การประมาณอายุของคราบเลือดบนพื้นผิวประเภทต่างๆ โดยเทคนิค UV-Visible Spectrometry

โดย

นางสาวปุณญณิศรา ชุบศรี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2

สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2566

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

การประมาณอายุของคราบเลือดบนพื้นผิวประเภทต่างๆ โดยเทคนิค UV-Visible Spectrometry

โดย
นางสาวปุณญณิศรา ชุบศรี

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

ESTIMATING OF THE AGE OF BLOODSTAINS ON VARIOUS SURFACE BY UV-VISIBLE SPECTROMETRY

By

MISS Poonyanissara CHUBSREE

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for Master of Science FORENSIC SCIENCE

Department of FORENSIC SCIENCE

Academic Year 2023

Copyright of Silpakorn University

หัวข้อ	การประมาณอายุของคราบเลือดบนพื้นผิวประเภทต่างๆ โดยเทคนิค UV-Visible Spectrometry
โดย	นางสาวปุณญ์ณิศรา ชุบศรี
สาขาวิชา	นิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2
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)

มหาวิทยาลัยศิลปากร

650720022 : นิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2
คำสำคัญ : คราบเลือด, ฮีโมโกลบิน, การดูดกลืนแสง, พื้นผิว, UV-Visible Spectrometer

นางสาว ปุณญณิศรา ชุบศรี: การประมาณอายุของคราบเลือดบนพื้นผิวประเภทต่างๆ โดยเทคนิค UV-Visible Spectrometry อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : อาจารย์ ดร. อรทัย เขียวพุ่ม

คราบเลือดของมนุษย์เป็นวัตถุพยานที่สำคัญในทางนิติวิทยาศาสตร์ซึ่งมักพบในการเกิดอาชญากรรมที่เกี่ยวกับร่างกาย โดยการศึกษาครั้งนี้เป็นการวิเคราะห์สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของเลือดในการประมาณอายุของคราบเลือดบนพื้นที่ผิวประเภทต่างๆ ได้แก่ หนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง ไม้ และแผ่นกระจก ซึ่งจะใช้ตัวอย่างเลือดจากอาสาสมัครในการนำไปทำการทดลอง โดยทำการหยดคราบเลือดลงบนพื้นที่ผิวและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในระยะเวลาต่างๆ ซึ่งพบว่าเมื่อคราบเลือดมีอายุมากขึ้นค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของออกซีฮีโมโกลบินจะลดลง (l = 540 และ 570 นาโนเมตร) แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างอย่างชัดเจนระหว่างคราบเลือดสดและคราบเลือดที่เวลาผ่านไป จากข้อมูลนี้จึงนำมาใช้สร้างกราฟเปรียบเทียบระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของออกซีฮีโมโกลบินที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรและอายุของคราบเลือด โดยผลการวิจัยพบว่าการวิเคราะห์สเปกตรัมอาจใช้ในการประมาณอายุของคราบเลือดบนพื้นผิวประเภทต่างๆ ได้ และวิธีนี้เหมาะสำหรับคราบเลือดที่มีอายุตั้งแต่ 1 ถึง 48 ชั่วโมง

มหาวิทยาลัยศิลปากร

650720022 : Major FORENSIC SCIENCE
Keyword : Bloodstain, Hemoglobin, Absorbance, Surface, UV-Visible Spectrometer

MISS Poonyanissara CHUBSREE : ESTIMATING OF THE AGE OF BLOODSTAINS ON VARIOUS SURFACE BY UV-VISIBLE SPECTROMETRY Thesis advisor : Orathai Kheawpum, Ph.D.

The human bloodstains are important piece of forensics evidence often found in serious crimes. This study explored the use of absorption spectral analysis in the estimation of the age of bloodstains on various types of substates namely; artificial leather, cotton, steel plate, brown cardboard, plastic, tiles, wood and glass. Blood samples were collected from a donor and were used freshly in all experiments without any pretreatment. The sample was prepared by placing the bloodstain on all of selected substates and kept at ambient temperature for various periods of time. The results demonstrate that upon aging, decreasing in the absorbance value of oxyhemoglobin peak (l = 540 and 570 nm) was observed, illustrating a clear distinction between fresh and old bloodstains. The data were used to construct calibration graphs of absorbance values of the oxyhemoglobin at the wavelength of 540 nm and the bloodstain ages. The results have demonstrated that the spectral analysis may be used to estimate the age of bloodstains on various types of substrates and the method was suitable for samples having the age range of 1 to 48 hours.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เพราะได้รับความอนุเคราะห์จาก อาจารย์ ดร. อรทัย เขียวพุ่ม และ อาจารย์ ดร.ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาที่ได้ให้ความช่วยเหลือ และให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่อผู้วิจัยเป็นอย่างยิ่ง และขอขอบพระคุณคณาจารย์สาขานิติวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ต่างๆ ให้ผู้วิจัยได้นำมาประยุกต์ในการจัดทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จ

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี ประธานกรรมการ และรองศาสตราจารย์ ดร.ยุภาพร สมีน้อย กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ ที่สละเวลาในการให้คำแนะนำในการปรับปรุงแก้ไขให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ คุณทัตพิชา สุขสุชีพ ที่ให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างจากอาสาสมัคร ขอขอบคุณ คุณชาลินี เวชอินทร์ และเพื่อนๆทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือระหว่างการทำวิจัยจนสำเร็จ และขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากรที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์ต่างๆที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ รวมถึงขอขอบคุณเจ้าหน้าที่สาขานิติวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากรที่มีส่วนช่วยในการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณครอบครัว ที่คอยให้การสนับสนุน ให้ความช่วยเหลือ เป็นกำลังใจตลอดจนวิทยานิพนธ์สำเร็จ และขอขอบพระคุณบุคคลที่มิได้เอ่ยนาม ประโยชน์อันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ย่อมเป็นผลมาจากได้รับความอนุเคราะห์ของท่าน ผู้วิจัยขอขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

ปุณญณิศรา ชุบศรี

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ... จ

กิตติกรรมประกาศ ... ฉ

สารบัญ ... ช

สารบัญตาราง ... ฌ

สารบัญภาพ ... ญ

บทที่ 1 บทนำ ... 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา ... 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย ... 3

1.3 สมมุติฐานของการวิจัย ... 3

1.4 ขอบเขตของการวิจัย ... 3

1.5 ประโยชน์การวิจัย ... 4

1.6 นิยามเฉพาะ ... 4

บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ... 6

2.1 ชีวเคมีของเลือด ... 6

2.2 องค์ประกอบของเลือด ... 7

2.3 ฮีโมโกลบิน ... 12

2.4 การเปลี่ยนแปลงสีของเลือด ... 15

2.5 สเปกตรัมของการดูดกลืนแสงของฮีโมโกลบิน ... 16

2.6 วัตถุพยานประเภทเลือด ... 17

2.7 ทฤษฎีของแสง ... 19

2.8 เทคนิค UV-Visible spectrometry 20

2.9 พื้นที่ผิว 23

2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 23

2.11 กรอบแนวคิดการวิจัย 26

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 27

3.1 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 27

3.2 การศึกษาเพื่อกำหนดกรอบแนวคิดการวิจัย 27

3.3 การกำหนดอาสาสมัคร 28

3.4 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย 28

3.5 วิธีการดำเนินการทดลอง 28

บทที่ 4 ผลการศึกษา 31

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ 43

5.1 สรุปผลการวิจัย และอภิปรายผลการวิจัย 43

5.2 ข้อเสนอแนะ 44

ภาคผนวก 45

รายการอ้างอิง 49

ประวัติผู้เขียน 51

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง ไม้ และแผ่นกระจก ที่เวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง 34

ตารางที่ 2 สมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ของค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก กระเบื้อง ไม้ และแผ่นกระจก กับเวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง 36

ตารางที่ 3 สมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ของค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง ไม้ และแผ่นกระจก กับเวลาจากแบ่งออกเป็น 2 ช่วง 38

ตารางที่ 4 อายุของคราบเลือดบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง ไม้ และกระจก ที่คำนวณได้จากสมการ 40

ตารางที่ 5 สมการและค่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพัทธ์ (R^2) ของความสัมพันธ์ระหว่างอายุจริงของคราบเลือดและอายุของคราบเลือดบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก และแผ่นกระเบื้อง ที่คำนวณได้ 42

ตารางที่ 6 ค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดลงบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า และเหล็ก 46

ตารางที่ 7 ค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดลงบนพื้นผิวของกระดาษ พลาสติก และกระเบื้อง 47

ตารางที่ 8 ค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดลงบนพื้นผิวของกระดาษ พลาสติก และกระเบื้อง 48

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ส่วนประกอบของเลือด 7

ภาพที่ 2 องค์ประกอบของเลือด 10

ภาพที่ 3 ลักษณะของเลือด 10

ภาพที่ 4 โครงสร้างของฮีโมโกลบินที่แสดงลักษณะ tetramer 12

ภาพที่ 5 การสลายตัวของฮีโมโกลบิน 13

ภาพที่ 6 heme หรือ ferroprotoporphyrin IX type III 14

ภาพที่ 7 Hemoglobin reaction kinetics ภายในและภายนอกร่างกาย 15

ภาพที่ 8 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของเลือด 16

ภาพที่ 9 การดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง 22

ภาพที่ 10 สมการกฎของเบียร์-แลมเบิร์ต 22

ภาพที่ 11 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนและความเข้มข้น 23

ภาพที่ 12 คราบเลือดจากอาสาสมัครบนพื้นผิวประเภทต่างๆ 31

ภาพที่ 13 สเปกตรัมของค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการเก็บคราบเลือดบนพื้นผิวของผ้าที่เวลา 1 – 6 ชั่วโมง 32

ภาพที่ 14 สเปกตรัมของค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการเก็บคราบเลือดบนพื้นผิวของผ้าที่เวลา 12 – 48 ชั่วโมง 32

ภาพที่ 15 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง ไม้ และแผ่นกระจก กับเวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง 35

ภาพที่ 16 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง ไม้ และแผ่นกระจก กับเวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6 ชั่วโมง (หมายเหตุ; ไม้ที่เวลา 1-5 ชั่วโมง, แผ่นกระจกที่เวลา 1-4 ชั่วโมง) 37

ภาพที่ 17 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง ไม้ และแผ่นกระจก กับเวลา 12, 24, 36, 48 ชั่วโมง (หมายเหตุ; ไม้ที่เวลา 6 - 48 ชั่วโมง, แผ่นกระจกที่เวลา 5 - 48 ชั่วโมง).... 37

ภาพที่ 18 ความสัมพันธ์ระหว่างอายุของคราบเลือดที่คำนวณได้กับอายุจริงของคราบภายหลังการหยดลงบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง และกระจก. 41

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

อาชญากรรมเป็นการกระทำความผิดทางอาญาที่เป็นปัญหาของสังคมโดยส่งผลกระทบต่อความปลอดภัยในชีวิตและความปลอดภัยทางทรัพย์สิน ซึ่งในปัจจุบันมีการเกิดอาชญากรรมในรูปแบบต่างๆ มากมาย เช่น การฆาตกรรม การทำร้ายร่างกาย การข่มขืนกระทำชำเรา การชิงทรัพย์ เป็นต้น โดยสาเหตุที่ทำให้อาชญากรกระทำความผิดนั้นอาจเป็นผลมาจากทางด้านครอบครัว ฐานะทางเศรษฐกิจ การเปลี่ยนแปลงทางเศรษฐกิจ การว่างงาน ความเสื่อมโทรมทางศีลธรรม ซึ่งการกระทำดังกล่าวทำให้เกิดเป็นคดีความที่มีผู้เสียชีวิต ผู้เสียหาย และผู้ต้องหาจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการหาตัวผู้กระทำความผิดมาลงโทษทางกฎหมาย (เปาวลี งามขำ และ ธิติ มหาเจริญ, 2561)

ซึ่งในปัจจุบันมีการนำหลักการทางวิทยาศาสตร์ในด้านต่างๆมาประยุกต์ในงานนิติวิทยาศาสตร์เพื่อพิสูจน์ หาหลักฐาน โดยสามารถหาได้จากร่องรอยหลักฐานที่ผู้ต้องสงสัยทิ้งไว้ทั้งทางกายภาพและชีวภาพ เช่น คราบเลือด คราบอสุจิ เส้นผม เล็บ รอยนิ้วมือ กระสุนปืน เขม่าดินปืน เป็นต้น

ในทางคดีอาญาประเภทประทุษร้ายพยานหลักฐานที่พบมากที่สุดจากการก่ออาชญากรรม คือ คราบเลือดซึ่งคราบเลือดที่ได้จากที่เกิดเหตุนั้นอาจจะได้มาจากกระเซ็นที่อยู่บนฝาผนัง บนพื้น หรือเปรอะเปื้อนอยู่ในวัตถุอื่นๆที่ใช้ในการก่อเหตุ นอกจากนี้อาจพบได้จากผู้เสียหาย ผู้ต้องสงสัย และศพ โดยเลือดถือเป็นวัตถุพยานทางชีวภาพที่สำคัญในการนำไปใช้ประโยชน์ในการวิเคราะห์ตรวจพิสูจน์จากพยานหลักฐานทางนิติวิทยาศาสตร์สามารถวิเคราะห์ลำดับเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นทางวิทยาศาสตร์ได้ เช่น การพิสูจน์ตัวบุคคลจากการทำ DNA Profiling, การวิเคราะห์เลือดจากรูปร่างของคราบเลือด ลักษณะการกระจายตัวของคราบเลือด ตำแหน่งที่พบคราบเลือด และปริมาณของเลือดที่พบในที่เกิดเหตุ เพื่อนำไปสู่การวิเคราะห์เหตุการณ์ที่เกิดขึ้นจริง นอกจากนี้คราบเลือดที่ได้จากที่เกิดเหตุนั้นยังสามารถใช้ประโยชน์ในการประเมินระยะเวลาของคราบเลือดเพื่อวิเคราะห์ลำดับเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นได้ เช่น การสังเกตด้วยตาเปล่าโดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงทางฟิสิกส์ของคราบเลือดที่มีการเปลี่ยนแปลงสีของคราบเลือดซึ่งเป็นการประมาณได้อย่างคร่าวๆ เนื่องจากมีปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมหลายปัจจัยที่เกิดขึ้นทำให้การคาดคะเนผิดไปจากความจริง ไม่ว่าจะเป็น ความชื้น ความเย็น ความร้อน แสงแดด ลม อุณหภูมิ และองค์ประกอบของเลือดแต่ละบุคคล (จิณห์นิภา ปาวะภินันท์, 2564)

งานด้านนิติวิทยาศาสตร์คราบเลือดที่พบในที่เกิดเหตุมีความสำคัญอย่างมาก ซึ่งจะมีการเปลี่ยนของ Hemoglobin (Hb) และธาตุเหล็ก โดย Hemoglobin มีความสามารถในการเปลี่ยนแปลง ที่เรียกว่า Hemoglobin derivatives ได้ 2 แบบ คือ 1) Hb จะไม่จับกับออกซิเจน เรียกว่า

Deoxyhemoglobin (Hb) และ 2) Hb จะจับกับออกซิเจน เรียกว่า Oxyhemoglobin (HbO2) ซึ่งภายในหลอดเลือดแดงจะเกิดขึ้นร้อยละ 90 เกิดในหลอดเลือดดำร้อยละ 70 และร้อยละ 1 จะเกิด Autoxidized อยู่ในรูป Methemoglobin (MetHb) ทำให้เลือดมีสีน้ำตาลเข้ม จากนั้น Methemoglobin (MetHb) จะเกิดปฏิกิริยา Reduction ในร่างกายที่เป็นการ Reductase protein cytochrome b5 ให้กลับไปอยู่ในรูป Deoxyhemoglobin (Hb) แต่ถ้าเลือดมีการออกนอกร่างกายในรูปแบบของ Methemoglobin (MetHb) ทำให้เกิดการ Denaturation ที่เป็นการเสียสภาพความเป็นธรรมชาติของเลือด ทำให้ Methemoglobin (MetHb) ถูกเปลี่ยนไปเป็น Hemichrome ทำให้เลือดเป็นสีดำแล้วจะไม่สารถมาจับกับออกซิเจนได้อีก (Bergmann et al., 2017)

การวิเคราะห์คราบเลือดเพื่อใช้ในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์มีการวิเคราะห์จากเทคนิคต่างๆ หลากหลาย เช่นศึกษาการประเมินอายุของคราบเลือดบนผ้าฝ้ายสีขาวในช่วงเวลาที่แตกต่างกันด้วยเทคนิค ATR-FTIR และการวัดค่าสีด้วย Spectrophotometer และใช้ช่วงในการสแกน 360-830 นาโนเมตร จากนั้นนำค่าสีที่ได้มาทำการสร้างกราฟมาตรฐานและนำสมการความสัมพันธ์ของค่าสีกับอายุของคราบเลือดเพื่อใช้ในการทำนายอายุของตัวอย่างคราบเลือด โดบอายุที่ประมาณได้กับอายุจริงของคราบเลือดมีความสัมพันธ์กันมากและมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9565 (จิณห์นิภา ปาวะภินันท์, 2564) ศึกษาการประมาณอายุของคราบเลือดจากการเปลี่ยนแปลงทางองค์ประกอบทางเคมีของฮีโมโกลบิน เพื่อใช้ในในการทำนายอายุของคราบเลือดโดยการใช้ Reflectance Spectroscopy (Bremmer et al., 2011) ศึกษาการประมาณอายุของคราบเลือดจากการเปลี่ยนแปลงของฮีโมโกลบินในช่วงระยะเวลาที่แตกต่างกันบนพื้นที่ผิวชนิดต่างๆ ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrometer (ปาเลวี งามขำ และ ธิติ มหาเจริญ, 2561)

ในด้านของนิติวิทยาศาสตร์สามารถใช้วิธีการวัดค่าการดูดกกลืนแสงโดยการใช้แสงอัลตราไวโอเลต จากเครื่อง UV-Visible Spectrometer ในการประเมิณอายุของคราบเลือดได้ ตามการศึกษาของ (Upstone, 2000) ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายและยังสามารถบอกถึงช่วงระยะเวลาเบื้องต้นของคราบเลือดได้จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของฮีโมโกลบินในเลือด

โดยงานวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการประเมินอายุของคราบเลือดจากการเปลี่ยนแปลงของฮีโมโกลบินในเลือดจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrometer โดยทำการศึกษาคราบเลือดบนพื้นผิวชนิดต่างๆ ได้แก่ หนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง ไม้ และแผ่นกระจก โดยกำหนดช่วงระยะเวลาของเก็บตัวอย่างคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดเวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของคราบเลือดจากค่าการดูดกลืนแสงในระยะเวลาที่กำหนดบนพื้นผิวชนิดต่างๆ โดยใช้เทคนิค UV-Visible Spectrometry

1.3 สมมุติฐานของการวิจัย

ค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดลงบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง ไม้ และแผ่นกระจก ที่วัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง UV-Visible Spectrometer และใช้ช่วงความยาวคลื่นที่ 350 - 750 นาโนเมตร จะมีค่าลดลงเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

1.4.1 ขอบเขตด้านการวิจัย

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดจากอาสาสมัครเพศหญิงที่มีสุขภาพดี จำนวน 1 คน บนพื้นผิวชนิดต่างๆ ได้แก่ หนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง ไม้ และแผ่นกระจก ปริมาณ 20 ไมโครลิตร และกำหนดระยะเวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง โดยหยดแต่ละช่วงเวลาจำนวน 5 หยด และวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrometer โดยใช้ความยาวคลื่นในช่วง 350 ถึง 750 นาโนเมตร

1.4.2 ขอบเขตด้านอาสาสมัคร

อาสาสมัครเพศหญิงจำนวน 1 คน อายุ 26 ปี ส่วนสูง 152 เซนติเมตร น้ำหนักประมาณ 47 กิโลกรัม ที่มีสุขภาพดี ไม่มีภาวะโลหิตจาง ไม่มีโรคที่สามารถติดต่อที่เกี่ยวกับระบบเลือด และการติดต่อชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ยังต้องไม่ได้รับยาปฏิชีวนะอย่างน้อย 7 วัน

1.4.2 ขอบเขตด้านตัวแปร

ตัวแปรอิสระ ได้แก่

1) พื้นผิวที่ใช้ในการทดลอง คือ หนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง ไม้ และแผ่นกระจก
2) เวลาที่กำหนดวนการเก็บคราบเลือด คือ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง

ตัวแปรตาม ได้แก่ ค่าการดูดกลืนแสงของฮีโมโกลบินในเลือดบนพื้นที่ผิวชนิดต่างๆ

ตัวแปรอิสระ ได้แก่

1) ปริมาณหยดเลือดบนพื้นที่ผิว 20 ไมโครลิตร

2) อาสาสมัครเพศหญิง จำนวน 1 คน

1.4.3 ขอบเขตด้านระยะเวลา

ระยะเวลาในการศึกษาครั้งนี้ ตั้งแต่เดือน กุมพาพันธ์ 2567 - มีนาคม 2567 เป็นระยะเวลา 1 เดือน

1.5 ประโยชน์การวิจัย

1.5.1 สามารถใช้การวิเคราะห์ค่าการดูดกกลืนแสงของคราบเลือดด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrometer ในการประเมิณอายุของคราบเลือดบนพื้นผิวประเภทต่างๆได้

1.5.2 การวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrometer เป็นวิธีที่ง่ายและใช้เวลาไม่นานในการประเมิณอายุของคราบเลือดเบื้องต้นได้

1.6 นิยามเฉพาะ

เลือด (Blood) คือ ของเหลวชนิดหนึ่งในร่างกาย ประกอบด้วย น้ำเลือด เกล็ดเลือด เซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดขาว ร่างกายเรามีเลือดอยู่ประมาณ 5 ลิตรหรือคิดเทียบกับน้ำหนักตัวเท่ากับร้อยละ 7-8 ของน้ำหนักตัว

สเปกโทรสโคปี (Spectroscopy) เป็นศาสตร์ที่ศึกษาเกี่ยวกับการวัดการดูดกลืน (Absorption) หรือการคาย (Emission) รังสีแม่เหล็กไฟฟ้า (Electromagnetic radiation) ของสาร โดยเฉพาะสารส่วนใหญ่สามารถดูดกลืนคลื่นในช่วงอุลตราไวโอเลต (Ultraviolet; UV) และช่วงแสงที่มองเห็นได้ (Visible; Vis) ซึ่งอยู่ในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 190 – 800 นาโนเมตร

UV-Vis Spectrometer คือ เครื่องมือสำหรับการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เหมาะสำหรับงานวิเคราะห์เชิงปริมาณและเชิงคุณภาพ โดยการวิเคราะห์เชิงปริมาณนั้นจะอาศัยกฎของเบียร์ โดยค่าความเข้มข้นสูงขึ้นค่าดูดกลืนแสงจะสูงขึ้น สามารถหาได้ในรูปแบบของการพลอตกราฟมาตรฐาน (Calibration graph) แสงจากแหล่งกำเนิดแสง (Light source) เดินทางไปยังโมโนโครมาเตอร์ (Monochromator) เพื่อควบคุมแสงและกระจายออกเป็นช่วงความยาวคลื่นต่างๆ ก่อนผ่าน

สารละลายตัวอย่าง (Cell compartment) และเข้าสู่ตัวตรวจวัด (Detector) โดยเปลี่ยนพลังงานแสงเป็นพลังงานไฟฟ้า ถูกประมวลผลด้วยคอมพิวเตอร์

การดูดกลืนแสง (Absorption) กล่าวคือเมื่อแสงอุลตราไวโอเลตหรือแสงที่มองเห็นผ่านเข้าไปในสารละลายตัวอย่างจะพบว่าแสงบางส่วนถูกดูดกลืน บางส่วนเกิดการสะท้อน บางส่วนกระเจิง และบางส่วนทะลุออกไป

ความยาวคลื่น (Wavelength) คือ ระยะทางที่คลื่นไปได้ในช่วงเวลาของ 1 คาบ หรือระยะทางระหว่างส่วนที่ซ้ำกันของคลื่น สัญลักษณ์แทนความยาวคลื่นที่ใช้กันทั่วไปคือ อักษรกรีก แลมบ์ดา (**λ**) และมีหน่วยเป็นนาโนเมตร

พื้นผิว คือ สิ่งที่ตาเห็น หรือสัมผัสได้ด้วยมือบนระนาบผิวตอนหน้า หรือรอบๆวัตถุซึ่งมีลักษณะต่างๆ กัน เช่น หยาบ ละเอียด ขรุขระ ด้าน มัน เรียบ เป็นต้น โดยลักษณะพื้นผิวสามารถแบ่งออกได้ 2 ชนิด คือ ลักษณะพื้นผิวที่สามารถจับต้องได้และลักษณะพื้นผิวที่ไม่สามารถจับต้องได้

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยเชิงทดลองผู้วิจัยได้ศึกษาค้นคว้าแนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง เพื่อเป็นแนวทางการศึกษาวิจัยซึ่งจากการค้นคว้าข้อมูลแสดงตามหัวข้อ ดังนี้

2.1 ชีวเคมีเลือด

2.2 องค์ประกอบของเลือด

2.3 ฮีโมโกลบิน

2.4 การเปลี่ยนแปลงสีของเลือด

2.5 สเปกตรัมของการดูดกลืนแสงของฮีโมโกลบิน

2.6 วัตถุพยานประเภทเลือด

2.7 ทฤษฎีของแสง

2.8 เทคนิค UV-Visible spectrometry

2.9 พื้นผิว

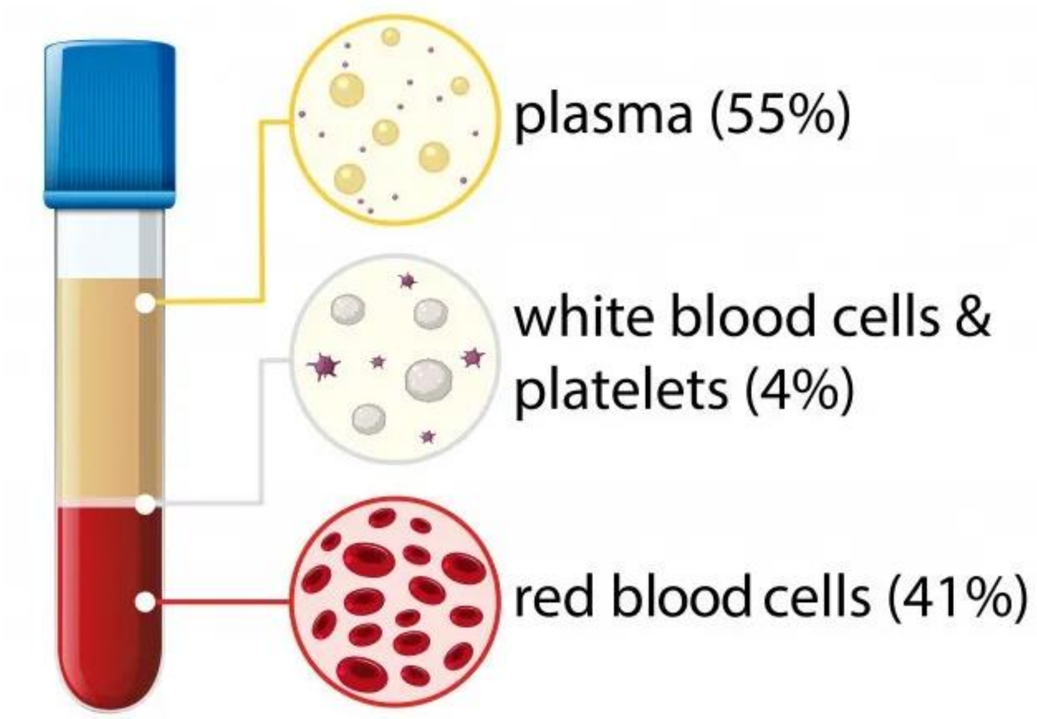
2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.11 กรอบแนวคิดในการวิจัย

โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

2.1 ชีวเคมีของเลือด

เลือดเป็นองค์ประกอบสำคัญของร่างกายมนุษย์และสัตว์ที่ทำให้เซลล์สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้จากการทำงานร่วมกันอย่างมีระบบ โดยไหลเวียนอยู่ในวงจรแบบปิดภายในหลอดเลือด โดยเลือดในร่างกายของผู้ใหญ่ปกติมีปริมาณ 7-8% ของน้ำหนักตัว หรือประมาณ 5 - 6 ลิตร ซึ่งสามารถแบ่งส่วนประกอบออกเป็น 2 ส่วนใหญ่ ๆ คือ ส่วนเม็ดเลือด (cellular elements หรือ formed elements) ที่ประกอบด้วย เม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว เกล็ดเลือด และส่วนที่เป็นของเหลว (liquid medium) เรียกว่า พลาสมา โดยเลือดมีค่าความถ่วงจำเพาะ 1.035 - 1.075 โดยเลือดมีพีเอช (pH) 7.35-7.45 และมีอุณหภูมิ 37-38 องศาเซลเซียส (วรพรรณ ศิริวัฒนอักษร และคณะ, 2562)



ภาพที่ 1 ส่วนประกอบของเลือด
ที่มา: https://ngthai.com/science/42014/circulatory-system/

2.2 องค์ประกอบของเลือด(วิน เชยชมศรี, ม.ป.ป.)

เลือดเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่เป็นของเหลวไหลเวียนอยู่ในหลอดเลือด ซึ่งประกอบด้วย ส่วนที่เป็นน้ำเลือด เรียกว่า Plasma เป็นของเหลวที่เป็นกลางที่ให้เม็ดเลือดแขวนลอยตัวอยู่ และส่วนที่เป็นเม็ดเลือดซึ่งเป็นส่วนที่ตัวเซลล์แขวนลอยด์ไหลเวียนอยู่ในร่างกาย ประกอบไปด้วย เซลล์เม็ดเลือดแดง (Red Blood cells; RBCs), เซลล์เม็ดเลือดขาว (White Blood cells; WBCs) และเกล็ดเลือดหรือทรอมโบไซต์ (Platelet or Thrombocyte)

2.2.1 น้ำเลือดหรือพลาสมา (Plasma) น้ำเลือดที่แยกเอาส่วนของเม็ดเลือดออกไปแล้ว มีลักษณะ เป็นของเหลวสีเหลืองใส ซึ่งมีสารต่างๆละลายอยู่ ได้แก่ โปรตีนชนิดต่างๆ รวมถึงปัจจัยในการแข็งตัวของเลือด คาร์โบไฮเดรต ไขมัน วิตามิน เกลือแร่ต่างๆ (อิเล็กโทรไลต์) ฮอร์โมน และสารอื่นๆ โดยการแยกพลาสมาจะต้องเก็บเลือดโดยใช้สารกันเลือดแข็ง (Anticoagulants) เช่น Oxalate, EDTA (Ethyene diamine tetraacetic acid), Heparin, ACD (Acid citrate dextrose)

2.2.2 เซลล์เม็ดเลือดแดง (Red Blood Cell, RBCs หรือ Erythrocytes) มีหน้าที่ขนส่งออกซิเจนจากปอดไปสู่เซลล์ต่าง ๆ และนำก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กลับมาที่ปอด ซึ่งเซลล์เม็ดเลือดแดงมีลักษณะกลมแบนตรงกลางเว้าเข้าหากันทั้งสองด้านเพื่อเพิ่มพื้นที่ในการขนส่งออกซิเจน ไม่มีนิวเคลียสและไมโทคอนเดรีย ใช้พลังงานจากการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic Respiration) ประกอบด้วย ฮีโมโกลบินซึ่งเป็นโปรตีนที่มีธาตุเหล็กเป็นองค์ประกอบ เอนไซม์ (Enzyme) และพวกอิออน (ion) ในเลือดจะมีเซลล์เม็ดเลือดแดงอยู่ 45 เปอร์เซ็นต์ของเลือดทั้งหมด โดยสร้างจากไขกระดูกโดยมีความดัน ปริมาณออกซิเจนในเลือดตลอดจนการเสียชีวิตและการได้รับเลือดเป็นปัจจัยที่สำคัญที่เกี่ยวข้องกับการสร้างเลือด มีฮอร์โมนอีริโทรพอยอีติน (Erythropoietin) ในเลือดเป็นตัวควบคุมการสร้างโดยเม็ดเลือดแดงมีอายุ 120 วัน หลังจากนั้นจะถูกส่งไปทำลายที่ตับ ม้าม และไขกระดูก ซึ่งปริมาณเม็ดเลือดแดงในเพศชายมีค่าเท่ากับ 5.5-6 ล้านเซลล์/ลูกบาศก์มิลลิลิตร และในเพศหญิงมีค่าเท่ากับ 4.5-5 ล้านเซลล์/ลูกบาศก์มิลลิลิตร โดยปริมาณเลือดขึ้นอยู่กับอายุ บทบาทของร่างกาย ภูมิอากาศ ระดับความสูงของที่อยู่ พยาธิสภาพของโรคที่เกิดขึ้นกับร่างกาย

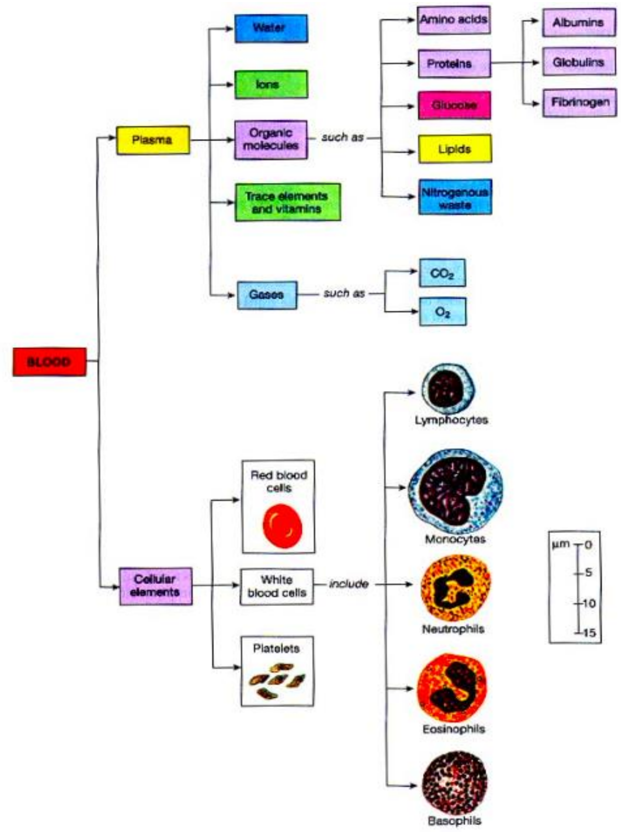
2.2.3 เม็ดเลือดขาว (White Blood Cells, WBCs หรือ Leucocytes) เซลล์เม็ดเลือดขาวมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 8 ไมครอน มีนิวเคลียสขนาดใหญ่ มีอายุ 2-14 วัน ทำหน้าที่ป้องกันและทำลายสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกายด้วยวิธีต่างๆ ซึ่งเม็ดเลือดขาวมีคุณสมบัติที่สำคัญ คือ สามารถเคลื่อนที่ผ่านผนังหลอดเลือดฝอยเข้าสู่เนื้อเยื่อไปยังบริเวรที่มีเชื้อโรค (Diapedesis), สามารถเคลื่อนที่เข้าไปหาเชื้อโรคโดยการดึงดูดของสารเคมีที่ถูกปล่อยจากเชื้อโรค เช่น แบคทีเรีย (Chemotaxis), เม็ดเลือดขาวสามารถจับกินสิ่งแปลกปลอมโดยวิธีการเข้าโอบล้อมและย่อยเชื้อโรค หรือสิ่งแปลกปลอม (Phagocytosis) โดยเม็ดเลือดขาวสามารถแบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ เซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีแกรนูลหรือมีนิวเคลียสหลายแบบ (Granulocytic or polymorphonuclear cell) และเซลล์เม็ดเลือดขาวประเภทที่ไม่มีแกรนูลหรือมีนิวเคลียสเดียว (Agranulocytic or mononuclear cell)

1) เซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีแกรนูลหรือมีนิวเคลียสหลายแบบ (Granulocytic polymorphonuclear cell) ที่อยู่ในไซโตพลาซึม สร้างจากไขกระดูก ได้แก่ นิวโทรฟิล (Neutrophil) เป็นเซลล์ที่ย้อมแล้วจะเห็นเป็นสีเทา ๆ มีจำนวน 60-70 เปอร์เซ็นต์ของเม็ดเลือดขาวทั้งหมด ทำหน้ากำจัดแบคทีเรียและเชื้อรา โดยการกินและปล่อยเอนไซม์ออกมาย่อยสลายแบคทีเรียหรือที่เรียกว่าวิธีฟาโกไซโทซิส จากนั้นจะตายไปพร้อมกับแบคทีเรียและกลายสภาพเป็นหนอง, อีโอซิโนฟิล (Eosinophil) เป็นเซลล์ที่ย้อมติดสีชมพู มีหน้าที่ป้องกันการแพ้ และจำกัดปรสิตโดยวิธีฟาโกไซโทซิสเช่นเดียวกับนิวโทรฟิล, เบโซฟิล (Basophil) เป็นเซลล์ที่ย้อมติดสีน้ำเงิน มีหน้าที่ป้องกันเชื้อโรคโดยการหลั่งสารฮิสตามีน ซึ่งเป็นสาเหตุของอาการอักเสบ

2) เซลล์เม็ดเลือดขาวประเภทที่ไม่มีแกรนูลหรือมีนิวเคลียสเดียว (Agranulocytic or mononuclear cell) อยู่ในไซโตพลาซึม สร้างจากม้าม ต่อมไทมัส และต่อมน้ำเหลือง ได้แก่ ลิมโฟไซต์ (Lymphocyte) มี 2 ชนิดคือ T-cell เจริญและพัฒนาที่ต่อมไทมัส ป้องกันสิ่งแปลกปลอมหรือเชื้อโรคโดยการเข้าปะทะโดยตรงและ B-cell เจริญและพัฒนาที่ไขกระดูก ป้องกันสิ่งแปลกปลอมหรือเชื้อโรคโดยการสร้างแอนติบอดี้ขึ้นมาต่อต้าน โมโนไซต์ (Monocyte) เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีขนาดใหญ่ที่สุด รูปร่างของนิวเคลียสมีลักษณะคล้ายไต กำจัดได้ทั้งแบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส และปรสิตโดยวิธีฟาโกไซโทซิส เกล็ดเลือดหรือเพตเลต (Platelet) มาจากเศษของ Megakaryocytes ที่พบในไขกระดูก ไม่มีนิวเคลียส อายุของเกล็ดเลือดประมาณ 5-9 วัน หลังจากนั้นจะถูกทำลายที่ตับและม้าม เกล็ดเลือดทำหน้าที่ช่วยให้เลือดแข็งตัว โดยการปล่อยสารทรอมโบพลาสตินซึ่งเป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่งออกมา ทรอมโบพลาสตินจะไปกระตุ้นโพรทรอมบินให้กลายเป็นทรอมบิน ทรอมบินกระตุ้นไฟบริโนเจนให้กลายเป็นไฟบริน ซึ่งจะรวมตัวสานกันในลักษณะตาข่ายเพื่อปิดบาดแผลไว้

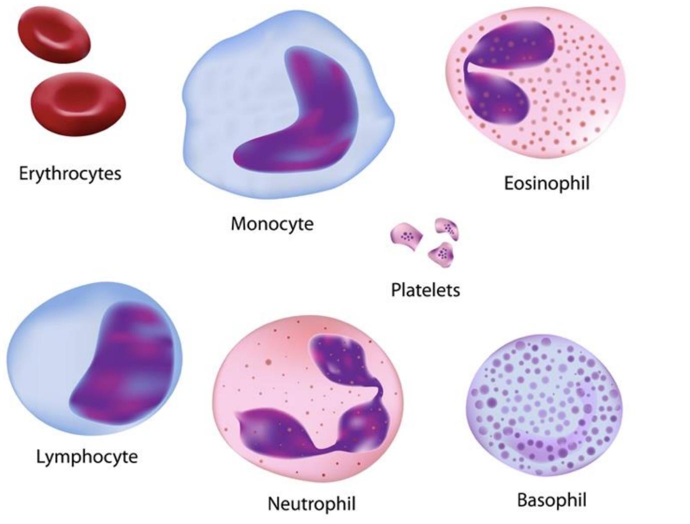
2.2.4 เกล็ดเลือด (Thrombocyte, Platelet) เป็นองค์ประกอบของเลือดที่มีขนาดเล็กที่สุด ประมาณ 2-4 ไมครอน ไม่มีนิวเคลียส ส่วนใหญ่รูปร่างกลมแบน กระจายอยู่ทั่วไปกลางเซลล์ในคนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม มีต้นกำเนิดมาจากเซลล์เมกะคาริโอไซต์ (mekaryocyte) ในไขกระดูก ในสัตว์มีกระดูกสันหลังชนิดอื่นจะพบองค์ประกอบนี้เป็นเซลล์ที่เรียกว่า ทรอมโบไซต์ (Thrombocyte) ที่ทำหน้าที่สำคัญเกี่ยวกับการแข็งตัวของเลือดช่วยทำให้เลือดหยุดไหลหรือห้ามเลือดเมื่อเกิดบาดแผล

มหาวิทยาลัยศิลปากร



ภาพที่ 2 องค์ประกอบของเลือด

ที่มา: https://pirun.ku.ac.th /~fsciwcc/HEMATO2.PDF



ภาพที่ 3 ลักษณะของเลือด

ที่มา: https://www.trueplookpanya.com/knowledge/content /60781/-scibio-sci-

2.1.5 หน้าที่ของเลือด (วิน เชยชมศรี, ม.ป.ป.)

โดยเลือดมีหน้าที่ ดังนี้

1) เลือดมีหน้าที่ในการขนส่ง (Transportation) ซึ่งจะช่วยในการขนส่งอาหาร (Nutrient transportation) โดยจะขนส่งสารอาหารต่างๆ ที่ได้จากการย่อยในระบบทางเดินอาหารเข้าผ่านทางเส้นเลือดฝอยแล้วส่งไปสู่เนื้อเยื่อต่างๆ ในร่างกาย, เลือดมีหน้าที่ในการช่วยขนส่งแก๊ส (Gaseous transportation) โดยฮีโมโกลบินที่เป็นโปรตีนอยู่ในเม็ดเลือดแดงซึ่งมีความสามารถในการจับกับออกซิเจนเป็นออกซิฮีโมโกลบิน (Oxyhemoglobin) เพื่อนำออกซิเจนไปเนื้อเยื่อต่างๆ, ขนส่งของเสีย (Waste product transportation) ของเสียที่ได้จากขบวนการเมแทบอลิซึมในเนื้อเยื่อต่างๆของร่างกาย เช่น ยูเรีย กรดยูริค ครีเอตินิน เป็นต้น โดยแร่ธาตุต่างๆจะถูกขนส่งออกจากเนื้อเยื่อไปขับออกที่ไต ผิวหนัง อวัยวะอื่นๆเพื่อกำจัดออกจากร่างกาย, ขนส่งฮอร์โมน (Hormone transportation) ที่ผลิตมาจากต่อมไร้ท่อ จะถูกขนส่งไปยังเนื้อเยื่อหรืออวัยวะเป้าหมายโดยเลือด

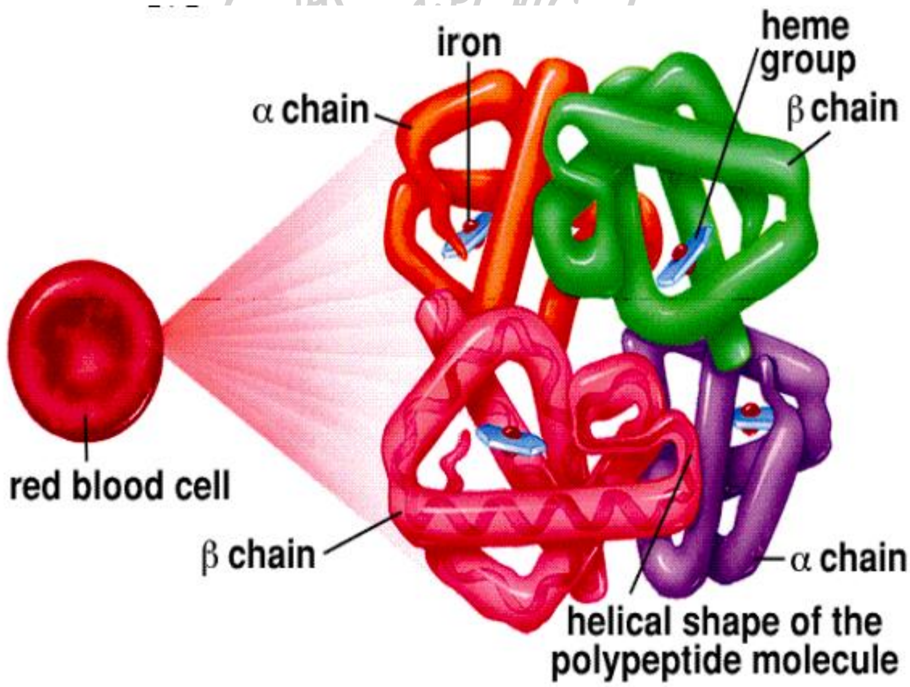
2) เลือดมีหน้าที่ช่วยการควบคุม (Regulation) โดยจะควบคุมความเป็นกรด-เบสในร่างกาย (Regulation of body pH) ขบวนการเมทตาบอลิซึมและปฏิกิริยาทางชีวเคมีต่างๆในร่างกาย ที่เกิดขึ้นในร่างกาย รวมถึงการเผาผลาญอาหารหรือผลจากการได้รับยาหรือสารเคมีต่างๆเข้าไป จะมีผลทำให้ความเป็นกรด-เบสของร่างกายเปลี่ยนแปลง เช่น การเกิดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ กรดแลคติค เป็นต้น โดยเลือดจะทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ช่วยรักษาระดับความเป็นกรด-เบสในร่างกายให้คงที่หรือมีการเปลี่ยนแปลงที่น้อยที่สุด, ควบคุมอุณหภูมิของร่างกาย (Regulation of body temperature) เลือดควบคุมอุณหภูมิหรือความร้อนในร่างกายโดยการกระจายความร้อนและการขับเหงื่อ, ควบคุมน้ำในร่างกาย (Regulation of water balance) เลือดทำหน้าที่รักษาสมดุลของของเหลวในกระแสเลือดกับของเหลวในเนื้อเยื่อโดยกานแลกเปลี่ยนของน้ำ

3) เลือดมีหน้าที่ช่วยการป้องกัน (Protection) โดยจะป้องกันการสูญเสียเลือด (Protection of blood loss) เมื่อเกิดบาดแผลขึ้นกับร่างกายเลือดจะมีกลไกการห้ามเลือดโดยอาศัยปัจจัยการแข็งตัวของเลือดรวมถึงเกล็ดเลือดในการช่วยให้เกิดการอุดปิดบาดแผล, ช่วยป้องกันสิ่งแปลกปลอม (Protection of foreign body) เลือดป้องกันสิ่งแปลกปลอม เช่น เชื้อโรค ตลอดจนสารพิษที่เข้าสู่ร่างกาย โดยอาศัยกลไกการทำงานของเม็ดเลือดขาว เกล็ดเลือด และแอนติบอดี้ (Antibodies) ที่ไหลเวียนในกระแสเลือด

2.3 ฮีโมโกลบิน (วรพรรณ ศิริวัฒนอักษร, 2562)

ฮีโมโกลบิน (Hemoglobin : Hb) เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเม็ดเลือดแดง ซึ่งมีทำหน้าที่สำคัญ คือขนส่งออกซิเจนจากปอดไปสู่เนื้อเยื่อต่างๆของร่างกายและนำคาร์บอนไดออกไซด์จากเนื้อเยื่อของร่างกายไปยังปอด ควบคุม pH ของเลือด ซึ่งฮีโมโกลบินเป็นโปรตีนทำให้เลือดมีสีแดง โดยทั่วไปในผู้ใหญ่ปกติจะมีค่า Mean SD ในชาย 15.5 1.1 ก / ดล. และ ในหญิง 13.5 1.0 ก / ดล.

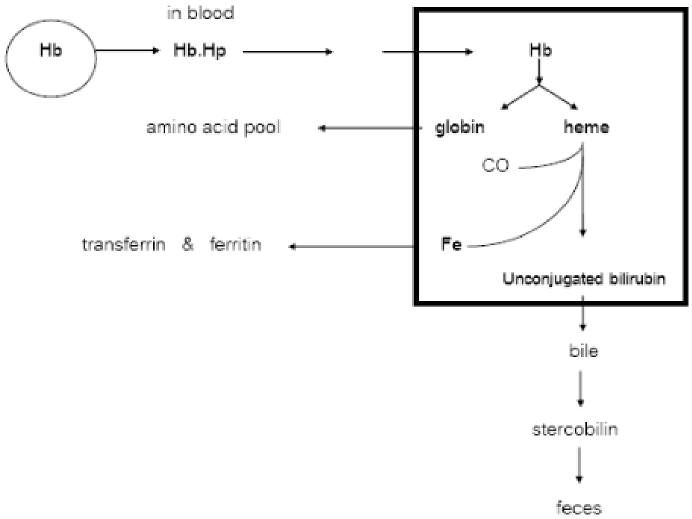
โครงสร้างของฮีโมโกลบินเป็นโปรตีนที่เชื่อมต่อกัน มีน้ำหนักโมเลกุล 68,000 ดาลตัน และต่อกันในลักษณะที่เป็น Tetramer ที่ประกอบไปด้วยสายโปลีย์เป็ปไทด์ 4 สายยึดติดกัน ยึดติดกันด้วย salt bridge และในแต่ละสายจะฮีม (Heme) อยู่ภายใน ซึ่งมีหน้าที่สำคัญในการจับO_2 ในคนปกติโปลีย์เป็ปไทด์ 2 คู่แรกจะเป็นชนิดแอลฟาเสมอ ส่วนคู่ที่สองจะเป็นชนิดบีต้า หรือแกมม่า หรือเดลต้าก็ได้ ดังแสดงในรูปภาพที่ 4 เมื่อรวมกันครบ 4 สายแล้ว จะพบชนิดของ Hb ในผู้ใหญ่ปกติได้ 3 แบบ คือ HbA ($\alpha_2\beta_2$) 97% , HbA_2 ($\alpha_2\delta_2$)ไม่เกิน 2.5% และ HbF ($\alpha_2\gamma_2$) น้อยกว่า 1%



ภาพที่ 4 โครงสร้างของฮีโมโกลบินที่แสดงลักษณะ tetramer

ที่มา: ชีวเคมีของเลือด (หน้า 53), โดย วรพรรณ ศิริวัฒนอักษร, ชัชวาล ศรีสวัสดิ์, นีโลบล เนื่องตัน, ภัทรบุตร มาศรัตน, สมทรง เลขะกุล, 2562, กรุงเทพฯ :ภาควิชาเคมี คณะแพทย์ศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

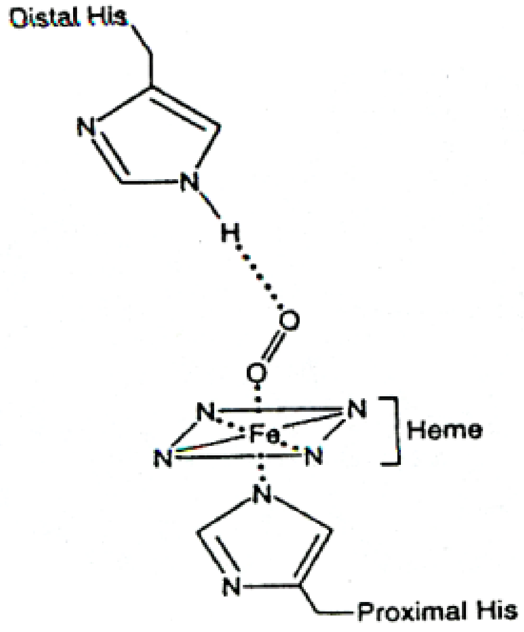
การสลายของฮีโมโกลบิน ซึ่งเม็ดเลือดแดงที่แก่เต็มที่อายุ 120 วัน จะมีการเปลี่ยนแปลงที่ผนังเซลล์ และเมื่อผ่านเข้าในหลอดเลือดฝอยของม้ามผนังเซลล์จะแตกออก Hb ที่ออกมาจะรวมกับแฮปโตโกลบินเพื่อถูกพาไปยังเซลล์ของ reticulo-endothelial system (RES) ที่สำคัญได้แก่ ตับ ม้าม และไขกระดูก โดย Hb จะถูกสลายใน RES ได้เป็นฮีมและโกลบิน ส่วนของโกลบินจะสลายต่อได้เป็นกรดอะมิโนเก็บรวมไว้ในร่างกายเพื่อนำกลับมาใช้ใหม่ ส่วนฮีมจะมีการเปลี่ยนแปลงต่อใน RES โดย microsomal heme oxygenase จะสลาย pyrrole ring ของฮีมที่ตำแหน่ง C-methene bridge กลายเป็น biliverdin พร้อมกับปล่อยเหล็กและ CO ออกมา ซึ่ง CO จะถูกขับทางปอด ส่วนเหล็กจะถูกขนส่งต่อโดย transferrin เพื่อให้เนื้อเยื่ออื่นใช้ หรือ สะสมไว้เพื่อรอการใช้ต่อไป ส่วนbiliverdin จะถูกรีดิวซ์ต่อไปเป็น bilirubin และถูกขนส่งไปที่ตับโดยรวมกับแอลบูมิน เพื่อให้ตับคอนจูเกต บิลิรูบิน และขับทิ้งออกหมดในทางเดินน้ำดี ในรายที่มีการแตกของเม็ดเลือดแดงอย่างมากในหลอดเลือด (intravascular hemolysis) จะเกิด free Hb และเปลี่ยนเป็นฮีมมากขึ้น ร่างกายจะใช้โปรตีน haptoglobinขนส่ง free Hb และใช้ hemopexin ขนส่งฮีมไปยัง RES เพื่อสลายและขับทิ้งของเสียทางน้ำดี ดังนั้นในภาวะดังกล่าวจะมีระดับโปรตีนลดลง (วรพรรณ ศิริวัฒนอักษร, 2562) ดังแสดงในรูปที่ 5



ภาพที่ 5 การสลายตัวของฮีโมโกลบิน

ที่มา: ชีวเคมีของเลือด (หน้า 59), โดย วรพรรณ ศิริวัฒนอักษร, ชัชวาล ศรีสวัสดิ์, นีโลบล เนื่องตัน, ภัทรบุตร มาศรัตน, สมทรง เลขะกุล, 2562, กรุงเทพฯ :ภาควิชาเคมี คณะแพทย์ศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

ฮีม (Heme) เป็นสารสีแดงที่อยู่ในฮีโมโกลบิน มีหน้าที่จับกับออกซิเจน โดยฮีมมีชื่อเรียกทางเคมีว่า ferroprotoporphyrin เพราะมีธาตุเหล็ก (Fe) รวมอยู่กับ protoporphyrin โดย Fe^{2+} ในฮีมจะมี coordinate bonds อยู่ 6 แขน โดยที่ 4 แขนแรกจะแยกไปจับกับไนโตรเจนของ pyrrole rings ทั้ง 4 แขนที่ 5 จะจับกับไนโตรเจนของ imidazole ring ของ histidine ในสายฮีโมโกลบิน ส่วนแขนที่ 6 18 จะจับกับ O_2 ถ้าหากวาเลนซีของเหล็กเปลี่ยนไปเป็น Fe^{3+} จะจับ O_2 ไม่ได้ ซึ่งอาจจะไปจับกับหมู่ OH^- ได้เป็น hematin หรือจับกับ Cl^- ได้เป็น hemin เฮโมโกลบินที่เหล็กเปลี่ยนเป็น Fe^{3+} มีชื่อ เรียกว่า methemoglobin ในภาวะปกติพบได้บ้างจำนวนน้อยไม่เกิน 1.5% ของฮีโมโกลบินทั้งหมด (วรพรรณ ศิริวัฒนอักษร, 2562)

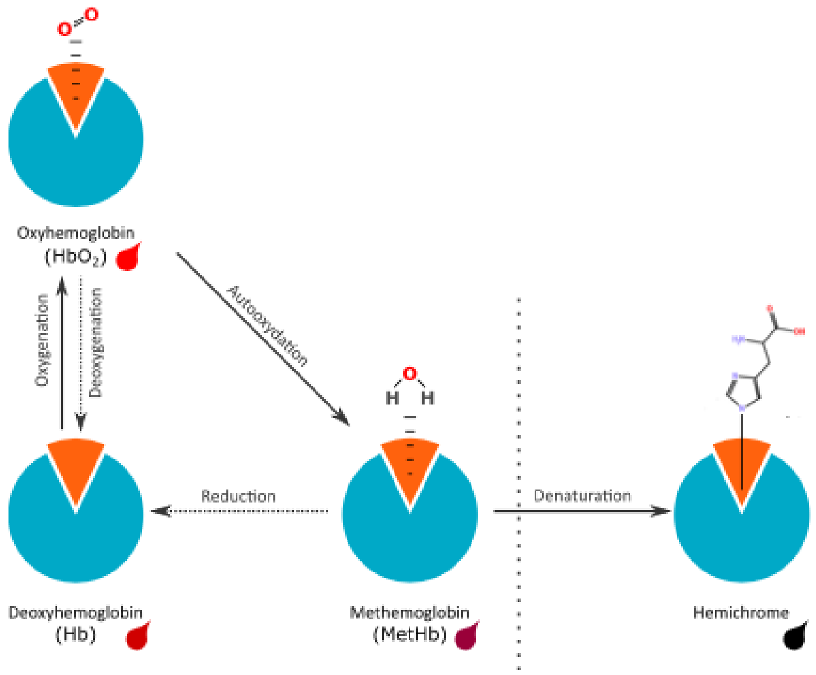


ภาพที่ 6 heme หรือ ferroprotoporphyrin IX type III

ที่มา: ชีวเคมีของเลือด (หน้า 54), โดย วรพรรณ ศิริวัฒนอักษร, ชัชวาล ศรีสวัสดิ์, นีโลบล เนื่องตัน, ภัทรบุตร มาศรัตน, สมทรง เลขะกุล, 2562, กรุงเทพฯ :ภาควิชาเคมี คณะแพทย์ศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

2.4 การเปลี่ยนแปลงสีของเลือด

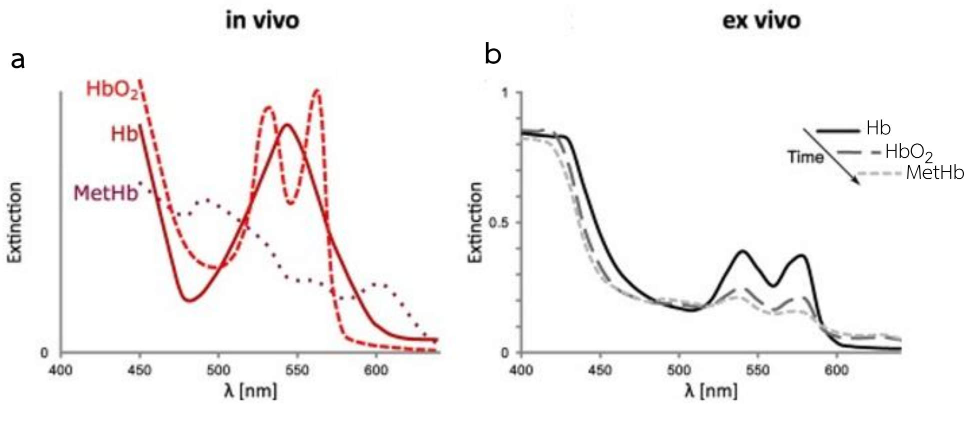
ในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์คราบเลือดที่พบในที่เกิดเหตุมีความสำคัญอย่างมาก ซึ่งจะมีการเปลี่ยนของ Hemoglobin (Hb) และธาตุเหล็ก โดย Hemoglobin มีความสามารถในการที่จะเปลี่ยนแปลง ที่เรียกว่าHemoglobin derivatives ได้2 แบบ คือ 1. Hb จะไม่จับกับออกซิเจน เรียกว่า Deoxyhemoglobin (Hb) และ 2. Hb จะจับกับออกซิเจน เรียกว่า Oxyhemoglobin (HbO_2) ซึ่งภายในหลอดเลือดแดงจะเกิดขึ้นร้อยละ 90 เกิดในหลอดเลือดดำร้อยละ 70 และร้อยละ 1 จะเกิด Autoxidized อยู่ในรูป Methemoglobin (MetHb) ทำให้เลือดมีน้ำตาลเข้ม จากนั้น Methemoglobin (MetHb) จะเกิดปฏิกิริยา Reduction ในร่างกายที่เป็นการ Reductase protein cytochrome b5 ให้กลับไปอยู่ในรูป Deoxyhemoglobin (Hb) แต่ถ้าเลือดมีการออกนอกร่างกาย ในรูปแบบของ Methemoglobin (MetHb) ทำให้เกิดการ Denaturation ที่เป็นการเสียสภาพความเป็นธรรมชาติของเลือด ทำให้ Methemoglobin (MetHb) ถูกเปลี่ยนไปเป็น Hemichrome ทำให้เลือดเป็นสีดำแล้วจะไม่สารถมาจับกับออกซิเจนได้อีก (Bergmann et al., 2017) นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงของคราบเลือดนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยภายนอกด้วย เช่น ความชื้น อุณหภูมิ สภาพแวดล้อม และพื้นผิวที่เลือดสัมผัส (Bergmann et al., 2017)



ภาพที่ 7 Hemoglobin reaction kinetics ภายในและภายนอกร่างกาย(Bergmann et al., 2017)

2.5 สเปกตรัมของการดูดกลืนแสงของฮีโมโกลบิน

โดยการเปลี่ยนแปลงสีของคราบเลือดสดนั้นจะเปลี่ยนไปตามเวลาซึ่งเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนความเข้มข้นของ Hemoglobin (Hb), Oxyhemoglobin (HbO_2), Methemoglobin (MetHb) และ Hemichrome (HC) ที่เกิดกระบวนการออกซิเดชันและกระบวนการสูญเสียสภาพความเป็นธรรมชาติ ซึ่งเกิดจากความสัมพันธ์ทางเวลาทำให้อัตราส่วนเหล่านี้มีการเปลี่ยนแปลง โดยสีของคราบเลือดที่พบในที่เกิดเหตุนั้นเป็นแหล่งข้อมูลที่สามารถนำมาใช้ในการประมาณอายุของคราบเลือดได้ และจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงของฮีโมโกลบินในเลือดทำให้ได้สเปกตรัมการดูดกลืนแสง โดยสเปกตรัมฮีโมโกลบิน (Hemoglobin; Hb) จะแสดงจุดสูงสุดที่ชัดเจนในช่วงความยาวคลื่นระหว่าง 400 ถึง 425 นาโนเมตร (เรียกว่ายอดเขา Soret), สเปกตรัมของ Oxyhemoglobin (HbO_2) แสดงพีคหลัก 2 พีคที่ความยาวคลื่นสูงสุดที่ 578 นาโนเมตร และ 542 นาโนเมตร ในขณะที่ Methemoglobin (MetHb) ให้พีคที่เป็นลักษณะเฉพาะที่ความยาวคลื่น 499, 626 นาโนเมตร และ Hemichrome (HC) แสดงพีคสูงสุดที่ความยาวคลื่น 537 นาโนเมตร และเนื่องจากอัตราส่วนความเข้มข้นของฮีโมโกลบินที่เปลี่ยนแปลงไป ทำให้สเปกตรัมของเลือดในช่วงความยาวคลื่น 400 ถึง 640 นาโนเมตร จึงต้องมีการเปลี่ยนแปลงหลายอย่าง ซึ่งสิ่งที่เห็นได้ชัดเจนคือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงของ Oxyhemoglobin (HbO_2) และค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นของ Methemoglobin (MetHb) (Bergmann et al., 2017) ดังแสดงในรูปภาพที่ 8



ภาพที่ 8 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของเลือด(Bergmann et al., 2017)

หมายเหตุ; (a) แสดงสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงของ Oxyhemoglobin (HbO_2), Deoxyhemoglobin (Hb) และ Methemoglobin (MetHb) และ (b) แสดงการเปลี่ยนแปลง

สเปกตรัมของค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงของ Oxyhemoglobin (HbO2), Deoxyhemoglobin (Hb) และ Methemoglobin (MetHb) เมื่อเวลาเพิ่มมากขึ้น

2.6 วัตถุพยานประเภทเลือด

2.5.1 วัตถุพยานประภทเลือด

เลือดมักพบอยู่ในอาชญากรรมที่มีความรุนแรง เช่น คดีมาตกรรมด้วยอาวุธต่าง ๆ โลหิตที่ไหลออกมาจะมีปริมาณมากน้อยอย่างไร ย่อมขึ้นอยู่กับความฉกรรจ์ของบาลแผล ส่วนใดของร่างกายที่เกิดเป็นแผลฉกรรจ์ และบาดแผลอยู่ใกล้ทางเดินของเส้นโลหิตใหญ่ ก็ย่อมจะมีโลหิตไหลออกมามาก โลหิตที่ไหลออกมาอาจจะเปรอะเปื้อนอยู่ในที่ต่าง ๆ เช่น ตามเสื้อผ้า พื้น ฝา ผนัง ตามร่างกายผู้เสียหายหรือคนร้าย และอาวุธที่ใช้ทำร้าย ซึ่งโลหิตที่ไหลออกมาเปรอะเปื้อนอยู่ตามที่ต่างๆ จะมีลักษณะเกาะแน่นเป็นหยดหรือคราบอยู่ ณ ที่นั้นเรียกว่า หยดโลหิตหรือคราบโลหิต โดยคราบโลหิตนี้นับว่าเป็นประโยชน์แก่การสืบสวนเป็นอันมาก โดยช่วยให้ทราบถึงวิธีการกระทำผิดของคนร้าย เช่น กรณีมาตกรรมพบอาวุธมีดมีคราบโลหิตติดอยู่ ช่วยให้ทราบถึงเส้นทางหลบหนีของคนร้าย เช่น เมื่อคนร้ายบาดเจ็บแล้วหลบหนีไป หยดโลหิตจากบาดแผลอาจจะหยดตามเส้นทางที่คนร้ายหลบหนี ช่วยในการตรวจพิสูจน์ยืนยันตัวบุคคลผู้กระทำผิด เช่น การตรวจหาหมู่เลือด หรือการตรวจพิสูจน์โลหิตโดยวิธี DNA Fingerprintนอกจากนี้ยังช่วยให้ทราบระยะเวลาของการตายของผู้ตาย เช่น ในกรณีที่พบศพถูกฆ่าตายโดยอาจจะพิจารณาลักษณะของหยดโลหิตหรือคราบโลหิตประกอบกับสิ่งอื่นๆ อาจทำให้ทราบได้ว่าผู้นั้นได้ถูกฆ่าตายตั้งแต่เมื่อใด ซึ่งโลหิตที่ไหลออกมาจะมีลักษณะเหลวและมีสีแดงเข้มต่อมาจะเป็นลักษณะเหลวตรงกลางโดยขอบของโลหิตจะค่อยๆแห้งและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ต่อจากนั้นจะเปลี่ยนสภาพแห้งหรือเป็นสะเก็ดมีสีน้ำตาลเข้มหรือสีดำ

2.5.2 วิธีการเก็บวัตถุพยานประเภทเลือด

1) โลหิตเปียกในปริมาณมากหรือเป็นกองโลหิต โดยใช้ที่หยอดตา (Eyedropper) หรือหลอดฉีดยาดูดของเหลวใส่ไว้ในภาชนะบรรจุที่ผ่านการฆ่าเชื้อโรค ซึ่งปริมาณสำหรับการตรวจพิสูจน์ประมาณ 5 ซีซี แล้วรีบนำส่งตรวจพิสูจน์หากไม่สามารถนำส่งได้ให้แช่ไว้ในตู้เย็น หรือแช่ไว้ในน้ำแข็งตลอดเวลา ซึ่งบางประเทศให้ใช้สารเคมีได้ เช่น Ethylene Diamine Tetraacetic Acid หรือที่เรียกกันว่า EDTA ซึ่งเป็นสารที่มีความสามารถป้องกันไม่ให้เลือดเกิดการแข็งตัว และในกรณีที่ต้องการตรวจพิสูจน์หาสารพันธุกรรม (DNA) และใช้ Sodium Fluoride (NaF) เพื่อช่วยป้องกันไม่ให้เลือดเสียและป้องกันเลือดแข็งตัวในกรณีที่ต้องการตรวจหาสารเคมีในเลือด

2) โลหิตเปียกในปริมาณที่น้อย จะใช้สำลีหรือผ้าก๊อต กระดาษซับ ผ้าขาวสะอาด กระดาษเยื่อ เป็นต้น ในการเก็บตัวอย่างคราบโลหิต โดยเมื่อเก็บตัวอย่างแล้วต้องนำไปทำให้แห้งโดยการตาก แต่ห้ามนำไปโดนแสงแดดเพื่อไม่ให้คราบโลหิตนั้นเสียสภาพ

3) คราบโลหิตแห้งบนพื้นที่ผิวที่ไม่ดูดซึม โดยถ้ามีปริมาณที่เพียงพอให้ใช้ใบมีดที่สะอาดขูดออกจากพื้นที่ผิวของวัตถุ ถ้าไม่สามารถขูดได้ให้ใช้กระดาษซับ หรือผ้ากอซอย่างใดอย่างหนึ่งชุบน้ำกลั่นปิดตรงคราบโลหิตจนโลหิตซึมออกมากับกระดาษแล้วนำไปผุ่งลมให้แห้งจากนั้นนำไปบรรจุในกล่องหรือซองกระดาษ

4) คราบโลหิตแห้งบนพื้นที่ผิวที่ดูดซึม โดยนำคราบโลหิตส่งตรวจพิสูจน์ทั้งชิ้น เช่น เสื้อผ้า โดยแยกบรรจุหีบห่อเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของวัตถุพยาน

2.5.3 การพิสูจน์คราบเลือด

รอยคราบเลือดเป็นหลักฐานสำคัญในคดีประเภทประทุษร้ายต่อร่างกายและชีวิต โดยจะพบรอยคราบเลือดได้จากตัวของผู้ถูกประทุษร้าย จากสถานที่เกิดเหตุ จากตัวผู้ร้ายและอาวุธที่ใช้ ซึ่งจะสามารถพิสูจน์ได้ว่ารอยนั้นเป็นรอยของคราบเลือด และยังสามารถพิสูจน์ได้ว่าเลือดนั้นเป็นเลือดมนุษย์หรือเลือดสัตว์ ซึ่งการตรวจคราบเลือดสามารถแบ่งได้ ดังนี้

1) การพิสูจน์ว่าเป็นคราบโลหิตหรือไม่

ในการตรวจพิสูจน์ว่าคราบที่พบเป็นคราบโลหิตหรือไม่จะตรวจโดยการใช้ benzidine หรือ o-tolidine หรือ phenolphthalein หรือ leucomalachite green หรือ luminol ซึ่งเป็น catalytic test โดยวิธี benzidine และวิธี o-tolidine นั้นจะมีความไวสูงกว่าและไม่เป็นที่นิยมใช้ในการตรวจพิสูจน์คราบเลือดเนื่องจากสารก่อมะเร็งนอกจากนี้ยังวิธีนี้มีความจำเพาะน้อยกว่าวิธี phenolphthalein และวิธี leucomalachite green อีกด้วย ซึ่งทั่วไปวิธีที่นิยมใช้มากที่สุด คือวิธี phenolphthalein หรือวิธี Kastle-Meyer color test (K-M test) ซึ่งถ้าตัวอย่างเป็นคราบเลือด วิธีนี้จะมีหลักการโดยจะใช้peroxidase like activity ของ hemoglobin และจะใช้ Hydrogen Peroxide (H_2O_2) เป็นตัว peroxide และเมื่อถูก reduced phenolphthalein ที่เป็นสารไม่มีสีจะถูก oxidized ให้กลายเป็นสารสีชมพูภายใน 10 วินาที โดยวิธี luminol test มีความเหมาะสมในการนำไปใช้ ในการตรวจในที่เกิดเหตุ โดยเฉพาะในในที่เกิดเหตุที่มีบริเวณกว้างไม่สามารถเห็นด้วยตาเปล่าจะใช้วิธีฉีดพ่นน้ำยา luminol ไปที่บริเวณที่สงสัยว่ามีคราบเลือด โดยวิธีนี้มีข้อจำกัดในการตรวจ คือ บริเวณที่ตรวจต้องมืดจึงจะสามารถเห็นการเรืองแสงของคราบเลือดได้ (ศิริพร พันธศรี, 2549)

2) การตรวจว่าเป็นโลหิตมนุษย์หรือสัตว์

โดยในการตรวจพิสูจน์ว่าเป็นคราบโลหิตของมนุษย์หรือสัตว์จะใช้โดยวิธีทาง immunology ได้แก่ precipitin test เป็นวิธีที่ใช้ในการทดสอบคราบเลือด โดยมีหลักการ คือ Antibody จะจับกับ Antigen ที่ความจำเพาะต่อกันและเกิดตะกอนสีขาวขุ่น ในกรณีที่เป็นเลือดของมนุษย์จะเกิดแถบตะกอนขุ่นสีขาวบริเวณที่เป็นรอยต่อระหว่างชั้นของเลือดที่สกัดได้ และ Anti-human serum ซึ่งใน capillary tube อาจจะใช้วิธี gel diffusion ที่จะเป็นการหยดตัวอย่างเลือดที่สกัดได้ และ Anti-human ลงในหลุมสองหลุมที่อยู่ด้านตรงข้ามกัน กล่าวคือถ้าเป็นเลือดมนุษย์จะสังเกตเห็นเส้นตะกอนสีขาวเกิดขึ้นในบริเวณระหว่างทั้ง 2 หลุมนั้น ของ Antibody และ Antigen ที่ซึมผ่าน agar gel coated plate มาพบกัน ซึ่งในบางกรณีอาจมีการใช้วิธี Electrophoresis เพื่อช่วยเร่ง Antibody และ Antigen ให้เคลื่อนที่ผ่าน Agar ได้เร็วขึ้น จากที่อธิบายมาข้างต้นสามารถบอกได้ว่าการตรวจพิสูจน์ว่าเป็นคราบโลหิตของมนุษย์โดยวิธี precipitin test มีความไวสูง และยังสามารถให้ผลบวกกับคราบเลือดที่แห้งได้และสามารถเก็บไว้ได้ 10 ถึง 15 ปี แต่จะไม่ให้ผลบวกกับโลหิตจากสัตว์ชนิดอื่นๆ ยกเว้นลิง (ศิริพร พันธศรี, 2549)

3) ตรวจว่าคราบโลหิตเป็นโลหิตของผู้ใด

โดยในการตรวจพิสูจน์ว่าเป็นคราบโลหิตของผู้ใดนั้น ในปัจจุบันนิยมตรวจ 2 วิธี โดยวิธีแรก คือ การตรวจหาหมู่เลือดจากระบบ ABO ซึ่งในกรณีที่เม็ดเลือดแดงถูกทำลายจนแตกหมด แต่ยังคงเหลืออยู่ของ Antigen และ Antibody ในคราบเลือดนั้นจะยังสามารถตรวจหาหมู่เลือดได้ โดยใช้วิธี Absorption elution method, Absorption inhibition method และการตรวจหา Antibody A, Antibody B ได้โดยใช้วิธี Lattes crust test และวิธีที่สอง คือ การตรวจเปรียบเทียบ DNA (ศิริพร พันธศรี, 2549)

2.7 ทฤษฎีของแสง

ทฤษฎีของแสง (Light Theories) แสงคือคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (Electromagnetic; EM) ชนิดหนึ่งที่กระจายอยู่ทุกอณูในธรรมชาติรอบตัวเรา มีลักษณะเป็นคลื่นมียอดคลื่น (Crest) และท้องคลื่น (Trough) ระยะทางระหว่างยอดคลื่นเรียกว่า ความยาวคลื่น หรือ Wavelength (บางครั้งเรียกว่าความถี่หรือ Frequency ซึ่งหมายถึงความเร็วของความยาวคลื่น ต่อ 1 วินาที) ความยาวคลื่น มีหน่วยนับตั้งแต่ นาโนมิเตอร์ (nanometer : nm. , 1nm. = 1/100,000,000 เมตร) เป็นต้นไปจนถึงกิโลเมตร และความสูงระหว่างท้องคลื่นกับยอดคลื่นในแต่ละช่วงของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า เรียกว่า Amplitude ประกอบด้วย ในแต่ละช่วงคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าประกอบด้วยคลื่นแสงและรังสีที่มนุษย์

นำมาใชประโยชน์ ในด้านต่างๆ ได้แก่ รังสีแกมมา (Gamma Rays) รังสีเอกซ์ (X-Rays) แสงอัลตราไวโอเลต (Ultraviolet) แสงสีที่มองเห็นได้ (Visible Color) แสงอินฟราเรด (Infrared) คลื่นไมโครเวฟ (Microwave) และคลื่นวิทยุ (Radio Frequency) โดยคลื่นเหล่านี้ เรียกรวมว่า Electromagnetic Spectrum โดยแต่ละคลื่น จะมีความยาวคลื่นต่างกัน โดยคลื่นวิทยุมีความยาวคลื่นที่มากที่สุดและรังสีแกมมามีความยาวคลื่นน้อยที่สุด และตาของมนุษย์สามารถรับรู้คือคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ที่อยู่ในช่วงความยาวคลื่นระหว่าง 780 - 380 นาโนเมตร จึงเรียกช่วงความยาวคลื่นนี้ว่า ช่วงคลื่นที่มองเห็นได้ (Visible Spectrum / Visible Light) ก็คือ แสง (วัฒนาพร เขื่อนสุวรรณ, ม.ป.ป.)

2.8 เทคนิค UV-Visible spectrometry

เครื่อง UV-Vis spectrometer เป็นเครื่องมือที่นำเทคนิค Spectroscopy มาใช้งาน โดยเป็นศาสตร์ที่ศึกษาเกี่ยวกับแสงจากการเปลี่ยนแปลงพลังงานที่เกิดขึ้นจากการดูดกลืนแสง (Absorption), การคายตัวของแสง (Emission) และการกระเจิงของแสง (Scattering) ซึ่งแสงเป็นคลื่นชนิดหนึ่งที่เป็นรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า (Electromagnetic radiation) ซึ่งเทคนิค UV-Vis spectroscopy จะศึกษาการดูดกลืนแสงในช่วง ในช่วงอุลตราไวโอเลต (Ultraviolet; UV) และช่วงแสงที่มองเห็นได้ (Visible; Vis) ซึ่งอยู่ในช่วงความยาวคลื่น 190 ถึง 800 นาโนเมตร จากสมบัติการดูดกลืนแสงของสารดังกล่าว ได้นำมาใช้วิเคราะห์ทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณได้อย่างกว้างขวาง เพราะวิธีนี้มีความถูกต้องแม่นยำและมีสภาพไว (Sensitivity) สูง

โดยส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis spectrophotometer มีดังนี้

1) แหล่งกำเนิดแสง (Light source) ซึ่งแหล่งกำเนิดแสงจะต้องให้แสงคงที่อย่างต่อเนื่องซึ่งนิยมใช้ คือ หลอดทังสเตนฮาโลเจน โดยให้แสงที่มีความยาวคลื่นในช่วง 320 ถึง 2500 นาโนเมตร และสำหรับแหล่งกำเนิดแสงในช่วงรังสี UV จะใช้หลอดไฮโดรเจนหรือหลอดดิวทีเรียมโดยจะให้แสงในช่วงความยาวคลื่น 160 ถึง 375 นาโนเมตร

2) เกรตติ้งหรือโมโนโครเมเตอร์ (Monochromator) เป็นตัวกระจายแสงช่วยให้แสงที่จะผ่านไปยังตัวอย่างมีความยาวคลื่นเพียงค่าเดียวตามที่ต้องการ

3) เซลล์ที่บรรจุสารตัวอย่าง (Cell compartments) โดยส่วนมากเซลล์ที่ใช้ในการใส่สารตัวอย่างหรือ Cuvettes จะมีลักษณะเป็นกล่องทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้าที่มีความกว้าง 1 เซนติเมตร (1 ซม. คือ ระยะที่แสงเดินทางผ่านเข้าไปในสารตัวอย่างตามกฎของ Beer-Lambert) ซึ่ง Cuvettes ที่ทำมาจากควอร์ตจะมีคุณภาพสูง

4) เครื่องตรวจวัด (Detector) นิยมใช้ คือ PMT (Photomultiplier Tube) หรือ Diode Arrays หรือ CCDs

5) เครื่องบันทึกและอ่านผล (Readout system) โดยจะทำการบันทึกค่าความยาวคลื่นและค่าของมุมในแต่ละความยาวคลื่นที่เกิดการดูดกลืนแสง ทำให้สเปกตรัมที่ได้แสดงอยู่ในรูปของกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) และค่าความยาวคลื่น (Wavelength)

นอกจากนี้เครื่อง UV-Vis Spectrometer สามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ

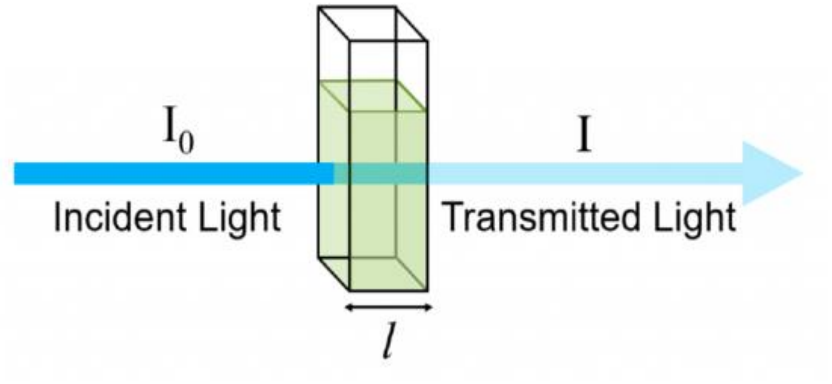
1) แบบลำแสงเดียว (Single Beam) จะใช้ลำแสงเดียวจากแหล่งกำเนิดแล้วผ่านไปยังโมโนโครเมเตอร์ จากนั้นผ่านไปยังตัวอย่างเลย จึงต้องมีการทำ blank โดยเครื่องมือที่เป็นชนิดลำแสงเดี่ยวนี้เป็นวิธีที่สามารถใช้งานได้ง่าย สะดวก และราคาไม่แพง

2) แบบลำแสงคู่ (Double Beam) โดยแสงที่ผ่านโมโนโครเมเตอร์จะถูกแบ่งออกเป็น 2 ลำด้วย beam splitter ก่อนที่จะตกลงบนตัวอย่าง โดยแสงลำหนึ่งจะผ่านตัวอย่างและอีกแสงจะถูกใช้เป็นลำแสงอ้างอิง โดยเครื่องที่เป็นแบบสำแสงคู่บางรุ่นจะมีเครื่องตรวจวัด 2 ตัว เพื่อที่จะตรวจวัดแสงอ้างอิงและแสงที่มาจากตัวอย่างได้พร้อมกัน แต่ในขณะที่เครื่องบางรุ่นจะมีตัวตรวจวัดเพียงแค่ตัวเดียว โดยแสงทั้ง 2 ลำจะเคลื่อนที่ผ่าน Beam Chopper ซึ่งมีหน้าที่ช่วยในการกักแสงลำหนึ่งไว้ทำให้สามารถตรวจวัดความแตกต่างของแสงทั้งสองลำได้ (ปาเลวี งามขำ และ ธิติ มหาเจริญ, 2561)

กฎของแลมเบิร์ต (Lambert's law) กล่าวคือ เมื่อมีแสงที่มีความยาวคลื่นเดี่ยว (Monochromatic light) จะเคลื่อนที่ผ่านตัวกลางเนื้อเดียว โดยสัดส่วนของความเข้มข้นของแสงที่ถูกตัวกลางดูดกลืนไว้ ซึ่งจะไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มของแสงที่กระทบตัวกลาง โดยความเข้มของแสงจะถูกแต่ละชั้นของตัวกลางดูดกลืนไว้ในสัดส่วนที่เท่ากัน

กฎของเบียร์ (Beer's law) กล่าวคือ เมื่อแสงที่มีความยาวคลื่นเดี่ยวผ่านตัวกลางเนื้อเดียว สัดส่วนของความเข้มของแสงที่ถูกตัวกลางนั้นดูดกลืนไว้ ซึ่งแปรผันตรงกับปริมาณของตัวกลางที่ดูดกลืนแสงนั้น และเมื่อวัดการดูดกลืนแสงของสารปริมาณความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารและความหนาของสารละลายที่ลำแสงผ่าน

กฎของเบียร์-แลมเบิร์ต (Beer Lambert law) เกิดจากการรวมกฎของทั้ง 2 คน เข้าด้วยกัน โดยเมื่อมีการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง ปริมาณความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนจะขึ้นอยู่กับทั้งความเข้มข้นของสารละลายและความหนาของสารละลายที่ลำแสงต้องเคลื่อนที่ผ่าน ซึ่งทำได้โดยให้ลำแสงผ่านเข้าไปในตัวอย่าง (Incident light: I_0) จากนั้นทำการวัดปริมาณแสงที่เหลือผ่านออกมา (I) ดังแสดงในรูปภาพที่ 9



ภาพที่ 9 การดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

ที่มา: https://www.edinst.com/blog/the-beer-lambert-law/

ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารจะมีความสัมพันธ์กันในเชิงปริมาณในการวิเคราะห์เนื่องจากค่าการดูดกลืนจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นตามกฎของเบียร์-แลมเบิร์ต (Beer-Lambert law) ดังแสดงในรูปภาพที่ 10

$$A = \alpha l C$$

ภาพที่ 10 สมการกฎของเบียร์-แลมเบิร์ต

มหาวิทยาลัยศิลปากร

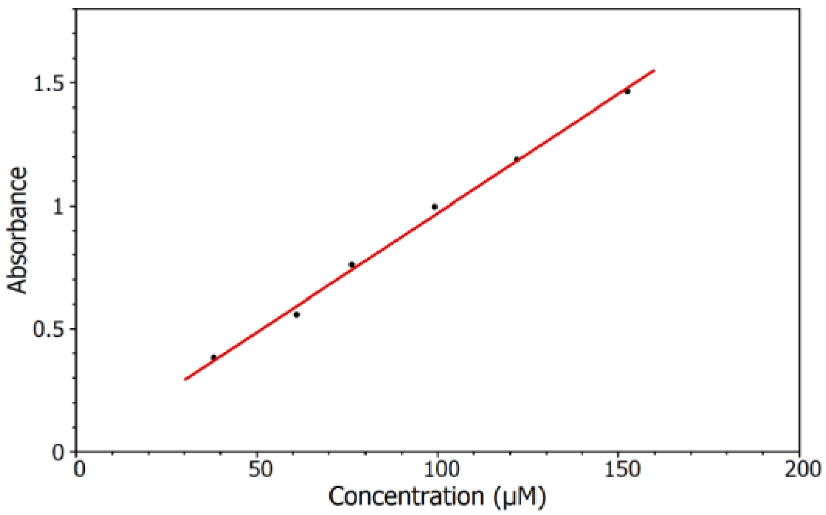
กำหนด A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง

α คือ สมบัติจำเพาะของสารที่ดูดกลืนซึ่งวัดที่ความยาว (molar absorptivity; L mol^{-1} cm^{-1})

L คือ ระยะทางที่แสงผ่านสารละลายตัวอย่างหรือความกว้างของเซลล์ (cm)

C คือ ความเข้มข้นเป็น mol/L หรือโมลาร์ (M)

และในการวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเทคนิค UV-Vis spectroscopy สามารถทำได้โดยการสร้างกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของสารและความเข้มข้นของสาร เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างได้ก็สามารถหาปริมาณของสารที่จะวิเคราะห์ได้จากกราฟ



ภาพที่ 11 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนและความเข้มข้น
ที่มา: https://www.edinst.com/blog/the-beer-lambert-law/

2.9 พื้นที่ผิว

พื้นที่ผิว คือ สิ่งที่ตาเห็น หรือสัมผัสได้ด้วยมือบนระนาบผิวตอนหน้า หรือรอบๆวัตถุ ซึ่งมีลักษณะต่างๆกัน เช่น หยาบ ละเอียด ขรุขระ ด้าน มัน เรียบ เป็นต้น ฉะนั้นวัตถุทุกอย่างจะต้องมีคุณสมบัติของพื้นผิว ลักษณะพื้นผิวสามารถแบ่งออกได้ 2 ชนิดคือ

1) ลักษณะพื้นผิวที่รับรู้ได้ด้วยตา (Visual Texture) คือ ลักษณะสองมิติ ที่รู้สึกได้จากการมองเห็นด้วยตาโดยเป็นผลมาจากการสะท้อนของ แสง การดูดซึมแสงของผิวพื้นนั้น แบ่งได้เป็น 3 ชนิด คือ ผิวสัมผัสที่เกิดจากการตกแต่ง, ผิวสัมผัสที่เกิดจากธรรมชาติ และผิวสัมผัสที่เกิดจากเครื่องมือ

2) ลักษณะพื้นผิวที่สัมผัสได้ด้วยมือ (Tactile Texture) คือ ลักษณะสามมิติ แบ่งเป็น 3 ชนิด คือผิวสัมผัสที่หาได้ในธรรมชาติ เช่น ใบไม้ หิน โลหะ เป็นต้น, ผิวสัมผัสธรรมชาติที่เปลี่ยนแปลง และผิวสัมผัสที่จัดขึ้นใหม่

2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Kaur และคณะ ได้ศึกษาการย่อยสลายของฮีโมโกลบินในเลือดด้วยวิธี Spectroscopy ในการประเมินคุณภาพของการเก็บรักษาตัวอย่างเพื่อนำมาวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งการศึกษานี้จะใช้

ช่วงความยาวคลื่นระหว่าง 350 ถึง 550 นาโนเมตร ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของฮีโมโกลบินในคราบเลือดในผ้าพันแผล โดยจากการศึกษาพบว่าช่วงความยาวคลื่นที่ใช้ทำให้เห็นถึงความเปลี่ยนแปลงโดยซึ่งสูงสุดที่ 541 นาโนเมตร (Kaur et al., 2020)

Kind และคณะ ได้ศึกษาการประมาณอายุของคราบเลือดแห้งด้วยวิธี Spectrophotometry จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงชองคราบเลือด จากการศึกษาพบว่าเวลาและอุณหภูมิมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของฮีโมโกลบินของเลือด นอกจากนี้ยังพบว่าเลือดสามารถดูดกลืนแสงในช่วงความาวคลื่น 500 ถึง 600 นาโนเมตร โดยมีสเปกตรัมสูงสุดที่ความยาวคลื่น 578, 560 และ 540 นาโนเมตร (Kind et al., 1972)

Bremmer และคณะ ศึกษาการประมาณอายุของคราบเลือดจากอนุพันธ์ของฮีโมโกลบินบนผ้าฝ้ายสีขาวโดยการใช้ Reflectance Spectroscopy โดยทำการศึกษาสเปกตรัมและการเปลี่ยนแปลงทางองค์ประกอบทางเคมีของฮีโมโกลบินของอนุพันธ์ของฮีโมโกลบิน 3 ชนิด ได้แก่ Oxyhemoglobin, Methemoglobin, Hemichrome จากคราบเลือดที่มีอายุต่างกันในการทำนายอายุของคราบเลือด ซึ่งจากการศึกษาพบว่าเมื่อเวลาเพิ่มมากขึ้นคราบเลือดมีการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของฮีโมโกลบิน โดยมี Oxyhemoglobin ลดลง แต่ Methemoglobin, Hemichrome เพิ่มขึ้น และเมื่อนำไปประมาณอายุพบว่าอายุที่ทำนายได้มีค่าใกล้เคียงกับอายุจริงของคราบเลือด (Bremmer et al., 2011)

Bergmann และคณะ ศึกษาการประมาณอายุของคราบเลือดจากการดูดกลืนแสงโดยใช้ Spectroscopy ในช่วงความยาวคลื่น 400 ถึง 640 นาโนเมตร จากคราบเลือดของสุกรที่มีอายุ 2 ชั่วโมง ถึง 3 สัปดาห์ โดยการทำให้แห้งบนพื้นที่ผิวของผ้าฝ้าย ผ้าโพลีเอสเตอร์ และแก้ว โดยศึกษาทั้งหมดจำนวน 72 คราบเลือด ภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการทำให้ในการศึกษางานนี้ในอนาคตจึงต้องพิจารณาถึงสภาพแวดล้อม (Bergmann et al., 2017)
ต่างๆ ให้ใกล้เคียงกับสภาพแวดล้อมจริงของสถานที่เกิดเหตุเพื่อนำไปไปใช้ในชีวิตจริง

Strasser และคณะ ศึกษาการประมาณอายุของเลือดด้วยวิธี force spectroscopy โดยทำการใช้กล้องจุลทรรศน์ AFM ในการถ่ายภาพความละเอียดสูงของเม็ดเลือดแดงในตัวอย่างเลือด โดยวิเคราะห์เลือดบนสไลด์ และเริ่มตรวจจับ AFM หลังจากที่หยดเลือดแห้ง ซึ่งในช่วงแรกสามารถตรวจพบการมีอยู่ของเม็ดเลือดแดงหลายเซลล์และลดลงเมื่อเวลาผ่านไป ซึ่งทำการศึกษาในช่วงเวลา 4 สัปดาห์ โดยทำการวัดทันทีหลังจากการทำให้แห้ง 1.5 ชั่วโมง 30 ชั่วโมง และ 31 วัน ในสภาวะที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสและความชื้น 30% และทำการสร้างกราฟเปรียบเทียบเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเลือดเมื่อเวลาผ่านไปซึ่งอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของจุดเลือดในระหว่าง

กระบวนการทำให้แห้งและแข็งตัว และจากกราฟที่ได้ทำให้สามารถนำไปใช้ในการประมาณอายุของคราบเลือดในการสืบสวนทางนิติเวชได้ (Strasser et al., 2007)

จิณห์นิภา ปาวะภินันท์ ศึกษาการประเมินอายุของคราบเลือดของอาสาสมัครจำนวน 12 ตัวอย่างบนผ้าฝ้ายสีขาวในช่วงเวลาที่แตกต่างกันโดยการวัดค่าสีด้วย Spectrophotometer ซึ่งใช้ช่วงในการสแกน 360-830 นาโนเมตร โดยนำค่าสีที่ได้มาใช้ในการทำนายอายุของตัวอย่างคราบเลือดทั้ง 12 ตัวอย่างจากการสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อหาสมการความสัมพันธ์ของค่าสีกับอายุของคราบเลือด โดยจากการศึกษาพบว่าสามารถทำนายอายุของคราบเลือดได้ประมาณ 1 ถึง 4 ชั่วโมง ซึ่งอายุที่ประมาณได้กับอายุจริงของคราบเลือดมีความสัมพันธ์กันมากจึงทำให้ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.9565 (จิณห์นิภา ปาวะภินันท์, 2564)

เปาวลี งามขำ และ ธิติ มหาเจริญ ได้ศึกษาการประมาณอายุของคราบเลือดของอาสาสมัครจำนวน 4 คน จากการเปลี่ยนแปลงของฮีโมโกลบินในระยะเวลาที่แตกต่างกัน ได้แก่ 1, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง บนพื้นผิวชนิดต่างๆ ได้แก่ กระจก, กระดาษ 80 แกรม, ผ้า cotton และไม้ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrometer และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (p-value < 0.05) ที่ได้จากการศึกษาโดยการวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดบนพื้นผิวชนิดต่างๆ โดยเมื่อคราบเลือดที่เวลามากขึ้นมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความแตกต่างกัน และพบว่าค่าการดูดกลืนมีค่ามากที่สุดที่เวลา 1 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงในช่วงเวลาอื่น ซึ่งจากผลการศึกษาสรุปได้ว่าสามารถใช้การประมาณอายุของคราบเลือดด้วยโดยการใช้เครื่อง UV-Visible Spectrometer ในการนำไปประมาณอายุของคราบเลือดในทางนิติวิทยาศาสตร์ได้ในการตรวจอายุของคราบเลือดได้ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายและสามารถบอกช่วงระยะเวลาเบื้องต้นได้จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงฮีโมโกลบินในเลือด (ปาเลวี งามขำ และ ธิติ มหาเจริญ, 2561)

มหาวิทยาลัยศิลปากร

2.11 กรอบแนวคิดการวิจัย

ตัวแปรอิสระ

พื้นผิวใช้ในการทดลอง

1. หนังหุ้มเบาะรถ
2. ผ้า
3. แผ่นเหล็ก
4. กระดาษ
5. พลาสติก
6. แผ่นกระเบื้อง
7. ไม้
8. กระจก

เวลาที่กำหนดในการเก็บคราบเลือด ได้แก่ 1, 2, 3, 4, 5, 6,12, 24, 36, และ 48 ชั่วโมง

ตัวแปรตาม

ค่าการดูดกลืนแสงของฮีโมโกลบินในเลือดบนพื้นผิวประเภทต่างๆ

ตัวแปรควบคุม

1.ปริมาณหยดเลือดบนพื้นที่ผิว 20 ไมโครลิตร

2.อาสาสมัครเพศหญิง จำนวน 1 คน

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาเกี่ยวกับการวัดค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดจากพื้นผิวชนิดต่างๆด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrometer เพื่อประมาณอายุของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง ไม้ และแผ่นกระจก ในระยะเวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง โดยนำค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดมาสร้างกราฟเพื่อหาสมการและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพัทธ์ของกราฟเพื่อใช้วิเคราะห์การประมาณอายุของคราบเลือด ซึ่งผู้วิจัยได้กำหนดวิธีการวิจัยออกเป็น 5 ขั้นตอนดังนี้

3.1 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

3.2 การศึกษาเพื่อกำหนดกรอบแนวคิดการวิจัย

3.3 การกำหนดอาสาสมัคร

3.4 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

3.5 วิธีการดำเนินการทดลอง

3.1 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของคราบเลือดจากค่าการดูดกลืนแสงในระยะเวลาที่กำหนดบนพื้นผิวชนิดต่างๆ โดยใช้เทคนิค UV-Visible Spectrometry

3.2 การศึกษาเพื่อกำหนดกรอบแนวคิดการวิจัย

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดจากอาสาสมัครเพศหญิง จำนวน 1 คน บนพื้นผิวชนิดต่างๆ ได้แก่ หนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง ไม้ และแผ่นกระจก ปริมาณ 20 ไมโครลิตร และกำหนดระยะเวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง โดยหยดแต่ละช่วงเวลาจำนวน 5 หยด และวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrometer โดยใช้ความยาวคลื่นในช่วง 350 ถึง 750 นาโนเมตร

3.3 การกำหนดอาสาสมัคร

อาสาสมัครเพศหญิงจำนวน 1 คน อายุ 26 ปี ส่วนสูง 152 เซนติเมตร น้ำหนักประมาณ 47 กิโลกรัม ที่มีสุขภาพดี ไม่มีภาวะโลหิตจาง ไม่มีโรคที่สามารถติดต่อที่เกี่ยวกับระบบเลือด และการติดต่อชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ยังต้องไม่ได้รับยาปฏิชีวนะอย่างน้อย 7 วัน ซึ่งจะทำการเก็บเลือดโดยโดยนักเทคนิคการแพทย์ซึ่งจะเก็บเลือดในหลอดเก็บตัวอย่างที่มีสาร EDTA เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด

3.4 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

3.4.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1) Microtube ขนาด 3 ml

2) Autopipette

3) Pipette Tip Sterile

4) เครื่อง Agilent Cary 60 UV-Vis Spectrophotometer (Agilent Technologies, Thailand)

5) Cuvette

6) พื้นผิว ได้แก่ หนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง ไม้ และแผ่นกระจก

7) หลอดเก็บเลือดที่บรรจุสาร EDTA

8) ก้านพันสำลี (Cotton Swab)

3.4.2 สารเคมีที่ใช้

1) น้ำกลั่น

3.4.3 ตัวอย่างเลือด

1) ตัวอย่างเลือดจากอาสาสมัครจำนวน 1 คน

3.5 วิธีการดำเนินการทดลอง

3.5.1. การเก็บตัวอย่างเลือด

เก็บเลือดจากอาสาสมัครเพศหญิง จำนวน 1 คน ที่มีสุขภาพดี ไม่มีภาวะโลหิตจาง ไม่มีโรคที่สามารถติดต่อที่เกี่ยวกับระบบเลือด และการติดต่อชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ยังต้องไม่ได้รับยาปฏิชีวนะ

อย่างน้อย 7 วัน ซึ่งทำการเก็บเลือดโดยนักเทคนิคการแพทย์ ใส่ในหลอดเก็บตัวอย่างที่มีสาร EDTA เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด

3.5.2. การเตรียมตัวอย่าง

3.5.2.1 เตรียมพื้นที่ผิวใช้ในการทดลอง ได้แก่ หนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง ไม้ และแผ่นกระจก

3.5.2.2 เตรียมตัวอย่างคราบเลือดบนพื้นผิวที่ได้เตรียมไว้ดังข้อ 3.5.2.1 จากนั้นทำการหยดเลือดลงบนพื้นผิวดังกล่าว 20 μl แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในช่วงเวลาของการทำการทดลอง ได้แก่ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง โดยทำการหยดซ้ำจำนวน 5 ครั้ง (n=5)

3.5.2.3 ทำการเก็บตัวอย่างคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดตามระยะเวลาที่กำหนดในการทดลอง โดยใช้ไม้พันสำลีเช็ดคราบเลือดบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง ไม้ และแผ่นกระจก แล้วนำไปไม้พันสำลีใส่ลงไปในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่น 3 ml จากนั้นทำการหมุนก้านพันสำสีในน้ำกลั่นเพื่อให้คราบเลือดละลายออกจากไม้พันสำลีจนหมด

3.5.3. การวิเคราะห์ตัวอย่างเลือดด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer

ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างคราบเลือดบนพื้นผิวชนิดต่างๆตามระยะเวลาที่กำหนดในการทดลอง โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrometer (Agilent Technologies Model Carry 60 UV-Vis) ซึ่งใช้ความยาวคลื่นในช่วง 350 ถึง 750 nm จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 nm ของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดบนพื้นผิวชนิดต่างๆมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย แล้วนำค่าเฉลี่ยที่ได้มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับเวลาของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดบนพื้นที่ผิวชนิดต่างๆ เพื่อหาสมการในการนำไปคำนวณอายุของคราบเลือดบนพื้นที่ผิวชนิดต่างๆ

3.5.4 การทำนายอายุของคราบเลือด

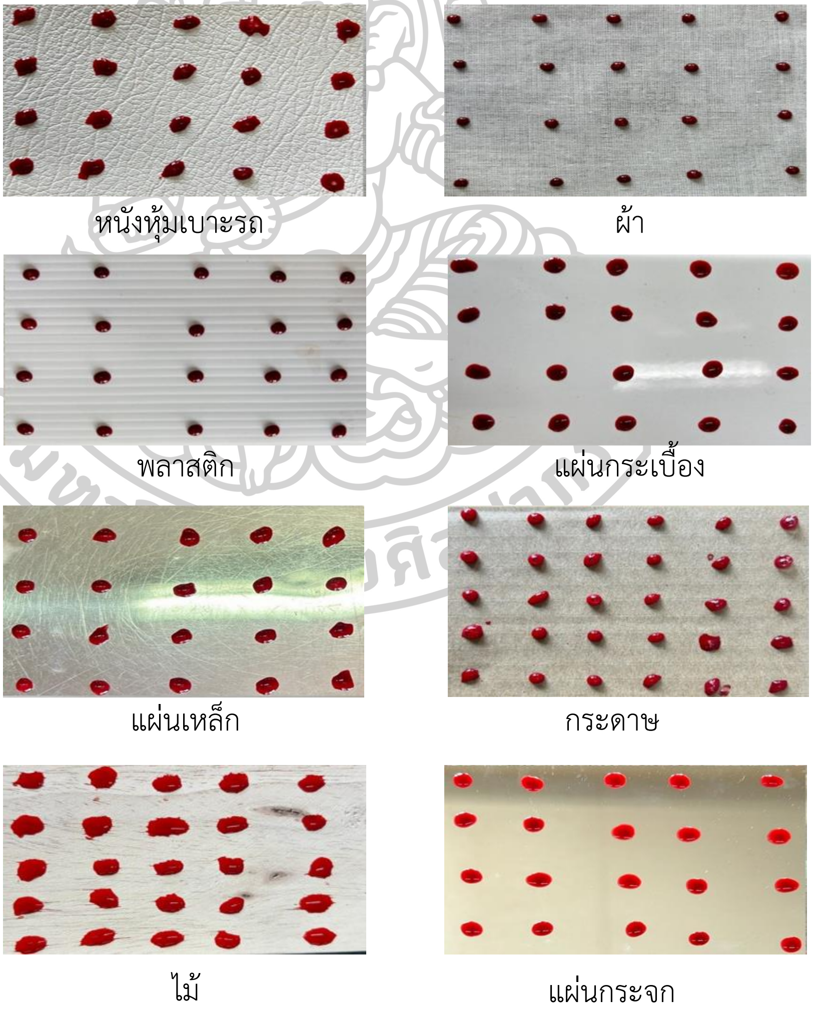
ทำการหยดเลือดลงบนพื้นผิวที่เตรียมไว้ดังข้อ 3.5.2.1 ปริมาณ 20 ml แล้ว แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในระยะเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาที่กำหนดทำการเก็บตัวอย่างเช่นเดียวกับข้อ 3.5.2.3 จากนั้นนำตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrometer (Agilent Technologies Model Carry 60 UV-Vis) โดยใช้ความยาวคลื่นในช่วง 350 ถึง 750 nm แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 nm ที่ได้ไปแทนค่าลงในสมการความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับเวลาของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดบนพื้นที่ผิวชนิดต่างๆ โดยการนำค่าการ

ดูดกลืนแสงไปแทนค่า y ในสมการ เพื่อหาค่าอายุของคราบเลือด ที่คำนวณได้จากสมการ (x) จากนั้น ทำการสร้างกราฟเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างอายุจริงของคราบเลือดกับอายุของคราบเลือดที่คำนวณได้ เพื่อหาสมการและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพัทธ์ในการนำไปวิเคราะห์ผลการทดลอง

มหาวิทยาลัยศิลปากร

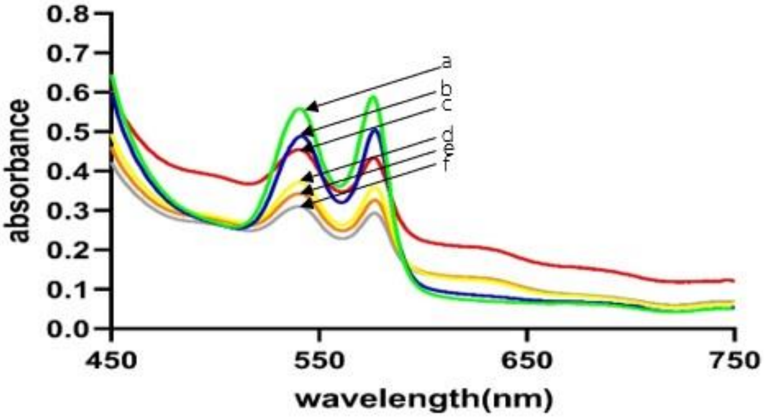
บทที่ 4
ผลการศึกษา

การศึกษาเกี่ยวกับการประเมินอายุของคราบเลือดจากการเปลี่ยนแปลงของฮีโมโกลบินในเลือดของอาสาสมัครเพศหญิง จำนวน 1 คน ที่มีสุขภาพดี ไม่มีภาวะโลหิตจาง ไม่มีโรคที่สามารถติดต่อที่เกี่ยวกับระบบเลือดและการติดต่อชนิดอื่นๆ จากการใช้เครื่อง UV-Visible Spectrometer โดยการหยดเลือด 20 μl ลงบนพื้นผิว 8 พื้นผิว ได้แก่ หนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง ไม้ และแผ่นกระจก ดังแสดงในรูปภาพที่ 12 และได้กำหนดช่วงระยะเวลาของการศึกษา ได้แก่ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง



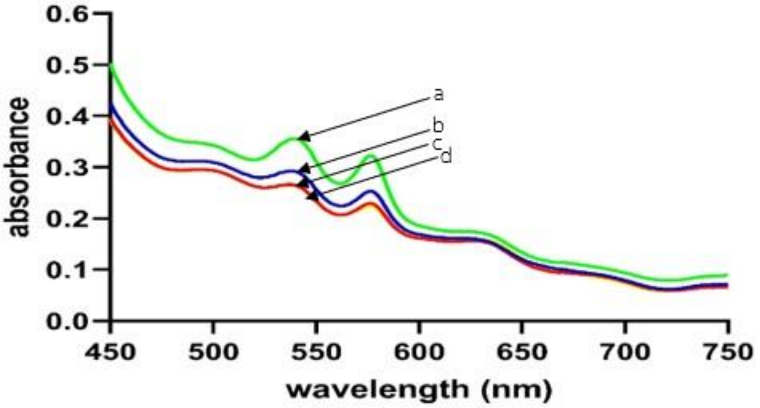
ภาพที่ 12 คราบเลือดจากอาสาสมัครบนพื้นผิวประเภทต่างๆ

จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดลงบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง ไม้ และแผ่นกระจก โดยใช้เครื่อง UV-Visible Spectrometer ที่ช่วงความยาวคลื่น 350 - 750 nm ดังแสดงในรูปภาพที่ 13 และรูปภาพที่ 14



ภาพที่ 13 สเปกตรัมของค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการเก็บคราบเลือดบนพื้นผิวของผ้าที่เวลา 1 – 6 ชั่วโมง

หมายเหตุ: (a) เส้นสีเขียวแสดงคราบเลือดเวลา 1 ชม. (b) เส้นสีน้ำเงินแสดงคราบเลือดเวลา 2 ชม. (c) เส้นสีแดงแสดงคราบเลือดเวลา 3 ชม. (d) เส้นสีเหลืองแสดงคราบเลือดเวลา 4 ชม. (e) เส้นสีส้มแสดงคราบเลือดเวลา 5 ชม. และ (f) เส้นสีเทาแสดงคราบเลือดเวลา 6 ชม.



ภาพที่ 14 สเปกตรัมของค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการเก็บคราบเลือดบนพื้นผิวของผ้าที่เวลา 12 – 48 ชั่วโมง

หมายเหตุ: (a) เส้นสีเขียวแสดงคราบเลือดเวลา 12 ชม. (b) เส้นสีน้ำเงินแสดงคราบเลือดเวลา 24 ชม. (c) เส้นสีแดงแสดงคราบเลือดเวลา 36 ชม. (d) เส้นสีเหลืองแสดงคราบเลือดเวลา 48 ชม.

จากภาพที่ 13 และภาพที่ 14 จะเห็นว่าเมื่อนำตัวอย่างคราบเลือดบนพื้นผิวชนิดต่างๆ มาวัดค่าการดูดกลืนแสงทำให้ได้สเปกตรัมของค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการเก็บคราบเลือดจากพื้นผิวชนิดต่างๆ ในช่วงของความยาวคลื่น 350 – 750 nm จากนั้นทำการวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของคราบเลือดภายหลังการเก็บคราบเลือดจากพื้นผิวดังกล่าวโดยใช้ความยาวคลื่น 540 nm ที่เวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24, 36, 48 ชม. โดยจากการคำนวณหาค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดบนพื้นผิวชนิดต่างๆ ที่ความยาวคลื่น 540 nm ดังแสดงในตารางที่ 1

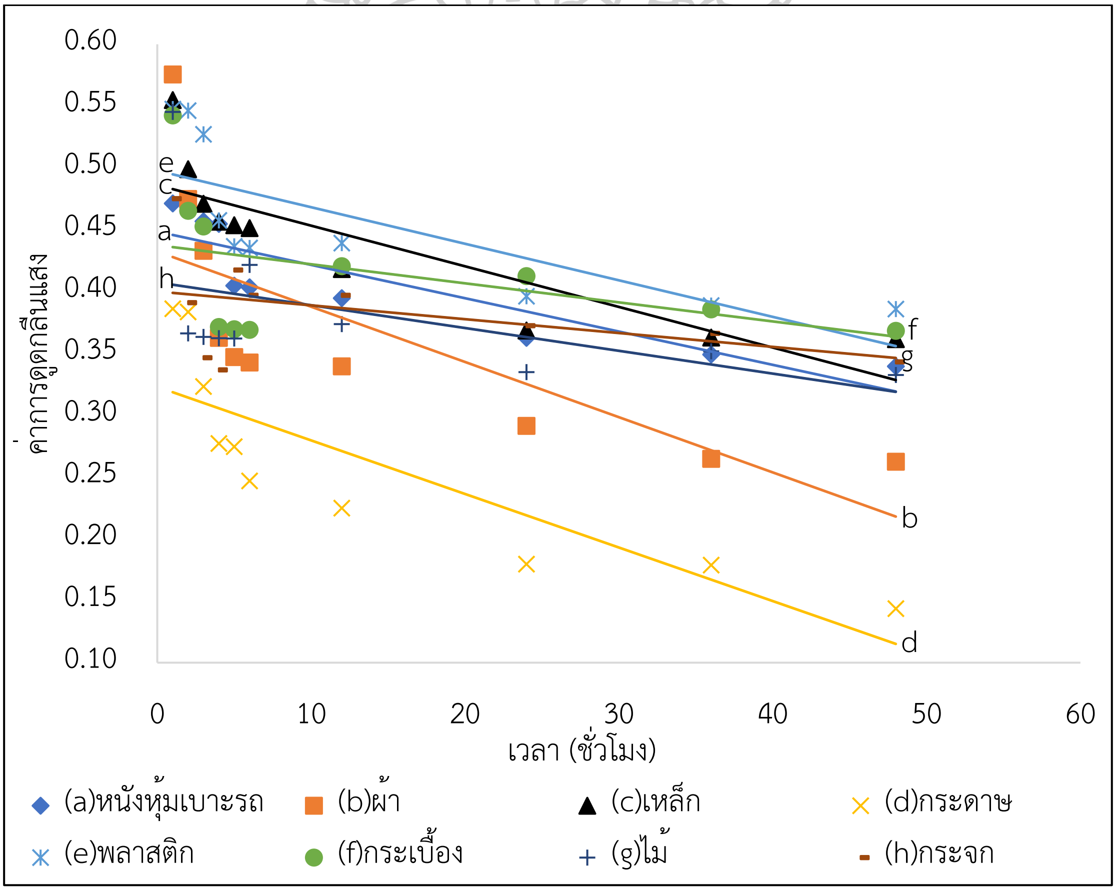
มหาวิทยาลัยศิลปากร

ตารางที่ 1 ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง ไม้ และแผ่นกระจก ที่เวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	**หนังหุ้มเบาะรถ**		**ผ้า**		**เหล็ก**		**กระดาษ**		**พลาสติก**		**กระเบื้อง**		**ไม้**		**กระจก**	
ระยะเวลา	abs	S.D.	abs	S.D.	abs	S.D.	abs	S.D.	abs	S.D.	abs	S.D.	abs	S.D.	abs	S.D.
1	0.4713	0.0144	0.5756	0.0713	0.5500	0.0275	0.3862	0.0664	0.5476	0.0297	0.5425	0.0235	0.5454	0.0838	0.4752	0.0548
2	0.4680	0.0123	0.4749	0.0800	0.4990	0.0226	0.3837	0.0602	0.5463	0.0188	0.4654	0.0517	0.3662	0.0739	0.3912	0.0545
3	0.4569	0.0139	0.4331	0.0857	0.4711	0.0311	0.3234	0.0279	0.5273	0.0419	0.4528	0.0159	0.3634	0.0036	0.3466	0.0452
4	0.4547	0.0202	0.3627	0.0274	0.4567	0.0043	0.2772	0.0054	0.4577	0.0318	0.3714	0.0328	0.3625	0.0150	0.3369	0.0172
5	0.4049	0.0041	0.3472	0.0666	0.4538	0.0227	0.2746	0.0062	0.4368	0.0152	0.3697	0.0338	0.3621	0.0087	0.4174	0.0157
6	0.4034	0.4034	0.3427	0.0118	0.4515	0.0078	0.2470	0.0189	0.4354	0.0045	0.3691	0.0159	0.4216	0.0258	0.3971	0.0278
12	0.3948	0.0084	0.3396	0.0139	0.4183	0.0495	0.2251	0.0170	0.4392	0.0316	0.4205	0.0241	0.3739	0.0372	0.3970	0.0128
24	0.3628	0.0137	0.2915	0.0316	0.3687	0.0258	0.1796	0.0057	0.3964	0.0268	0.4127	0.0248	0.3350	0.0303	0.3724	0.0111
36	0.3493	0.0122	0.2649	0.0337	0.3630	0.0112	0.1790	0.0039	0.3887	0.0330	0.3856	0.0180	0.3519	0.0241	0.3662	0.0101
48	0.3397	0.0063	0.2625	0.0332	0.3616	0.0187	0.1438	0.0038	0.3860	0.0049	0.3684	0.0153	0.3326	0.0491	0.3433	0.0170

หมายเหตุ: abs คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร, ค่าเฉลี่ยหาจากการทำซ้ำจำนวน 4 ครั้ง (n = 4), S.D. คือ Standard Deviation

จากตารางที่ 1 วิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดลงบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง ไม้ และแผ่นกระจก ที่เวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง โดยจะเห็นว่าเมื่อเวลาเพิ่มมากขึ้นทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดบนพื้นผิวดังกล่าวมีค่าลดลง และจากตารางพบว่าค่าการดูดกลืนของคราบเลือดบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก และกระเบื้อง มีค่าการดูดกลืนแสงลดลงที่เวลา 1 - 6 ชั่วโมง ในขณะที่พื้นผิวของไม้ มีค่าการดูดกลืนแสงลดลงที่เวลา 1 - 5 ชั่วโมง และแผ่นกระจก มีค่าการดูดกลืนแสงลดลงที่เวลา 1 - 4 ชั่วโมง เท่านั้น จากนั้นนำค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดบนพื้นผิวดังกล่าวไปสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดบนพื้นผิวชนิดต่างๆ (กำหนดเป็นแกน X) กับเวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง (กำหนดเป็นแกน Y) ดังแสดงในรูปภาพที่ 15



ภาพที่ 15 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง ไม้ และแผ่นกระจก กับเวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง

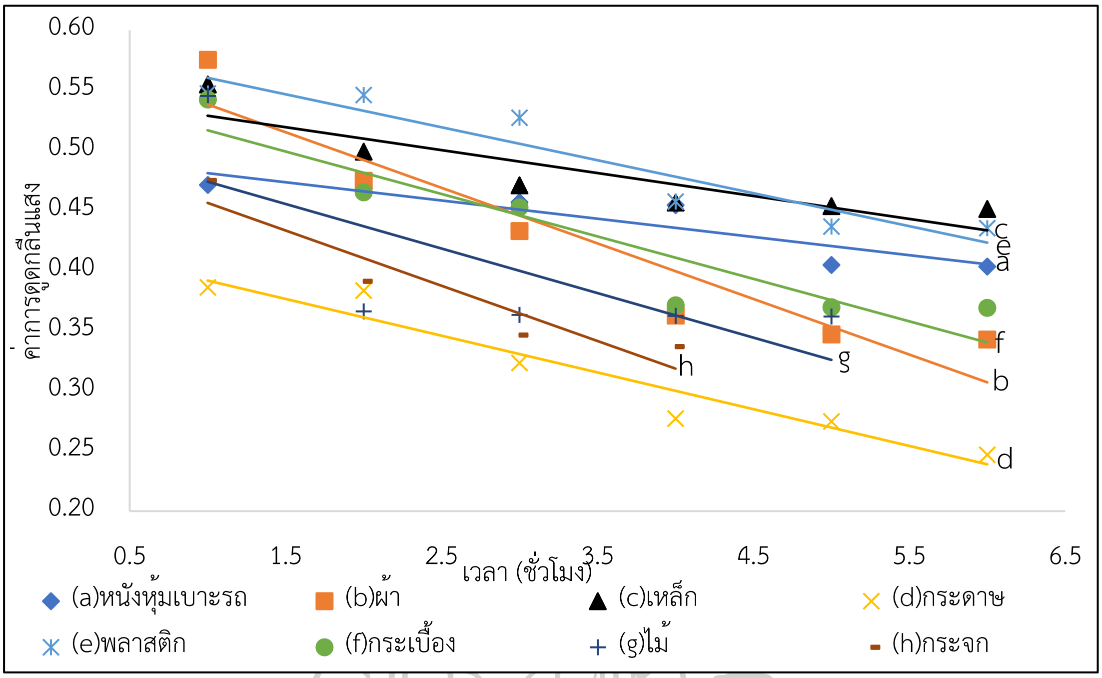
จากการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับเวลาในรูปภาพที่ 14 ทำให้ได้สมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 สมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ของค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก กระเบื้อง ไม้ และแผ่นกระจก กับเวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง

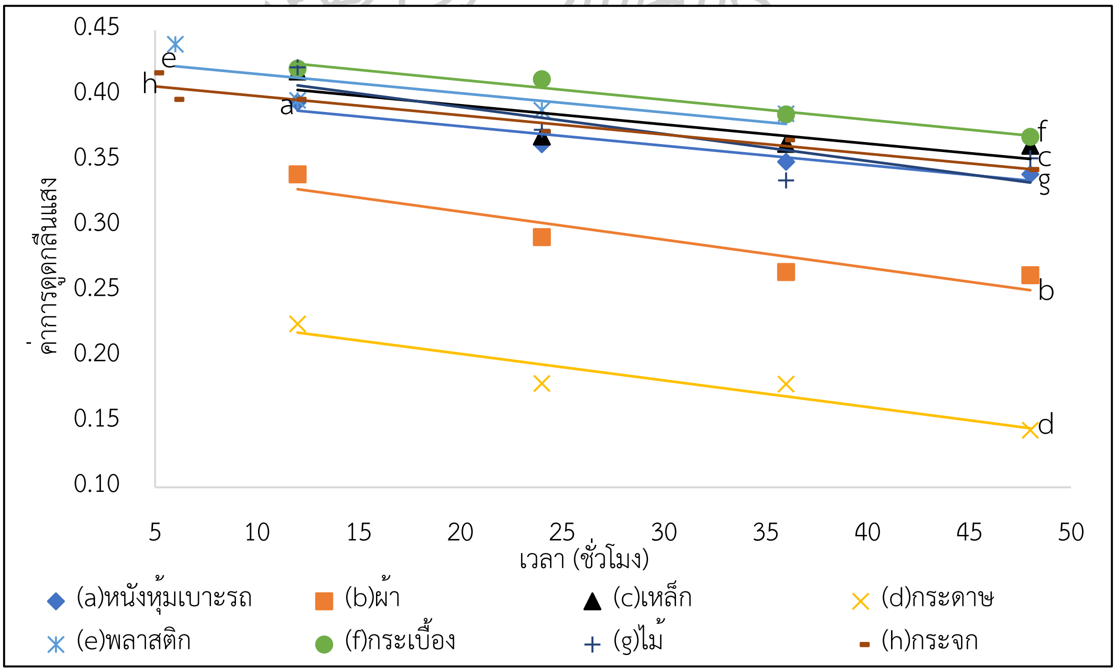
พื้นผิว	สมการ	R^2
หนังหุ้มเบาะรถ	y = -0.0027x + 0.4486	0.7822
ผ้า	y = -0.0033x + 0.4862	0.7280
เหล็ก	y = -0.0045x + 0.4324	0.5474
กระดาษ	y = -0.0043x + 0.323	0.7137
พลาสติก	y = -0.003x + 0.4978	0.5928
กระเบื้อง	y = -0.0015x + 0.4375	0.1959
ไม้	y = -0.0018x + 0.4074	0.2334
กระจก	y = -0.0011x + 0.4001	0.1954

โดยจากตารางที่ 2 พบว่าสมการเส้นตรงของค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดลงบนพื้นผิวประเภทต่างๆกับเวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ที่มีค่าค่อนข้างน้อย ยกเว้นคราบเลือดบนพื้นผิวของ หนังหุ้มเบาะรถ ผ้า และกระดาษ ที่มีค่า 0.7822, 0.7280 และ 0.7137 ตามลำดับ ซึ่งมีค่ามากกว่าพื้นผิวชนิดอื่นๆ

เพื่อเป็นการทำให้ค่าสมการมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ที่เพิ่มขึ้น จึงได้ทำการ แบ่งเวลาของการวิเคราะห์ออกเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงแรกเวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6 ชั่วโมง แสดงในรูปภาพที่ 15 และช่วงที่สองเวลา 12, 24, 36, 48 ชั่วโมง ดังแสดงในภาพที่ 16



ภาพที่ 16 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง ไม้ และแผ่นกระจก กับเวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6 ชั่วโมง (**หมายเหตุ;** ไม้ที่เวลา 1-5 ชั่วโมง, แผ่นกระจกที่เวลา 1-4 ชั่วโมง)



ภาพที่ 17 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง ไม้ และแผ่นกระจก กับเวลา 12, 24, 36, 48 ชั่วโมง (**หมายเหตุ;** ไม้ที่เวลา 6 - 48 ชั่วโมง, แผ่นกระจกที่เวลา 5 - 48 ชั่วโมง)

จากการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับเวลาในรูปภาพที่ 16 และรูปภาพที่ 17 ทำให้ได้สมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 สมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ของค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง ไม้ และแผ่นกระจก กับเวลาจากแบ่งออกเป็น 2 ช่วง

เวลา	**1 - 6 ชั่วโมง**		**12 - 48 ชั่วโมง**	
พื้นผิว	**สมการ**	R^2	**สมการ**	R^2
หนังหุ้มเบาะรถ	y = -0.0152x + 0.4963	0.8437	y = -0.0015x + 0.4063	0.9215
ผ้า	y = -0.0462x + 0.5845	0.8923	y = -0.0021x + 0.3541	0.8642
เหล็ก	y = -0.0191x + 0.5479	0.7855	y = -0.0015x + 0.4219	0.7017
กระดาษ	y = -0.0306x + 0.4223	0.9316	y = -0.002x + 0.2429	0.8968
พลาสติก	y = -0.0274x + 0.5878	0.8933	y = -0.0015x + 0.4313	0.6260
กระเบื้อง	y = -0.0353x + 0.552	0.8656	y = -0.0015x + 0.4427	0.9634
	1 - 5 ชั่วโมง		**6 - 48 ชั่วโมง**	
ไม้	y = -0.037x + 0.511	0.5181	y = -0.0021x + 0.4326	0.7276
	1 - 4 ชั่วโมง		**5 - 48 ชั่วโมง**	
กระจก	y = -0.0459x + 0.5023	0.8843	y = -0.0015x + 0.4144	0.9306

จากตารางที่ 3 จะเห็นว่าเมื่อทำการแบ่งการวิเคราะห์ออกเป็น 2 ช่วง พบว่าสมการเส้นตรงของค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดลงบนพื้นผิวประเภทต่างๆกับเวลา มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ที่เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับสมการความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง ไม้ และแผ่นกระจก กับเวลา 1 - 48 ชั่วโมง (ในตารางที่ 2) และจากตารางจะเห็นค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ของคราบเลือดบนพื้นผิวของไม้ในช่วงเวลา 1-5 ชั่วโมงแรกมีค่าเพียง 0.5181 ซึ่งน้อยกว่าในช่วงเวลา 6 - 48 ชั่วโมง และน้อยกว่าพื้นที่ผิวชนิดอื่นๆ อีกด้วย

จากนั้นนำสมการไปใช้คำนวณการประมาณอายุของคราบเลือดโดยการนำค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดบนพื้นที่ผิวชนิดต่างๆ (y) ที่ได้จากการวัดด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrometer ไปแทนค่าลงในสมการที่แสดงในตารางที่ 2 เพื่อคำนวณหาอายุของคราบเลือด (x) และเปรียบเทียบอายุจริงของคราบเลือดและอายุของคราบเลือดที่คำนวณได้ ดังแสดงในตารางที่ 4

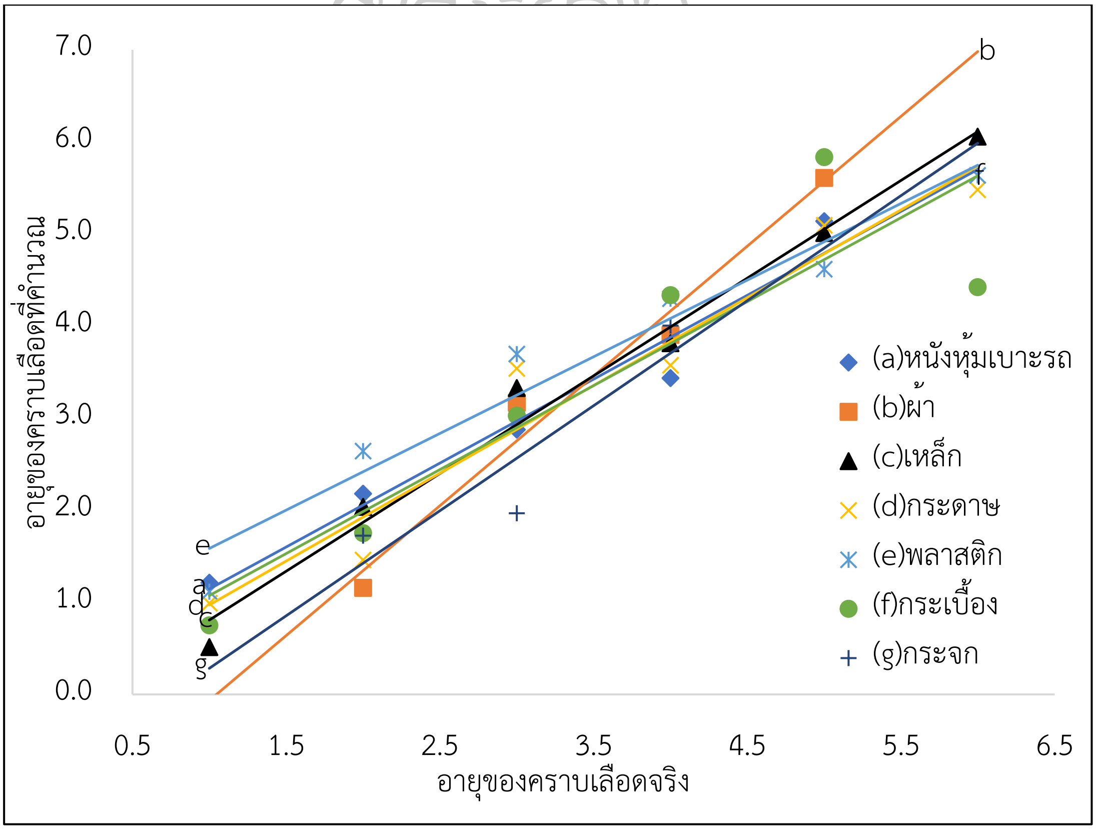
มหาวิทยาลัยศิลปากร

ตารางที่ 4 อายุของคราบเลือดบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง ไม้ และกระจก ที่คำนวณได้จากสมการ

อายุจริง	หนังหุ้มเบาะรถ		ผ้า		เหล็ก		กระดาษ	
	อายุคำนวณ	%error	อายุคำนวณ	%error	อายุคำนวณ	%error	อายุคำนวณ	%error
1	1.2	21.1	2.9	190.5	0.5	151.3	1.0	1.0
2	2.2	8.9	1.2	42.2	2.0	1.9	1.5	27.1
3	2.9	4.2	3.2	5.5	3.3	10.8	3.5	18.0
4	3.4	14.1	3.9	2.4	3.8	4.7	3.6	10.7
5	5.1	2.8	5.6	12.2	5.0	0.2	5.1	1.8
6	3.4	42.7	1.2	120.6	6.1	1.0	5.5	8.7
12	-1.1	109.4	9.0	25.3	44.1	267.7	30.1	350.9
24	44.6	85.8	11.9	50.5	32.1	33.8	58.2	142.4
36	17.2	52.2	60.6	68.3	11.5	68.1	35.8	0.6
48	43.7	9.0	42.0	12.5	39.5	17.6	32.5	32.2
อายุจริง	พลาสติก		กระเบื้อง		ไม้		กระจก	
	อายุคำนวณ	%error	อายุคำนวณ	%error	อายุคำนวณ	%error	อายุคำนวณ	%error
1	1.1	11.3	0.7	25.0	2.1	101.4	0.1	109.6
2	2.6	32.1	1.8	12.5	0.3	82.1	1.7	13.8
3	3.7	23.1	3.0	0.9	0.2	101.6	2.0	34.5
4	4.3	7.4	4.3	8.4	1.7	63.6	4.0	0.1
5	4.6	7.7	5.8	16.7	2.9	1301.2	2.0	59.1
6	5.6	6.1	4.4	26.3	3.6	474.7	4.7	177.7
12	1.4	88.5	51.6	330.1	4.3	98.4	2.4	119.6
24	91.3	280.6	79.1	229.8	1.1	103.3	6.4	73.5
36	32.3	10.3	58.8	63.2	11.9	117.4	4.5	87.5
48	35.8	25.4	59.1	23.1	3.2	118.3	6.1	87.3

มหาวิทยาลัยศิลปากร

จากตารางที่ 4 การคำนวณอายุของคราบเลือดบนพื้นผิวชนิดต่างๆ โดยใช้สมการในตารางที่ 3 ซึ่งจากการคำนวณพบว่าการใช้สมการความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดบนพื้นผิวชนิดต่างๆกับเวลาในช่วงแรกนั้น ทำให้อายุที่คำนวณได้จากสมการมีค่าใกล้เคียงกับอายุจริงของเลือด โดยจากการคำนวณเพื่อประมาณอายุของคราบเลือด พบว่าคราบเลือดบนพื้นผิวของแผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก และแผ่นกระเบื้อง สามารถประมาณอายุได้ในช่วงเวลา 1 – 6 ชั่วโมง, หนังหุ้มเบาะรถสามารถประมาณอายุได้ในช่วงเวลา 1 – 5 ชั่วโมง, คราบเลือดบนพื้นผิวของผ้าสามารถประมาณอายุได้ในช่วงเวลา 2 – 5 ชั่วโมง และกระจกสามารถประมาณอายุได้ในช่วงเวลา 2 – 4 ชั่วโมง จึงได้ทำการเปรียบเทียบระหว่างอายุจริงของเลือดกับอายุที่คำนวณได้ในช่วงเวลาดังกล่าวทำให้ได้ค่าความคลาดเคลื่อน (% error) อยู่ระหว่าง 0.1 ถึง 59.1 และได้ทำการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างอายุจริงของคราบเลือดกับอายุของคราบเลือดที่คำนวณได้ ดังแสดงในรูปภาพที่ 18



ภาพที่ 18 ความสัมพันธ์ระหว่างอายุของคราบเลือดที่คำนวณได้กับอายุจริงของคราบภายหลังการหยดลงบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง และกระจก

จากการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างอายุของคราบเลือดที่คำนวณได้กับอายุจริงของคราบภายหลังการหยดลงบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่น

กระเบื้อง และกระจก ทำให้ได้สมการของความสัมพันธ์ระหว่างอายุจริงของคราบเลือดและอายุของคราบเลือดที่คำนวณได้ และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพัทธ์ (R^2) ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 สมการและค่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพัทธ์ (R^2) ของความสัมพันธ์ระหว่างอายุจริงของคราบเลือดและอายุของคราบเลือดบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก และแผ่นกระเบื้อง ที่คำนวณได้

พื้นผิว	สมการ	R^2
หนังหุ้มเบาะรถ	y = 0.9112x + 0.2336	0.9599
ผ้า	y = 1.4095x - 1.4755	0.9732
เหล็ก	y = 1.0608x - 0.2538	0.9846
กระดาษ	y = 0.9534x + 0.0176	0.9473
พลาสติก	y = 0.8324x + 0.7526	0.9516
กระเบื้อง	y = 0.9118x + 0.1616	0.8218
กระจก	y = 1.1406x - 0.8574	0.8285

จากตารางพบว่าสมการที่ได้มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพัทธ์ (R^2) ที่เข้าใกล้ 1 ซึ่งบ่งชี้ได้ว่าสามารถนำการศึกษานี้ไปใช้ในการประมาณอายุของคราบเลือดในช่วงเวลา 1, 2, 3, 4 ,5, 6 ชั่วโมง บนพื้นผิวของ แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก แผ่นกระเบื้อง, ใช้ในการประมาณอายุของคราบเลือดในช่วงเวลา 1, 2, 3, 4 ,5 ชั่วโมง, ใช้ในการประมาณอายุของคราบเลือดในช่วงเวลา 1, 2, 3, 4 ,5, 6 ชั่วโมง บนพื้นผิวของผ้า และใช้ในการประมาณอายุของคราบเลือดในช่วงเวลา 2, 3, 4 ชั่วโมง บนพื้นผิวของกระจกได้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย และอภิปรายผลการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการเปลี่ยนแปลงฮีโมโกลบินในเลือดจากค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดลงบนพื้นผิวชนิดต่างๆ ได้แก่ หนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก กระเบื้อง ไม้ และกระจก ในระยะเวลาที่กำหนด คือ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง ซึ่งทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของฮีโมโกลบินในช่วงความยาวคลื่นระหว่าง 350 – 750 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง UV-Visible Spectrometer ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าค่าการดูดกลืนแสงโดยเฉลี่ยของคราบเลือดบนพื้นผิวดังกล่าว มีค่าลดลงเมื่อมีระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น อาจเนื่องมาจากคราบเลือดที่พบนั้นมีช่วงระยะเวลาในการสัมผัสพื้นผิวชนิดต่างๆที่ต่างกัน ซึ่งอาจจะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของฮีโมโกลบินในเลือดที่ลดลง ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มีค่าลดลงตามเวลาที่เพิ่มขึ้น โดยสาเหตุที่ค่าการดูดกลืนแสงของฮีโมโกลบินที่วัดได้มีค่าลดลงอาจเนื่องมากจากมีปัจจัยต่างๆเกิดขึ้น อาทิ ฮีโมโกลบินในเลือดมีการสลายตัวตามระยะเวลาที่พบคราบเลือด และอาจมีปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมหลายปัจจัยที่เกิดขึ้น เช่น ความชื้น ความเย็น ความร้อน แสงแดด ลม อุณหภูมิ และองค์ประกอบของเลือดแต่ละบุคคล เป็นต้น ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ ปาเลวี งามขำ และธิติ มหาเจริญ ที่ได้ทำการศึกษาการประมาณอายุของคราบเลือดบนพื้นที่ผิวของกระจก กระดาษ 80 แกรม ผ้า cotton และไม้ ที่เวลา 1, 6, 12, 24 ชั่วโมง ด้วย UV-Visible Spectrometer และจากการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดลงบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก กระเบื้อง ไม้ และกระจก จึงได้สมการสมการความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดบนพื้นผิวดังกล่าวกับเวลาที่มีได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ที่น้อย จึงได้ทำการแบ่งช่วงเวลาของการวิเคราะห์ออกเป็น 2 ช่วง โดยช่วงแรก คือ 1, 2, 3, 4, 5, 6 ชั่วโมง และช่วงที่สอง คือ 12, 24, 36, 48 ชั่วโมง จึงทำให้ได้สมการความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก กระเบื้อง และกระจกกับเวลาที่ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ที่มีค่ามากขึ้น จึงนำจึงสมการไปคำนวณหาอายุของคราบเลือด ซึ่งจากการคำนวณพบว่าอายุของคราบเลือดที่คำนวณได้ในช่วงเวลา 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ชั่วโมง มีความใกล้เคียงกับอายุจริงของคราบเลือด และจากการเปรียบเทียบระหว่างอายุจริงของคราบเลือดและอายุของคราบเลือดที่คำนวณได้โดยการสร้างกราฟทำให้ได้สมการที่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) อยู่ระหว่าง 0.8218 – 0.9846 ซึ่งเข้าใกล้ 1 จึงบอกได้ว่าสามารถใช้การศึกษาค่าการดูดกลืนแสงของเลือดด้วย UV-Visible Spectrometer ในการนำไปประมาณอายุของคราบเลือดบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถในช่วงเวลา 1, 2, 3, 4, 5 ชั่วโมง ผ้าในช่วง

เวลา 2, 3, 4 ชั่วโมง แผ่นเหล็ก กระดาษ พลาสติก และกระเบื้อง ในช่วงเวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6 ชั่วโมงได้ ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ จิณห์นิภา ปาวะภินันท์ ที่ได้ทำการศึกษาการประเมินอายุของคราบบนผ้าฝ้ายสีขาวในช่วงเวลาที่แตกต่างกันโดยวัดค่าสีด้วย Spectrophotometer ซึ่งใช้ช่วงในการสแกน 360 – 830 นาโนเมตร โดยนำค่าสีที่ได้มาใช้ในการทำนายอายุของตัวอย่างคราบเลือดทั้ง 12 ตัวอย่าง จากการสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อหาสมการความสัมพันธ์ของค่าสีกับอายุของคราบเลือด โดยจากการศึกษาพบว่าสามารถทำนายอายุของคราบเลือดได้ประมาณ 1 ถึง 4 ชั่วโมง ซึ่งอายุที่ประมาณได้กับอายุจริงของคราบเลือดมีความสัมพันธ์กันมากจึงทำให้ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.9565

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเกี่ยวกับการประเมินอายุของคราบเลือดจากการเปลี่ยนแปลงของฮีโมโกลบินในเลือดโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrometer สำหรับผู้สนใจและต้องการศึกษาเพิ่มเติมโดยในการศึกษาครั้งถัดไปควรเพิ่มตัวอย่างเลือดจากอาสามาสมัครที่มากขึ้นอาจมีการเพิ่มตัวอย่างเลือดจากอาสาสมัครที่หลากหลาย เช่น เพศ ช่วงอายุของอาสาสมัคร ดัชนีมวลกาย ความแตกต่างของกรุ๊ปเลือด เป็นต้น

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก

ตารางที่ 6 ค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดลงบนพื้นผิวของหนังหุ้มเบาะรถ ผ้า และเหล็ก

ตัวอย่าง	หนังหุ้มเบาะรถ					ผ้า					เหล็ก				
เวลา	**ครั้งที่ 1**	**ครั้งที่ 2**	**ครั้งที่ 3**	**ครั้งที่ 4**	**ค่าเฉลี่ย**	**ครั้งที่ 1**	**ครั้งที่ 2**	**ครั้งที่ 3**	**ครั้งที่ 4**	**ค่าเฉลี่ย**	**ครั้งที่ 1**	**ครั้งที่ 2**	**ครั้งที่ 3**	**ครั้งที่ 4**	**ค่าเฉลี่ย**
1	0.4924	0.4601	0.4679	0.4648	0.4713	0.5832	0.5798	0.5856	0.5707	0.5756	0.5149	0.5675	0.5614	0.5764	0.555
2	0.4805	0.4723	0.4513	0.4677	0.4680	0.4491	0.5918	0.4479	0.4107	0.4749	0.4951	0.5308	0.4776	0.4924	0.499
3	0.4702	0.4451	0.4676	0.4448	0.4569	0.399	0.5556	0.3576	0.4203	0.4331	0.4731	0.4603	0.4747	0.4723	0.4711
4	0.4527	0.4791	0.4571	0.4299	0.4547	0.3497	0.3323	0.3744	0.3946	0.3627	0.451	0.4613	0.458	0.4563	0.4567
5	0.4096	0.4032	0.2518	0.4020	0.4049	0.3999	0.2987	0.2812	0.4089	0.3472	0.4431	0.4422	0.4422	0.4878	0.4538
6	0.4543	0.4339	0.3220	-	0.4034	0.331	-	0.3547	0.3425	0.3427	0.4576	0.4405	0.4565	0.4515	0.4515
12	0.3877	0.4058	0.3971	0.3887	0.3948	0.3929	0.3514	0.3242	0.3432	0.3396	0.3818	0.3975	0.4026	0.4914	0.4183
24	0.3556	0.3636	0.3727	0.3783	0.3628	0.2805	0.3073	0.2634	0.3391	0.2915	0.3478	0.3834	0.3461	0.3977	0.3687
36	0.3592	0.3479	0.3575	0.3326	0.3493	0.2433	0.2611	0.2547	0.3017	0.2649	0.3524	0.3695	0.3546	0.3753	0.363
48	0.3386	0.3328	0.3392	0.3481	0.3397	0.2481	0.3117	0.2515	0.2389	0.2625	0.3576	0.3452	0.3819	-	0.3616

หมายเหตุ; - คือค่าที่ไม่ได้นำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย

ตารางที่ 7 ค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดลงบนพื้นผิวของกระดาษ พลาสติก และกระเบื้อง

ตัวอย่าง	กระดาษ					พลาสติก					กระเบื้อง				
เวลา	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ค่าเฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ค่าเฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ค่าเฉลี่ย
1	0.3941	0.3597	0.3659	0.4252	0.3862	0.5297	0.5246	0.5899	0.5463	0.5476	0.5256	0.5535	0.5703	0.5206	0.5425
2	0.2723	0.4122	0.3565	0.3823	0.3837	0.5397	0.5744	0.5349	0.5364	0.5463	0.5209	0.4684	0.4761	0.3961	0.4654
3	0.2924	0.349	0.3427	0.3436	0.3234	0.4576	0.5473	0.5367	0.5385	0.5273	0.4697	0.4419	0.4368	0.4627	0.4528
4	0.2743	0.2813	0.2712	0.2822	0.2772	0.4261	0.4994	0.4637	0.4416	0.4577	0.3661	0.3722	0.3697	0.3631	0.3714
5	0.2696	0.2712	0.2835	0.2742	0.2746	0.4395	0.429	0.4332	0.4255	0.4368	0.3961	0.3488	0.3825	0.3261	0.3697
6	0.2637	0.2284	0.2629	0.2330	0.247	0.4413	0.437	0.4347	0.4305	0.4354	0.386	0.3788	0.3527	0.3587	0.3691
12	0.2421	0.2049	0.2432	0.2036	0.2251	0.4628	0.4317	0.4646	0.3976	0.4392	0.4099	0.4202	0.4541	0.3979	0.4205
24	0.1789	0.1878	0.1766	0.1750	0.1796	0.4257	0.4042	0.3943	0.3614	0.3964	0.3979	0.4484	0.4105	0.3939	0.4127
36	0.1763	0.1773	0.1835	-	0.179	0.4159	0.4183	0.3566	0.3641	0.3887	0.3801	0.4021	0.3976	0.3627	0.3856
48	0.1487	0.1447	0.1415	0.1402	0.1438	0.3843	0.3916	0.3822	-	0.386	0.3521	0.3718	0.388	0.3618	0.3684

หมายเหตุ; - คือค่าที่ไม่ได้นำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย

ตารางที่ 8 ค่าการดูดกลืนแสงของคราบเลือดภายหลังการหยดเลือดลงบนพื้นผิวของกระดาษ พลาสติก และกระเบื้อง

ตัวอย่าง	ไม้					กระจก				
เวลา	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ค่าเฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ค่าเฉลี่ย
1	0.5769	0.6312	0.5408	0.4328	0.5454	0.4729	0.4513	0.4962	0.4673	0.4752
2	0.3863	0.4529	0.3076	0.3242	0.3662	0.3811	0.3518	0.361	0.4709	0.3912
3	0.3675	0.3606	0.3620	-	0.3634	0.3248	0.3702	0.3514	0.3358	0.3466
4	0.3502	0.383	0.3640	0.3526	0.3625	0.3247	0.3559	0.3468	0.3202	0.3369
5	0.3514	0.3612	0.3630	0.3726	0.3621	0.408	0.4111	0.4104	0.4121	0.4174
6	0.4543	0.4327	0.3898	0.4227	0.4216	0.402	0.415	0.3564	0.415	0.3971
12	0.3963	0.3999	0.3797	0.3197	0.3739	0.3802	0.4092	0.3943	0.4045	0.397
24	0.3631	0.319	0.3575	0.3004	0.335	0.3887	0.3684	0.3693	0.3635	0.3724
36	0.3231	0.343	0.3786	0.3628	0.3519	0.3674	0.3794	0.3555	0.3625	0.3662
48	0.2828	0.2982	0.3723	0.3771	0.3326	0.3219	0.3477	0.3405	0.3629	0.3433

หมายเหตุ; - คือค่าที่ไม่ได้นำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย

รายการอ้างอิง

Bergmann, T., Heinke, F., & Labudde, D. (2017). Towards substrate-independent age estimation of blood stains based on dimensionality reduction and k-nearest neighbor classification of absorbance spectroscopic data. *Forensic Science International*, 278, 1-8. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2017.05.023

Bremmer, R. H., Nadort, A., van Leeuwen, T. G., van Gemert, M. J. C., & Aalders, M. C. G. (2011). Age estimation of blood stains by hemoglobin derivative determination using reflectance spectroscopy. *Forensic Science International*, 206(1), 166-171. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.07.034

Kaur, S., Saini, V., & Dalal, R. (2020). UV-Visible spectroscopic effect on Haemoglobin & DNA degradation: A forensic approach. *Forensic Science International*, 307, 110078. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2019.110078

Kind, S., Patterson, D., & Owen, G. (1972). Estimation of the age of dried blood stains by a spectrophotometric method. *Forensic Science*, 1(1), 27-54.

Strasser, S., Zink, A., Kada, G., Hinterdorfer, P., Peschel, O., Heckl, W. M., Nerlich, A. G., & Thalhammer, S. (2007). Age determination of blood spots in forensic medicine by force spectroscopy. *Forensic Science International*, 170(1), 8-14.

Upstone, S. L. (2000). Ultraviolet/visible light absorption spectrophotometry in clinical chemistry. *Encyclopedia of analytical chemistry*, 1699-1714.

กฤษณะ พวงระย้า. (2552). *การประมาณอายุของคราบเลือด* [วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยศิลปากร].

จิณห์นิภา ปาวะภินันท์. (2564). *การประเมินอายุคราบเลือดจากการวัดค่าสีด้วย Spectrophotometer และด้วยเทคนิค ATR-FTIR* [วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยศิลปากร].

ปาเลวี งามขำ, ธิติ มหาเจริญ. (2561). การประมาณอายุของคราบเลือดด้วย UV-Visible Spectrometer. วารสารวิชาการบัณฑิตวิทยาลัย,

วรพรรณ ศิริวัฒนอักษร, ช. ศ., นีโลบล เนื่องตัน, ภัทรบุตร มาศรัตน, สมทรง เลขะกุล. (2562). ชีวเคมีของเลือด (Vol. 4) https://www.si.mahidol.ac.th/department/biochemistry/home/MD/Lecture/Biochemistry_of_blood.pdf

วัฒนาพร เขื่อนสุวรรณ. (ม.ป.ป.). ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับสี.
https://dusithost.dusit.ac.th/~chawalin_nia/site1/comgraphic/41color.pdf

วิกิพีเดีย, ส. (ม.ป.ป.). อาชญากรรม.
https://th.wikipedia.org/wiki/%E0%B8%AD%E0%B8%B2%E0%B8%8A%E0%B8%8D%E0%B8%B2%E0%B8%81%E0%B8%A3%E0%B8%A3%E0%B8%A1

วิน เชยชมศรี. (ม.ป.ป.). โลหิตวิทยา. In. https://pirun.ku.ac.th/~fsciwcc/HEMATO2.PDF

ศิริพร พันธศรี. (2549). การพิสูจน์คราบเลือด. วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่,

สราวุธ แหยมศิริ. (2554). *การตรวจหาอายุคราบโลหิตด้วย Fourier Transform Infrared Spectroscopy* [วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยศิลปากร].

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาวปุณญณิศรา ชุบศรี
วุฒิการศึกษา	พ.ศ.2559 จบการศึกษาระดับมัธยมศึกษา โรงเรียนอยุธยาวิทยาลัย พ.ศ.2563 จบการศึกษาระดับปริญาตรี สาขาวิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
ผลงานตีพิมพ์	ชื่อผลงาน : : การประมาณอายุของคราบเลือดบนพื้นผิวประเภทต่างๆ โดยเทคนิค UV-Visible Spectrometry ผู้เขียน : ปุณญณิศรา ชุบศรี ชื่อวารสาร : กาประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับชาติด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม ครั้งที่ 7 ปีที่พิมพ์ : 2567 เลขหน้า : 41-50

มหาวิทยาลัยศิลปากร