

TYTUŁ PRACY: Toward a spectroscopy-based approach for estimating time elapsed since bloodstains deposition – Development of a novel framework for blood evidence evaluation

AUTOR PRACY: dr Alicja Menzyk
(Instytut Chemii, Uniwersytet Śląski w Katowicach;
Instytut Ekspertyz Sądowych im. Prof. dra Jana Sehna w Krakowie)

PROMOTOR: prof. dr hab. Grzegorz Zadora
(Instytut Chemii, Uniwersytet Śląski w Katowicach;
Instytut Ekspertyz Sądowych im. Prof. dra Jana Sehna w Krakowie)

PROMOTOR dr inż. Agnieszka Martyna
POMOCNICZY: (Instytut Chemii, Uniwersytet Śląski w Katowicach)

W P R O W A D Z E N I E

„(...) zaczął bojaźliwie oglądać swoje ubranie od dołu do góry: a może zostały jakieś ślady? Patrząc jednak z oddalenia niczego nie udało mu się dostrzec: drżąc febrycznie zdjął więc z siebie wszystko i jeszcze raz zaczął każdą rzecz dokładnie przepatrywać. (...) Nie zauważył, jak się zdaje, niczego szczególnego, w każdym razie żadnych plam; jedynie na pantalonach, u samego dołu, w miejscu najbardziej podatnym na wystrzępienie, na zwisających nitkach dostrzegł zakrzepłe **krople krwi**. Sięgnął więc po wielki, składany kozik i obciął dół pantalonów. Żadnych innych **śladów krwi**, jak się zdaje, nie było.”

– F. Dostojewski, *Zbrodnia i kara*

Pomimo tego, że przytoczone zdarzenia rozegrały się na łamach jednej z najznamienszych powieści wszechczasów, to jednak tok rozumowania kierujący działaniami Raskolnikowa niewiele ma wspólnego z fikcją. Przekonanie, że ślady ujawniane podczas oględzin podejrzanego lub miejsca zdarzenia niosą ze sobą ogromny ładunek informacyjny, będący świadectwem popełnionych czynów, stanowi jeden z aksjomatów współczesnej kryminalistyki, zaś grupą materiałów dowodowych, które niejednokrotnie pełnią rolę głównej siły napędowej procesu dochodzeniowego są **ślady krwawe**.

Wdrożenie do praktyki sądowej genetycznych badań identyfikacyjnych bezspornie stanowiło kamień milowy rozwoju kryminalistyki, rozpoczynając swoistą „dominację” badań DNA na salach sądowych. Jednak w przeciwieństwie do powszechnie panującego przekonania, podsycanego przez współczesną popkulturę, wyniki analiz genetycznych nie zawsze pozwalają udzielić wyczerpujących odpowiedzi na pytania stawiane w toku postępowania przygotowawczego. Okazuje się bowiem, że **informacja o czasie uformowania śladów krwawych** niejednokrotnie jest równie istotna co identyfikacja „źródła” zabezpieczonego materiału biologicznego. Wynika to z dosyć powszechnie stosowanej linii obrony, kiedy zakwestionowaniu nie podlegają rezultaty badań genetycznych, ale chronologia zdarzeń. Innymi słowy, podważone zostają ramy czasowe, w których ujawnione ślady krwawe miały zostać naniesione na miejscu przestępstwa. W takiej sytuacji, dopiero połączenie wyników profilowania genetycznego oraz informacji o „wieku” śladów krwawych, pozwalające na potwierdzenie obecności danej osoby na miejscu zdarzenia w konkretnym czasie, stanowią dla zleceniodawcy cenny dowód, przemawiający za udziałem podejrzanego w zdarzeniu.

Niestety, wieloletnie próby opracowania skutecznej metodyki bezwzględного datowania krwi nie dały jak dotąd pozytywnego rezultatu, przez co informacja o czasowym aspekcie powstania śladów

krwawych wciąż pozostaje poza zasięgiem biegłych. Analiza dotychczasowych badań, przeprowadzona w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej, doprowadziła jednak do pewnych wniosków – przyczynę owych niepowodzeń najprawdopodobniej stanowiło nieodpowiednie ujęcie problemu datowania. Okazuje się bowiem, że zgodnie z powszechnie przyjętą strategią, większość zaproponowanych rozwiązań przebiegła w dosyć schematyczny sposób, sprowadzając się do zdefiniowania pewnych mierzalnych parametrów, które odzwierciedlałyby stopień degradacji krwi, a następnie powiązania ich zmian z upływającym czasem (najczęściej za pomocą popularnych technik kalibracyjnych jak chociażby regresji częściowych najmniejszych kwadratów). Problem jednak w tym, że proces starzeniowy to nie tylko kwestia czasu. Materiał dowodowy może bowiem degradować w różnym tempie w zależności od wielu czynników zewnętrznych – przede wszystkim zaś warunków środowiskowych panujących na miejscu zdarzenia – których nie sposób wyeliminować. Tym samym, owe konwencjonalne modele datowania, opracowywane dla bardzo ograniczonych zestawów próbek degradujących w stabilnych warunkach laboratoryjnych, jak dotąd okazywały się zawodne na gruncie praktycznych analiz kryminalistycznych, gdzie na jakość i trwałość materiału dowodowego wpływa szereg niekontrolowanych oddziaływań osobniczych, sytuacyjnych i środowiskowych.

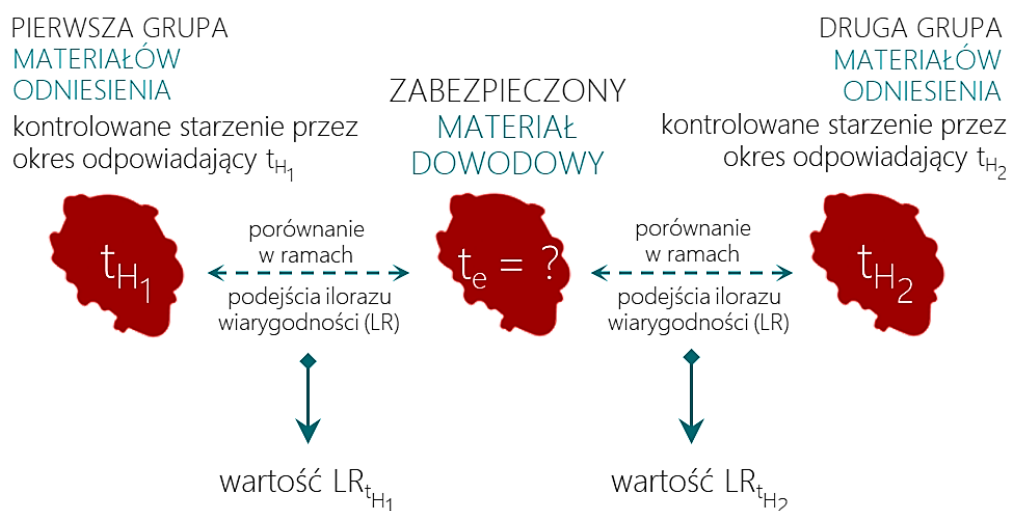
Punktem zwrotnym prezentowanych badań było więc zrozumienie, że głównym problemem pozostaje dziś nie tyle brak odpowiednich technik analitycznych pozwalających na śledzenie procesów starzeniowych krwi, co nieodpowiednie podejście do problemu datowania. Dlatego też **rozwiązanie zaproponowane w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej całkowicie wyłamuje się z powyższego schematu, prowadząc do zredefiniowania problemu czasu podejmowanego w kontekście nauk sądowych.** Zagadnienie datowania potraktowane bowiem zostało jako problem porównawczy, rozpatrywany w ramach podejścia korzystającego z hybrydowych modeli ilorazu wiarygodności (LR, z ang. likelihood ratio), który uwzględnia wpływ czynników zewnętrznych na proces degradacji krwi.

CEL PRACY

Podstawą metodyki opracowanej w ramach prezentowanej rozprawy doktorskiej była ocena podobieństwa pomiędzy stopniem degradacji materiału dowodowego (wyrażonego za pomocą odpowiedniego markera starzenia) a rozkładem materiałów porównawczych, uzyskanych podczas procesu kontrolowanego starzenia krwi, oddającego – tak dokładnie, jak to tylko możliwe – rzeczywiste warunki degradacji materiału dowodowego na miejscu zdarzenia. Aby zapewnić jak najbardziej obiektywną ocenę zakwestionowanych śladów oraz odwzorować rzeczywisty przebieg postępowania sądowego, wskazane jest przeprowadzenie owego porównania materiałów dowodowych względem dwóch zbiorów materiałów odniesienia (Rysunek 1). W takim ujęciu, pierwszy zestaw śladów krwawych charakteryzowałby się „wiekiem” odpowiadającym wersji zdarzeń przedstawionej przez prokuratora; drugi zaś zostałby poddany procesom kontrolowanego starzenia zgodnie ze scenariuszem reprezentowanym przez obronę/oskarżonego. Każda procedura datowania byłaby więc niejako “szyta na miarę”, dostosowywana każdorazowo do zabezpieczonego materiału dowodowego, prowadząc do zminimalizowania wpływu czynników zewnętrznych (jak chociażby warunków środowiskowych) na poprawność procesu datowania

Opracowanie opisanej powyżej metodyki datowania wymagało rozwiązania dwóch odrębnych zagadnień. **Pierwsza część badań** wchodząca w skład prezentowanej rozprawy doktorskiej obejmowała **zaproponowanie narzędzia analitycznego pozwalającego na szybką i nieinwazyjną charakterystykę stopnia degradacji śladów krwawych.** W tym celu skorzystano z potencjału spektroskopii ramanowskiej, która niejednokrotnie już potwierdziła swoją skuteczność w monitorowaniu zmian fizykochemicznych towarzyszących procesom degradacji głównego składnika śladów krwawych – hemoglobiny. Elementem nowości było jednak wprowadzenie nowego trybu pomiarowego (nazwanego na potrzeby niniejszych badań *rotating measurement mode*), który polegał

na rejestracji sygnałów ramanowskich podczas obrotu próbki dzięki zastosowaniu urządzenia (A. Damin, et al., European patent No. WO2017077513 (A1), (2017)) skonstruowanego przez grupę badawczą Prof. Marco Vincenti oraz Prof. Gianmario Martra z Uniwersytetu Turyńskiego we Włoszech. Takie rozwiązanie pozwoliło na zmniejszenie ryzyka degradacji próbki wywołanej promieniowaniem lasera wzbudzającego, a także doprowadziło do zwiększenia reprezentatywności widm Ramana, uzyskiwanych w możliwie krótkim czasie pomiarowym. Warto również dodać, że wszystkie badania spektroskopowe zostały przeprowadzone przez autorkę pracy podczas staży zagranicznych (stypendium *Erasmus+*) w ramach zapoczątkowanej współpracy międzynarodowej ze wspomnianymi naukowcami z Uniwersytetu Turyńskiego.



RYSUNEK 1. Koncepcja metodyki zmodyfikowanego datowania względnego z wykorzystaniem modeli ilorazu wiarygodności.

Druga część badań polegała na opracowaniu hybrydowych modeli LR służących rozwiązywaniu tzw. problemu porównawczego widm ramanowskich, które charakteryzowały ślady krwawe o nieznanym czasie powstania (potencjalne materiały dowodowe) oraz ślady utworzone w procesie kontrolowanego starzenia (tzw. materiały odniesienia). W badaniach podjęto się porównania uzyskiwanych danych fizykochemicznych w kontekście następujących hipotez, definiujących rozpatrywany problem porównawczy:

H₁: „wiek” materiału dowodowego (ślady krwawe o zakwestionowanym czasie powstania, ujawnione na miejscu przestępstwa; t_E) **jest zgodny** z „wiekiem” materiału porównawczego (ślady krwi uzyskane w procesie kontrolowanego starzenia zgodnie ze stanowiskiem prokuratora lub obrony; t_{P1} lub t_{P2}): $t_E = t_{P1}$ (pierwsze porównanie) lub $t_E = t_{P2}$ (drugie porównanie).

H₂: „wiek” materiału dowodowego (ślady krwawe o zakwestionowanym czasie powstania, ujawnione na miejscu przestępstwa; t_E) **nie jest zgodny** z „wiekiem” materiału porównawczego (ślady krwi uzyskane w procesie kontrolowanego starzenia zgodnie ze stanowiskiem prokuratora lub obrony; t_{P1} lub t_{P2}): $t_E = t_{P1}$ (pierwsze porównanie) lub $t_E = t_{P2}$ (drugie porównanie).

Należy dodać, że zastosowanie modeli LR – stanowiące narzędzie do oceny wartości dowodowej danych fizykochemicznych, rekomendowane przez Europejską Sieć Nauk Sądowych (ENFSI) – pozwoliło na uwzględnienie wszystkich czynników niezbędnych z punktu widzenia wymiaru sprawiedliwości, w tym częstości występowania określonych cech w przedstawionej populacji śladów krwawych charakteryzujących się różnym „wiekiem”, możliwych źródeł zmienności oraz korelacji między zmiennymi.

Wszystkie czynności prowadzące do opracowania nowej metodyki datowania śladów, można więc podsumować w następujących etapach badawczych:

1. Opracowanie metody analitycznej, opartej na spektroskopii Ramana, umożliwiającej nieinwazyjną i reprezentatywną charakterystykę składu chemicznego degradujących śladów krwawych.
2. Analiza ramanowska degradujących śladów krwawych w trzytygodniowym okresie starzenia.
3. Określenie chemometrycznej strategii wstępnego przetwarzania (*pre-processing*) uzyskanych widm Ramana.
4. Skonstruowanie hybrydowych modeli LR służących rozwiązywaniu problemów porównawczych pomiędzy zakwestionowanym śladem krwawym a materiałami odniesienia uzyskanymi w wyniku procesu kontrolowanego starzenia.
5. Opracowanie protokołu walidacyjnego utworzonych modeli LR.

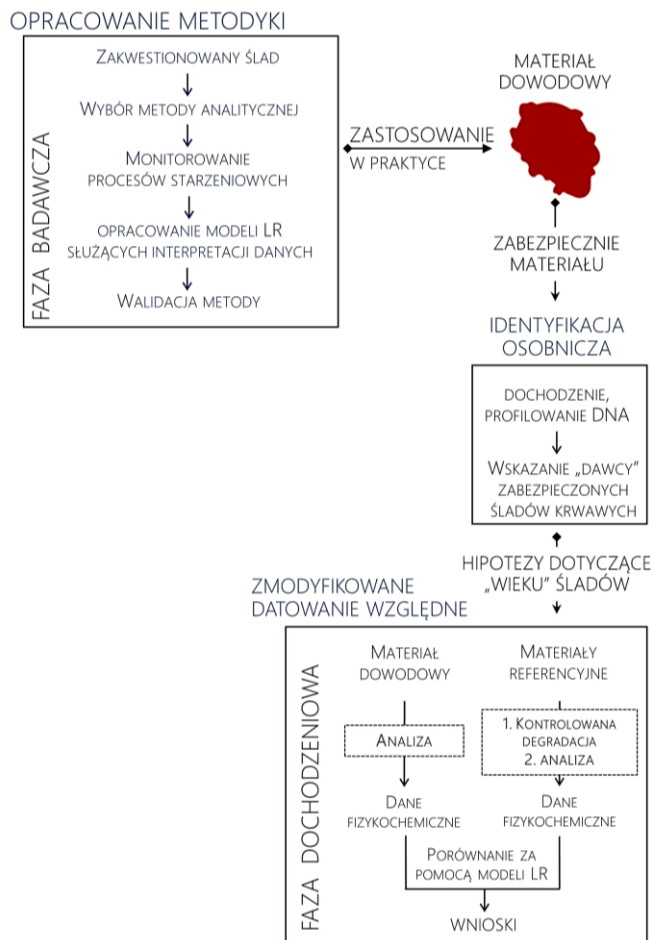
PODSUMOWANIE

Realizacja założonych celów badawczych wykazała możliwość oceny „wieku” śladów krwawych poprzez zastosowanie zmodyfikowanej procedury datowania, której opracowanie stanowiło główny trzon prezentowanej rozprawy doktorskiej.

Pierwszy etap badań potwierdził skuteczność opracowanej metodyki analitycznej, bazującej na spektroskopii Ramana, w monitorowaniu zmian fizykochemicznych towarzyszących procesom degradacji głównego składnika śladów krwawych – hemoglobiny. Widma ramanowskie wykazywały wyraźną zależność czasową – obserwowane zmiany odzwierciedlone były głównie w pasmach pojawiających się przy 1255 cm^{-1} oraz 976 cm^{-1} , a także w zakresie pomiędzy $1300\text{--}1400\text{ cm}^{-1}$, które zostały opisane w literaturze jako spektralne symptomy powstawania produktów degradacji hemoglobiny. Dodatkowo, w celu zminimalizowania trudności pojawiających się podczas konwencjonalnych pomiarów jednopunktowych, a mianowicie ryzyka degradacji cząsteczek białkowych wywołanego promieniowaniem lasera oraz błędów wynikających z niedostatecznie reprezentatywnego próbkowania analizowanych materiałów, wprowadzono rotacyjny tryb pomiarowy, który znacznie usprawnił proces rejestracji widm. Połączenie powyższych cech z nieinwazyjnością metody oraz dostępnością spektrometrów ramanowskich w większości laboratoriów na świecie sprawia, że opracowana procedura analityczna może znaleźć zastosowanie nie tylko w badaniach kryminalistycznych, ale wszędzie tam, gdzie analizie poddawane są niejednorodne materiały, charakteryzujące się wysoką podatnością na fotodegradację.

Wyniki procedury walidacyjnej – uzyskane w drugim etapie badań – pozwoliły na potwierdzenie skuteczności nowo zaproponowanej metodyki datowania śladów krwawych. Najlepsze spośród opracowanych modeli LR dostarczały akceptowalne poziomy odpowiedzi fałszywie pozytywnych i fałszywie negatywnych, które oscylowały odpowiednio wokół 20% oraz 10%, co – biorąc pod uwagę niewielkie bazy danych oraz charakter materiału badawczego – stanowiło zaskakująco dobry rezultat. Warunkiem skuteczności procedury było jednak utworzenie materiałów odniesienia w warunkach środowiskowych jak najbardziej zbliżonych do tych, które panowały podczas degradacji dowodowych śladów krwawych. Wniosek ten nie powinien jednak dziwić – zapewnienie

porównywalnej kinetyki procesów starzeniowych materiałów odniesienia i próbek dowodowych jest w istocie podstawowym wymogiem metodyki opracowanej w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej. Rezultatem poczynionych obserwacji było zaś przedstawienie sposobu zaimplementowania opracowanej metodyki datowania śladów krwawych w praktyce kryminalistycznej (Rysunek 2), co jak dotąd nie udało się żadnej z grup badawczych trudniących się zagadnieniem czasu w naukach sądowych.



RYSUNEK 2. Proponowana procedura zmodyfikowanego datowania względnego śladów krwawych w praktyce kryminalistycznej.

Należy również podkreślić, że zaproponowane podejście nie ogranicza swej użyteczności do analizy śladów krwawych, co prawdopodobnie stanowi jego największą zaletę. Problemem datowania jest powszechnie spotykany w naukach sądowych. Potrzeba oszacowania „wieku” zabezpieczonych materiałów dowodowych (jak chociażby płynów ustrojowych, pozostałości powystrzałowych czy odcisków linii papilarnych) pojawia się bowiem za każdym razem, gdy po zebraniu dowodów kwestionuje się ich znaczenie dla zdarzenia będącego przedmiotem postępowania sądowego. W związku z tym podejście oparte na idei porównywania materiału dowodowego z materiałami odniesienia, otrzymanymi w procesie kontrolowanego starzenia, powinno znaleźć szersze zastosowanie w kryminalistyce. Przeniesienie zaproponowanej procedury na grunt analogicznych analiz wymaga bowiem jedynie uzupełnienia dwuetapowej metodyki datowania o technikę analityczną umożliwiającą uzyskanie profili starzeniowych zakwestionowanych śladów kryminalistycznych, świadcząc o uniwersalizmie taktyki i jej ogromnym potencjale praktycznym.