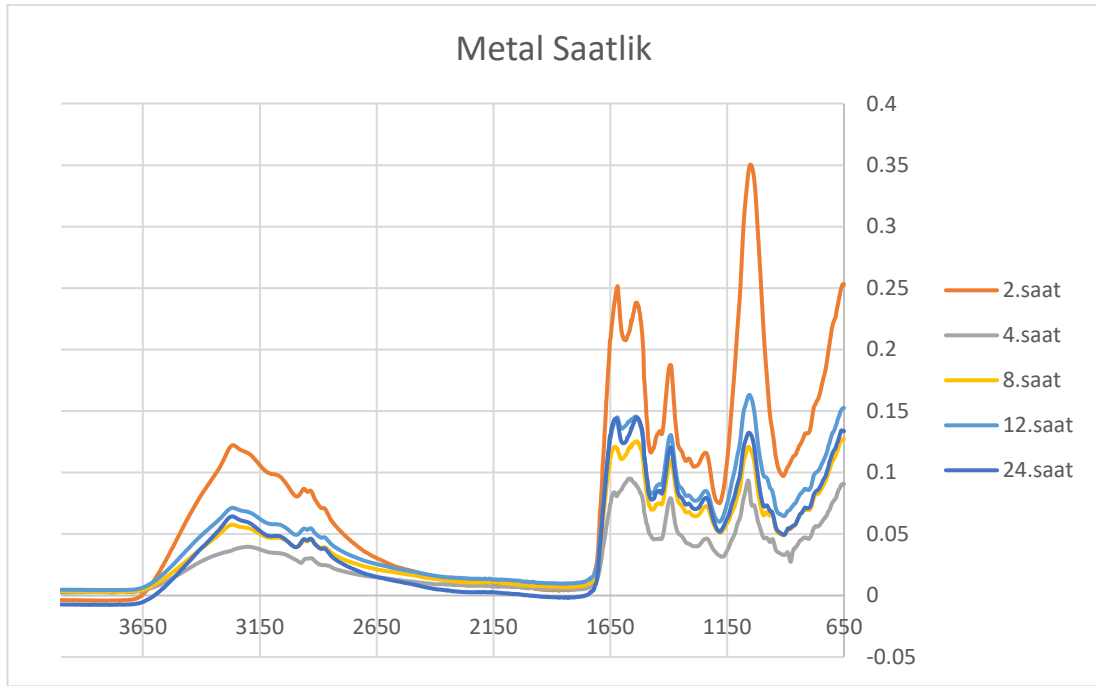
Hata Tablosu – Metal			
	a	b	c
a olarak tahmin edilen	11	0	0
b olarak tahmin edilen	0	11	0
c olarak tahmin edilen	0	0	16

Tablo 4.13: Metal yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata matrisi verileri.

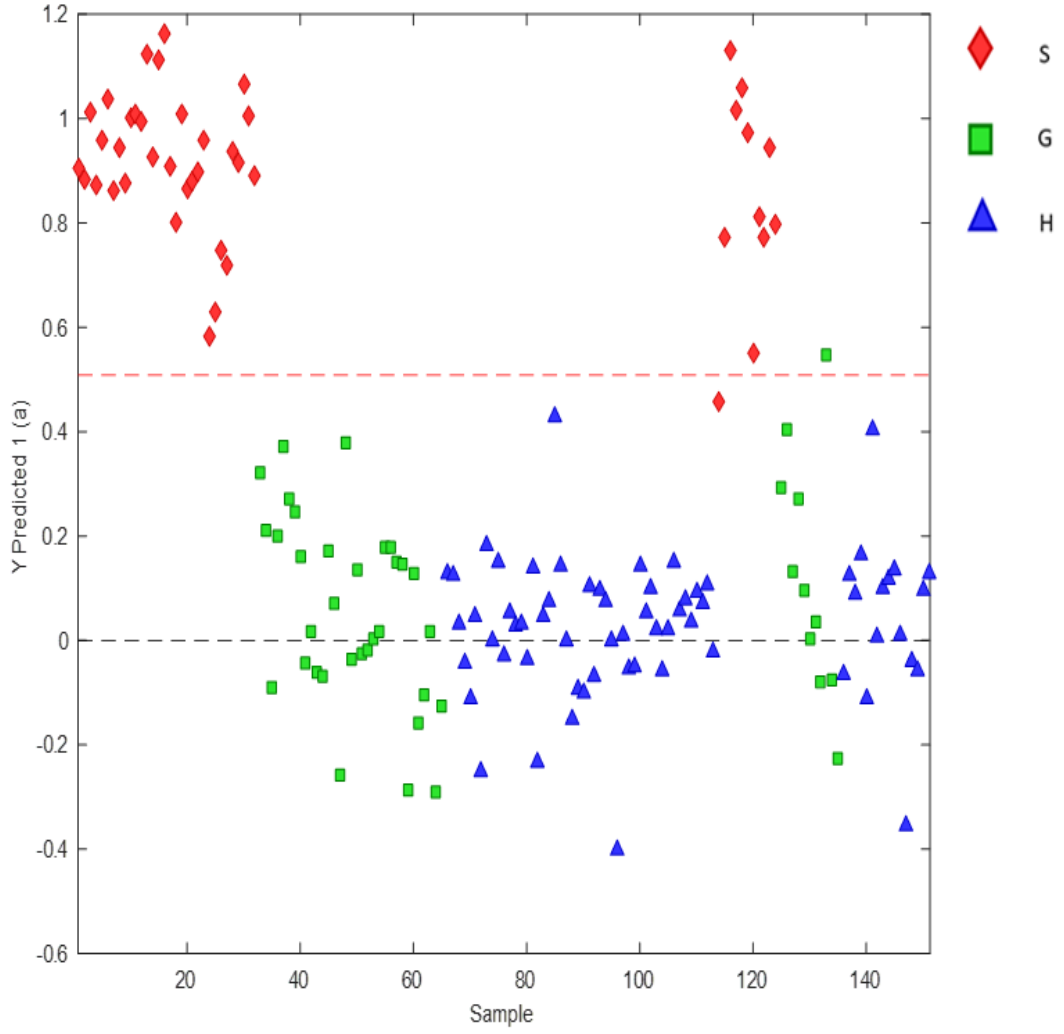
Hata Matrisi – Metal									
Sınıf	TPR	FPR	TNR	FNR	N	Err	P	F1	EFR %
a	1.00000	0.00000	1.00000	0.00000	11	0.00000	1.00000	1.00000	100
b	1.00000	0.00000	1.00000	0.00000	11	0.00000	1.00000	1.00000	100
c	1.00000	0.00000	1.00000	0.00000	16	0.00000	1.00000	1.00000	100

4.6.1. Metal Yüzey Saatlik Veriler

Metal yüzeyde 0-24. saatler arasında belirlenen zaman dilimlerinde gerçekleştirilen ATR-FTIR ölçümlerine ait spektrum verisi şekil 4.32’de, gruplandırılan verilerden; saatlik verilerin diğer zaman dilimlerinden ayrımını gösteren PLS-DA grafiği de şekil 4.33’te sunulmuştur.



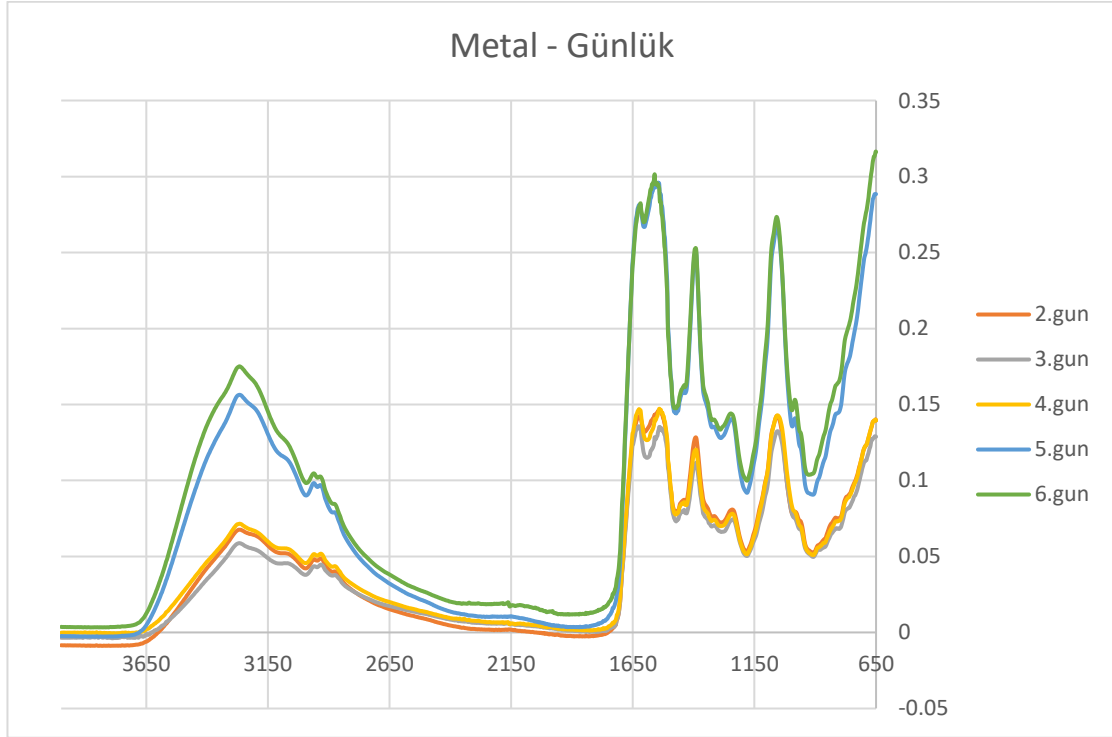
Şekil 4.32: Metal yüzeye ait 0-24. saat ölçümleri absorptans-dalga boyu grafiği (yatay eksen dalga boyunu, dikey eksen absorptans değerini göstermektedir.)



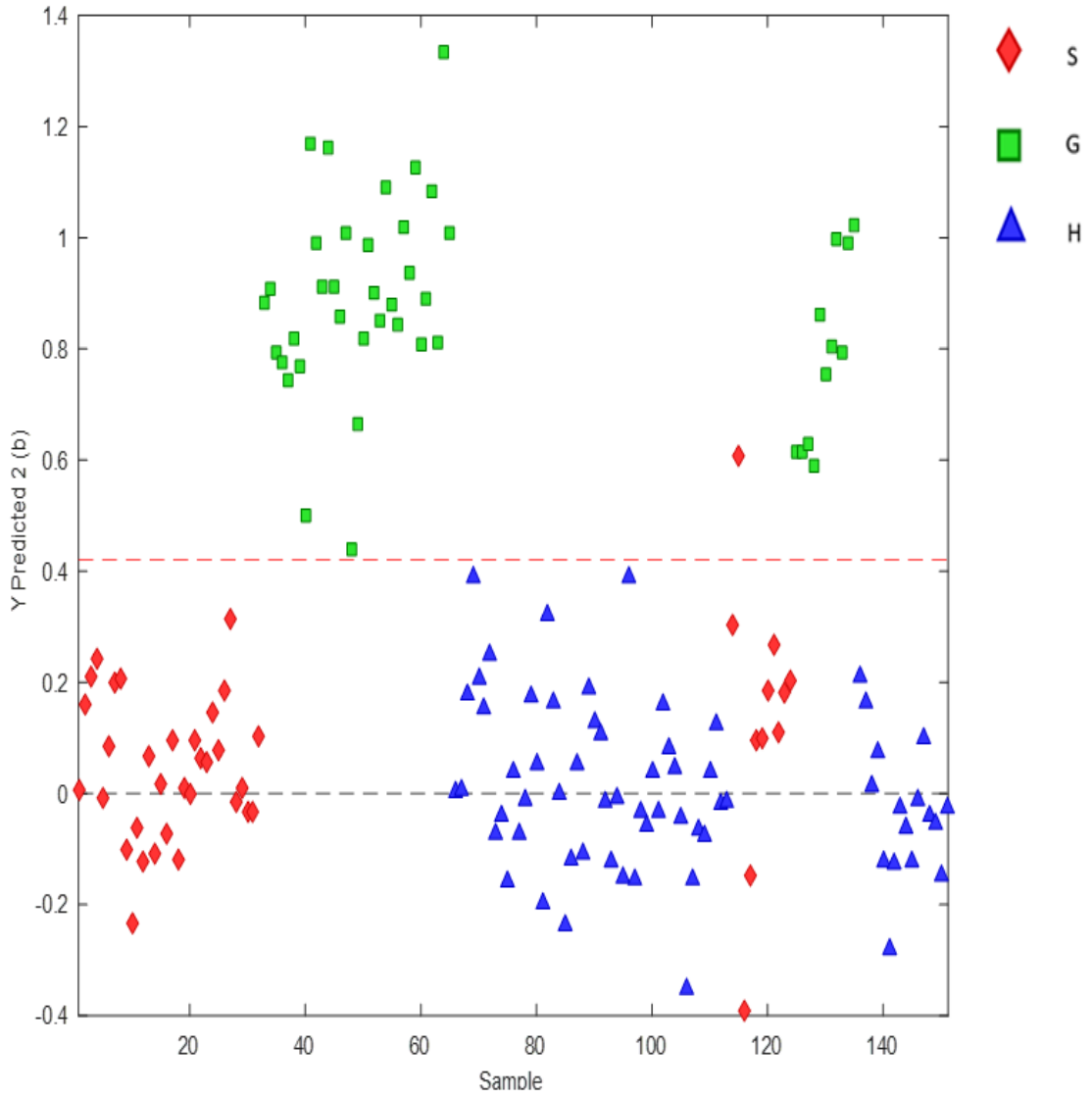
Şekil 4.33: Saatlik metal yüzey ölçümlerinin diğer (günlük ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği (S: saatlik ölçümler, G: günlük ölçümler, H: haftalık ölçümler)

4.6.2. Metal Yüzey Günlük Veriler

Metal yüzeyde 2-6. günler arasında belirlenen zaman dilimlerinde gerçekleştirilen ATR-FTIR ölçümlerine ait spektrum verisi şekil 4.34'te, gruplandırılan verilerden; günlük verilerin diğer zaman dilimlerinden ayrımını gösteren PLS-DA grafiği de şekil 4.35'te sunulmuştur.



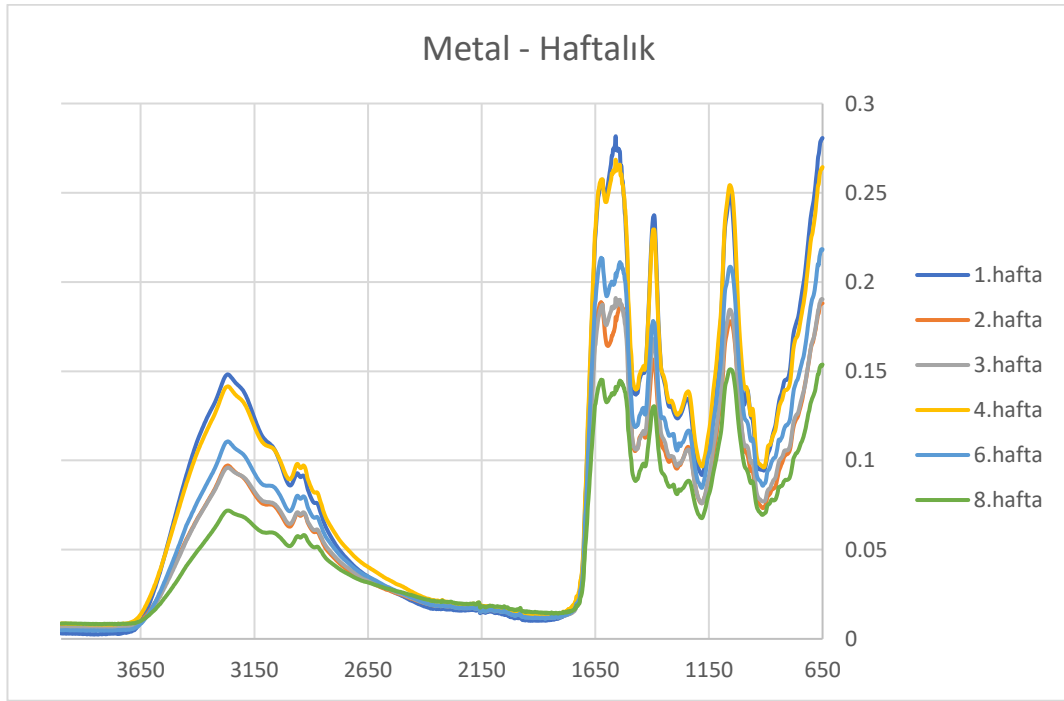
Şekil 4.34: Metal yüzeye ait 2-6.gün ölçümleri absorban-dalga boyu grafiği (yatay eksen dalga boyunu, dikey eksen absorban değerini göstermektedir.)



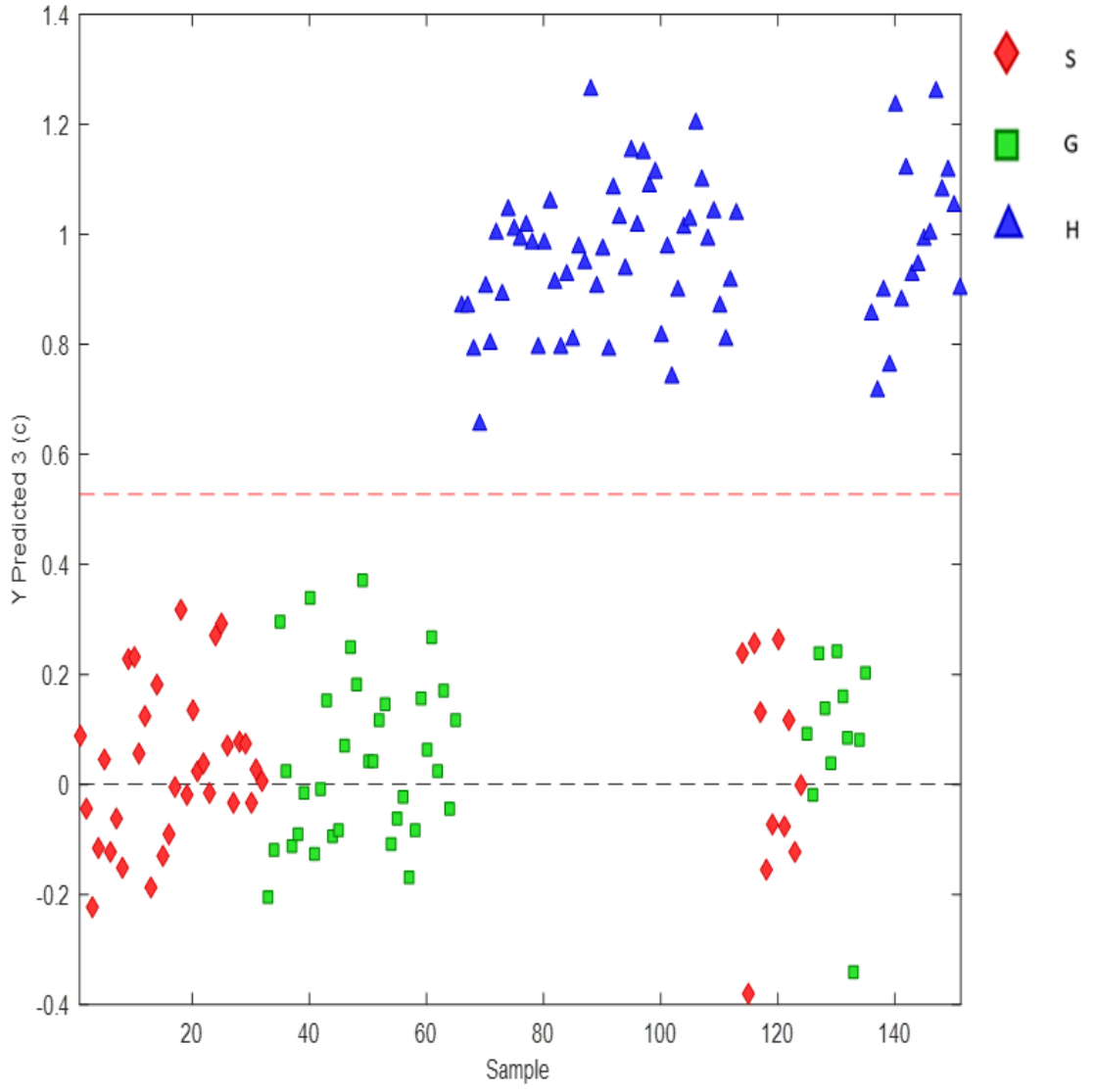
Şekil 4.35: Günlük metal yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği (S: saatlik ölçümler, G: günlük ölçümler, H: haftalık ölçümler)

4.6.3. Metal Yüzey Haftalık Veriler

Metal yüzeyde 1-8. haftalar arasında belirlenen zaman dilimlerinde gerçekleştirilen ATR-FTIR ölçümlerine ait spektrum verisi şekil 4.36'da, gruplandırılan verilerden; haftalık verilerin diğer zaman dilimlerinden ayrımını gösteren PLS-DA grafiği de şekil 4.37'de sunulmuştur.



Şekil 4.36: Metal yüzeye ait 1-8.hafta ölçümleri absorbans-dalga boyu grafiği (yatay eksen dalga boyunu, dikey eksen absorbans değerini göstermektedir.)



Şekil 4.37: Haftalık metal yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve günlük) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği (S: saatlik ölçümler, G: günlük ölçümler, H: haftalık ölçümler)

4.7. Plastik Yüzey Verileri

Plastik yüzeydeki lekelerin analizinde, geliştirilen metodu test etmek amacıyla sunulan veri sayısı ve yöntemin bunlardan kaçını doğru gruplandırabildiği, hata tablosu (Tablo 4.14) ve hata matrisinde (tablo 4.15) sunulmuştur.

Tablo 4.14: Plastik yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata tablosu verileri.

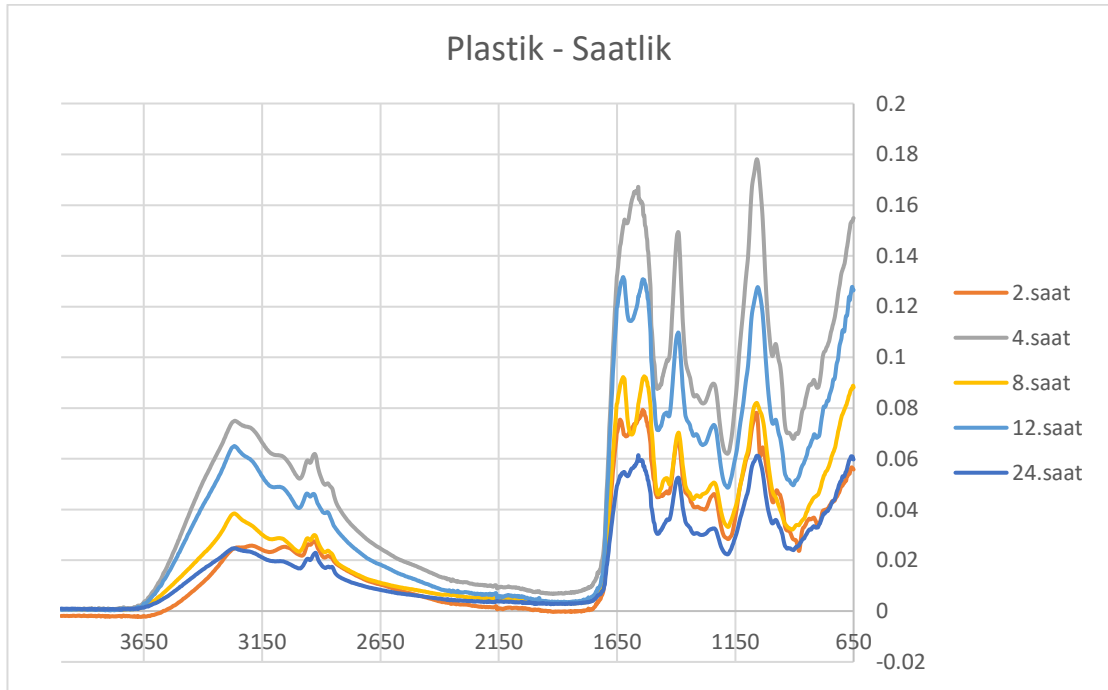
Hata Tablosu – Plastik			
	a	b	c
a olarak tahmin edilen	9	0	0
b olarak tahmin edilen	0	12	0
c olarak tahmin edilen	0	0	15

Tablo 4.15: Plastik yüzeye ait saatlik(a), günlük(b) ve haftalık(c) zaman aralıkları için hata matrisi verileri

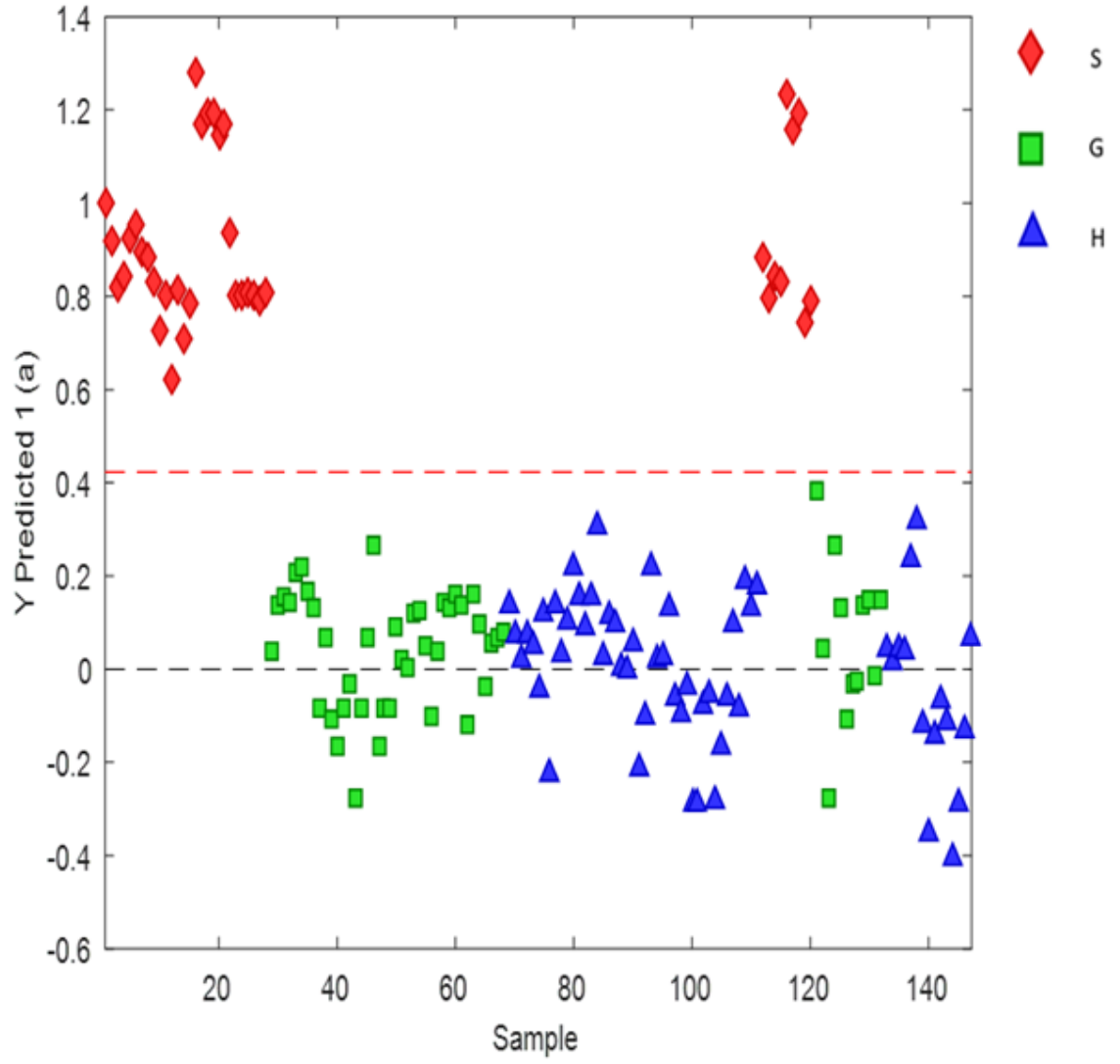
Hata Matrisi – Plastik									
Sımf	TPR	FPR	TNR	FNR	N	Err	P	F1	EFR %
a	1.00000	0.00000	1.00000	0.00000	9	0.00000	1.00000	1.00000	100
b	1.00000	0.00000	1.00000	0.00000	12	0.00000	1.00000	1.00000	100
c	1.00000	0.00000	1.00000	0.00000	15	0.00000	1.00000	1.00000	100

4.7.1. Plastik Yüzey Saatlik Veriler

Plastik yüzeyde 0-24. saatler arasında belirlenen zaman dilimlerinde gerçekleştirilen ATR-FTIR ölçümlerine ait spektrum verisi şekil 4.38’de, gruplandırılan verilerden; saatlik verilerin diğer zaman dilimlerinden ayrımını gösteren PLS-DA grafiği de şekil 4.39’da sunulmuştur.



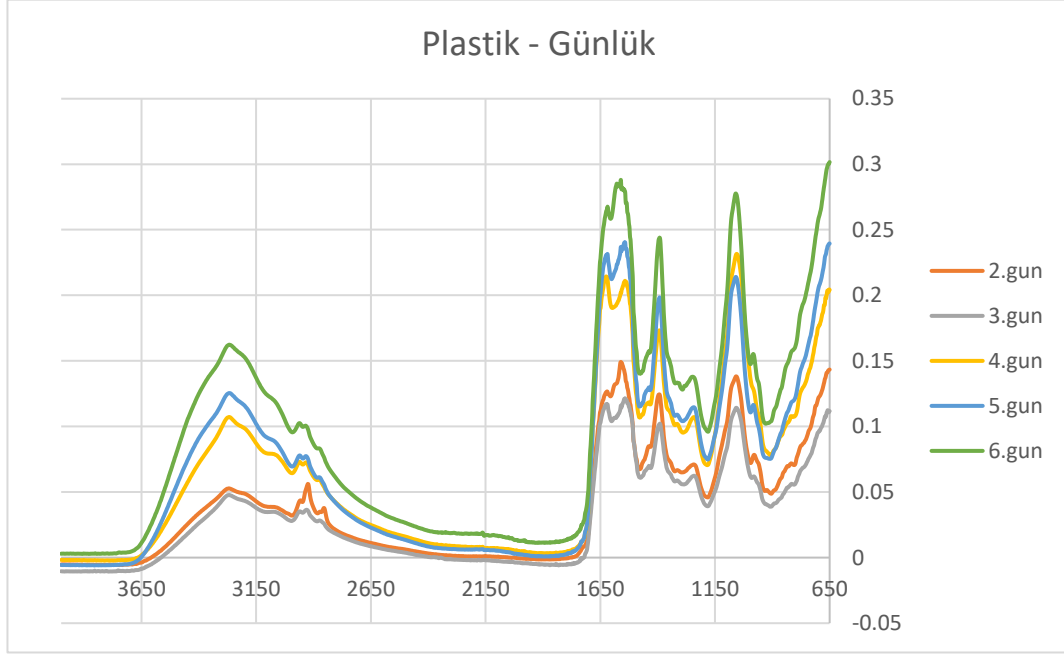
Şekil 4.38: Plastik yüzeye ait 0-24. saat ölçümleri absorbans-dalga boyu grafiği (yatay eksen dalga boyunu, dikey eksen absorbans değerini göstermektedir.)



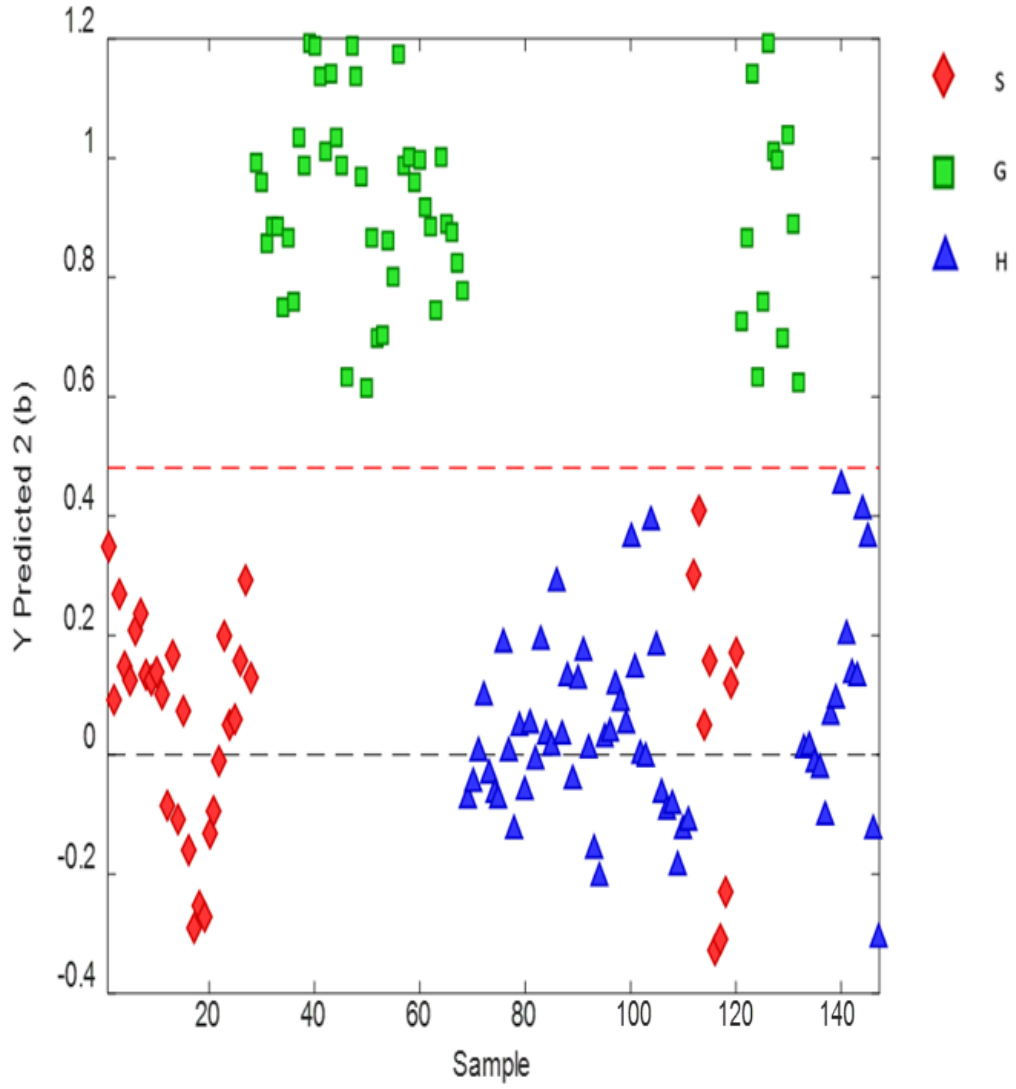
Şekil 4.39: Saatlik metal yüzey ölçümlerinin diğer (günlük ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği (S: saatlik ölçümler, G: günlük ölçümler, H: haftalık ölçümler)

4.7.2. Plastik Yüzey Günlük Veriler

Plastik yüzeyde 2-6. günler arasında belirlenen zaman dilimlerinde gerçekleştirilen ATR-FTIR ölçümlerine ait spektrum verisi şekil 4.40'ta, gruplandırılan verilerden; günlük verilerin diğer zaman dilimlerinden ayrımını gösteren PLS-DA grafiği de şekil 4.41'de sunulmuştur.



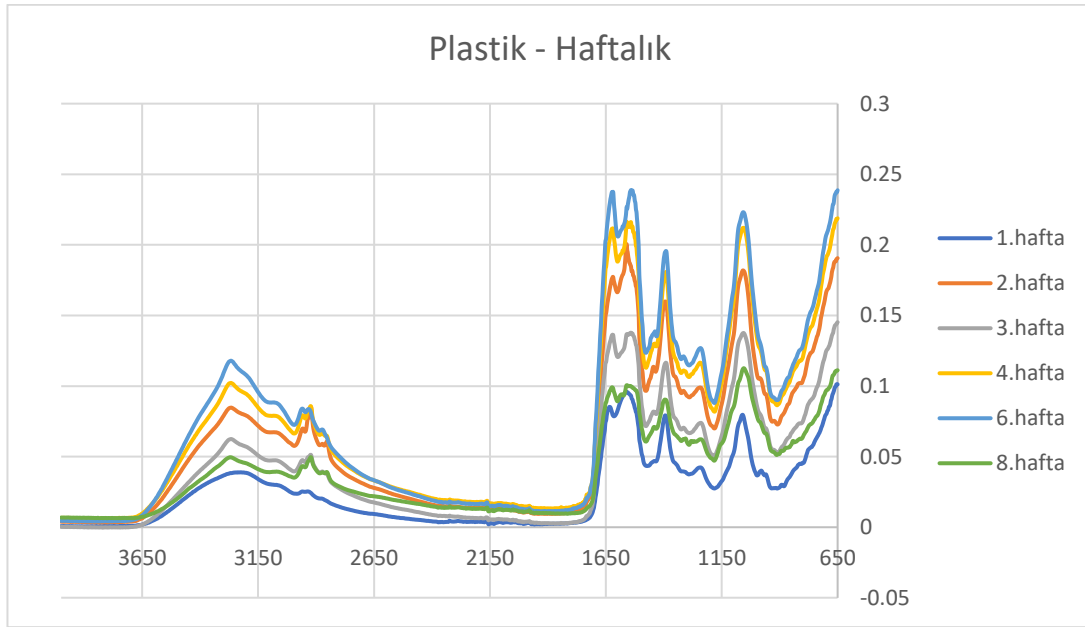
Şekil 4.40: Plastik yüzeye ait 2-6.gün ölçümleri absorban-dalga boyu grafiği (yatay eksen dalga boyunu, dikey eksen absorban değerini göstermektedir.)



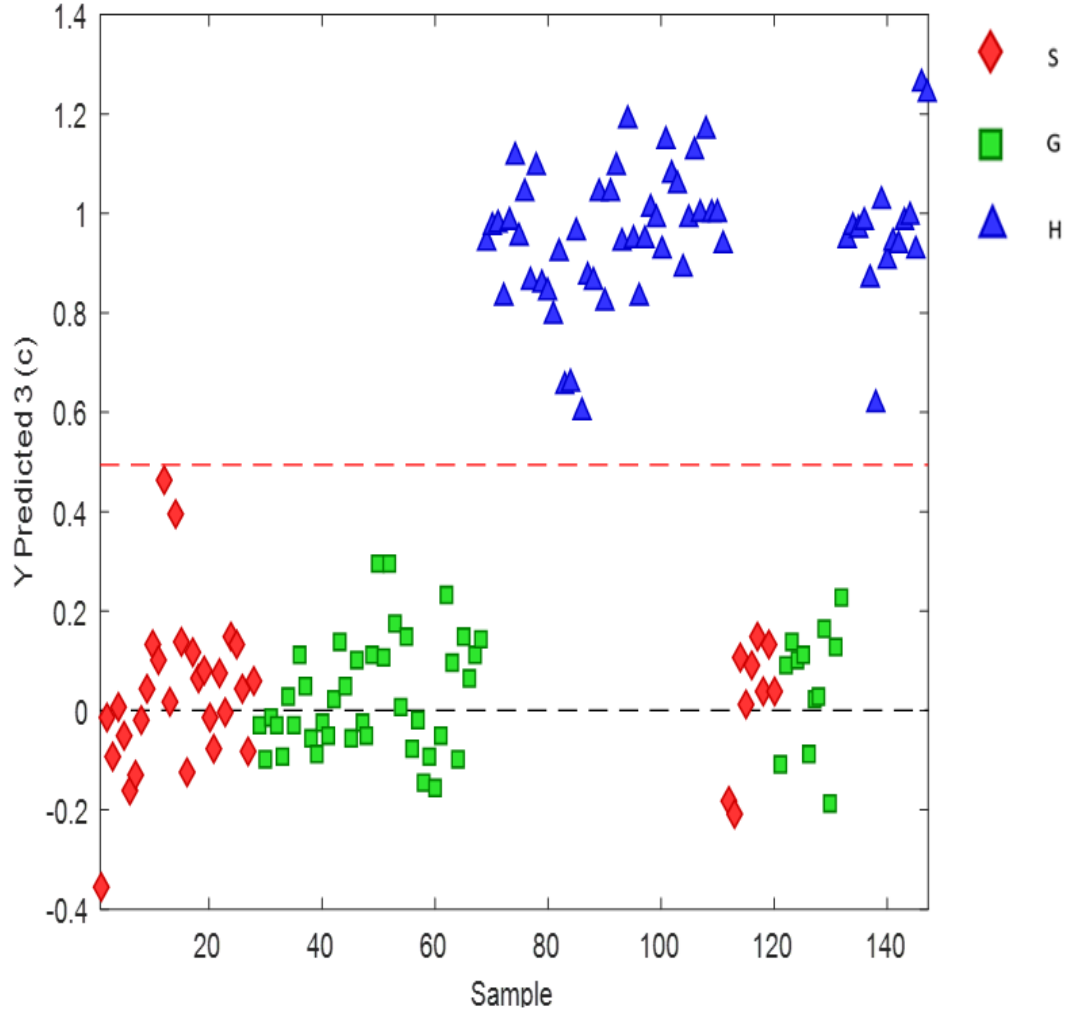
Şekil 4.41: Günlük plastik yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve haftalık) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği (S: saatlik ölçümler, G: günlük ölçümler, H: haftalık ölçümler)

4.7.3. Plastik Yüzey Haftalık Veriler

Plastik yüzeyde 1-8. haftalar arasında belirlenen zaman dilimlerinde gerçekleştirilen ATR-FTIR ölçümlerine ait spektrum verisi şekil 4.42’de, gruplandırılan verilerden; haftalık verilerin diğer zaman dilimlerinden ayrımını gösteren PLS-DA grafiği de şekil 4.43’te sunulmuştur.



Şekil 4.42: Plastik yüzeye ait 1-8.hafta ölçümleri absorbans-dalga boyu grafiği (yatay eksen dalga boyunu, dikey eksen absorbans değerini göstermektedir.)



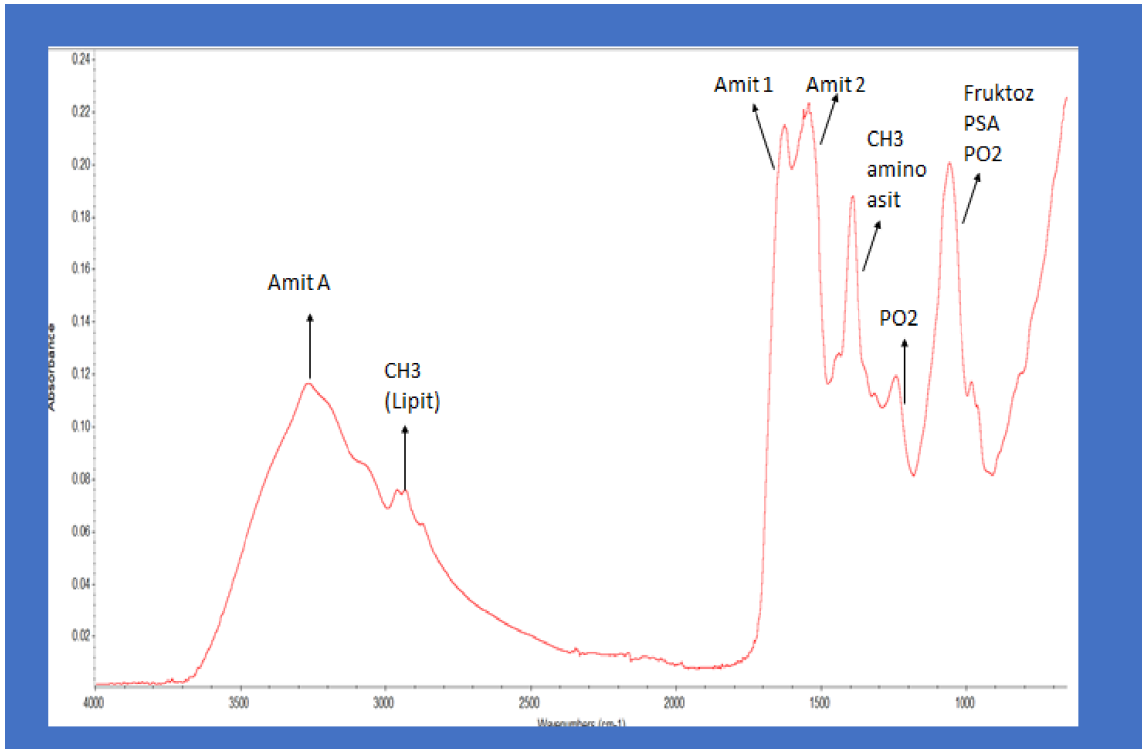
Şekil 4.43: Haftalık plastik yüzey ölçümlerinin diğer (saatlik ve günlük) ölçümlerden diskriminasyonunu gösteren PLS-DA grafiği (S: saatlik ölçümler, G: günlük ölçümler, H: haftalık ölçümler)

5- TARTIŞMA

Cinsel istismar ve saldırı olgularında mağdurun muayenesi, kıyafet veya olay yeri incelemesinde semen lekesinin tespiti ve bu lekenin analizi ile elde edilecek veriler olayın değerlendirilmesinde kilit öneme sahiptir. Bu biyolojik leke, tek başına olayın niteliği, failin kimliği, olayın oluş zamanı gibi çok önemli konularda bilgi sağlayabilmektedir. Literatürde semen lekesinin çeşitli niteliklerine yönelik farklı yöntemleri esas alan çalışmalar mevcuttur. Kimliklendirme amaçlı birçok yaklaşım ve farklı biyo-belirteçleri analiz eden çalışmalar bulunurken, semen lekesi yaşının tespitine yönelik çalışma sayısının ise oldukça az olduğu dikkati çekmektedir. Semen bileşimindeki asit fosfataz, PSA ve GGT benzeri yapıları hedefleyen enzimatik yaklaşımlar, intrinsik floresans aktiviteye dayalı çalışmalar, spektroskopik yaklaşımlar, RNA temelli yaklaşımlar semen lekesi yaşının tespitinde çalışılmış yöntemlere örnek olarak gösterilebilir. Ancak, bahsedilen tüm bu yöntemlerin hız, duyarlılık, özgüllük noktasında yetersiz oldukları bunun yanı sıra analiz edilen materyali destrükte ettiği veya çeşitli ön hazırlık aşamalarında kimyasal açıdan kontamine etmeleri nedeniyle ileri analiz olanağını ortadan kaldırmaları önemli teknik ve analitik sorunlar olarak karşımıza çıkmıştır. Bunlara ek olarak mevcut yöntemlerin güvenilirliği düşük kolorimetrik kitler dışında tam donanımlı laboratuvar ekipmanı ve eğitilmiş tekniker gerektirmesi de fiyat-fayda dengesi açısından uygun olmamaktadır. Bu nedenlerle son yıllarda, yukarıda bahsedilen özellikleri bir arada sunma potansiyeli olan spektroskopik yöntemler adli tıp ve adli bilimlere ait çalışmalarda kendine sıkça yer bulmaktadır [2], [15].

Kızılötesi spektroskopi moleküllerin sahip oldukları bağlar ve fonksiyonel gruplar sayesinde, aktarılan enerji sonrası titreşimlerinin ölçülmesi temeline dayanmakta olup, ATR-FTIR spektroskopisi, hızlı, duyarlı, etkili, uygulaması görece kolay ve non-destrüktif bir yöntem olması bağlamında en çok kullanılan spektroskopik yöntemlerin başında gelmektedir. Enerji gönderilen numunenin yapısındaki bağlar ve fonksiyonel gruplar nedeniyle titreşimi sonucu bilgisayar ortamında bu veriler spektral grafiklere dönüştürülmektedir. Elde edilen bu verilerle numunenin fiziko-kimyasal yapısı ve dolayısıyla numunenin kaynağı ve ne olduğu ile ilgili çıkarım yapmaya imkan

sağlanmaktadır [38], [39].Bu bilgiler ışığında bu tez çalışmasında potansiyel cinsel istismar-saldırı olay yerlerinde semen bulaşması ve dolayısıyla inceleme esnasında leke olarak tespit edilmesi muhtemel 7 farklı solid yüzeye semen damlatılarak oluşturulan simüle semen lekelerinde 2 aylık süreç boyunca farklı zaman aralıklarıyla ATR-FTIR spektroskopik analizler gerçekleştirmek suretiyle bu lekelerin yaşının tespitine yönelik yöntem geliştirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmamızda yapılan tanımlayıcı ölçümler sonucunda semenin FTIR spektrumunda 3267cm^{-1} , 2961cm^{-1} , 1630cm^{-1} , 1542cm^{-1} , 1392cm^{-1} , 1240cm^{-1} , 1058cm^{-1} ve 981cm^{-1} dalga boylarında major piklerin olduğu (şekil 5.1) saptanmış olup literatürde daha önce yapılan çalışmalarla [3], [59] uyumlu olduğu anlaşılmıştır.



Şekil 5.1: Çalışmamızda spektrum ölçümlerinde saptadığımız majör pikler

Yaptığımız ölçümler sonucunda tespit edilen piklerin kaynaklandığı biyolojik moleküler yapılar aşağıda listelenmiş olup bu verilerin literatürdeki diğer çalışmalarda bulunan formları Tablo 5.1’de paylaşılmıştır.

Tablo 5.1: Semen lekesinde çalışmamızda saptadığımız ve literatürde bahsedilen belirgin pikler ve temel kaynakları.

Dalga boyu (cm^{-1}) Çalışmamız	Dalga boyu (cm^{-1}) Literatür	Etkin kuvvet	Ana yapı	Referans
3267	3268	Simetrik N-H gerilimi	Amit A	[44]
2961	2950	CH ₃ gerilimi	Lipitlerdeki metil grupları	[3]
1630	1625	C=O gerilimi	Amit I : β -yaprakları	[3]
1542	1540	N-H bükülmesi ve C-N gerilimi	Amit II: β -yaprakları	[59]
1392	1393	CH ₃ simetrik ve antisimetrik bükülmeleri	Aminoasit yan zincirlerindeki metil grupları	[31], [59]
1240	1240	Asimetrik PO ₂ - gerilimi	Nükleik asitlere ait fosfat grubu Amit III	[59]
1058/980	1059 / 980	CH ₂ OH gruplarında simetrik C-O gerilimi ve COH gruplarının bükülmesi, glikozilasyonlu proteinlere ait simetrik PO ₂ - gerilimi	PSA / fruktoz	[3], [59]

Çalışmada saptadığımız major pikler sırasıyla şu şekildedir;

- 3267 cm^{-1} dalga boyundaki major pikin Amit A bandına ait olduğu,
- 2961 cm^{-1} dalga boyundaki pikin ise lipitlerdeki metil gruplarından kaynaklandığı,
- 1630 cm^{-1} bandındaki pikin Amit I B yaprakları nedeniyle oluştuğu,
- 1542 cm^{-1} pikinin Amit II bandındaki B yapraklara ait olduğu,
- 1392 cm^{-1} dalga boyunda gözlenen pikin aminoasitlere ait yan zincirlerdeki metil gruplarından köken aldığı,
- 1240 cm^{-1} pikinin nükleik asitlerde bulunan fosfat grubu nedeniyle oluştuğu,
- 1058 cm^{-1} ve 980 cm^{-1} dalga boylarındaki piklerin ise semenin yapısındaki PSA ve fruktoza bağlı olarak oluştuğu düşünülmüştür.

Literatürde moleküler titreşimler ve kaynağı üzerine farklı çalışmalar mevcuttur. Çalışmamızda elde edilen verilerle uyumlu olarak Takamura ve arkadaşlarının 2018 yılında yayınlamış olduğu çalışmada [44] semenin yapısında yoğun olarak bulunan albümin ve asit fosfataz gibi proteinlerin 3268 cm^{-1} (Amit A), 1622 (Amit I), 1547 (Amit II) piklerine büyük ölçüde katkı sağladığını, 1393 cm^{-1} de gözlenen pikin protein ve lipitlerdeki metil gruplarından köken aldığını, 1056 cm^{-1} dalga boyunda saptanan belirgin pikin ise PSA molekülünün karbonhidrat içeren bölgeleri ve fruktoz nedeniyle oluştuğunu belirtmişlerdir. Orphanau'nun 2015 yılında yaptığı çalışmada [3] ise 1625 cm^{-1} pikinin Amit I yapısını, 1540 cm^{-1} pikinin ise Amit II bölgesini, 3273 cm^{-1} bölgesinin Amit A bölgesinin gösterdiğini, 1059 cm^{-1} bölgesinin glukoz, fruktoz gibi şekerlerin yanı sıra, DNA ve RNA moleküllerindeki glikoproteinlerin de etkisiyle meydana gelebileceğini öne sürmüştür. Bu bilgiler değerlendirildiğinde farklı çalışmalarda semen numunesine ait spektrumlarda belirli biyomoleküllerden kaynaklanan elde edilen pik noktaları minimal farklılık gösterse de bunların aynı biyomolekülden kaynaklanan aynı bant aralığında olduğu anlaşılmıştır. Mevcut çalışmamızda da bu bilgi ile uyumlu veriler elde edilmiştir.

Amit A bandı 3400 cm^{-1} de yer alırken, Amit B 3090cm^{-1} dalga boyunda yer almaktadır. Amit I ve II ise kızılötesi protein spektrumundaki major bantlardır. Amit I bandı amit grubundaki C=O geriliminden kaynaklanmaktadır ve $1600\text{-}1700\text{cm}^{-1}$ dalga boylarında yer almaktadır. Amit II bandı da C-N geriliminden ve N-H bükülmesinden dolayı oluşmaktadır ve $1480\text{-}1575\text{ cm}^{-1}$ bandında yer almaktadır [43], [60]. Amit A, Amit I ve Amit II bantları biyolojik sıvıların spektrumunda en sık görülen bantlar olup ve boyutları örnekten örneğe değişiklik gösterebilmektedir [61]. Çalışmamızda elde edilen pik ve bantlar ile literatürdeki bazı çalışmalara ait pikler ve bantlar arasında gözlenen minimal farklılıkların, semen donörleri, çevresel koşullar ve deney şartları gibi faktörlerden kaynaklanabileceği ancak, bu farklılıkların analitik sonuçları ve incelenen materyale dair yorumları etkileyebilecek nitelik ve düzeyde olmadığı bilinmektedir.

Zha ve arkadaşları semen lekesi yaş tayini amacıyla yapmış olduğu çalışmada [6] leke uygulama yüzeyi olarak cam, doku ve selüloz fiber kumaşları tercih etmişlerdir. Veri analizi için kemometrik yöntemlerden PCA ve PLSR tercih edilmiş olup yapılan analizler sonucunda yaklaşık 1 gün hata payı ile tahmin yapılabildiğini belirtmişlerdir. Çalışmamızdan farklı olarak Zha ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ölçümler sadece 6 güne kadar yapılmıştır. Bizim çalışmamızda bu süre 8 haftaya çıkarılmış olup ayrımlar 3 farklı zaman dilimine göre yapılmıştır. Diğer yandan çalışmamızda da PCA analizi denenmiş olup bu yöntemin veri analizi açısından yetersiz kaldığı anlaşılmış ve analitik model olarak PLS-DA tercih edilmiştir. Buna ek olarak çalışmamızda görece daha fazla ve nitelikleri değişken solid yüzeylerde saatlik, günlük ve haftalık lekelerin birbirinden net şekilde ayırt edilebildiği, bu noktada saatlik lekenin günlük lekeden ayırt edilmesi yeni elde edilen bir üstünlük olarak değerlendirilmiştir.

Orphanou'nun 2015 yılında yaptığı çalışmasında [3] semeni de içeren farklı vücut sıvılarını 6-18 aylık zaman sürecinde analiz etmiş ancak yaş tayini amacıyla sadece kanda uygun olduğunu öne sürmüştür. Bizim çalışmamızda ise farklı yüzeyler üzerinde oluşturulan semen lekeleri ATR-FTIR ile analizin, semen lekesi yaşı tayininde kullanılabileceği, elde edilen verilerin kemometrik analizle değerlendirilmesi neticesinde farklı yaşlarda lekelerin ayrıştırılabildiği anlaşılmıştır.

Achetib ve arkadaşlarının çalışmasında [5] semen lekesinin floresan aktivite potansiyelinden faydalanarak floresan spektroskopi yöntemini kullanmak suretiyle yaş tayini yapmaya çalışmışlardır. Bu çalışmalarında semen içeriğindeki protein ve lipidlerin zamanla serbest radikallerle birleşimiyle oluşan ve “LipOx” diye adlandırdıkları yapıların intrinsik floresan aktivite gösterdiği anlaşılacak siyah plastik, mavi plastik, doku ve fayans yüzeylerdeki semen lekesi yaşının 16 güne kadar 1,7 gün sapmayla tespit edilebildiğini belirtmişlerdir. Dolayısıyla bu yöntemin kullanılabilirliği floresan aktivite yapan basit veya kompleks makromoleküllerin yarılanma ömrü ile kısıtlanmaktadır. Floresan spektroskopi yönteminden farklı olarak, mevcut çalışmamızda kullanılan ATR-FTIR yönteminde moleküler yapı tamamen ortadan kalkmadığı sürece numunenin analiz edilebileceği, bu nedenle değerlendirme süresinin birçok yöntemle göre çok daha uzun olabileceği değerlendirilmiştir.

Alshehhi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada [23] ise semen lekeleri oda sıcaklığında ve ışık almayan ortamda 360 gün boyunca bekletilip analiz edilmiştir. Rutin protein ekstraksiyon yöntemleri ile kalitatif olarak çalışılan birçok biyo-belirteçten sadece PRM1’in leke yaşını 90 güne kadar tespit edilebildiğini ön sürmüşlerdir. Kalitatif yöntemlerin görece çok fazla interferan tarafından etkilenebileceği, yöntemlerin sensitivite ve spesivitesinin düşük olduğu, yapılan analizin sonradan konfirme edilme ihtiyacı olduğu dikkate alındığında, hassasiyeti çok yüksek ve ek konfirmasyon gerektirmeyen ATR-FTIR yönteminin daha üstün olduğu değerlendirilmiştir.

RNA stabilitesini değerlendiren bir diğer çalışmada [24] Simard ve arkadaşları semenin de dahil olduğu çeşitli vücut sıvılarını 6 ay süre boyunca farklı sıcaklıklarda ve farklı zaman aralıklarıyla incelemişlerdir. 18s rRNA, ACTB, GAPDH, PPIA biyo-belirteçleri incelenmiş ve 56 günlük semen lekesini yeni oluşmuş bir lekeden ayırt edebilmişlerdir. Yeni leke ile 56 günlük lekenin ayrımını sağlama şeklindeki kaba ayrımın fiyat-etkinlik açısından uygun olmadığı anlaşılmaktadır. Mevcut çalışmamızda ise saatlik, günlük ve haftalık lekelerin yüksek bir hassasiyet oranı ile ayırt edilebilmesi çok önemlidir.

Literatüre bakıldığı zaman RNA analizi ile yaş tayini yapan çalışmalarının yıllar içinde arttığı artış gösterdiği görülse de bu yöntemlerin de dezavantajları bulunmaktadır. Bu yöntemlerde yaş tayini açısından verilen zaman tahmin aralıklarının daha geniş olduğu, ayrıca RNA ekstraksiyon işlemlerinin zahmetli, ileri derecede deneyimli ve eğitilmiş personel gerektiren, çevre koşulları tarafından kolayca etkilenebilen yöntemler olduğu bilinmektedir. RNA üzerinden yaş tahminine bağlı metotların en önemli dezavantajı da numune açısından destrüktif yöntemler olduğu için, incelenen numune miktarı kısıtlı olduğunda ihtiyaç halinde numunenin ileri analizine veya kimliklendirme gibi başka amaçlarla kullanılmasına imkân vermemesidir. Bizim çalışmamızda ise spektroskopik bir yöntem olan ATR-FTIR kullanılmış olup, çevre koşullarından etkilenme riski, genetik materyal izolasyonu ve kimyasal ekstraksiyon içermemesi nedeniyle oldukça düşüktür. Uygulama hızı, kolaylığı ve pratikliği de diğer yöntemlere üstünlük sağladığı bir diğer yönü olarak ortaya çıkmaktadır. Alınan numunelerin boyutunun sadece ATR kristalini örtecek büyüklükte olmasının analiz için yeterli olması da olay yerlerinde bulunan kısıtlı materyalin daha verimli kullanılması adına ATR-FTIR spektroskopisinin bir diğer avantajı olarak öne çıkmaktadır. Buna ek olarak ATR kristali üzerinde analizi gerçekleştirilen numunede analize bağlı bozunma oluşmadığı ve biyokimyasal formunu kaybetmediği için mükerreren analiz edilebilme noktasında yöntemin tekrarlanabilirliğini kolaylaştırmaktadır. Tüm bu bilgiler ışığında semen lekeleri niteliklerinin tanımlanmasında ve semen lekelerinden yaş tayininde ATR-FTIR spektroskopisi ve kemometrik yöntemlerin anlamlı, güvenilir bir yöntem olarak kullanılabilmesi görülmektedir. Çalışmamıza dair kısıtlılıkların da ayrıca değerlendirilmesi önem arz etmektedir. Mevcut çalışmada iç ortam koşullarında olay yerlerinin simulasyonu baz alınmış, potansiyel olay yerlerinde bulunması muhtemel yedi farklı tip solid yüzey üzerine aktarılan semen lekeleri standartizasyon için herhangi bir fiziko-kimyasal ön işlemle geçirilmeden normal oda koşullarında kurumaya bırakılmak suretiyle semen lekeleri oluşturulmuştur. Bu durumda, ortam sıcaklığı, nem ve farklı düzeyde ışığa maruziyetin leke yaşına etkisinin değerlendirilmemiş olması bir kısıtlılık olarak kabul edilmiştir.

Özellikle dış ortam koşullarında gece gündüz arası sıcaklık ve ışık farkı, nem, hava akımı gibi faktörler numunenin fiziksel ve kimyasal yapısı üzerinde değişiklik yapabileceği ve zamanla lekedeki moleküler deformasyona neden olabileceği için standart olmayan koşulların leke yaşı analizlerini etkileyebileceği anlaşılmakla dış ortam grubu olarak ayrı bir analiz yapılmamış olması da bir diğer kısıtlılıktır. Ancak bunun yapılmamış olmasının temel amacı yöntemin ilk defa geliştirilecek olması noktasında koşulların standart olmasına gösterilen özendir.

Yukarıdaki kısıtlılıklara ek olarak, çalışmada kullanılan yüzeyler tek tip olup, farklı renk, yüzey pürüzlülüğü, kullanılan materyalin alt tipleri gibi faktörler de çalışma dışında tutulmuştur. Standartizasyon sağlanması amacıyla çalışmamızda kullanılan her yüzey işlem öncesi etanolla temizlenmiş olup, potansiyel olay yerlerindeki kirli, temizlenmemiş yüzeyler çalışmada kullanılmamıştır. Bu noktada kirleticilerin veya karışım lekelerin leke yaşına etkisi ortaya konmamıştır.

ATR-FTIR spektroskopisi maliyet olarak değerlendirildiğinde; maliyeti belirleyen az sayıda parametre olduğu görülmektedir. Yöntemin, kimyasal madde, analiz kitleri, ek sarf malzemesi gerektirmemesi, uygun bakımları yapıldığı takdirde cihazın uzun yıllar kullanılabilmesi, analiz edilen numune için herhangi bir ön işlem kimyasalı ya da pahalı ekstraksiyon malzemesi gerektirmemesi, cihazla analiz gerçekleştirmek adına bu alanda ileri derecede deneyimli ve eğitimli bir personel ihtiyacının olmaması maliyet açısından en belirgin avantajlarından biridir. Bu yöntem kullanılırken ihtiyaç listesi olarak cihazın kendisi dışında çalışılacak numuneler, numunelerin transfer edildiği yüzeyler, numunelerin ATR kristali üzerine transferini gerçekleştirmede kullanılacak bisti, penset, enjektör gibi basit ve görece ucuz sarf malzemeleri bulunmaktadır. Bu noktada semen lekesi yaşı tespiti veya saat, gün ve haftalar bağlamında leke yaşı ayırımı yapılabilmesi için geliştirilen yöntem ucuz, uygulaması kolay ve fiyat-etkinlik dengesi açısından üstün olduğu, rutin işlemlerde kullanılmak üzere faydalanılabileceği değerlendirilmiştir.

6- SONUÇ ve ÖNERİLER

Yürütmüş olduğumuz bu tez çalışmasında semen lekelerinin farklı yüzeyler üzerindeki zamana bağlı değişimlerinin ATR-FTIR spektroskopisi ve kemometrik analizler ile incelendiğinde semen lekesi yaş tayininde etkin bir metot olarak kullanılabileceği gösterilmiştir.

Kemometrik yöntemler olan PLS-DA ile analiz edilen semen lekelerinin; ahşap, cam, deri, fayans, karton, metal ve plastik yüzeylerde 8 haftaya kadar yaşları tespit edilebilmiş, 0-24 saatlik, 2-6 günlük ve 1-8 haftalık lekeler üç farklı grup olarak yüksek hassasiyetle birbirinden ayırt edilebilmiştir.

Bu çalışmada geliştirdiğimiz yöntem ucuz, uygulaması kolay ve pratik bir yöntem olmakla birlikte hassasiyet, özgüllük ve duyarlılığı yüksektir.

28-42 yaş aralığında ve 6 kişide gerçekleştirdiğimiz bu çalışmanın rutin adli tıp uygulamalarında yer bulabilmesi için popülasyon büyüklüğünün artırılması, gönüllülerin yaş aralığının genişletilmesi gerekmektedir.

Ayrıca sıcaklık, nem gibi diğer etkenlerin de ileride yapılacak olan çalışmalarda göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Bu çalışmamızda seçtiğimiz yüzeyler kapalı ortam koşullarında bulunması muhtemel yüzeyler olduğundan bu alanda yapılacak olan çalışmalarda toprak, ağaç, taş gibi dış ortam koşullarında bulunabilecek materyallerin çalışması katkı sağlayacaktır.

Maliyet değerlendirmesi yapıldığında rutinde kullanılabilecek fiyat-etkinlik açısından üstün bir yöntem geliştirildiği anlaşılmıştır.

7- KAYNAKÇA

- [1] “Adli Sicil Ve İstatistik Genel Müdürlüğü Adli İstatistikler 2021 Ankara Hizmeti Özel.” [Online]. Available: [Http://Www.Adlisicil.Adalet.Gov.Tr](http://www.adlisicil.adalet.gov.tr)
- [2] S. Sharma And R. Singh, “Detection And Discrimination Of Seminal Fluid Using Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared (ATR FT-IR) Spectroscopy Combined With Chemometrics,” *Int J Legal Med*, Vol. 134, No. 2, Pp. 411–432, Mar. 2020, Doi: 10.1007/S00414-019-02222-X.
- [3] C.-M. R. Orphanou, “A Bioanalytical Approach To Forensic Body Fluid Identification & Age Determination,” 2015.
- [4] C. M. Orphanou, “The Detection And Discrimination Of Human Body Fluids Using ATR FT-IR Spectroscopy,” *Forensic Sci Int*, Vol. 252, Pp. E10–E16, Jul. 2015, Doi: 10.1016/J.Forsciint.2015.04.020.
- [5] N. Achetib *Et Al.*, “Estimating The Time Of Deposition Of Semen Traces Using Fluorescence Protein-Lipid Oxidation Signatures,” *Anal Chem*, Vol. 91, No. 5, Pp. 3204–3208, Mar. 2019, Doi: 10.1021/Acs.Analchem.8b05625.
- [6] S. Zha *Et Al.*, “Estimation Of The Age Of Human Semen Stains By Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy: A Preliminary Study,” *Forensic Sci Res*, Vol. 5, No. 2, Pp. 119–125, Apr. 2020, Doi: 10.1080/20961790.2019.1642567.
- [7] Yildırım M. And Akcan R., “Overcoming Obstacles: Analysis Of Blood And Semen Stains Washed With Different Chemicals With ATR-FTIR,” • *Forensic Science International* .
- [8] R. Jones, “Plasma Membrane Composition And Organisation During Maturation Of Spermatozoa In The Epididymis.”

- [9] D. H. Owen And D. F. Katz, “A Review Of The Physical And Chemical Properties Of Human Semen And The Formulation Of A Semen Simulant,” *Journal Of Andrology*, Vol. 26, No. 4. Pp. 459–469, Jul. 2005. Doi: 10.2164/Jandrol.04104.
- [10] “WHO Laboratory Manual For The Examination And Processing Of Human Semen Sixth Edition.”
- [11] “https://tr.wikipedia.org/wiki/Eril_%C3%Bcreme_sistemi.”
- [12] B. Pilch And M. Mann, “Large-Scale And High-Confidence Proteomic Analysis Of Human Seminal Plasma,” *Genome Biol*, Vol. 7, No. 5, May 2006, Doi: 10.1186/Gb-2006-7-5-R40.
- [13] “https://www.dreamstime.com/Sperm-Anatomy-Illustration-Human-Cell-Image177685044#_.”
- [14] Li R, “Forensic Biology,” 2015.
- [15] K. Alkhuder, “Attenuated Total Reflection-Fourier Transform Infrared Spectroscopy: A Universal Analytical Technique With Promising Applications In Forensic Analyses,” *International Journal Of Legal Medicine*, Vol. 136, No. 6. Springer Science And Business Media Deutschland Gmbh, Pp. 1717–1736, Nov. 01, 2022. Doi: 10.1007/S00414-022-02882-2.
- [16] X. Wei, K. Yu, D. Wu, P. Huang, Q. Sun, And Z. Wang, “Species Identification Of Semen Stains By ATR-FTIR Spectroscopy,” *Int J Legal Med*, Vol. 135, No. 1, Pp. 73–80, Jan. 2021, Doi: 10.1007/S00414-020-02367-0.
- [17] N. Kumar And U. Singh, “Forensic Analysis Of Semen : A Review.” [Online]. Available: <http://ijics.com/>
- [18] “<https://www.egm.gov.tr/kriminal/biyolojiuzmanlik>.”
- [19] B. B. Hellerud, M. Bouzga, P. Hoff-Olsen, And B. Mevåg, “Semen Detection: A Retrospective Overview From 2010,” *Forensic Sci Int Genet Suppl Ser*, Vol. 3, No. 1, Dec. 2011, Doi: 10.1016/J.Fsigss.2011.09.057.

- [20] I. Gregório, F. Zapata, M. Torre, And C. García-Ruiz, “Statistical Approach For ATR-FTIR Screening Of Semen In Sexual Evidence,” *Talanta*, Vol. 174, Pp. 853–857, Nov. 2017, Doi: 10.1016/J.Talanta.2017.07.016.
- [21] M. Cătălin, A. Andrei, And O. Mitrașca, “Modern Methods Of Collection And Preservation Of Biological Evidence For Human Identification By Dna Analysis.”
- [22] M. Setzer, J. Juusola, And J. Ballantyne, “Recovery And Stability Of RNA In Vaginal Swabs And Blood, Semen, And Saliva Stains,” *J Forensic Sci*, Vol. 53, No. 2, Pp. 296–305, Mar. 2008, Doi: 10.1111/J.1556-4029.2007.00652.X.
- [23] S. Alshehhi And P. R. Hadrill, “Estimating Time Since Deposition Using Quantification Of RNA Degradation In Body Fluid-Specific Markers,” *Forensic Sci Int*, Vol. 298, Pp. 58–63, May 2019, Doi: 10.1016/J.Forsciint.2019.02.046.
- [24] A. M. Simard, L. Desgroseillers, And V. Sarafian, “Assessment Of RNA Stability For Age Determination Of Body Fluid Stains,” *Journal Of The Canadian Society Of Forensic Science*, Vol. 45, No. 4, Pp. 179–194, 2012, Doi: 10.1080/00085030.2012.10757192.
- [25] A. Jimenez-Verdejo, E. Osuna, E. Garcia-Olivaresb, And A. Lunaa, “Forensic Science International Study Of The Enzymatic Activity Of GGT, LDH, PAP And PSA In Semen Stains: Application To Age Calculation,” 1994.
- [26] S. Srettabunjong, P. Betsset, S. Limawongpranee, And P. Ekpo, “The Stability Of Prostate-Specific Antigen In Semen Under Various Temperatures,” *J Forensic Sci*, Vol. 60, No. 6, Pp. 1577–1581, Nov. 2015, Doi: 10.1111/1556-4029.12791.
- [27] B. Doracan, “Bazi Organik Bileşiklerin Deneysel Ve Teoriksel Metotlarla Moleküler Yapılarının İncelenmesi Yüksek Lisans Tezi İleri Teknolojiler Anabilim Dalı,” 2017.
- [28] I. B. A. E. F. C. Brown WH, *Organic Chemistry. Cengage Learning, Boston*. 2018.

- [29] M. El-Azazy, *Introductory Chapter: Infrared Spectroscopy - A Synopsis Of The Fundamentals And Applications*. 2019.
- [30] “Aydınlatma Teknolojisinin Televizyon Çekimlerinde Kullanımı Fatih İnce Yüksek Lisans Tezi Endüstriyel Teknoloji Eğitimi Ana Bilim Dalı Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.”
- [31] P. Garidel And H. Schott, “Fourier-Transform Midinfrared Spectroscopy For Analysis And Screening Of Liquid Protein Formulations, Part 1 Understanding Infrared Spectroscopy Of Proteins Product Focus: Recombinant Proteins In Liquid Formulations Process Focus: Preclinical Testing And Product Formulation Who Should Read: R&D, Analytical, Manufacturing, And Formulation Staff.”
- [32] B. T. Crowe J, *Chemistry For The Biosciences: The Essential Concepts. 3rd Ed: Oxford University Press*. 2014.
- [33] C. EC. Housecroft CE, *Chemistry : An Introduction To Organic, Inorganic, And Physical Chemistry. 4th Ed. Harlow, England ; New York: Pearson Prentice Hall;* . 2010.
- [34] “Fourier Transform Infrared Spectrometry.” [Online]. Available: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/>
- [35] J. T. Hynes, “Molecules In Motion: Chemical Reaction And Allied Dynamics In Solution And Elsewhere,” *Annu Rev Phys Chem*, Vol. 66, Pp. 1–20, Apr. 2015, Doi: 10.1146/annurev-physchem-040214-121833.
- [36] M. EM. Banwell CN, *Banwell CN, Mccash EM. Fundamentals Of Molecular Spectroscopy. 4thed. Berkshire, England: Mcgraw Hill*. 1994.
- [37] I. B. A. E. F. C. Brown WH, *Organic Chemistry. Cengage Learning, Boston*. 2018.
- [38] D. H. JA. Griffiths PR, “Fourier Transform Infrared Spectrometry.” [Online]. Available: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/>

- [39] D. R. Vij Editor, "Handbook Of Applied Solid State Spectroscopy."
- [40] "Fourier Transform Infrared Spectrometry." [Online]. Available: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/>
- [41] A. Rajaram Pawar, P. D. Khade, And S. K. Sabale, "Infrared Spectroscopy: A Review," *Pawar Et Al. World Journal Of Pharmaceutical Research*, Vol. 9, 2020, Doi: 10.20959/Wjpr20205-17298.
- [42] "https://en.wikipedia.org/wiki/Fourier-Transform_Infrared_Spectroscopy."
- [43] K. M. Elkins, "Rapid Presumptive 'Fingerprinting' Of Body Fluids And Materials By Atr Ft-Ir Spectroscopy," *J Forensic Sci*, Vol. 56, No. 6, Pp. 1580–1587, Nov. 2011, Doi: 10.1111/J.1556-4029.2011.01870.X.
- [44] A. Takamura, K. Watanabe, T. Akutsu, And T. Ozawa, "Soft And Robust Identification Of Body Fluid Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy And Chemometric Strategies For Forensic Analysis," *Sci Rep*, Vol. 8, No. 1, Dec. 2018, Doi: 10.1038/S41598-018-26873-9.
- [45] S. Sharma, R. Chopi, J. K. Jossan, And R. Singh, "Detection Of Bloodstains Using Attenuated Total Reflectance-Fourier Transform Infrared Spectroscopy Supported With PCA And PCA–LDA," *Med Sci Law*, Vol. 61, No. 4, Pp. 292–301, Oct. 2021, Doi: 10.1177/00258024211010926.
- [46] L. Lepot, K. De Wael, F. Gason, And B. Gilbert, "Application Of Raman Spectroscopy To Forensic Fibre Cases," *Science And Justice*, Vol. 48, No. 3, Pp. 109–117, Sep. 2008, Doi: 10.1016/J.Scijus.2007.09.013.
- [47] E. Mistek And I. K. Lednev, "Identification Of Species' Blood By Attenuated Total Reflection (ATR) Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectroscopy," *Anal Bioanal Chem*, Vol. 407, No. 24, Jul. 2015, Doi: 10.1007/S00216-015-8909-6.
- [48] H. Lin, Y. Zhang, Q. Wang, B. Li, S. Fan, And Z. Wang, "Species Identification Of Bloodstains By ATR-FTIR Spectroscopy: The Effects Of Bloodstain Age And

The Deposition Environment,” *Int J Legal Med*, Vol. 132, No. 3, Pp. 667–674, May 2018, Doi: 10.1007/S00414-017-1634-2.

- [49] S. Sharma, R. Chophi, J. K. Jossan, And R. Singh, “Detection Of Bloodstains Using Attenuated Total Reflectance-Fourier Transform Infrared Spectroscopy Supported With PCA And PCA–LDA,” *Med Sci Law*, Vol. 61, No. 4, Pp. 292–301, Oct. 2021, Doi: 10.1177/00258024211010926.
- [50] H. Lin, Y. Zhang, Q. Wang, B. Li, P. Huang, And Z. Wang, “Estimation Of The Age Of Human Bloodstains Under The Simulated Indoor And Outdoor Crime Scene Conditions By ATR-FTIR Spectroscopy,” *Sci Rep*, Vol. 7, No. 1, Dec. 2017, Doi: 10.1038/S41598-017-13725-1.
- [51] R. Kumar, K. Sharma, And V. Sharma, “Bloodstain Age Estimation Through Infrared Spectroscopy And Chemometric Models,” *Science And Justice*, Vol. 60, No. 6, Pp. 538–546, Nov. 2020, Doi: 10.1016/J.Scijus.2020.07.004.
- [52] S. Sharma, R. Chophi, And R. Singh, “Forensic Discrimination Of Menstrual Blood And Peripheral Blood Using Attenuated Total Reflectance (ATR)-Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectroscopy And Chemometrics,” *Int J Legal Med*, Vol. 134, No. 1, Pp. 63–77, Jan. 2020, Doi: 10.1007/S00414-019-02134-W.
- [53] A. Takamura, K. Watanabe, T. Akutsu, H. Ikegaya, And T. Ozawa, “Spectral Mining For Discriminating Blood Origins In The Presence Of Substrate Interference Via Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy: Postmortem Or Antemortem Blood?,” *Anal Chem*, Vol. 89, No. 18, Pp. 9797–9804, Sep. 2017, Doi: 10.1021/Acs.Analchem.7b01756.
- [54] S. Giuliano, E. Mistek-Morabito, And I. K. Lednev, “Forensic Phenotype Profiling Based On The Attenuated Total Reflection Fourier Transform-Infrared Spectroscopy Of Blood: Chronological Age Of The Donor,” *ACS Omega*, Vol. 5, No. 42, Pp. 27026–27031, Oct. 2020, Doi: 10.1021/Acsomega.0c01914.

- [55] F. K. Algethami, S. M. Eid, K. M. Kelani, M. R. Elghobashy, And M. K. Abd El-Rahman, "Chemical Fingerprinting And Quantitative Monitoring Of The Doping Drugs Bambuterol And Terbutaline In Human Urine Samples Using ATR-FTIR Coupled With A PLSR Chemometric Tool," *RSC Adv*, Vol. 10, No. 12, Pp. 7146–7154, Feb. 2020, Doi: 10.1039/C9ra10033d.
- [56] J. Manheim, K. C. Doty, G. Mclaughlin, And I. K. Lednev, "Forensic Hair Differentiation Using Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared (ATR FT-IR) Spectroscopy," *Appl Spectrosc*, Vol. 70, No. 7, Pp. 1109–1117, Jul. 2016, Doi: 10.1177/0003702816652321.
- [57] R. G. Brereton And G. R. Lloyd, "Partial Least Squares Discriminant Analysis: Taking The Magic Away," *J Chemom*, Vol. 28, No. 4, Pp. 213–225, 2014, Doi: 10.1002/Cem.2609.
- [58] D. Ballabio And V. Consonni, "Classification Tools In Chemistry. Part 1: Linear Models. PLS-DA," *Analytical Methods*, Vol. 5, No. 16. Pp. 3790–3798, Aug. 21, 2013. Doi: 10.1039/C3ay40582f.
- [59] Z. Movasaghi, S. Rehman, And I. U. Rehman, "Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy Of Biological Tissues," *Applied Spectroscopy Reviews*, Vol. 43, No. 2. Pp. 134–179, 2008. Doi: 10.1080/05704920701829043.
- [60] P. Garidel And H. Schott, "Fourier-Transform Midinfrared Spectroscopy For Analysis And Screening Of Liquid Protein Formulations Part 2: Detailed Analysis And Applications Product Focus: Recombinant Proteins In Liquid Formulations Process Focus: Preclinical Testing And Product Formulation."
- [61] B. Taştekin And O. Hazırlanmıştır, "Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı Farklı Kumaş Türleri Üzerindeki Semen Lekesi Yaşının Ft-Ir Spektroskopisi İle Tayini," 2021.