2

การตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดหลังจากผ่านความร้อนโดยวิธีทดสอบด้วยลูมินอล

โดย

นางสาวจิราภา สิงหะกุลพิทักษ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2566

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

3

การตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดหลังจากผ่านความร้อนโดยวิธีทดสอบด้วยลูมินอล

โดย
นางสาวจิราภา สิงหะกุลพิทักษ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2566
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

EXAMINATION OF PERSISTENCE OF BLOODSTAINS ON VARIOUS TYPES OF SURFACES AFTER THERMAL EXPOSURE BY THE METHOD OF LUMINOL TEST

By

MISS Jirapa SINGHAKULPITAK

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for Master of Science (FORENSIC SCIENCE)

Silpakorn University

Academic Year 2023

Copyright of Silpakorn University

หัวข้อ	การตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดหลังจากผ่านความร้อนโดยวิธีทดสอบด้วยลูมินอล
โดย	นางสาวจิราภา สิงหะกุลพิทักษ์
สาขาวิชา	นิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	อาจารย์ ดร. อรทัย เขียวพุ่ม
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	อาจารย์ ดร. ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นรงค์ ฉิมพาลี)

พิจารณาเห็นชอบโดย

.....ประธานกรรมการ

(อาจารย์ ดร. ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

(อาจารย์ ดร. อรทัย เขียวพุ่ม)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(อาจารย์ ดร. ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง)

.....ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก

(รองศาสตราจารย์ ดร. ยุภาพร สมีน้อย)

640720012 : นิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
คำสำคัญ : คราบเลือด, การให้ความร้อน, ลูมินอล

นางสาว จิราภา สิงหะกุลพิทักษ์: การตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดหลังจากผ่านความร้อนโดยวิธีทดสอบด้วยลูมินอล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : อาจารย์ ดร. อรทัย เขียวพุ่ม

คราบเลือดที่พบในเหตุอาชญากรรมสามารถใช้เป็นข้อมูลที่ใช้ในการแก้ปัญหาคดีอาชญากรรมได้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการคงอยู่ของคราบเลือดบนพื้นผิวต่างๆหลังจากผ่านความร้อนโดยวิธีทดสอบด้วยลูมินอล พื้นผิวที่ใช้ในการทดลองนี้คือแผ่นแก้ว, แผ่นสแตนเลส, กระเบื้องปูพื้น และแผ่นสังกะสี เริ่มจากทำการหยดเลือด 25 µl ลงบนแผ่นที่เลือกไว้ขนาด 5×5 cm และปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที ผลจากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C, 150°C, 200°C, 250°C, 300°C, 350°C, 400°C และ 500°C เป็นระยะเวลา 5, 15, 30 และ 60 นาที พบว่าคราบเลือดบนพื้นผิวแผ่นแก้ว, แผ่นสแตนเลส และแผ่นสังกะสีที่ถูกให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C ถึง 350°C เป็นระยะเวลา 60 นาที ยังสามารถใช้ลูมินอลในการตรวจสอบได้ ในขณะที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 400°C และ 500°C ไม่สามารถตรวจสอบได้ อย่างไรก็ตามคราบเลือดที่ถูกทดสอบบนพื้นผิวกระเบื้องปูพื้นสามารถตรวจสอบได้แม้ใช้อุณหภูมิในการให้ความร้อน 100°C ถึง 500°C เป็นระยะเวลา 60 นาที การศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงความสามารถของลูมินอลในการตรวจสอบคราบเลือดบนพื้นผิวต่างๆหลังจากผ่านความร้อนในงานด้านนิติเวชอย่างแท้จริง

มหาวิทยาลัยศิลปากร

640720012 : Major (FORENSIC SCIENCE)

Keyword : Bloodstain, Thermal exposure, Luminol

MISS Jirapa SINGHAKULPITAK : Examination of persistence of bloodstains on various types of surfaces after thermal exposure by the method of luminol test Thesis advisor : Orathai Kheawpum

Bloodstains found with a crime can provide useful information that may solve the criminal cases. The objective of this research was to examine the persistence of bloodstains on various types of surfaces after thermal exposure by luminol test. The surfaces designated for this experiment were glass plates, stainless steel sheets, floor tiles, and galvanized sheets. Initially, twenty-five microliters of blood were dropped on 5 x 5 cm of those selected sheets and let them dried at room temperature for 20 mins. Effects of temperature (100°C, 150°C, 200°C, 250°C, 300°C, 350°C, 400°C and 500°C) and exposure times (5, 15, 30 and 60 mins) on bloodstains were tested. It was found that bloodstains deposited on glass plates, stainless steel sheets, and galvanized sheets exposed to temperatures ranging from 100°*C* to 350°C with 60 minutes exposure time can be identified using luminol test while those exposed to 400°C and 500°C cannot. However, the bloodstains left on floor tiles can be readily detected even on the samples exposed to temperatures ranging from 100°C to 500°C with 60 minutes exposure time. The findings of this study have demonstrated the capability of the luminol test to detect bloodstains on various types of surfaces after thermal exposure in authentic forensic samples.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์จากบุคคลหลายท่านที่ได้สละเวลามาให้คำแนะนำ อันเป็นประโยชน์ต่อการทำวิจัยครั้งนี้เป็นอย่างยิ่ง

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. อรทัย เขียวพุ่มและอาจารย์ ดร. ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง ที่ได้กรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาให้คำแนะนำ ข้อคิด และความช่วยเหลือ ตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี ประธานกรรมการ และรองศาสตราจารย์ ดร.ยุภาพร สมีน้อย กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ ที่ได้กรุณาเสียสละเวลาในการตรวจสอบ ให้คำแนะนำ และปรับปรุงแก้ไข ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณมารดา ครอบครัว และครูอาจารย์ ทุกท่านที่อบรมสั่งสอนให้ความรู้ ตลอดจนผู้ที่มิได้เอ่ยนามมา ณ ที่นี้ทุกท่าน ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือ แนะนำและเป็นกำลังใจให้จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

จิราภา สิงหะกุลพิทักษ์

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญรูปภาพ ..... ฌ

สารบัญตาราง ..... ญ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย 3

1.3 สมมติฐานการวิจัย 3

1.4 ขอบเขตของการวิจัย 3

1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ 4

1.6 กรอบแนวคิดในการวิจัย 5

1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 6

บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 7

2.1 เลือดและองค์ประกอบของเลือด 7

องค์ประกอบของเลือด 8

2.2 การตรวจสอบคราบเลือด 9

Luminol Test 9

Hemastix® (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine หรือ TMB) Test 10

Kastle-Meyer Test 11

Amido test 12
2.3 คุณสมบัติเกี่ยวกับพื้นผิว 12
2.4 ความร้อน 13
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 14
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 18
3.1 การศึกษาเพื่อกำหนดกรอบแนวคิดในการวิจัย 18
3.2 การเตรียมตัวอย่าง 19
3.3 ขั้นตอนการทดลอง 21
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล 25
บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ 32
ภาคผนวก 34
รายการอ้างอิง 39
ประวัติผู้เขียน 41

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญรูปภาพ

ภาพที่ 1 องค์ประกอบของเลือด.....7

ภาพที่ 2 ความแตกต่างของเซลล์เม็ดเลือดการแบ่งตัวของ Stem cells ในไขกระดูกทำให้เกิดเซลล์สองชุด เซลล์ต้นกำเนิดต่อมน้ำเหลืองก่อให้เกิดเซลล์เม็ดเลือดขาวที่เรียกว่า Lymphocytes เซลล์ต้นกำเนิดจาก Myeloid ก่อให้เกิดเซลล์เม็ดเลือดขาวอื่นๆ เซลล์เม็ดเลือดแดง และชิ้นส่วนของเซลล์ที่เรียกว่าเกล็ดเลือด.....9

ภาพที่ 3 สมการปฏิกิริยาของสารละลายลูมินอลกับเลือด.....10

ภาพที่ 4 สมการ Tetramethylbenzidine เมื่อทำปฏิกิริยากับเลือด.....11

ภาพที่ 5 สมการสารละลาย Phenolphthalein ที่ทำปฏิกิริยากับเลือด.....11

ภาพที่ 6 การให้ความร้อนตัวอย่างบน Hotplate.....22

ภาพที่ 7 วิธีดำเนินการวิจัย.....24

ภาพที่ 8 คราบเลือดหลังถูกให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C, 150°C, 200°C, 250°C, 300°C, 350°C, 400°C และ 500°C เป็นระยะเวลา 60 นาทีบนพื้นผิวแผ่นแก้ว.....28

ภาพที่ 9 คราบเลือดหลังถูกให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C, 150°C, 200°C, 250°C, 300°C, 350°C, 400°C และ 500°C เป็นระยะเวลา 60 นาทีบนพื้นผิวกระเบื้องปูพื้น.....28

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 วัสดุ เครื่องมือและอุปกรณ์ 19

ตารางที่ 2 ระดับการให้คะแนนความเข้มแสงภายหลังจากการทดสอบด้วยลูมินอล.....23

ตารางที่ 3 ระดับคะแนนเฉลี่ยของความเข้มแสงภายหลังทดสอบด้วยลูมินอล 25

ตารางที่ 4 ระดับคะแนนเฉลี่ยของความเข้มแสงภายหลังทดสอบด้วยลูมินอล 26

ตารางที่ 5 ผลการทดลองให้ความร้อนแก่เลือดที่อุณหภูมิ 100°C, 150°C, 200°C, 250°C, 300°C, 350°C, 400°C และ 500°C เป็นระยะเวลา 5, 15, 30 และ 60 นาที บนพื้นผิวแผ่นแก้ว.....35

ตารางที่ 6 ผลการทดลองให้ความร้อนแก่เลือดที่อุณหภูมิ 100°C, 150°C, 200°C, 250°C, 300°C, 350°C, 400°C และ 500°C เป็นระยะเวลา 5, 15, 30 และ 60 นาที บนพื้นผิวแผ่นสแตนเลส 36

ตารางที่ 7 ผลการทดลองให้ความร้อนแก่เลือดที่อุณหภูมิ 100°C, 150°C, 200°C, 250°C, 300°C, 350°C, 400°C และ 500°C เป็นระยะเวลา 5, 15, 30 และ 60 นาที บนพื้นผิวกระเบื้องปูพื้น.....37

ตารางที่ 8 ผลการทดลองให้ความร้อนแก่เลือดที่อุณหภูมิ 100°C, 150°C, 200°C, 250°C, 300°C, 350°C, 400°C และ 500°C เป็นระยะเวลา 5, 15, 30 และ 60 นาที บนพื้นผิวแผ่นสังกะสี.....38

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันมีเหตุอาชญากรรมมากมายแต่ทุกครั้งผู้ก่อเหตุมักทิ้งร่องรอยไว้เสมอไม่ว่าจะเป็นคราบเลือด รอยนิ้วมือแฝง เส้นผม หรือแม้แต่ส่วนอื่นๆในร่างกาย(Whitehead, 1993) ที่สามารถนำไปตรวจ DNA ได้ ผู้กระทำความผิดมักทำลายหลักฐานที่เกิดขึ้นในสถานที่เกิดเหตุ โดยผู้กระทำผิดมักจะล้างมือมือหรือใส่ถุงมือ การใส่หน้ากากเพื่อปกปิดใบหน้า หรือแม้กระทั่งทำลายหลักฐานโดยการจุดไฟเผา และหลักฐานที่สำคัญที่มักพบในสถานที่เกิดเหตุคือ DNA ความร้อนเป็นส่วนสำคัญในการทำลายโปรตีนและเกิดการเสียสภาพขึ้น โดย DNA สามารถตรวจพบในสถานที่เกิดเหตุโดยเฉพาะคราบเลือดมักจะถูกความร้อนเผาไหม้หมด (James et al., 2005)

คราบเลือดเป็นสิ่งที่มักพบในสถานที่เกิดเหตุ ซึ่งการตรวจหารอยคราบเลือดในเบื้องต้นมีหลากหลายวิธีไม่ว่าจะเป็นเทคนิคการใช้ลูมินอล ซึ่งเป็นสารเคมีที่แสดงปฏิกิริยาเรืองแสงเมื่อทำปฏิกิริยากับเลือด(Barni et al., 2007) Hemastix หรือ TMB test เป็นการทดสอบคร่าวๆว่าคราบที่พบในสถานที่เกิดเหตุนั้นเป็นเลือดหรือไม่ โดยแผ่นพลาสติกที่เคลือบน้ำยาทดสอบจะไปทำปฏิกิริยากับฮีโมโกลบินแล้วเปลี่ยนเป็นสีเขียวจนถึงสีน้ำเงิน(Matheson & Veall, 2014) วิธี Kastle-Meyer Test เป็นการทดสอบว่าคราบที่พบในสถานที่เกิดเหตุนั้นเป็นคราบเลือดหรือไม่ โดยมีหลักการคือป้ายคราบที่จะทดสอบลงบน Cotton swab จากนั้นหยดสารละลาย Phenolphthalein ที่มีสีใสไปทำปฏิกิริยาออกซิเดชัน แล้วจะเปลี่ยนสีเป็นสีชมพู(Glaister, 1926)

Karolyn L. Tontarski et al. ได้ทำการจำลองสถานการณ์ไฟไหม้ในที่ พักอาศัย สถานที่แห่งนี้คือห้องปฏิบัติการ Fire Research Laboratory (FRL) ในรัฐแมริแลนด์ จากนั้นจึงได้ทำการจำลองหยดคราบเลือดตามสถานที่ต่างๆ การจำลองเหตุการณ์ไฟไหม้ โดยการเริ่มจากการจุดไฟเผาโซฟาเป็นระยะเวลา 300 วินาที จากนั้นจึงปล่อยทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 45 นาทีจึงเริ่มดับไฟ และได้มีการบันทึกอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดด้วย Thermal couplers การ เปลี่ยนแปลงหลังจากถูกเผาไหม้พบว่ายังคงพบรอยคราบเลือดที่ยังคงมองเห็นได้ นอกจากนี้ยังได้มีการกำจัดเขม่าที่เกิดขึ้นโดยใช้น้ำหรือแอลกอฮอลล์ จากนั้นจึงได้ใช้สารเคมีที่ใช้ทดสอบว่าเป็นคราบเลือดหรือไม่ โดยใช้สารเรืองแสง (Fluorescence), บลูสตาร์, ลูมินอล และ Hemastix เมื่อนำคราบเลือดที่พบในสถานที่เกิดเหตุมาตรวจ DNA พบว่าสามารถวัดอุณหภูมิได้ถึงแค่ 800°C ใน

อุณหภูมิมากกว่านี้จะไม่สามารถตรวจวัด DNA ได้ เนื่องจากโปรตีนเสียสภาพหมดแล้ว (Tontarski et al., 2009)

Peter Bilous et al. ได้ทำการนำเลือดสุนัขมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:10 ถึง 1:10,000 จากนั้นนำเลือดไป smear ที่กระจกสไลด์ปริมาณ 5 µl นำไปเผาเป็นเวลา 1, 3 และ 5 นาทีที่อุณหภูมิ 400-600℃ แล้วทดสอบด้วยลูมินอล บลูสตาร์ และ Hemascein จากการทดลองพบว่าลูมินอลจะให้แสงChemiluminescence-based ที่เสถียรและมีประสิทธิภาพเมื่อเทียบกับน้ำยาทดสอบชนิดอื่น(Bilous et al., 2010)

A. Klein et al.(2018) ได้ทำการนำวัสดุอุปกรณ์ที่มักใช้ในการก่ออาชญากรรมเช่น ค้อน, ไขควง, มีดพก เป็นต้น จากนั้นใช้แปรงทาเลือดลงบนวัตถุ นำไปให้ความร้อนในเครื่องจำลองการเผาไหม้ที่สามารถกำหนดอุณหภูมิได้ ซึ่งก็คืออุณหภูมิ 300, 700 และ 1,000℃ จากนั้นนำวัตถุที่ได้ไปทดสอบด้วยลูมินอล ผลจากการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิ 300℃ ยังพบคราบเลือดที่สามารถตรวจสอบได้ ที่อุณหภูมิ 700℃ ส่งผลให้เลือดมีการเปลี่ยนสีเข้มขึ้น นอกจากนี้นำคราบเลือดที่ถูกเผาที่อุณหภูมิ 1,000℃ พบว่ายังสามารถตรวจพบ DNA ได้ แต่มักจะพบเพียงเล็กน้อยเท่านั้น (Klein et al., 2018)

A. Klein et al.(2019) ได้ทำการเอา liquid latex หรือน้ำยางข้นมาใช้ในการหารอยคราบเลือดที่ถูกเผาไหม้ โดยนำเอาวัสดุอุปกรณ์ที่มักใช้ในการก่ออาชญากรรมเช่น ค้อน, ไขควง, มีดพก เป็นต้น มาทำการเผาที่อุณหภูมิ 300, 700 และ 1,000℃ จากนั้นชุดแรกนำไปเผาแล้วทาด้วยลูมินอล ชุดที่สองทดลองด้วยเลือดที่นำไปเผาแล้วทาด้วย liquid latex ตามด้วยลูมินอล จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่า liquid latex มีความสามารถในการเพิ่มอัตราการเรืองแสงของลูมินอลได้ (Klein et al., 2019)

ปัจจุบันวิทยานิพนธ์ทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ที่ศึกษาเกี่ยวกับรอยคราบเลือดที่ถูกให้ความร้อนยังไม่เป็นที่นิยมมากนัก(Chi, 2012) เนื่องจากการเตรียมการทดลองเป็นไปได้ยาก ต้องใช้ทรัพยากรในการจำลองการเผาไหม้เยอะ และหากทำการทดลองในสถานที่จริงต้องขออนุญาตที่จะใช้สถานที่เพื่อบันทึกข้อมูลต่างๆในงานวิจัย ทั้งนี้ต้องพึงระวังในเรื่องของจริยธรรมในการวิจัยสำหรับการบันทึกข้อมูลเนื่องจากเป็นเหตุคดีเพลิงไหม้หรือคดีฆาตกรรมที่มีการวางเพลิงเพื่อทำลายหลักฐานนั้นเป็นเรื่องที่มีความละเอียดอ่อน(Chi, 2013) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการทดลองคราบเลือดที่ถูกให้ความร้อนลงบนพื้นผิวต่างๆเช่นแผ่นแก้ว แผ่นสแตนเลส กระเบื้องปูพื้นและแผ่นสังกะสี เพื่อความง่ายต่อการจำลองสถานการณ์ การลดงบประมาณในการทดลอง และเพื่อความสะดวกในการวัดและการเก็บข้อมูล

จากความสำคัญดังกล่าวข้างต้น ผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาการหาการตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดหลังจากผ่านความร้อนบนพื้นผิวต่างๆ โดยใช้วิธีทดสอบด้วยลูมินอลเพื่อการหาร่องรอยคราบเลือดเบื้องต้น แล้วนำผลที่ได้มาวิเคราะห์ว่าคราบเลือดที่พื้นผิวต่างๆซึ่งเป็นพื้นผิวที่มักพบในสถานที่เกิดเหตุสามารถทำปฏิกิริยากับลูมินอลแตกต่างกันอย่างไร อุณหภูมิและเวลามีผลกับการคงอยู่ของคราบเลือดหรือไม่

1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดหลังจากผ่านความร้อนบนพื้นผิวแผ่นแก้ว, แผ่นสแตนเลส, กระเบื้องปูพื้น และแผ่นสังกะสีโดยวิธีลูมินอล

1.2.2. เพื่อศึกษาการตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดหลังจากผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C, 150°C, 200°C, 250°C, 300°C, 350°C, 400°C และ 500°C โดยวิธีลูมินอล

1.2.3. เพื่อศึกษาการตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดหลังจากผ่านความร้อนเป็นระยะเวลา 5, 15, 30 และ 60 นาทีโดยวิธีลูมินอล

1.3 สมมติฐานการวิจัย

1.3.1 พื้นผิว อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนที่แตกต่างกัน มีผลต่อการตรวจหาคราบเลือดที่แตกต่างกัน

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

1.4.1 ขอบเขตด้านตัวแปร

ตัวแปรต้น ได้แก่

1. ลักษณะพื้นผิว เช่น แผ่นแก้ว แผ่นสแตนเลส กระเบื้องปูพื้น และแผ่นสังกะสี
2. ระยะเวลาที่ให้ความร้อน ได้แก่ 5, 15, 30 และ 60 นาที
3. อุณหภูมิที่ใช้ในการให้ความร้อน 100°C, 150°C, 200°C, 250°C, 300°C, 350°C, 400 °C และ 500°C

ตัวแปรตาม ได้แก่ การคงอยู่ของคราบเลือด

ตัวแปรควบคุม ได้แก่ ระยะเวลาที่ทิ้งให้คราบเลือดแห้ง จำนวนและปริมาณหยดเลือดที่ใช้หยดบนพื้นผิว

1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ

1.5.1 คราบเลือด (Bloodstain) คือรอยเลือดที่เกิดการแข็งตัว ซึ่งเลือดประกอบด้วยน้ำเลือด เกล็ดเลือด เซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดขาว

1.5.2 Deoxyribonucleic Acid (DNA) คือสารพันธุกรรมที่อยู่ในนิวเคลียสของเซลล์ สามารถนำมาตรวจเพื่อระบุอัตลักษณ์เฉพาะบุคคลได้

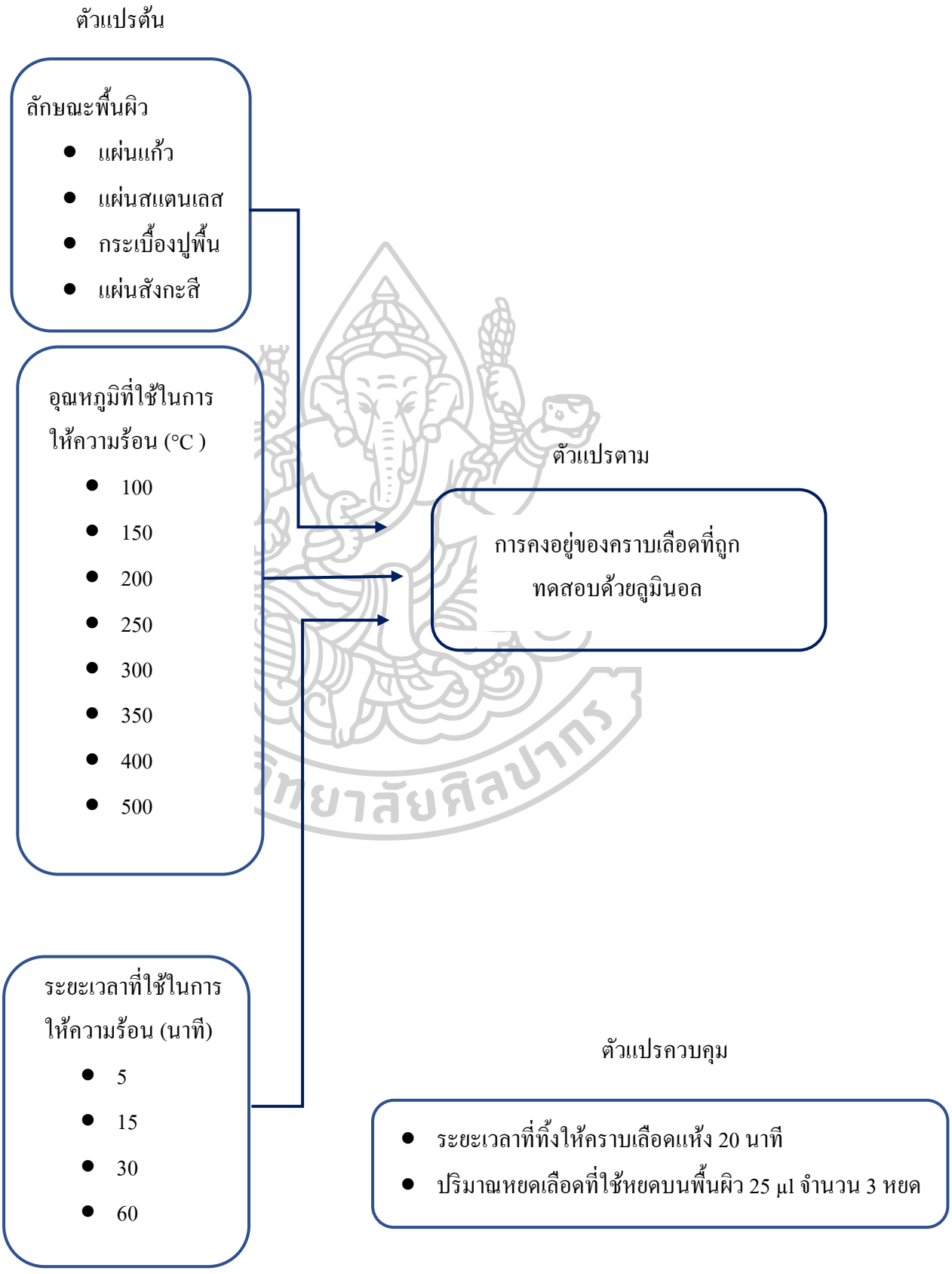
1.5.3 ลูมินอล คือสารที่ใช้ตรวจสอบคราบเลือด โดยที่ลูมินอลจะไปจับกับฮีโมโกลบินที่อยู่ในเลือด แล้วเกิดการเรืองแสง

1.5.4 Thermal exposure คือการให้ความร้อนหรือการสัมผัสกับความร้อน

1.5.5 การถ่ายเทความร้อน(Thermal transfer) คือ กระบวนการของการเคลื่อนที่ของพลังงานเนื่องจากความแตกต่างของอุณหภูมิ

มหาวิทยาลัยศิลปากร

1.6 กรอบแนวคิดในการวิจัย



1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

การวิจัยในครั้งนี้จะก่อให้เกิดประโยชน์ทั้งในด้านเชิงวิชาการ และทางด้านการประยุกต์ใช้ทางนิติวิทยาศาสตร์ดังนี้

1.6.1 ประโยชน์ทางด้านเชิงวิชาการ

1) เพื่อให้ทราบถึงหลักการของการตรวจสอบคราบเลือดด้วยวิธีต่างๆทั้งทางเคมีและทางกายภาพ

2) นำองค์ความรู้ที่ได้ไปใช้อ้างอิงต่อยอดวิจัยครั้งต่อไปเพื่อเป็นแนวทางให้กับผู้ที่สนใจเกี่ยวกับการทดสอบรอยคราบเลือดหลังถูกให้ความร้อน

1.6.2 ประโยชน์ทางด้านการประยุกต์ใช้ทางนิติวิทยาศาสตร์

1) เพื่อเป็นแนวทางในการตรวจสอบการคงอยู่ของคราบเลือดที่ถูกให้ความร้อน และนำไปประยุกต์ใช้ในคดีเกี่ยวกับเพลิงไหม้สำหรับตำรวจพิสูจน์หลักฐานและนักนิติวิทยาศาสตร์

2) เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาการตรวจเก็บรอยคราบเลือดที่ถูกให้ความร้อน เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ต่อยอดในงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ หรือเหตุคดีเกี่ยวกับเพลิงไหม้

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 2
วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

การดำเนินงานในบทนี้ เป็นการประมวลและสังเคราะห์ แนวคิด ทฤษฎีสำคัญเกี่ยวกับเลือด การตรวจสอบคราบเลือด คุณสมบัติเกี่ยวกับพื้นผิวที่ใช้ในการทดลอง ความร้อน รวมทั้งงานวิจัยต่างๆ เพื่อเป็นพื้นฐานในการสร้างความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการวิจัยและเป็นประโยชน์ในการกำหนดกรอบแนวคิดเบื้องต้นของการวิจัย ซึ่งแบ่งการนำเสนอเป็นหัวข้อโดยสรุปสาระครอบคลุมประเด็นการศึกษา ดังนี้

2.1 เลือดและองค์ประกอบของเลือด

2.2 การตรวจสอบคราบเลือด

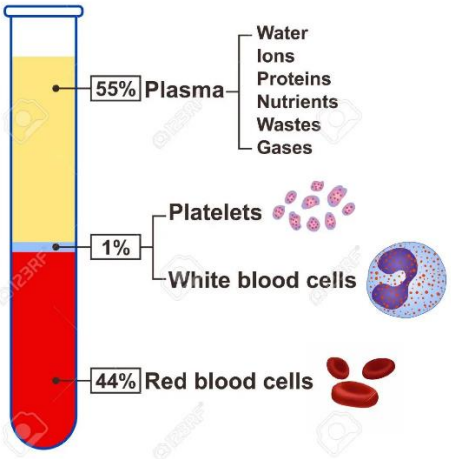
2.3 คุณสมบัติเกี่ยวกับพื้นผิว

2.4 ความร้อน

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เลือดและองค์ประกอบของเลือด

เลือดคือของเหลวที่อยู่ภายในร่างกาย ในร่างกายของมนุษย์จะมีเลือดประมาณ 4-6 ลิตร ในเลือดประกอบด้วยพลาสมา เซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดขาว และเกล็ดเลือด ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 องค์ประกอบของเลือด

ที่มา : zero chen, Components of blood, เข้าถึงเมื่อ 8 เมษายน 2565, เข้าถึงได้จาก https://www.123rf.com/photo_127327901_components-of-blood.html

องค์ประกอบของเลือด

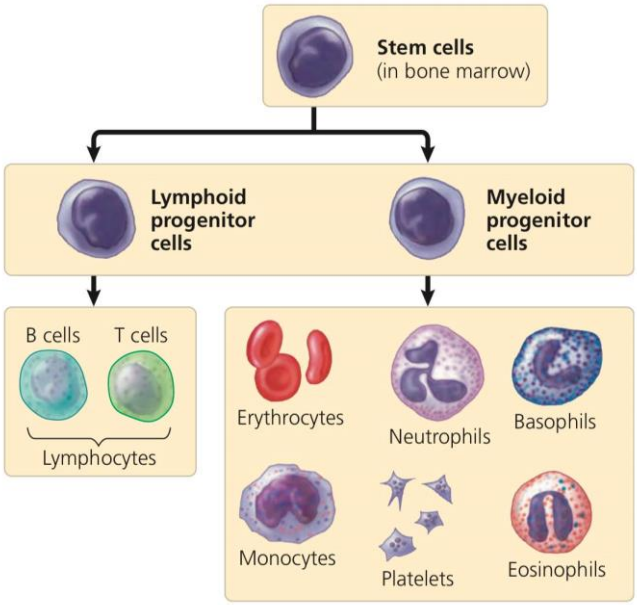
1) พลาสมา หรือน้ำเลือดคือ ส่วนประกอบของเลือดมีลักษณะเป็นของเหลวสีเหลืองใส คิดเป็น 55% ในเลือด ประกอบด้วยน้ำ โปรตีน ไอออน และอื่นๆ ไอออนในพลาสมาเหล่านี้มีหน้าที่สำคัญในการทำงานของกล้ามเนื้อและเส้นประสาท โปรตีนในพลาสมา เช่น ไฟบริโนเจนทำให้เลือดแข็งตัว ช่วยอุดรอยรั่วเมื่อเมื่อหลอดเลือดเสียหาย

2) เซลล์เม็ดเลือดแดง ทำหน้าที่ขนส่งออกซิเจน เม็ดเลือดแดงของมนุษย์มีลักษณะเป็นทรงกลมแบน มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 7-8 ไมโครเมตร ตรงกลางเว้าบุบเพื่อการขนส่งออกซิเจน ภายในเม็ดเลือดแดงมีสารที่ชื่อฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) ประมาณ 250 ล้านโมเลกุล เนื่องจากแต่ละโมเลกุลของฮีโมโกลบินจับกับออกซิเจนได้ถึงสี่โมเลกุล ดังนั้นเม็ดเลือดแดงหนึ่งเซลล์จึงสามารถขนส่งโมเลกุลของออกซิเจนได้ถึง 1 พันล้านโมเลกุล

เมื่อเม็ดเลือดแดงเคลื่อนผ่านหลอดเลือดฝอยของปอด เหงือก หรืออวัยวะที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินหายใจอื่นๆ ออกซิเจนจะแพร่กระจายไปยังเม็ดเลือดแดงและจับกับฮีโมโกลบิน

3) เกล็ดเลือด เป็นชิ้นส่วนของไซโทพลาสซึมที่ถูกบีบออกของเซลล์ไขกระดูก มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-3 ไมโครเมตรและไม่มีนิวเคลียส ทำหน้าที่ป้องกันเลือดไหลออกจากหลอดเลือด และช่วยให้เลือดหยุดไหลจากบาดแผล

4) เซลล์เม็ดเลือดขาว มีทั้งหมด 5 ประเภทคือ Basophils, Lymphocytes, Eosinophils, Neutrophils และ Monocytes เซลล์เม็ดเลือดขาวมีหน้าที่ในการต่อสู้กับเชื้อโรค บางชนิดเป็นฟาโกไซติกที่สามารถดูดกลืนและย่อยสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กและเศษซากเซลล์ที่ตายแล้วของร่างกาย เม็ดเลือดขาวประเภท Lymphocytes มีภูมิคุ้มกันต่อสารแปลกปลอม โดยปกติเลือดมนุษย์ 1 ไมโครลิตรประกอบด้วยเม็ดเลือดขาวประมาณ 5,000-10,000 เซลล์ จะเพิ่มขึ้นชั่วคราวเมื่อมีสิ่งแปลกปลอมเข้ามาในร่างกายหรือมีการติดเชื้อ (McDougal et al., 2015)



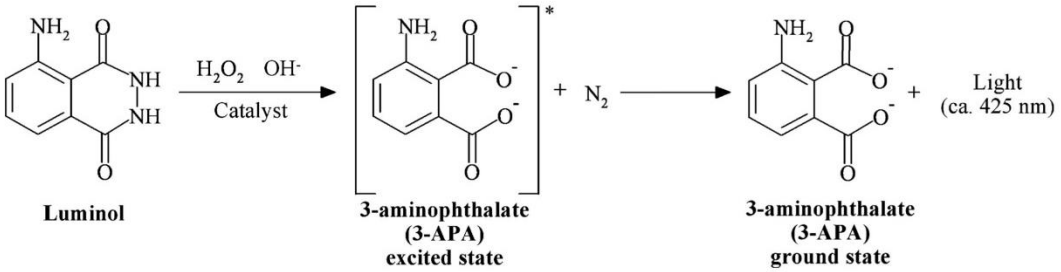
ภาพที่ 2 ความแตกต่างของเซลล์เม็ดเลือดการแบ่งตัวของ Stem cells ในไขกระดูกทำให้เกิดเซลล์สองชุด เซลล์ต้นกำเนิดต่อมน้ำเหลืองก่อให้เกิดเซลล์เม็ดเลือดขาวที่เรียกว่า Lymphocytes เซลล์ต้นกำเนิดจาก Myeloid ก่อให้เกิดเซลล์เม็ดเลือดขาวอื่นๆ เซลล์เม็ดเลือดแดง และชิ้นส่วนของเซลล์ที่เรียกว่าเกล็ดเลือด

ที่มา : Lachina. (2017). Campbell Biology 11th Edition. New York: Pearson Education

2.2 การตรวจสอบคราบเลือด

Luminol Test

ลูมินอล เป็นสารเคมีที่แสดงปฏิกิริยาเรืองแสง มีสูตรทางเคมีคือ $C_8H_7N_3O_2$ นักนิติวิทยาศาสตร์มักจะใช้ลูมินอลในการตรวจหาร่องรอยของเลือดในที่เกิดเหตุ ในเลือดจะมีธาตุเหล็กซึ่งอยู่ในฮีโมโกลบินเพื่อเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Catalyst) โดยสารละลายลูมินอลจะทำปฏิกิริยากับ Hydroxide ion (OH^-) และ Hydrogen peroxide (H_2O_2) กลายเป็น 3-aminophthalate ซึ่งอยู่ในสถานะ Excited state หรือสถานะกระตุ้น ที่สถานะนี้อะตอมจะไม่เสถียร จึงปลดปล่อยพลังงานออกมาเพื่อให้อะตอมเสถียรและอยู่ในสถานะ Ground state ซึ่งพลังงานที่ปลดปล่อยออกมานั้นอยู่ในรูปของพลังงานแสง หรือแสงสีฟ้าที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าดังภาพที่ 10 มีความยาวคลื่น 425 นาโนเมตรนั่นเอง (Barni et al., 2007)



ภาพที่ 3 สมการปฏิกิริยาของสารละลายลูมินอลกับเลือด

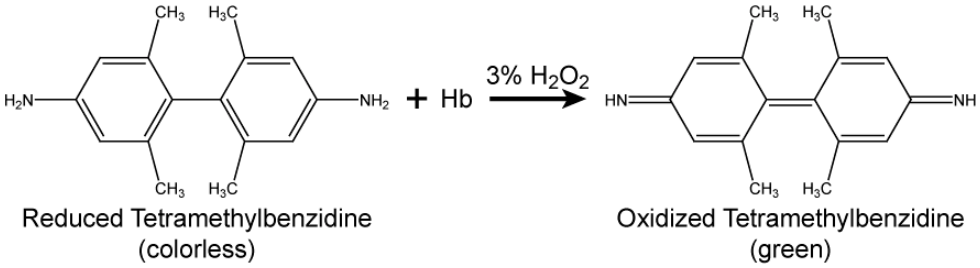
ที่มา : “Forensic application of the luminol reaction as a presumptive test for latent blood detection,” by F. Barni et al, 2007, Talanta , 72, 896-913.

คราบเลือดที่หยดลงบนพื้นผิวที่แตกต่างกัน มีผลต่อการทำปฏิกิริยาของลูมินอล สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือพื้นผิวที่มีรูพรุนและพื้นผิวที่ไม่มีรูพรุน พื้นผิวที่มีรูพรุน ยกตัวอย่างเช่น แผ่นไม้ ผนัง ยาแนวกระเบื้อง มีลักษณะดูดซับและกักเก็บเลือดไว้ได้ แม้จะถูกขัดหรือถูออกก็ตาม นอกจากนี้วัสดุที่สามารถดูดซับเลือดได้ดี เช่น พรม เสื้อผ้าเครื่องหนัง ผ้า บุหลังคา หรือผ้าห่ม วัสดุเหล่านี้มักสามารถกักเก็บเลือดไว้ได้เป็นจำนวนมาก โดยไม่มีการสลายตัวจึงมักทำปฏิกิริยากับลูมินอลได้ดี ในสภาพแวดล้อมภายในบ้านหรือในที่ร่มมักจะทำให้เลือดไม่ถูกทำลายจากสิ่งแวดล้อมทางกายภาพหรือทางเคมี เช่น แสงอาทิตย์ ความชื้นและน้ำ หรือแม้กระทั่งการทำลายหลักฐานโดยการทำความสะอาด ชะล้างเลือดหลังจากก่อเหตุอาชญากรรม

พื้นผิวที่ไม่มีรูพรุนคือพื้นผิวที่ไม่ดูดซับเลือด เช่น เสื่อน้ำมัน ไวนิล แก้ว โลหะและอื่นๆ พื้นผิวเหล่านี้ ตรวจสอบคราบเลือดด้วยลูมินอลยาก เนื่องจากไม่สามารถกักเก็บเลือดได้ นอกจากนี้พื้นผิวที่ไม่มีรูพรุนค่อนข้างทำความสะอาดง่าย แม้ล้างเบาๆด้วยน้ำหรือสบู่ก็สามารถชะล้างคราบเลือดไปได้

Hemastix® (3,3’,5,5’-tetramethylbenzidine หรือ TMB) Test

เป็นวิธีการทดสอบคร่าวๆว่าคราบที่พบในสถานที่เกิดเหตุนั้นเป็นเลือดหรือไม่ โดยแผ่นพลาสติกที่เคลือบน้ำยาทดสอบจะไปทำปฏิกิริยากับฮีโมโกลบินแล้วเป็นเป็นสีเขียวจนถึงสีน้ำเงินเข้ม การทดสอบนี้ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างเลือดมนุษย์หรือเลือดสัตว์ได้ (Matheson & Veall, 2014)

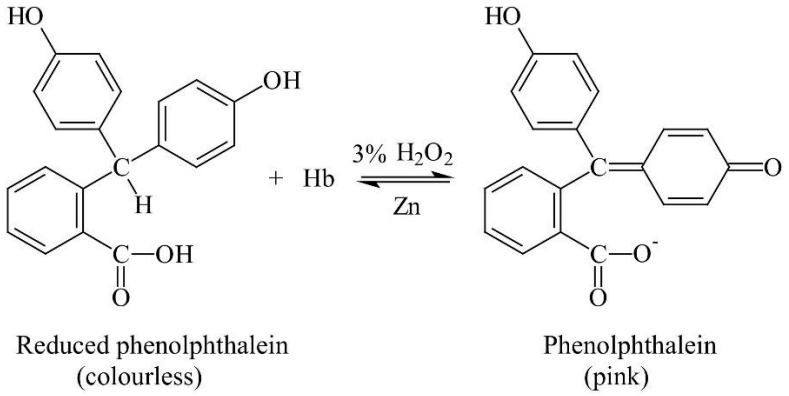


ภาพที่ 4 สมการ Tetramethylbenzidine เมื่อทำปฏิกิริยากับเลือด

ที่มา : Aldous Preston, Forensic Biology Screening Workshop, เข้าถึงเมื่อ 10 เมษายน 2565, เข้าถึงได้จาก https://slideplayer.com/slide/4462911/

Kastle-Meyer Test

วิธี Kastle-Meyer Test เป็นการทดสอบว่าคราบที่พบในสถานที่เกิดเหตุนั้นเป็นคราบเลือดหรือไม่ โดยมีหลักการคือป้ายคราบที่จะทดสอบลงบน Cotton swab จากนั้นหยดสารละลาย Phenolphthalein ที่มีสีใสไปทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับเหล็กที่อยู่ในฮีโมโกลบินแล้วจะเปลี่ยนสีเป็นสีชมพู (Glaister, 1926)



ภาพที่ 5 สมการสารละลาย Phenolphthalein ที่ทำปฏิกิริยากับเลือด

ที่มา : H. Wansbrough, Oxidation of reduced phenolphthalein by hemoglobin and peroxide, เข้าถึงเมื่อ 10 เมษายน 2565, เข้าถึงได้จาก https://docplayer.net/storage/30/14283383/1649530936/EeYKRuPdq1RpzRpZ3k_obw/14283383.pdf

Amido test

สาร Amido Black เป็นสารละลายสีย้อมโปรตีน ซึ่งไวต่อโปรตีนในเลือดและจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินดำ ควรใช้เฉพาะในกรณีที่งานพิมพ์แฝงที่เปื้อนเลือด การใช้สารละลายนี้ไม่ใช่การทดสอบเลือดที่แม่นตรงนักเพราะอาจทำปฏิกิริยาอื่นที่ไม่จำเพาะเจาะจงกับเลือด (Sears & Prizeman, 2000)

2.3 คุณสมบัติเกี่ยวกับพื้นผิว

แผ่นแก้ว

ผลิตจากแก้วคุณภาพสูง แก้วเป็นวัสดุอนินทรีย์ที่เป็นของแข็งซึ่งมีโครงสร้างอะตอมของของเหลว เกิดขึ้นจากการทำให้ของเหลวหลอมเหลวเย็นลง เพื่อป้องกันไม่ให้อะตอมเรียงตัวกันเป็นผลึก ในการทำให้ของเหลวที่ขึ้นรูปเป็นแก้วเย็นลง ของเหลวจะแข็งตัวอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งอะตอมจับตัวกันเป็นก้อน คล้ายกับเมื่ออยู่ในสถานะของไหล แก้วมีความแข็งและเปราะและมักจะโปร่งใสหรือโปร่งแสง แก้วประเภทต่างๆแตกต่างกันในองค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพ แม้ว่าส่วนใหญ่จะมีคุณสมบัติเหมือนกัน

แก้วที่มนุษย์สร้างขึ้นทั้งหมดจะผ่านขั้นตอนที่มีความหนืด เมื่อเย็นตัวลงจากสถานะของไหล สีจะเกิดขึ้นเมื่อผสมแก้วกับออกไซด์ของโลหะบางชนิด เมื่ออากาศเย็น แก้วจะเป็นสื่อนำไฟฟ้าและความร้อนได้ไม่ดี แก้วส่วนใหญ่แตกง่ายเมื่อถูกกระแทกหรือกระแทก แม้ว่าโดยทั่วไปจะทนทานต่อตัวทำละลายทั่วไป แต่แก้วส่วนใหญ่จะทำปฏิกิริยาเมื่อสัมผัสกับกรดไฮโดรฟลูออริก ครอบคลุมเครื่องใช้บนโต๊ะอาหาร ภาชนะ หลอด แท่ง แก้วแบน และไฟเบอร์กลาส ผลิตภัณฑ์แก้วแบบดั้งเดิมทั้งหมดทำจากแก้วที่เกิดจากกระบวนการหลอม (Deubener et al., 2018)

แผ่นสแตนเลส

คือ โลหะผสมเหล็กที่มีโครเมียมอย่างน้อย 12% ที่มีหรือไม่มีนิกเกิล ซึ่งไม่เป็นสนิมในน้ำทะเล มีความทนทานต่อกรดเข้มข้นและทนความร้อนที่อุณหภูมิสูงถึง 1100℃ สแตนเลสมาจากตระกูลวัสดุที่ต้านทานการกัดกร่อนและการเกิดออกซิเดชันซึ่งทำให้ต้านทานสนิมได้ เมื่อสัมผัสกับออกซิเจนและความชื้นสแตนเลสไร้สนิมจะสร้างฟิล์มออกไซด์ที่ป้องกันโลหะจากการกัดกร่อน แต่เมื่อเวลาผ่านไปสแตนเลสก็สามารถกัดกร่อนได้ เพื่อรักษาสภาพควรทำความสะอาดพื้นผิวอย่างสม่ำเสมอและตรวจสอบให้แน่ใจว่าเหล็กมีออกซิเจนเพียงพอ (Dutta, 2018)

กระเบื้องปูพื้น

ทำจากดินเหนียวโดยนำไปเผาที่อุณหภูมิสูงแล้วเคลือบด้วยหินควอตซ์หรือหินบะซอลต์ที่แข็งแรง มีขั้นตอนหลักดังนี้

- เตรียมส่วนผสม
- ระยะการก่อตัวของดินเหนียว
- ระยะทำให้แห้ง
- การเผา

กระเบื้องเซรามิกมีความทนทานและน้ำหนักเบากว่าพื้นกระเบื้องพอร์ซเลนหรือหินจริง ดูแลรักษาง่าย มีความเรียบและไม่มีรูพรุน เนื่องจากความทนทานและทนต่อความชื้น (Framinan et al., 2014)

แผ่นสังกะสี

คือ เหล็กที่เคลือบด้วยสังกะสีโดยวิธี hot dip galvanizing เพื่อป้องกันการเกิดสนิม เป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้กันแพร่หลายมากที่สุด มักนำไปใช้ในงานที่ต้องการความทนทานต่อการกัดกร่อนสูง เช่นท่อระบายน้ำบนทางหลวง ในอุตสาหกรรมยานยนต์ (Tobiyama & Abotani, 2004)

2.4 ความร้อน

การถ่ายเทความร้อนคือ กระบวนการของการเคลื่อนที่ของพลังงานเนื่องจากความแตกต่างของอุณหภูมิ แบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือ

1. การนำความร้อน (Conduction) ในระดับอะตอมและโมเลกุลคือการถ่ายโอนพลังงานจากอนุภาคที่มีพลังงานมากไปยังอนุภาคที่มีพลังงานน้อย การนำความร้อนจะเกิดขึ้นในของแข็งของเหลว หรือก๊าซ

2. การพาความร้อน (Convection) คือการถ่ายเทความร้อนเนื่องจากการเคลื่อนที่ของของไหล การพาความร้อนใช้ได้กับการถ่ายเทความร้อนในของไหลหรือระหว่างของแข็งและของไหลเท่านั้น เมื่อสสารได้รับความร้อนจะมีการขยายตัวของปริมาตรเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้สสารนั้นมีความหนาแน่นลดลงและสสารที่มีอุณหภูมิต่ำกว่าซึ่งมีความหนาแน่นสูงกว่าก็จะลงมาแทนที่

3. การแผ่รังสีความร้อน (Radiation) คือการถ่ายโอนพลังงานเนื่องจากคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าเมื่อพลังงานความร้อนถูกเปลี่ยนโดยการเคลื่อนที่ของประจุของอิเล็กตรอนและโปรตอน (Harding, 2018)

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Karolyn L. Tontarski et al. ได้ทำการจำลองสถานการณ์ไฟไหม้ในที่ พักอาศัย สถานที่แห่งนี้คือห้องปฏิบัติการ Fire Research Laboratory (FRL) ในรัฐแมริแลนด์ จากนั้นจึงได้ทำการจำลองหยดคราบเลือดตามสถานที่ต่างๆ การจำลองเหตุการณ์ไฟไหม้ โดยการเริ่มจากการจุดไฟเผาโซฟาเป็นระยะเวลา 300 วินาที จากนั้นจึงปล่อยทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 45 นาทีจึงเริ่มดับไฟและได้มีการบันทึกอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดด้วย Thermal couplers

การเปลี่ยนแปลงหลังจากถูกเผาไหม้พบว่ายังคงพบรอยคราบเลือดที่ยังคงมองเห็นได้ นอกจากนี้ยังได้มีการกำจัดเขม่าที่เกิดขึ้นโดยใช้น้ำหรือแอลกอฮอลล์ จากนั้นจึงได้ใช้สารเคมีที่ใช้ทดสอบว่าเป็นคราบเลือดหรือไม่ โดยใช้สารเรืองแสง (Fluorescence), บลูสตาร์, ลูมินอล และ Hemastix เมื่อนำคราบเลือดที่พบในสถานที่เกิดเหตุมาตรวจ DNA พบว่าสามารถวัดอุณหภูมิได้ถึงแค่ 800℃ ในอุณหภูมิมากกว่านี้จะไม่สามารถตรวจวัด DNA ได้ เนื่องจากโปรตีนเสียสภาพหมดแล้ว (Tontarski et al., 2009)

Peter Bilous et al. ได้ทำการนำเลือดสุนัขมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:10 ถึง 1:10,000 จากนั้นนำเลือดไป smear ที่กระจกสไลด์ปริมาณ 5 µl นำไปเผาเป็นเวลา 1, 3 และ 5 นาที ที่อุณหภูมิ 400-600℃ แล้วทดสอบด้วยลูมินอล บลูสตาร์ และ Hemascein จากการทดลอง พบว่าลูมินอลจะให้แสงChemiluminescence-based ที่เสถียรและมีประสิทธิภาพเมื่อเทียบกับน้ำยาทดสอบชนิดอื่น (Bilous et al., 2010)

A. Klein et al.(2018) ได้ทำการนำวัสดุอุปกรณ์ที่มักใช้ในการก่ออาชญากรรมเช่น ค้อน, ไขควง, มีดพก, กระเบื้องหิน, กระเบื้องเรียบ, เครื่องลายคราม, กระเบื้องหลังคา, ขวดแก้ว, ท่อทองแดง , ท่อเหล็กหล่อ และรองเท้า นำไปให้ความร้อนในเครื่องจำลองการเผาไหม้ที่สามารถกำหนดอุณหภูมิได้ ซึ่งก็คืออุณหภูมิ 300, 700 และ 1,000℃ จากนั้นนำวัสดุที่ได้ไปทดสอบด้วยลูมินอล

ผลจากการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิ 300℃ วัสดุสามารถเรืองแสงได้ในที่มืด เลือดเปราะและลอกออกเป็นส่วนๆ สังเกตเห็นคราบเขม่าเล็กน้อยบนกระเบื้อง กระเบื้องมุงหลังคาและเครื่องลายคราม ส่วนรองเท้ามีร่องรอยการไหม้เกรียมและละลายเล็กน้อย

การเผาไหม้ที่อุณหภูมิ 700℃ ส่งผลให้เลือดมีการเปลี่ยนสีเข้มขึ้น รวมทั้งคราบเขม่าที่เพิ่มขึ้นบนพื้นผิวกระเบื้องเรียบ กระเบื้องมุงหลังคาและเครื่องลายคราม ด้ามไม้ของค้อนและมีดพกไหม้เกรียม ด้ามพลาสติกของไขควงเสียรูปเล็กน้อย

การเผาไหม้ที่อุณหภูมิ 1,000°C ทำให้เกิดการไหม้ที่สมบูรณ์ของชิ้นส่วนที่เป็นไม้รวมไปถึงด้ามจับของค้อนที่ทำมาจากไม้ ที่จับของไขควงก็ไหม้และละลายบางส่วนเช่นกัน ไม่สามารถตรวจพบเลือดได้เนื่องจากการเปลี่ยนสีที่มืดจัดโดยเฉพาะอย่างยิ่งบนพื้นผิวที่ไหม้ ตัวอย่างรองเท้าไหม้ทั้งหมด ท่อทองแดงจากการทดสอบที่อุณหภูมิ 300°C เป็นวัตถุชนิดเดียวที่ไม่เปล่งแสงหลังทดสอบด้วยลูมินอล สาเหตุอาจเป็นเพราะว่าพื้นผิวของท่อทองแดงเรียบมาก ตรงกันข้ามกับกระเบื้องเรียบจะไม่มีการรวมตัวของเลือดบนท่อ ชั้นเลือดบางๆที่เกิดจากเลือดที่ไหลออกมาด้านข้างอาจไหม้บนทองแดงจนหมด ซึ่งเป็นที่รู้จักกันดีในเรื่องการนำความร้อนที่มากกว่า นอกจากนี้ยังสามารถตรวจ DNA ที่อุณหภูมิ 1,000°C ได้ แต่มักจะพบเพียงเล็กน้อยเท่านั้น (Klein et al., 2018)

Anke Klein et al.(2019) ได้ทำการเอา liquid latex หรือน้ำยางข้นมาใช้ในการหารอยคราบเลือดที่ถูกเผาไหม้ โดยจะนำเอาวัสดุอุปกรณ์ที่มักใช้ในการก่ออาชญากรรมเช่น ค้อน, ไขควง, มีดพก, กระเบื้องหิน, กระเบื้องเรียบ, เครื่องลายคราม, กระเบื้องหลังคา, ขวดแก้ว, ท่อทองแดง, ท่อเหล็กหล่อ และรองเท้าหนัง มาทำการเผาที่อุณหภูมิ 300, 700 และ 1,000°C จากนั้นแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุด ชุดที่หนึ่งทดลองด้วยเลือดที่นำไปเผาแล้วทาด้วยลูมินอล ชุดที่สองทดลองด้วยเลือดที่นำไปเผาแล้วทาด้วย liquid latex ตามด้วยลูมินอล ชุดที่สามเป็นตัวอย่างอ้างอิงที่ไม่มีเลือด ซึ่ง liquid latex มีความสามารถในการขจัดเขม่าที่มาจากการเผาไหม้บริเวณรอบๆตัวอย่าง

ผลจากการทดลองในการทดลองชุดที่สองเทียบกับการทดลองชุดที่หนึ่งพบว่าความเข้มแสงการส่องสว่างของลูมินอลไม่เปลี่ยนแปลง 64% มีความเข้มเพิ่มขึ้นเทียบกับชุดที่หนึ่ง 30% มีความเข้มลดลงเทียบกับชุดที่หนึ่ง 6% จากการเปรียบเทียบการทดลองชุดที่หนึ่ง (ทาด้วยลูมินอล) กับการทดลองชุดที่สอง (ทาด้วย liquid latex แล้วตามด้วยลูมินอล) พบว่าตัวอย่างที่ทาด้วยลูมินอลเพียงอย่างเดียวมีอัตราการเรืองแสง 66% หรือ 22 จาก 33 ตัวอย่าง ตัวอย่างที่ทาด้วย liquid latex แล้วตามด้วยลูมินอลจะมีอัตราการเรืองแสง 88% หรือ 58 จาก 66 ตัวอย่าง กล่าวโดยสรุปคือ liquid latex มีความสามารถในการเพิ่มอัตราการเรืองแสงของลูมินอลได้ (Klein et al., 2019)

Bethany A. J. Larkin et al. ได้ทำการศึกษาการให้ความร้อนแก่เลือดจากการวิเคราะห์การกระเซ็นของเลือด (Bloodstain Pattern Analysis) ทำการหยดเลือดด้วย micropipette ปริมาณ 48 µl และ 67 µl นำไปให้ความร้อนด้วยเครื่อง furnace ที่อุณหภูมิ 40°C -250°C โดยกำหนดให้หยดเลือดที่ความสูง 30.5, 60.9, 91.4 และ 121.9 cm เลือดประกอบด้วยน้ำ 83% การให้ความร้อนแก่เลือดจึงมีลักษณะเดียวกับการให้ความร้อนแก่น้ำ การให้ความร้อนแก่เลือดจะแบ่งออกเป็น 4 ช่วงคือ

1. Natural convection (ที่อุณหภูมิห้อง)
2. Nucleation-boiling regime
3. Transition-boiling regime
4. Film-boiling regime

จากการทดลองพบว่าการหยดเลือดที่อุณหภูมิห้อง คราบเลือดจะมีลักษณะเป็นวงกลม เมื่อทำการให้ความร้อนจะเข้าสู่ช่วง Nucleation-boiling คราบเลือดจะมีลักษณะเป็นวงกลม กึ่งกลางวงยื่นสูงขึ้นเนื่องจากเกิดฟองอากาศบนพื้นผิวเลือด ในช่วงนี้จะเกิดวงแหวนขึ้น จำนวนวงแหวนแปรผันตรงกับอุณหภูมิที่ใช้ในการให้ความร้อน กล่าวคือเมื่อให้ความร้อนแก่คราบเลือดอุณหภูมิสูงขึ้น จำนวนวงแหวนที่เกิดขึ้นก็จะมากขึ้น หลังจากผ่านไประยะหนึ่งจะเข้าสู่ช่วง Transition-boiling ฟองอากาศในเลือดจะลอยตัวสูงขึ้นและจะระเหยไปจนหมด ทำให้ตรงกลางของหยดเลือดยุบตัวลง จนเมื่อเข้าสู่ช่วง Film-boiling คราบเลือดจะเกิดการเกาะตัวกลายเป็นฟิล์ม

นอกจากนี้จากการทดลองยังพบว่าในช่วง Nucleation-boiling เกิดวงแหวน 5 วงเมื่อให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิที่ 90°C และทำการหยดที่ความสูง 121.9 และ 91.4 cm (Larkin & Banks, 2013)

Shubham Yadav et al. ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการหาเอกลักษณ์ของคราบเลือดบนเศษผ้าที่ถูกเผา โดยใช้เทคนิค FTIR ทำการหยดเลือดบนผ้า 3 ชนิดคือ ผ้าฝ้าย ผ้าไนลอน และ ผ้าฝ้ายผสมไนลอน นำไปเผาด้วยเครื่อง muffle furnace ที่อุณหภูมิ 500°C ถึง 1000°C หลังการเผานำตัวอย่างวางทิ้งไว้ให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปทดสอบด้วยลูมินอลและBenzidine นำตัวอย่างและผลที่ได้ไปวิเคราะห์ข้อมูลด้วยเครื่อง FTIR-Spectrometer จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่า

1. การทดสอบหาคราบเลือดบนเศษผ้าที่ถูกเผาไหม้โดยใช้ลูมินอลมีประสิทธิภาพกว่าการทดสอบด้วย Benzidine

2. เทคนิค FTIR-Spectroscopy สามารถใช้ในการหาเอกลักษณ์ของคราบเลือดบนเศษผ้าที่ถูกเผาไหม้ได้ (Yadav et al.)

Christopher Luche et al. ได้ทำการศึกษาการกำจัดเขม่าของคราบเลือดในคดีเพลิงไหม้ โดยใช้ Liquid latex มีจุดมุ่งหมายคือต้องการวัดรายละเอียดคราบเลือดก่อนหรือหลังการใช้ Liquid latex โดยจะทำการหยดเลือดลงบนพื้นผิวที่พบได้โดยทั่วไปคือ แก้ว กระเบื้องเซรามิก กระเบื้องไวนิล พื้นไม้ลามิเนต สีเคลือบเงา กระดาษบุผนัง สีทาบ้านแบบด้าน จากการทดลองพบว่า Liquid latex

สามารถใช้กำจัดเขม่าได้ดีบนพื้นผิวที่มีรูพรุนเช่น กระดาษบุผนังและสีทาบ้านแบบด้าน แต่สำหรับพื้นผิวที่ไม่มีรูพรุนเช่น แก้ว กระเบื้องเซรามิก กระเบื้องไวนิล และพื้นไม้ลามิเนต การใช้ Liquid latex นอกจากจะไม่สามารถกำจัดเขม่าบนพื้นผิวได้แล้ว ยังทำลายคราบเลือดบนพื้นผิวอีกด้วย สำหรับสีเคลือบเงาซึ่งเป็นพื้นผิวที่ไม่มีรูพรุนไม่พบการลบเลือนของคราบเลือด เนื่องจากพื้นผิวนี้ถูกเตรียมด้วยมือ (ทาสีโดยใช้แปรงทาสี) ความร้อนของไฟทำให้สีละลายบางส่วนและหลอมรวมกับคราบเลือด (Luche et al., 2011)

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยเรื่อง “การตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดหลังจากผ่านความร้อนโดยวิธีทดสอบด้วยลูมินอล” เป็นการวิจัยเชิงทดลอง (Experimental Design) มีวัตถุประสงค์ของการวิจัยคือ 1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดหลังจากผ่านความร้อนบนพื้นผิวแผ่นแก้ว, แผ่นสแตนเลส, กระเบื้องปูพื้น และแผ่นสังกะสีโดยวิธีลูมินอล 2. เพื่อศึกษาการตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดหลังจากผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C, 150°C, 200°C, 250°C, 300°C, 350°C, 400°C และ 500°C โดยวิธีลูมินอล 3. เพื่อศึกษาการตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดหลังจากผ่านความร้อนเป็นระยะเวลา 5, 15, 30 และ 60 นาทีโดยวิธีลูมินอล

ผู้วิจัยได้กำหนดวิธีดำเนินการวิจัยออกเป็น 4 ขั้นตอน ได้แก่

3.1 การศึกษาเพื่อกำหนดกรอบแนวคิดในการวิจัย

3.2 การเตรียมตัวอย่าง

3.3 ขั้นตอนการทดลอง

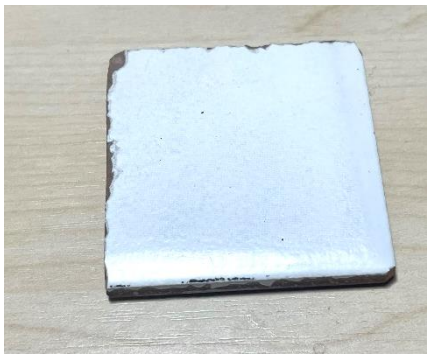
3.4 การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ผลการทดลอง

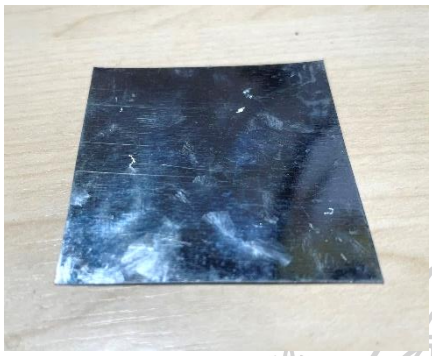
3.1 การศึกษาเพื่อกำหนดกรอบแนวคิดในการวิจัย

ในขั้นตอนนี้ผู้วิจัยได้เตรียมตัวเข้าสู่การดำเนินการศึกษาค้นคว้าและวิเคราะห์ข้อมูลจากเอกสารหรืองานวิจัยเชิงเอกสาร (Documentary research) ด้วยการทบทวนแนวคิด ทฤษฎี และหลักการ จากหนังสือ วารสาร เอกสารวิชาการ บทความจากสื่อและสิ่งพิมพ์ต่างๆ ฯลฯ เพื่อศึกษาหาร่องรอยคราบเลือดหลังจากผ่านความร้อนโดยวิธีทดสอบด้วยลูมินอล คำจำกัดความของเลือด องค์ประกอบของเลือด การตรวจสอบคราบเลือดด้วยวิธีต่างๆ เช่น สารละลายลูมินอล, TMB test และ KM test เป็นต้น ตลอดจนคุณสมบัติเกี่ยวกับพื้นผิว ความร้อน และการแสดงผลตามแนวคิด ทฤษฎี ผลงานวิจัย รวมทั้งงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง นำมาวิเคราะห์เพื่อให้ได้ข้อสรุปเป็นกรอบแนวคิดในการวิจัย เพื่อสังเคราะห์ข้อมูลและนำไปกำหนดแนวทางในการเก็บรวบรวมข้อมูล และออกแบบวิธีการทดลองเพื่อใช้เป็นเครื่องมือในการเก็บรวบรวมข้อมูลในการศึกษาขั้นต่อไป

3.2 การเตรียมตัวอย่าง

ตารางที่ 1 วัสดุ เครื่องมือและอุปกรณ์

วัสดุ เครื่องมือ และอุปกรณ์	แหล่งที่มา
แผ่นแก้ว ขนาด 1×3 นิ้ว	ร้าน Emma Lab
แผ่นสแตนเลส ขนาด 5×5 cm	ร้าน stainless steel
กระเบื้องปูพื้น ขนาด 5×5 cm 	HomePro รัชดาภิเษก

วัสดุ เครื่องมือ และอุปกรณ์	แหล่งที่มา
แผ่นสังกะสี ขนาด 5×5 cm 	ร้านต.วิโรจน์
เครื่องตัดเหล็ก	Makita LW1401
Hotplate	IKA
Micropipette	Lichen

วัสดุ เครื่องมือ และอุปกรณ์	แหล่งที่มา
บีกเกอร์	SCHOTT DURAN
ถุงซิปล็อค	ห้วยขวางสโตร์
ลังกระดาษ	ห้วยขวางสโตร์

สารเคมี

1. เลือด
2. ลูมินอล จาก Sigma-Aldrich Corporation
3. NaOH (Sodium hydroxide) จาก Merck Chemicals
4. H_2O_2 (Hydrogen peroxide) จาก Siri Buncha
5. น้ำกลั่น

การเตรียมตัวอย่าง

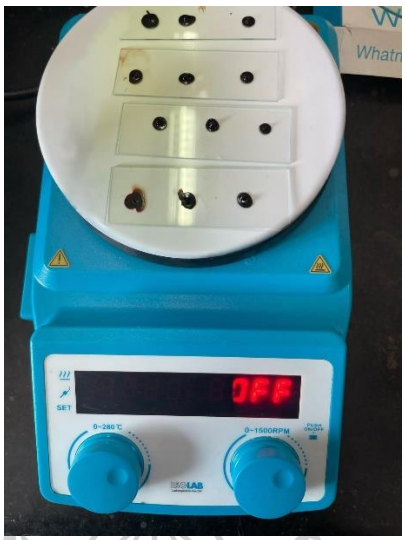
1. เตรียมตัวอย่าง แผ่นแก้ว แผ่นสแตนเลส กระเบื้องปูพื้น และแผ่นสังกะสี นำวัสดุดังกล่าวไปตัดเป็นชิ้นขนาด 5×5 cm

2. การเตรียมสารละลายลูมินอล โดยชั่งสารลูมินอล (Luminol) 0.1 g ผสมกับ NaOH (Sodium hydroxide) 1 g ที่ละลายด้วยน้ำกลั่น 20 ml และ 3% H_2O_2 (Hydrogen peroxide) 20 ml (Barni et al., 2007)

3.3 ขั้นตอนการทดลอง

1. ใช้ micropipette หยดเลือดปริมาณ 25 µl ลงบนวัสดุต่างๆ ได้แก่ แผ่นแก้ว แผ่นสแตนเลส กระเบื้องปูพื้น และแผ่นสังกะสี ทิ้งไว้ให้แห้งเป็นระยะเวลา 20 นาที (ทำซ้ำ 3 ครั้ง)

2. นำไปให้ความร้อนโดยวางบนHotplate ดังภาพที่ 9



ภาพที่ 6 การให้ความร้อนตัวอย่างบน Hotplate

ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C, 150°C, 200°C, 250°C, 300°C, 350°C, 400°C และ 500°C โดยแต่ละอุณหภูมิให้ความร้อนเป็นระยะเวลา 5, 15, 30 และ 60 นาทีตามลำดับ แล้วจึงบรรจุใส่ซองพลาสติกเพื่อป้องกันการปนเปื้อน พร้อมทั้งระบุอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนลงบนซองพลาสติก

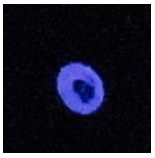
3. ตรวจคราบเลือดด้วยสารละลายลูมินอล โดยนำเอาสารละลายลูมินอลที่เตรียมไว้บรรจุลงในขวดสเปรย์และฉีดลงบนวัสดุ จากนั้นจึงนำตัวอย่างที่ได้ไปใส่ในลังกระดาษแล้วเจาะรู เนื่องจากลูมินอลจะเรืองแสงได้ดีในที่มืด และถ่ายรูปด้วยกล้องถ่ายภาพโทรศัพท์มือถือ ยี่ห้อ iPhone 12 Pro โดย f=1.6, iso=6400 และ Speed Shutter=1/15 นำภาพที่ได้ไปวิเคราะห์ข้อมูล

3.4 การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ผลการทดลอง

1) นำภาพถ่ายที่ได้จากการทดลองมาเปรียบเทียบวิเคราะห์ผลการตรวจคราบเลือดบนวัสดุต่างๆ เพื่อเปรียบเทียบความเข้มของแสงที่ได้จากการตรวจเลือดด้วยวิธีลูมินอล โดยกำหนดระดับคะแนนความเข้มของแสงไว้ 4 ระดับ ดังนี้

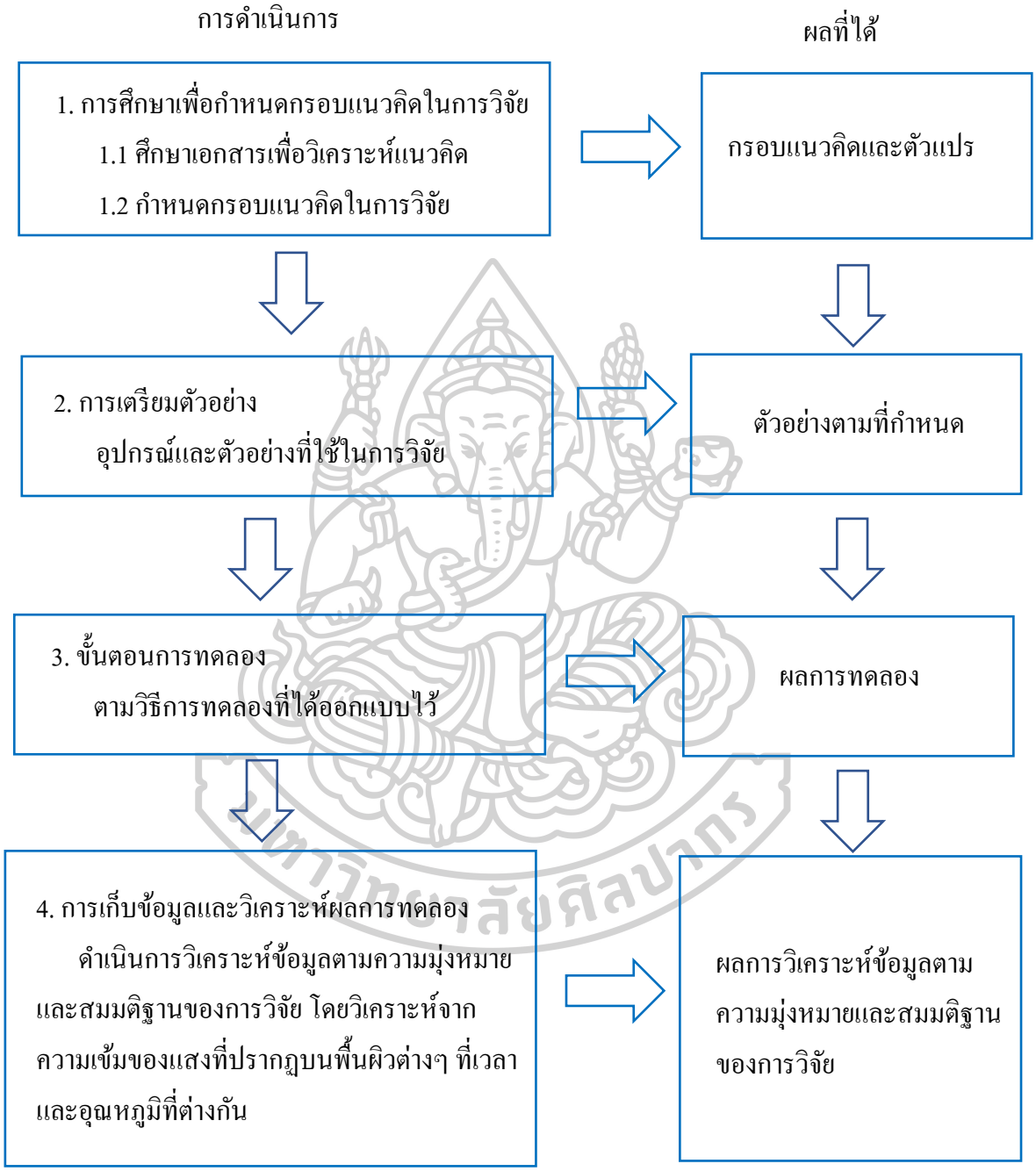
ความเข้มของแสงมากที่สุด มองเห็นเป็นวงชัดเจน	แทนด้วย 3
ความเข้มของแสงปานกลาง มีความเลอะเลือนบางจุด	แทนด้วย 2
ความเข้มของแสงน้อย ร่องรอยไม่ชัดเจน	แทนด้วย 1
ไม่ปรากฏสี	แทนด้วย 0

ตารางที่ 2 ระดับการให้คะแนนความเข้มแสงภายหลังจากการทดสอบด้วยลูมินอล

ระดับคะแนน	ความเข้มแสงภายหลังทดสอบด้วยลูมินอล	ภาพตัวอย่างรอยคราบเลือดภายหลังหยดด้วยลูมินอล
0	ไม่ปรากฏสี	
1	ความเข้มของแสงน้อย ร่องรอยไม่ชัดเจน	
2	ความเข้มของแสงปานกลาง มีความเลอะเลือนบางจุด	
3	ความเข้มของแสงมากที่สุด มองเห็นเป็นวงชัดเจน	

2) วิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากการทดลองและอภิปรายสรุปผลการทดลอง

รายละเอียดวิธีดำเนินการวิจัยที่ได้กล่าวมาข้างต้น นำเสนอดังภาพ



ภาพที่ 7 วิธีดำเนินการวิจัย

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

งานวิจัยนี้เป็นการตรวจความคงอยู่ของคราบเลือดหลังจากผ่านความร้อนบนพื้นผิวชนิดต่างๆ เช่น แผ่นแก้ว แผ่นสแตนเลส กระเบื้องปูพื้น และแผ่นสังกะสีโดยนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C, 150°C, 200°C, 250°C, 300°C, 350°C, 400°C และ 500°C เป็นระยะเวลา 5, 15, 30 และ 60 นาที โดยวัสดุแต่ละชิ้นหยดเลือดเป็นจำนวน 3 ซ้ำ จากนั้นจึงนำไปทดสอบด้วยลูมินอลแล้วถ่ายภาพผลการทดลองที่ได้ การวิเคราะห์ข้อมูลสำหรับการวิจัยครั้งนี้ แบ่งการวิเคราะห์ออกเป็น 3 ตอน ดังนี้ 1. ศึกษาการคงอยู่ของคราบเลือดหลังจากผ่านความร้อนบนพื้นผิวต่างๆโดยใช้ลูมินอล 2. ศึกษาการคงอยู่ของคราบเลือดหลังจากผ่านความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆโดยใช้ลูมินอล 3. ศึกษาการคงอยู่ของคราบเลือดหลังจากผ่านความร้อนเป็นระยะเวลาต่างๆโดยใช้ลูมินอล

จากการทดลองนำเลือดไปให้ความร้อนบนพื้นผิวต่างๆ ที่อุณหภูมิ 100°C, 150°C, 200°C, 250°C, 300°C, 350°C, 400°C และ 500°C เป็นระยะเวลา 5, 15, 30 และ 60 นาที ได้ผลดังตารางที่ 3 เมื่อ Mean คือค่าเฉลี่ยระดับคะแนนความเข้มของแสงจากการทำซ้ำ 3 ซ้ำ และ SD คือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 3 ระดับคะแนนเฉลี่ยของความเข้มแสงภายหลังทดสอบด้วยลูมินอล

วัสดุ	อุณหภูมิ (°C)	ระดับคะแนน							
		เวลาที่ใช้ในการให้ความร้อน (นาที)							
		5		15		30		60	
		Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
แผ่นแก้ว	100	2.00	0.00	1.67	0.58	0.67	0.58	1.67	0.58
	150	3.00	0.00	3.00	0.00	2.00	0.00	1.67	0.58
	200	1.67	0.58	1.00	0.00	0.33	0.58	2.00	1.00
	250	0.67	0.58	1.00	0.00	1.00	0.00	1.67	1.15
	300	2.00	1.00	1.00	0.00	1.33	0.58	1.00	0.00
	350	0.67	0.58	1.00	0.00	0.33	0.58	0.33	0.58
	400	3.00	0.00	1.00	0.00	0.67	0.58	0.00	0.00
	500	0.67	0.58	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

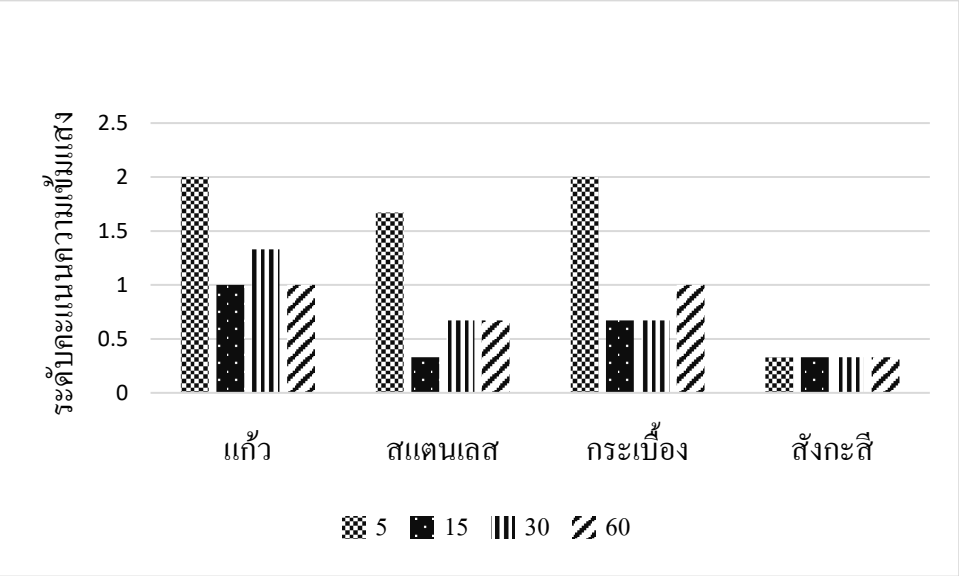
ตารางที่ 4 ระดับคะแนนเฉลี่ยของความเข้มแสงภายหลังทดสอบด้วยลูมินอล

วัสดุ	อุณหภูมิ (°C)	ระดับคะแนน							
		เวลาที่ใช้ในการให้ความร้อน (นาที)							
		5		15		30		60	
		Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
แผ่นสแตนเลส	100	2.67	0.58	3.00	0.00	2.00	1.73	3.00	0.00
	150	1.33	0.58	1.67	1.53	2.00	1.00	1.67	0.58
	200	1.67	1.53	1.00	0.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	250	0.33	0.58	0.67	0.58	1.33	1.53	0.67	1.15
	300	1.67	1.15	0.33	0.58	0.67	0.58	0.67	0.58
	350	0.33	0.58	1.00	0.00	0.67	1.15	0.33	0.58
	400	3.00	0.00	1.00	0.00	0.67	0.58	0.00	0.00
	500	0.33	0.58	0.00	0.00	0.33	0.58	0.00	0.00
กระเบื้องปูพื้น	100	3.00	0.00	1.67	1.15	3.00	0.00	3.00	0.00
	150	2.67	0.58	3.00	0.00	3.00	0.00	3.00	0.00
	200	1.67	1.53	1.33	1.53	1.33	1.53	1.00	0.00
	250	2.00	1.00	0.33	0.58	1.33	0.58	0.33	0.58
	300	2.00	1.00	0.67	0.58	0.67	0.58	1.00	1.00
	350	1.00	1.73	1.00	1.00	0.33	0.58	1.00	0.00
	400	2.00	1.73	3.00	0.00	2.00	1.73	1.33	1.53
	500	3.00	0.00	1.00	1.73	3.00	0.00	1.00	1.00
แผ่นสังกะสี	100	3.00	0.00	2.33	1.15	2.67	0.58	2.33	0.58
	150	1.33	1.15	0.33	0.58	1.00	0.00	1.00	1.00
	200	2.00	1.73	0.00	0.00	0.67	1.15	0.67	0.58
	250	1.00	1.73	0.33	0.58	0.33	0.58	0.33	0.58
	300	0.33	0.58	0.33	0.58	0.33	0.58	0.33	0.58
	350	0.67	0.58	1.33	1.53	0.33	0.58	0.33	0.58
	400	0.67	0.58	0.33	0.58	0.33	0.58	0.00	0.00
	500	0.33	0.58	1.00	0.00	0.33	0.58	0.00	0.00

จากตารางที่ 3 จะเห็นว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการให้ความร้อนมากขึ้น ความเข้มแสงของคราบเลือดภายหลังการตรวจสอบด้วยลูมินอลจะลดลงเนื่องจากความร้อนทำให้คราบเลือดถูกทำลายสอดคล้องกับงานวิจัยของ A. Klein (2018) ได้ทำการนำอุปกรณ์ที่มักใช้ในการก่อเหตุอาชญากรรมมาทาด้วยเลือดและนำไปเผาที่อุณหภูมิ 300°C, 700°C และ 1,000°C จากนั้นนำไปทดสอบด้วยลูมินอล พบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการเผามากขึ้น ตัวอย่างที่นำมาทดสอบจะถูกเผาไหม้และเสียสภาพลงไปจนหมด

1. ศึกษาการคงอยู่ของคราบเลือดหลังจากผ่านความร้อนบนพื้นผิวต่างๆโดยใช้ลูมินอล

นำตัวอย่างพื้นผิวแผ่นแก้ว แผ่นสแตนเลส กระเบื้องปูพื้น และแผ่นสังกะสีไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 300°C เนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่เห็นความแตกต่างของการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างกันชัดเจนที่สุด เป็นระยะเวลา 5, 15, 30 และ 60 นาที ได้ผลดังกราฟที่ 1

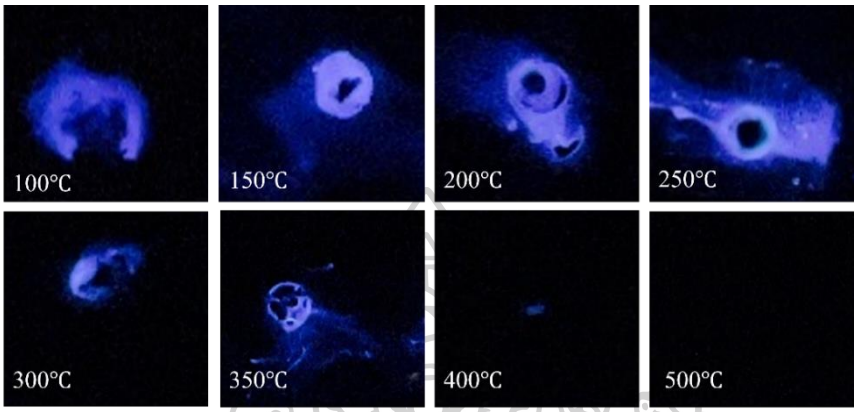


กราฟที่ 1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับคะแนนความเข้มของแสงของคราบเลือดหลังทดสอบด้วยลูมินอลบนพื้นผิวต่างๆ ที่อุณหภูมิ 300°C

จากกราฟที่ 1 จะเห็นว่าพื้นผิวแตกต่างกันจะมีการเกาะติดของคราบเลือดที่แตกต่างกัน โดยบนพื้นผิวแผ่นสังกะสีมีการเกาะติดของคราบเลือดน้อยที่สุด

2. ศึกษาการคงอยู่ของคราบเลือดหลังจากผ่านความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆโดยใช้ลูมินอล

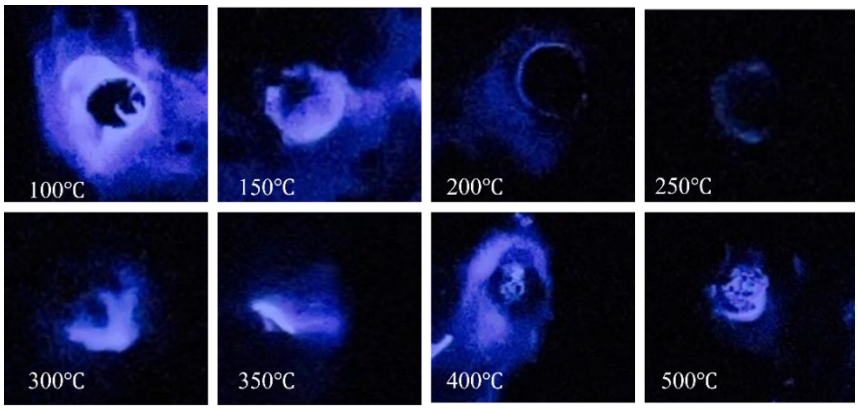
การหาร่องรอยคราบเลือดหลังถูกให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C, 150°C, 200°C, 250°C, 300°C, 350°C, 400°C และ 500°C บนพื้นผิวต่างๆ จากการทดลองจะพบว่าที่ระยะเวลา 60 นาทีเป็นระยะเวลาที่สามารถเห็นความต่างของความเข้มของแสงที่ปรากฏได้อย่างชัดเจนได้ดังภาพที่ 8



ภาพที่ 8 คราบเลือดหลังถูกให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C, 150°C, 200°C, 250°C, 300°C, 350°C, 400°C และ 500°C เป็นระยะเวลา 60 นาทีบนพื้นผิวแผ่นแก้ว

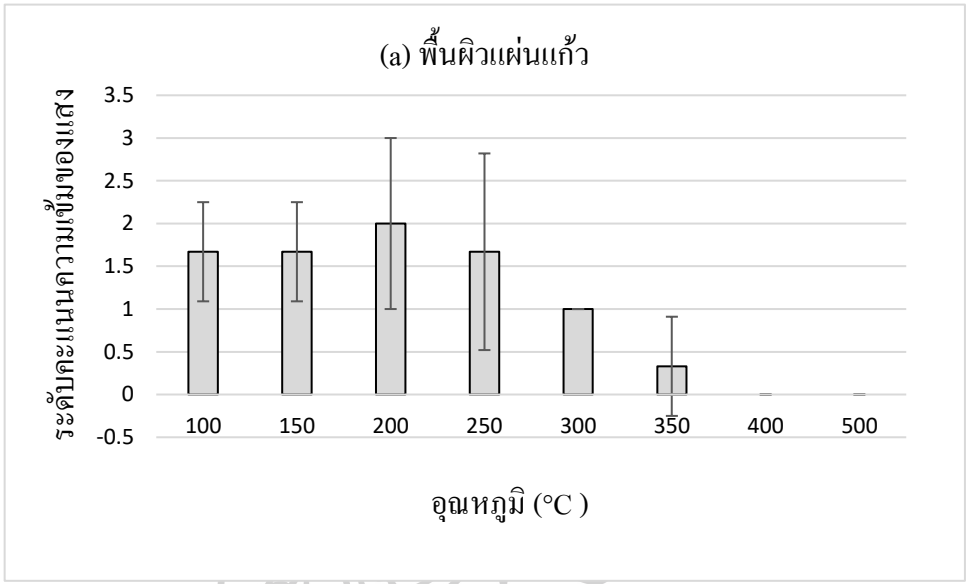
ภาพที่ 8 คือภาพที่ทำการทดลองให้ความร้อนแก่เลือดบนพื้นผิวที่เป็นแผ่นแก้วที่อุณหภูมิต่างๆเป็นระยะเวลา 60 นาทีซึ่งเป็นเวลานานที่สุด จะเห็นว่าเมื่อเริ่มต้นให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C ระดับความเข้มของแสงชัด เป็นรูปวงชัดเจน จากนั้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการให้ความร้อนระดับความเข้มแสงมีลักษณะจางลงจนถึงอุณหภูมิที่ 400°C และที่อุณหภูมิ 500°C จะไม่ปรากฏสีเช่นเดียวกับพื้นผิวแผ่นสแตนเลสและแผ่นสังกะสีก็มีลักษณะเช่นเดียวกัน

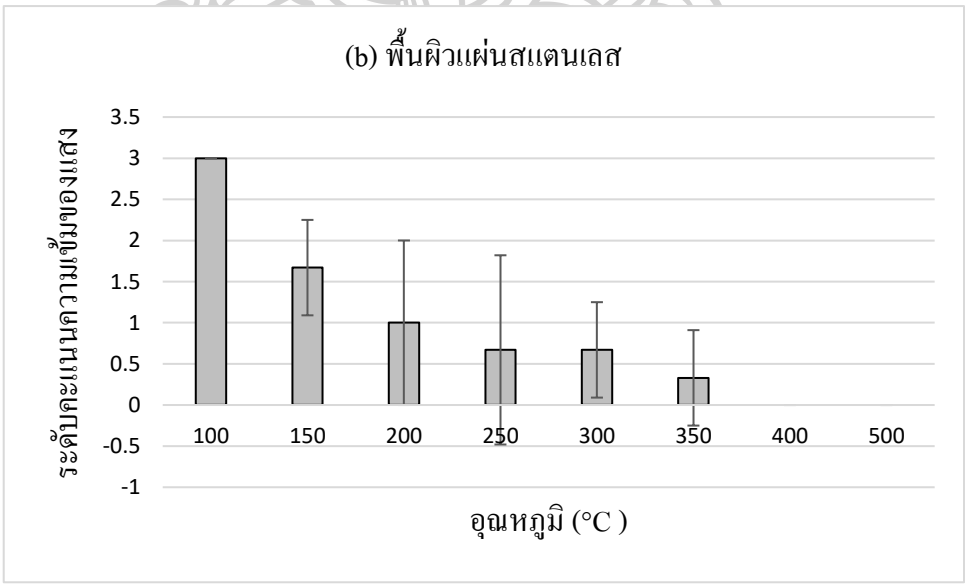
ในขณะที่พื้นผิวที่เป็นกระเบื้องสามารถตรวจพบความเข้มแสงได้แม้จะให้ความร้อนด้วยอุณหภูมิที่สูงถึง 500°C ดังภาพที่ 9

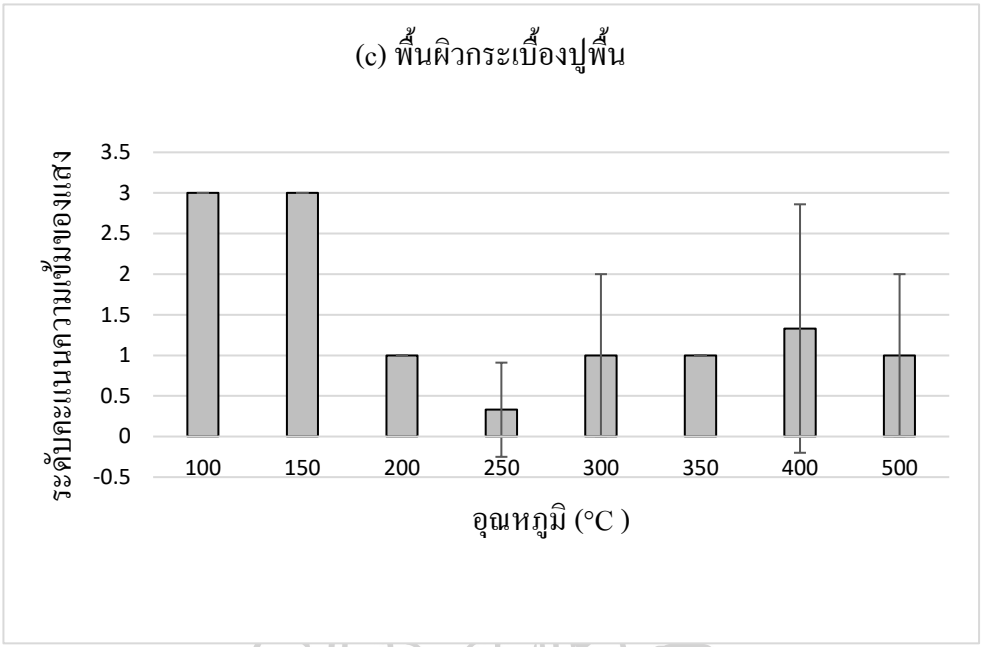


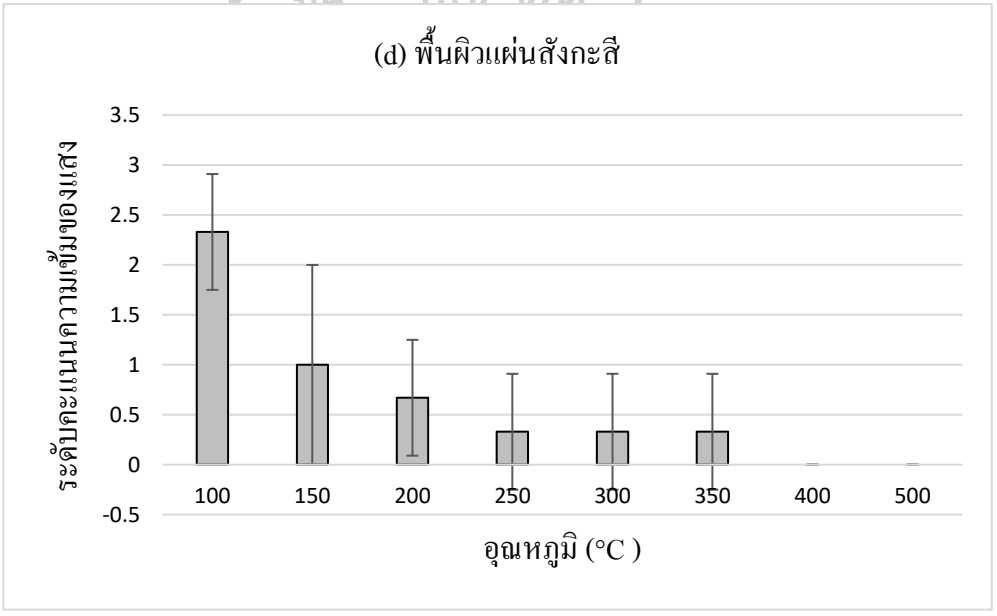
ภาพที่ 9 คราบเลือดหลังถูกให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C, 150°C, 200°C, 250°C, 300°C, 350°C, 400°C และ 500°C เป็นระยะเวลา 60 นาทีบนพื้นผิวกระเบื้องปูพื้น

จากการทดลองนำเลือดไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C, 150°C, 200°C, 250°C, 300°C, 350°C, 400°C และ 500°C เป็นระยะเวลา 60 นาทีบนพื้นผิวที่แตกต่างกัน จะสามารถเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับคะแนนความเข้มของแสงและอุณหภูมิได้ ดังนี้







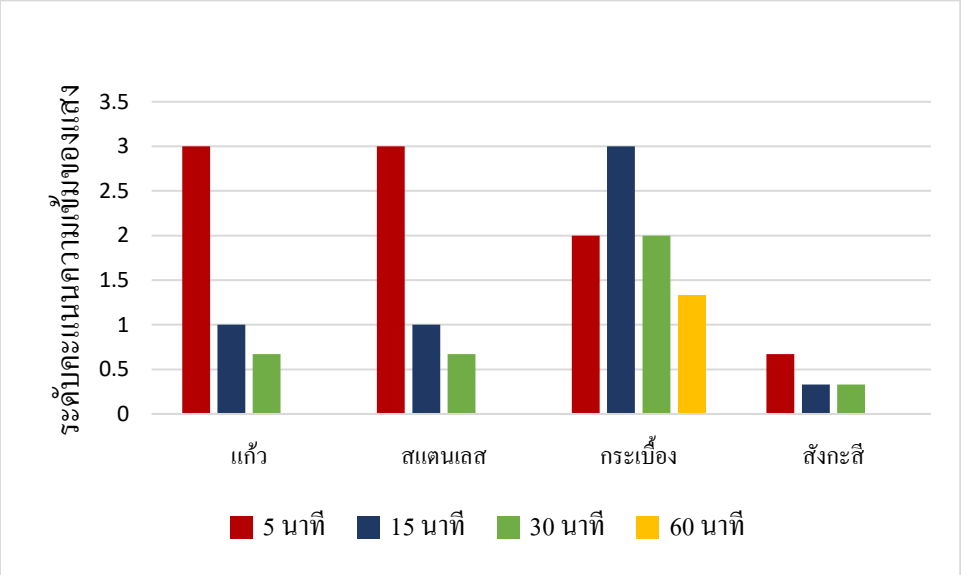


กราฟที่ 2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับคะแนนความเข้มแสงและอุณหภูมิ บนพื้นผิว (a) แผ่นแก้ว (b) แผ่นสแตนเลส (c) กระเบื้องปูพื้น (d) แผ่นสังกะสี เป็นระยะเวลา 60 นาที

จากกราฟจะเห็นว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำๆ รูปร่างของคราบเลือดที่ถูกทดสอบด้วยลูมินอลเป็นรูปหยดเลือดชันเจน เมื่อเพิ่มอุณหภูมิที่ใช้ในการให้ความร้อนสูงขึ้นทำให้คราบเลือดเกิดการเสียสภาพ เลอะเลือนและค่อยๆจางลง ไปจนถึงไม่สามารถตรวจพบได้ (Brady et al., 2002)

3. ศึกษาการคงอยู่ของคราบเลือดหลังจากผ่านความร้อนเป็นระยะเวลาต่างๆ โดยใช้ลูมินอล

นำเลือดไปให้ความร้อนบนพื้นผิวต่างๆ เป็นระยะเวลา 5, 15, 30 และ 60 นาที ที่อุณหภูมิต่างๆ จากผลการทดลองพบว่า ที่อุณหภูมิ 400°C เป็นอุณหภูมิที่เห็นความต่างชัดเจน เนื่องจากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิน้อยๆ ลักษณะของคราบเลือดไม่แตกต่างกันมากนัก จากนั้นนำไปวาดกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับคะแนนความเข้มแสงและเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อน บนพื้นผิวชนิดต่างๆ ได้ดังนี้



กราฟที่ 3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มแสงและเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อน 5, 15, 30 และ 60 นาทีบนพื้นผิวต่างๆ ที่อุณหภูมิ 400°C

จากกราฟจะเห็นว่าเมื่อเพิ่มเวลาในการให้ความร้อนมากขึ้นความเข้มแสงของคราบเลือดหลังถูกทดสอบด้วยลูมินอลมีแนวโน้มลดลง

บทที่ 5
สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบการคงอยู่ของคราบเลือดที่ถูกให้ความร้อนบนพื้นผิวชนิดต่างๆ เช่น แผ่นแก้ว แผ่นสแตนเลส กระเบื้องปูพื้น และแผ่นสังกะสี โดยใช้วิธีทดสอบด้วยลูมินอล มีวิธีการทดลองคือนำเลือดไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C, 150°C, 200°C, 250°C, 300°C, 350°C, 400°C และ 500°C เป็นระยะเวลา 5, 15, 30 และ 60 นาที วัสดุแต่ละชิ้นหยดเลือดเป็นจำนวน 3 ซ้ำ จากนั้นนำไปทดสอบด้วยลูมินอลแล้วถ่ายภาพผลการทดลองที่ได้ และนำค่าที่ได้ไปหาค่าเฉลี่ยระดับคะแนนความเข้มของสี ผู้วิจัยมีการสรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ ดังนี้

สรุปและอภิปรายผล

การสรุปข้อมูลสำหรับการวิจัยครั้งนี้ แบ่งผลสรุปออกเป็น 3 ตอนคือ 1. ศึกษาการคงอยู่ของคราบเลือดหลังจากผ่านความร้อนบนพื้นผิวต่างๆ โดยใช้ลูมินอล 2. ศึกษาการคงอยู่ของคราบเลือดหลังจากผ่านความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ โดยใช้ลูมินอล 3. ศึกษาการคงอยู่ของคราบเลือดหลังจากผ่านความร้อนเป็นระยะเวลาต่างๆ โดยใช้ลูมินอล สามารถสรุปได้ดังนี้

1. ศึกษาการคงอยู่ของคราบเลือดหลังจากผ่านความร้อนบนพื้นผิวต่างๆ โดยใช้ลูมินอล

นำตัวอย่างพื้นผิวแผ่นแก้ว แผ่นสแตนเลส กระเบื้องปูพื้น และแผ่นสังกะสีมาหยดเลือดและนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 300°C เนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่เห็นความแตกต่างของการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างกันชัดเจนที่สุด เป็นระยะเวลา 5, 15, 30 และ 60 นาที จากการทดลองพบว่าบนพื้นผิวแผ่นแก้ว แผ่นสแตนเลส และกระเบื้องปูพื้น คราบเลือดมีการเกาะติดได้ดี แต่ในพื้นผิวแผ่นสังกะสี คราบเลือดมีการเกาะติดน้อยเนื่องจาก แผ่นสังกะสีนำความร้อนได้ดี ทำให้เลือดหลุดลอกออกไประหว่างทำการทดลอง จึงไม่สามารถตรวจสอบด้วยลูมินอลได้(Bastide et al., 2021)

2. ศึกษาการคงอยู่ของคราบเลือดหลังจากผ่านความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ โดยใช้ลูมินอล

นำตัวอย่างพื้นผิวแผ่นแก้ว แผ่นสแตนเลส กระเบื้องปูพื้น และแผ่นสังกะสี มาหยดเลือดและให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C, 150°C, 200°C, 250°C, 300°C, 350°C, 400°C และ 500°C บนพื้นผิวต่างๆ เป็นระยะเวลา 60 นาทีซึ่งเป็นระยะเวลาที่มากที่สุด จากการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการให้ความร้อนมากขึ้น ความเข้มแสงของคราบเลือดภายหลังการตรวจสอบด้วยลูมินอลจะลดลงเนื่องจากความร้อนทำให้คราบเลือดถูกทำลายสอดคล้องกับงานวิจัยของ A. Klein

(2018) ได้ทำการนำอุปกรณ์ที่มักใช้ในการก่อเหตุอาชญากรรมมาทาด้วยเลือดและนำไปเผาที่อุณหภูมิ 300°C, 700°C และ 1,000°C จากนั้นนำไปทดสอบด้วยลูมินอล พบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการเผามากขึ้น ตัวอย่างที่นำมาทดสอบจะถูกเผาไหม้และเสียสภาพลงไปจนหมด สำหรับบนพื้นผิวแผ่นแก้ว แผ่นสแตนเลสและแผ่นสังกะสี เมื่อเพิ่มอุณหภูมิที่ใช้ในการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น ระดับความเข้มแสงจะค่อยๆลดลง ไปจนถึงไม่ปรากฏสีที่อุณหภูมิ 400-500°C แต่ในพื้นผิวกระเบื้องปูพื้นที่อุณหภูมิ 400-500°C ยังคงตรวจสอบด้วยลูมินอลได้ เนื่องจากพื้นผิวที่เลือกมาในงานวิจัยครั้งนี้สามารถพบได้ในตัวบ้านหรือสถานที่เกิดเหตุทั่วไป โดยแผ่นแก้ว แผ่นสแตนเลสและแผ่นสังกะสีมีลักษณะพื้นผิวที่ไม่มีรูพรุน เมื่อทำการหยดเลือดและให้ความร้อน พบว่าที่พื้นผิวแผ่นสแตนเลสและแผ่นสังกะสีมีการนำความร้อนได้ดีจึงทำให้หยดเลือดถูกทำลายได้มากกว่า ในขณะที่พื้นผิวกระเบื้องมีลักษณะที่แตกต่างออกไป คือพื้นผิวกระเบื้องมีลักษณะเป็นรูพรุน เลือดจึงสามารถที่จะแทรกซึมเข้าไป ถึงแม้จะใช้เวลาในการให้ความร้อนนานๆก็ยังสามารถตรวจพบได้

3. ศึกษาการคงอยู่ของคราบเลือดหลังจากผ่านความร้อนเป็นระยะเวลาต่างๆโดยใช้ลูมินอล

นำเลือดไปให้ความร้อนบนพื้นผิวต่างๆ เป็นระยะเวลา 5, 15, 30 และ 60 นาที ที่อุณหภูมิต่างๆ จากผลการทดลองพบว่า ที่อุณหภูมิ 400°C เป็นอุณหภูมิที่เห็นความต่างชัดเจน เนื่องจากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิน้อยๆ ลักษณะของคราบเลือดไม่แตกต่างกันมากนัก จากการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มเวลาในการให้ความร้อนมากขึ้นความเข้มแสงของคราบเลือดหลังถูกทดสอบด้วยลูมินอลมีแนวโน้มลดลง

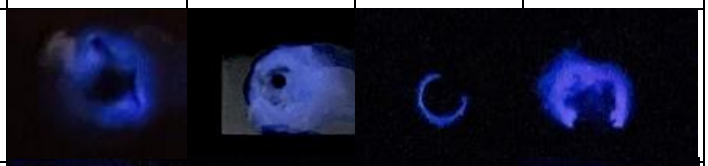
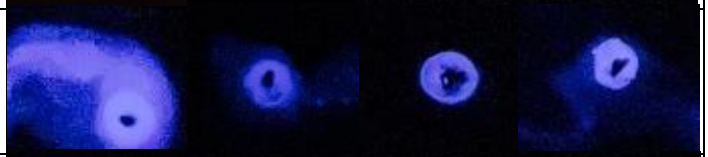
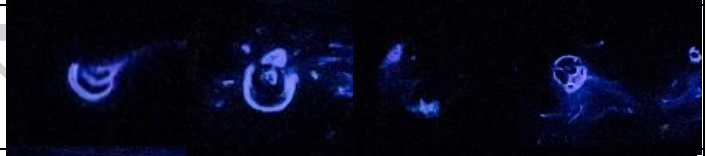
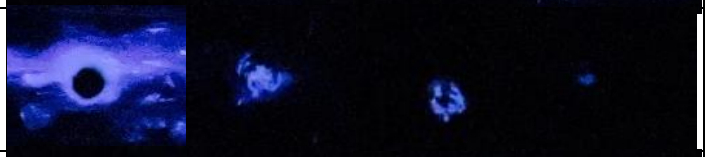
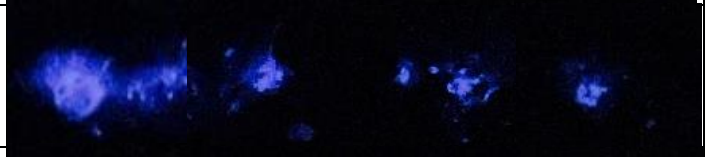
จากผลการศึกษาสามารถสรุปได้ว่า พื้นผิว อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนมีผลต่อความเข้มแสงของคราบเลือดหลังถูกทดสอบด้วยลูมินอล

ข้อแนะนำในการทำวิจัย

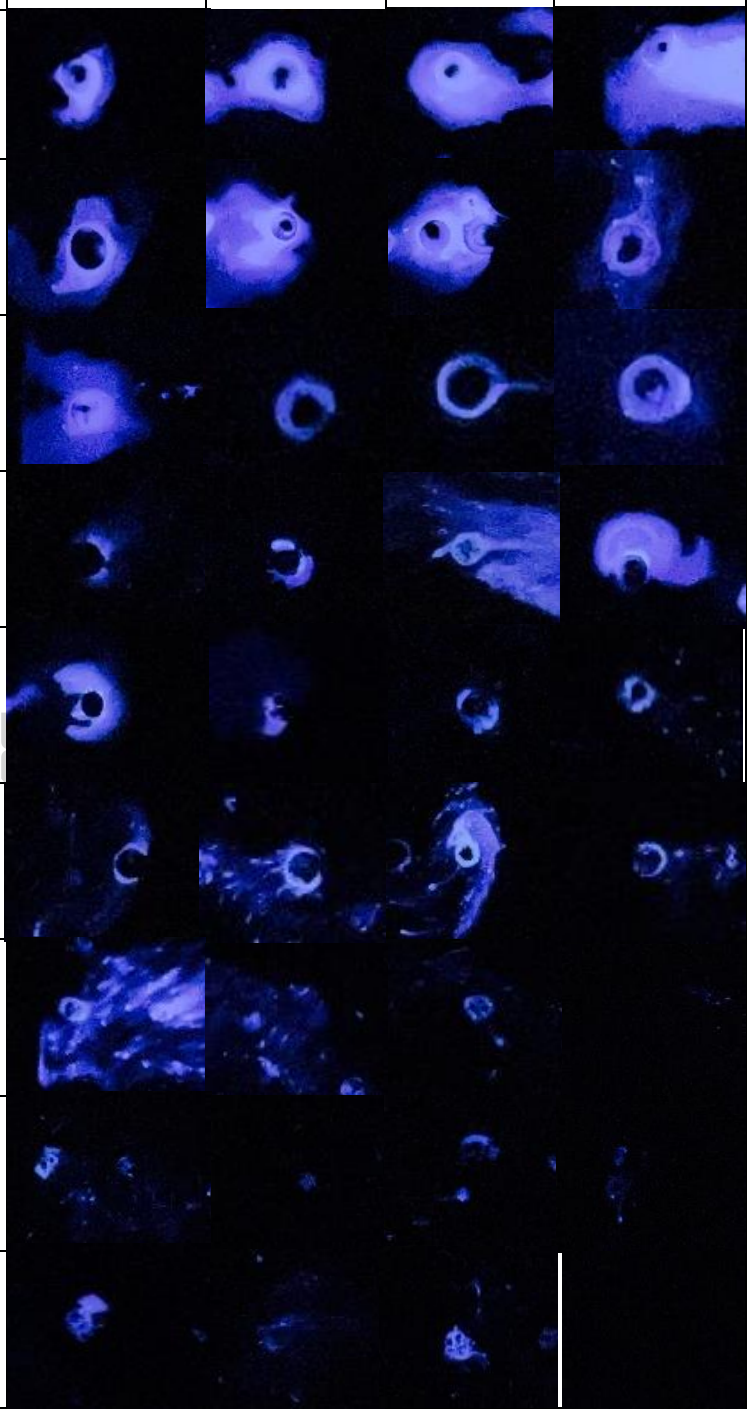
1. ทำการทดลองที่จำลองสถานการณ์ที่วัสดุที่นำมาใช้ทดสอบได้สัมผัสกับเปลวไฟจริงๆเพื่อไปประยุกต์ใช้ในงานนิติวิทยาศาสตร์คดีเกี่ยวกับเพลิงไหม้
2. ทดสอบบนพื้นผิวอื่นๆที่เป็นอุปกรณ์ที่ใช้ในการก่ออาชญากรรม
3. เพิ่มความหลากหลายในวิธีการหาร่องรอยคราบเลือด
4. ทำการทดลองโดยการเพิ่มเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนให้มากขึ้นเพื่อดูว่าเวลาในการให้ความร้อนมีผลต่อการทดลองหรือไม่

ภาคผนวก

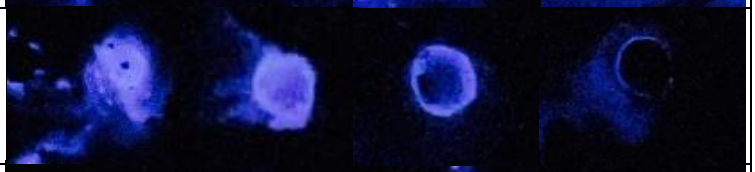
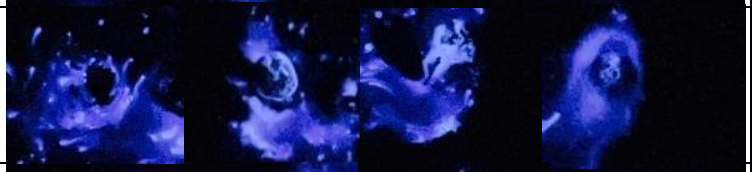
ตารางที่ 5 ผลการทดลองให้ความร้อนแก่เลือดที่อุณหภูมิ 100°C, 150°C, 200°C, 250°C, 300°C, 350°C, 400°C และ 500°C เป็นระยะเวลา 5, 15, 30 และ 60 นาที บนพื้นผิวแผ่นแก้ว

อุณหภูมิ (°C)	เวลาที่ใช้ในการให้ความร้อน (นาที)			
	5	15	30	60
100				
150				
200				
250				
300				
350				
400				
450				
500				

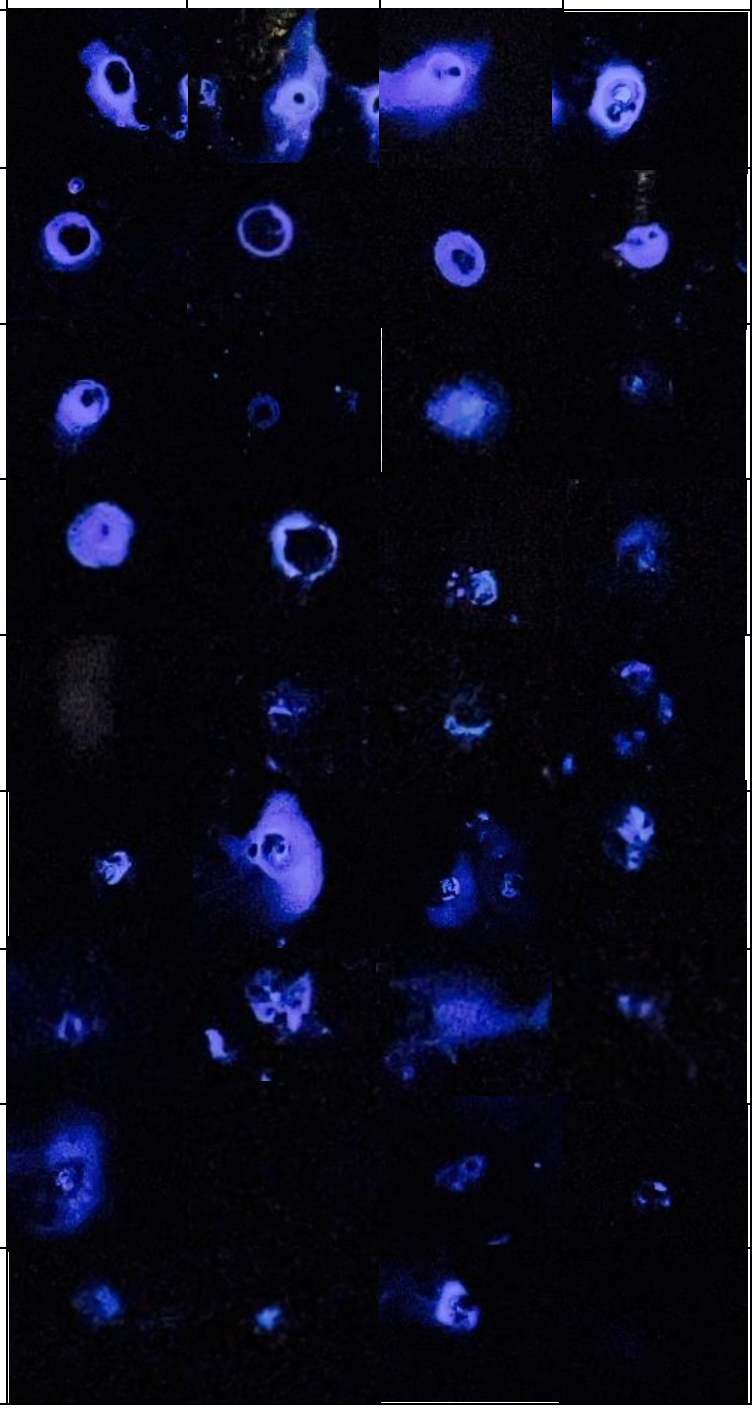
ตารางที่ 6 ผลการทดลองให้ความร้อนแก่เลือดที่อุณหภูมิ 100°C, 150°C, 200°C, 250°C, 300°C, 350°C, 400°C และ 500°C เป็นระยะเวลา 5, 15, 30 และ 60 นาที บนพื้นผิวแผ่นสแตนเลส

อุณหภูมิ (°C)	เวลาที่ใช้ในการให้ความร้อน (นาที)			
	5	15	30	60
100				
150				
200				
250				
300				
350				
400				
450				
500				

ตารางที่ 7 ผลการทดลองให้ความร้อนแก่เลือดที่อุณหภูมิ 100°C, 150°C, 200°C, 250°C, 300°C, 350°C, 400°C และ 500°C เป็นระยะเวลา 5, 15, 30 และ 60 นาที บนพื้นผิวกระเบื้องปูพื้น

อุณหภูมิ (°C)	เวลาที่ใช้ในการให้ความร้อน (นาที)			
	5	15	30	60
100				
150				
200				
250				
300				
350				
400				
450				
500				

ตารางที่ 8 ผลการทดลองให้ความร้อนแก่เลือดที่อุณหภูมิ 100°C, 150°C, 200°C, 250°C, 300°C, 350°C, 400°C และ 500°C เป็นระยะเวลา 5, 15, 30 และ 60 นาที บนพื้นผิวแผ่นสังกะสี

อุณหภูมิ (°C)	เวลาที่ใช้ในการให้ความร้อน (นาที)			
	5	15	30	60
100				
150				
200				
250				
300				
350				
400				
450				
500				

รายการอ้างอิง

Barni, F., Lewis, S. W., Berti, A., Miskelly, G. M., & Lago, G. (2007). Forensic application of the luminol reaction as a presumptive test for latent blood detection. *Talanta*, *72*(3), 896-913.

Bastide, B., Porter, G., & Renshaw, A. (2021). The effects of heat on the physical and spectral properties of bloodstains at arson scenes. *Forensic Science International*, *325*, 110891.

Bilous, P., McCombs, M., Sparkmoon, M., & Sasaki, J. (2010). Detecting Burnt Bloodstain Samples with Light-Emitting Blood Enhancement Reagents. American Academy of Forensic Sciences, 62nd Annual Scientific Meeting,

Brady, T., Tigmo, J., & Graham, G. (2002). Extreme temperature effects on bloodstain pattern analysis. *IABPA News*, *18*(2), 3-20.

Chi, J.-H. (2013). Using thermal analysis experiment and Fire Dynamics Simulator (FDS) to reconstruct an arson fire scene. *Journal of thermal analysis and calorimetry*, *113*(2), 641-648.

Chi, J. H. (2012). Metallographic analysis and fire dynamics simulation for electrical fire scene reconstruction. *Journal of Forensic Sciences*, *57*(1), 246-249.

Deubener, J., Allix, M., Davis, M., Duran, A., Höche, T., Honma, T., Komatsu, T., Krüger, S., Mitra, I., & Müller, R. (2018). Updated definition of glass-ceramics. *Journal of Non-Crystalline Solids*, *501*, 3-10.

Dutta, S. (2018). Different types and new applications of stainless steel. *Stainless steel*, *62*(5), 86-91.

Framinan, J. M., Leisten, R., & García, R. R. (2014). Manufacturing scheduling systems. *An integrated view on Models, Methods and Tools*, 51-63.

Glaister, J. (1926). The Kastle-Meyer Test for the Detection of Blood: Considered from the Medico-Legal Aspect. *British Medical Journal*, *1*(3406), 650.

Harding, K. G. (2018). Heat transfer introduction. *University of the Witwatersrand: Johannesburg, South Africa*, 1-62.

James, S. H., Kish, P. E., & Sutton, T. P. (2005). *Principles of bloodstain pattern analysis: theory and practice*. CRC press.

Klein, A., Krebs, O., Gehl, A., Morgner, J., Reeger, L., Augustin, C., & Edler, C. (2018). Detection

of blood and DNA traces after thermal exposure. *International Journal of Legal Medicine*, *132*, 1025-1033.

Klein, A., Krebs, O., Gehl, A., Morgner, J., Reeger, L., Augustin, C., & Edler, C. (2019). The use of liquid latex for detecting traces of blood following thermal exposure. *International Journal of Legal Medicine*, *133*, 1567-1574.

Larkin, B. A., & Banks, C. E. (2013). Preliminary study on the effect of heated surfaces upon bloodstain pattern analysis. *Journal of Forensic Sciences*, *58*(5), 1289-1296.

Luche, C., Jordan, R., & Larkin, T. (2011). Recovery of bloodstain patterns from arson scenes: does soot removal using liquid latex damage underlying bloodstains? *Canadian Society of Forensic Science Journal*, *44*(2), 47-58.

Matheson, C. D., & Veall, M.-A. (2014). Presumptive blood test using Hemastix® with EDTA in archaeology. *Journal of Archaeological Science*, *41*, 230-241.

McDougal, W. S., Wein, A. J., Kavoussi, L. R., Partin, A. W., & Peters, C. A. (2015). *Campbell-Walsh Urology 11th Edition Review E-Book*. Elsevier Health Sciences.

Sears, V. G., & Prizeman, T. M. (2000). Enhancement of fingerprints in blood--part 1: The optimization of amido black. *Journal of Forensic Identification*, *50*(5), 470.

Tobiyama, Y., & Abotani, K. (2004). Hot-dip galvanized steel sheet with excellent surface quality for automotive outer panels. *JFE Technical report*, *4*, 48-52.

Tontarski, K. L., Hoskins, K. A., Watkins, T. G., Brun‐Conti, L., & Michaud, A. L. (2009). Chemical enhancement techniques of bloodstain patterns and DNA recovery after fire exposure. *Journal of Forensic Sciences*, *54*(1), 37-48.

Whitehead, P. (1993). A Historical Review of the Characterization of Blood and Secretion Stains in the Forensic Science Laboratory Part One: Bloodstains. *Forensic science review*, *5*(1), 35-51.

Yadav, S., Kesherwani, L., & Mishra, M. G through FTIR". *International Journal of Current Research Available onl Key words*.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล นางสาวจิราภา สิงหะกุลพิทักษ์

วุฒิการศึกษา พ.ศ.2563 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

พ.ศ.2564 ศึกษาต่อระดับปริญญามหาบัณฑิต สาขานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร