



การประมาณอายุคราบเลือดบนผ้าโดยวิธีวิเคราะห์ภาพ



โดย
นางสาวภัทราธิป เล่าหบุตร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต

วิทยาศาสตร มหาวิทาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2559

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การประมาณอายุคราบเลือดบนผ้าโดยวิธีวิเคราะห์ภาพ



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญาโทมหาบัณฑิต
วิทยาศาสตร มหาวิทาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2559
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ESTIMATION OF THE AGE OF BLOODSTAIN ON CLOTH BY THE METHOD
OF IMAGE ANALYSIS



A Thesis Submitted in partial Fulfillment of Requirements
for Master of Science (FORENSIC SCIENCE)

Science Silpakorn University

Academic Year 2016

Copyright of Graduate School, Silpakorn University

57312319 : นิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญาโท

คำสำคัญ : ทรายเลือด, การทำนายอายุทรายเลือด, วิธีวิเคราะห์ภาพ

นางสาว ภัทราริพ เลาหบุตร: การประมาณอายุทรายเลือดบนฝ้ายโดยวิธีวิเคราะห์ภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : อาจารย์ ดร. ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี

อายุของทรายเลือด ถือเป็นพยานหลักฐานที่สำคัญต่อกระบวนการสืบสวนทางนิติวิทยาศาสตร์ในคดีอุกฉกรรจ์ โดยงานวิจัยนี้ใช้วิธีวิเคราะห์ภาพเพื่อประเมินอายุของทรายเลือดบนฝ้ายสีขาว ตัวอย่างเลือดที่นำมาจากอาสาสมัครจำนวน 18 คน ซึ่งจะนำเลือดมาหยดลงบนฝ้ายทันที โดยไม่ใช่สารกันเลือดแข็ง ข้อมูลของตัวอย่างจำนวน 3 ตัวอย่างจะนำมาใช้ในการอ่านค่าสีเพื่อสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าสีที่ได้จากการวิเคราะห์ภาพกับอายุของทรายเลือด และสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐาน 2 สมการจะถูกนำมาใช้ในการประมาณอายุของทรายเลือดที่เตรียมขึ้นมาจำนวน 15 ตัวอย่าง เมื่อนำอายุของทรายเลือดที่ทำนายได้กับอายุจริงของทรายเลือดมาพล็อตกราฟพบว่า ความสัมพันธ์ของค่าทั้งสองมีความสัมพันธ์กันดี โดยดูจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่ได้คือ 0.9659 จากผลการวิจัยนี้ แสดงให้เห็นว่า วิธีการวิเคราะห์ภาพ อาจใช้ในการประมาณอายุของทรายเลือดที่หยดลงบนฝ้ายสีขาว และเป็นวิธีการที่เหมาะสมกับอายุของตัวอย่างเลือดในช่วง 1 ถึง 48 ชั่วโมง



57312319 : Major (FORENSIC SCIENCE)

Keyword : BLOODSTAIN, AGE ESTIMATION, IMAGE ANALYSIS

MISS Patrathip LAOHABUTR : Estimation of the age of bloodstain on cloth by the method of image analysis Thesis advisor : Supachai Supalaknari, Ph.D.

The age of bloodstains is an important piece of information in forensic investigations of serious crimes. This study explored the use of image analysis in the estimation of the age of bloodstains on white cotton fabric. Blood samples were collected from eighteen donors and were used freshly in all experiments without any pretreatment. The data from three samples were used to construct calibration graphs of color values of the bloodstain images and the bloodstain ages. Two equations estimated from the calibration graphs were used to determine the ages of bloodstains prepared from fifteen blood samples. A good correlation between the estimated ages and the actual ages of the samples were obtained with a correlation coefficient of 0.9659. The results have demonstrated that the method of image analysis may be used to estimate the age of bloodstains on white cotton cloth and the method was suitable for samples having the age range of 1 to 48 hours.



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เรื่อง “การประมาณอายุของคราบเลือดบนผ้าโดยวิธีวิเคราะห์ภาพ” นี้สำเร็จ ลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องด้วยการให้คำแนะนำ แนวคิดในงานวิจัย และความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจาก อาจารย์ ดร.ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ของข้าพเจ้า และอาจารย์ ดร.ศิริรัตน์ ชู สกฤตเกรียง ซึ่งเป็นอาจารย์ผู้คอยให้คำปรึกษาอย่างดีตลอดการทำงานวิจัยนี้ ทางผู้วิจัยจึง ขอขอบพระคุณอาจารย์ทั้งสองท่านมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณอาสาสมัครทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์ผู้วิจัยในการเก็บตัวอย่างเลือด และ คุณจารุณี ชัยเจริญพงศ์ เจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ โรงพยาบาลชานคามิลโล อ. บ้านโป่ง จ.ราชบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์ในส่วนของการเก็บตัวอย่างเลือด และช่วยทำการเก็บ ตัวอย่างเลือด รวมไปถึงเพื่อนสาขานิติวิทยาศาสตร์ ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์จน สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ท้ายที่สุด ผู้วิจัยขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัว ผู้คอยสนับสนุนในทุกๆด้าน และเป็นกำลังใจตลอดระยะเวลาที่ผ่านมา ผู้วิจัยจึงขอขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

ภัทรชาติป เลาบุตร



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ฅ
สารบัญภาพ	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
สมมติฐานของการวิจัย.....	3
ขอบเขตของการวิจัย	3
ข้อจำกัดของการวิจัย.....	3
นิยามศัพท์เฉพาะ.....	4
ประโยชน์ที่ได้รับ	4
บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	5
เลือดและส่วนประกอบของเลือด.....	5
Hemoglobin.....	6
ความผันแปรของ Hemoglobin	7
ความผิดปกติของ Hemoglobin เนื่องจากการถูกออกซิไดส์.....	8
การจับและปล่อยออกซิเจนของ Hemoglobin (Oxygen dissociation)	9

Hemoglobin reaction kinetics.....	11
ผ้าฝ้าย และคุณลักษณะของผ้าฝ้าย	13
วิธีการถ่ายภาพ.....	15
การประมวลผลภาพเบื้องต้น.....	15
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	16
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	21
วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี.....	21
ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย.....	25
ตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย.....	25
วิธีการทดลอง	25
หมายเหตุ	31
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	32
บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	48
สรุปผล.....	48
การอภิปรายผล	49
ข้อเสนอแนะ	51
รายการอ้างอิง	52
ภาคผนวก	54
ประวัติผู้เขียน	60

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1	อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองและแหล่งที่มา	21
ตารางที่ 2	ค่าสีแดงของคราบเลือดบนผ้าฝ้ายสีขาวโดยใช้โปรแกรม MATLAB ของตัวอย่างเลือด จากอาสาสมัครจำนวน 3 คน เทียบกับอายุของคราบเลือด.....	37
ตารางที่ 3	อัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงของคราบเลือดบนผ้าฝ้ายสีขาวของตัวอย่างเลือดจาก อาสาสมัครจำนวน 3 คน เทียบกับอายุของคราบเลือด	38
ตารางที่ 4	สมการความสัมพันธ์ระหว่างค่าสีแดงเทียบกับอายุของคราบเลือด แบ่งเป็น ระยะเวลาที่ 0-3 ชั่วโมงภายหลังการหยดเลือดและ ระยะเวลาที่ 4-48 ชั่วโมงภายหลังการหยดเลือด ตามลำดับ.....	42
ตารางที่ 5	สมการอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงเทียบกับ \ln (อายุของคราบเลือด) แบ่งเป็นที่ ระยะเวลา 0.375 ถึง 2.25 ชั่วโมงภายหลังการหยดเลือดและ 2.75 ถึง 45 ชั่วโมง ภายหลังการหยดเลือด ตามลำดับ	43
ตารางที่ 6	อายุของคราบเลือดที่ทำนายได้จากสมการของค่าสีแดงเทียบกับอายุจริงของ คราบเลือด	44
ตารางที่ 7	อายุของคราบเลือดที่ทำนายได้จากสมการอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงเทียบกับ อายุจริงของคราบเลือด	45
ตารางที่ 8	ค่าสีแดงของคราบเลือดที่นำมาสร้างกราฟมาตรฐานจากอาสาสมัครจำนวน 3 คนเทียบ กับอายุของคราบเลือด	55
ตารางที่ 9	อัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงของคราบเลือดที่นำมาสร้างกราฟมาตรฐานจาก อาสาสมัครจำนวน 3 คนเทียบกับอายุของคราบเลือด.....	56
ตารางที่ 10	ค่าสีแดงของคราบเลือดที่นำมาทำนายอายุจากอาสาสมัครจำนวน 15 คนเทียบกับอายุ ของคราบเลือด	57

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ลักษณะของ Hemoglobin และ โมเลกุลของธาตุเหล็กที่แทรกอยู่ตรงกลางของฮีม.....	6
ภาพที่ 2 กราฟ Oxyhemoglobin dissociation curve ระหว่าง % ความอิ่มตัวของ Hemoglobin ใน การจับกับออกซิเจนเทียบกับออกซิเจนที่ระดับความดันต่างๆ.....	10
ภาพที่ 3 (A) Hemoglobin reaction kinetics ภายในร่างกาย (B) Hemoglobin reaction kinetics ของคราบเลือด	12
ภาพที่ 4 กราฟเปรียบเทียบระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของ Oxyhemoglobin, Methemoglobin และ Hemichrome เทียบกับความยาวคลื่น (นาโนเมตร).....	12
ภาพที่ 5 ภาพ โครงสร้างทางเคมีของเฮมโกลบิน.....	13
ภาพที่ 6 โครงสร้างของเส้นใยฝ้าย.....	14
ภาพที่ 7 ระบบสี RGB และระบบสี CYMK.....	16
ภาพที่ 8 การดูดกลืนแสงของ Hemoglobin derivative ทั้ง 3 ชนิดจากการวิเคราะห์คราบเลือดโดย ใช้เทคนิค Reflectance Spectroscopy.....	18
ภาพที่ 9 (A) กล้องล็งที่ทำการเจาะช่องสี่เหลี่ยมเตรียมไว้สำหรับถ่ายภาพหยดเลือด (B) ลักษณะภายในกล้องล็งที่ทำการติดตั้งหลอดไฟเพื่อให้แสงสว่างขณะถ่ายภาพ.....	25
ภาพที่ 10 ลักษณะของการชิงผ้าไว้บนแท่นไม้เพื่อเตรียมไว้สำหรับการหยดเลือด.....	26
ภาพที่ 11 ลักษณะของหยดเลือดที่ใช้ในการถ่ายภาพเพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าสี โดยหยดเลือดบนผ้า 1 ผืนจะมาจากตัวอย่างเลือดของอาสาสมัคร 1 คน	26
ภาพที่ 12 โปรแกรม MATLAB ที่ใช้ในการอ่านค่าสี RGB.....	28
ภาพที่ 13 หน้าต่างแสดงภาพที่ได้ทำการอ่านค่าสี RGB เรียบร้อยแล้ว.....	28
ภาพที่ 14 ค่าสีที่อ่านได้จากโปรแกรม MATLAB ซึ่งจะทำการอ่านค่าสีในทุกๆ pixel ของภาพ และแสดงผลในลักษณะตารางตัวเลข.....	29
ภาพที่ 15 (A) ตัวอย่างของภาพถ่ายคราบเลือดที่ระยะเวลาเริ่มต้น (B) ตัวอย่างของภาพถ่ายคราบเลือดหลังจากผ่านไป 7 ชั่วโมงภายหลังการหยดเลือด.....	32

ภาพที่ 16 ตัวอย่างของภาพถ่ายคราบเลือดบนผ้าฝ้ายสีขาวที่เวลาต่างๆ (A) ที่เวลาเริ่มต้น (B) ที่ 0.50 ชั่วโมง (C) ที่ 2 ชั่วโมง (D) ที่ 12 ชั่วโมง (E) ที่ 24 ชั่วโมง ภายหลังจากการหยดเลือด โดยใช้โปรแกรม Adobe Photoshop CS.....	33
ภาพที่ 17 ค่าสีแดงที่เทียบกับอายุของคราบเลือด จำนวน 3 ตัวอย่าง	34
ภาพที่ 18 ค่าสีแดงกับอายุของคราบเลือด ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง.....	35
ภาพที่ 19 ค่าสีเขียวกับอายุของคราบเลือด ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง.....	35
ภาพที่ 20 ค่าสีน้ำเงินกับอายุของคราบเลือด ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง	36
ภาพที่ 21 การเปลี่ยนแปลงของค่าสีแดงในแต่ละช่วงเวลาตั้งแต่เวลาเริ่มต้นถึง 48 ชั่วโมง.....	39
ภาพที่ 22 อัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงของคราบเลือดกับอายุของคราบเลือด ตั้งแต่เวลาเริ่มต้น ถึง 45 ชั่วโมง.....	40
ภาพที่ 23 ค่าสีแดงกับอายุของคราบเลือดตั้งแต่เวลาเริ่มต้นถึง 3 ชั่วโมงแรก.....	41
ภาพที่ 24 ค่าสีแดงกับอายุของคราบเลือดที่ระยะเวลา 4 ถึง 48 ชั่วโมง	41
ภาพที่ 25 อัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงที่เทียบกับ \ln (อายุของคราบเลือด) ที่ระยะเวลา 0.375 ถึง 2.25 ชั่วโมง	42
ภาพที่ 26 อัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงที่เทียบกับ \ln (อายุของคราบเลือด) ที่ระยะเวลา 2.75 ถึง 45 ชั่วโมง	43
ภาพที่ 27 อายุของคราบเลือดที่ทำนายได้จากสมการเส้นตรงของค่าสีแดงกับอายุจริงของคราบเลือด	46
ภาพที่ 28 อายุของคราบเลือดที่ทำนายได้จากสมการเส้นตรงของอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงกับอายุจริงของคราบเลือด	46

บทที่ 1 บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในสถานที่เกิดเหตุ ผู้กระทำผิดมักมีการทิ้งร่องรอย หรือพยานหลักฐานไว้ ซึ่งพยานหลักฐานมีอยู่ด้วยกันหลายรูปแบบ เช่น รอยนิ้วมือ เส้นผม อาวุธที่ใช้ในการก่อเหตุ และพยานหลักฐานที่มักพบได้บ่อย คือ คราบเลือด ซึ่งเป็นสิ่งที่สามารถพบได้บ่อยในสถานที่เกิดเหตุที่มีความเกี่ยวข้องกับอาชญากรรม ถือเป็นหนึ่งในพยานหลักฐานที่มีความสำคัญอย่างมากในกระบวนการสืบสวนทางนิติวิทยาศาสตร์ ซึ่งคราบเลือดสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลายในการช่วยวิเคราะห์พยานหลักฐาน เช่น การวิเคราะห์ DNA Profiling เพื่อสืบหาตัวบุคคล หรือวิเคราะห์รูปแบบการกระจายตัวของเลือดเพื่อนำไปสู่การลำดับเหตุการณ์ในที่เกิดเหตุ นอกจากนี้ประโยชน์ดังกล่าวไว้ในข้างต้นแล้ว ยังพบว่าคราบเลือดสามารถนำมาใช้ประมาณอายุของคราบเลือดเพื่อนำไปสู่การทำนายระยะเวลาที่เกิดเหตุ รวมไปถึงการยืนยันคำให้การของประจักษ์พยานได้ โดยคราบเลือดเกิดขึ้นจากการหยดลงของเลือดบนพื้นผิวของวัตถุหนึ่งๆ และถูกทิ้งไว้จนแห้งสนิท ซึ่งการแห้งของคราบเลือด นอกจากปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่มีความสำคัญแล้ว ยังมีอีกหนึ่งกลไกที่สำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงของคราบเลือด คือ Hemoglobin reaction kinetics เนื่องจาก Hemoglobin ประกอบไปด้วย ฮาตุเหล็ก และ โปรตีนที่มีส่วนสำคัญในการขนส่งออกซิเจนไปยังปอดและเนื้อเยื่อต่างๆ มีอยู่ด้วยกันหลายรูปแบบ เรียกว่า Hemoglobin derivatives โดยทั่วไปในร่างกายของมนุษย์ จะมีอยู่ด้วยกัน 2 รูปแบบ คือ แบบที่ไม่จับกับออกซิเจน (Deoxyhemoglobin) และแบบที่จับกับออกซิเจน (Oxyhemoglobin) ซึ่งจะอยู่ในหลอดเลือดแดงมากกว่าร้อยละ 90 และในหลอดเลือดดำมากกว่าร้อยละ 70 และจะมีเพียงร้อยละ 1 ของ Oxyhemoglobin เท่านั้นที่จะเกิดการ Autoxidized ไปอยู่ในรูปของ Methemoglobin ซึ่งสามารถถูกรีดิวซ์กลับมาเป็น Hemoglobin ได้โดย Reductase protein cytochrome b5 และในส่วนของ Hemoglobin ที่อยู่ภายนอกในร่างกายแล้ว จะถูกเปลี่ยนเป็น Oxyhemoglobin ทันทีที่สัมผัสกับออกซิเจน เนื่องจากความสามารถของ Cytochrome b5 ที่จำเป็นต่อกระบวนการรีดักชันของ Methemoglobin ลดลง การเปลี่ยนจาก Oxyhemoglobin ไปเป็น Methemoglobin จึงไม่สามารถเกิดขึ้นได้ แต่จะมี Autoxidation ของ Oxyhemoglobin กลายเป็น Methemoglobin และเกิดการสลายตัวจนกลายเป็น Hemichrome ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเป็น Hemichrome ทำให้สีของคราบเลือดเปลี่ยนจากสีแดงเข้มไปเป็นสีน้ำตาล [1]

จากการศึกษากลไกของ Hemoglobin reaction kinetics ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีของคราบเลือดนี้ พบว่ามีงานวิจัยมากมายที่นำคราบเลือดมาวิเคราะห์เพื่อใช้ประมาณระยะเวลาการเกิด

เหตุ และประมาณอายุของคราบเลือด โดยใช้ส่วนประกอบต่างๆของเลือดที่มีอยู่ในคราบเลือด และวิธีการวิเคราะห์ที่แตกต่างกันออกไป ซึ่งมีอยู่ด้วยกันหลายวิธี อาทิเช่น งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการหาปริมาณของฮีโม (Heme) ที่สลายตัวในคราบเลือดเพื่อนำมาประมาณอายุของคราบเลือด โดยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ซึ่งเป็นเทคนิคที่สามารถตรวจวัดได้ทั้งเชิงคุณภาพและปริมาณของส่วนประกอบในสารประกอบชนิดต่างๆ งานวิจัยที่ศึกษาปริมาณของ Oxyhemoglobin ในคราบเลือดโดยเทคนิค Oxygen electrodes [2] งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการสลายตัวของ Hemoglobin ในคราบเลือดโดยอาศัยการเปลี่ยนแปลง Spin state ของ Fe^{3+} ในโมเลกุลของ Hemoglobin โดยเทคนิค Electron Paramagnetic Resonance [3] งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับความยืดหยุ่นของพื้นผิวเม็ดเลือดแดงในคราบเลือด เพื่อประมาณอายุของคราบเลือดโดยเทคนิค Atomic Force Microscopy [4] และการใช้เทคนิค Reflectance Spectroscopy ซึ่งเป็นการวัดปริมาณสีของคราบเลือดที่เปลี่ยนแปลงไปตามระยะเวลาเพื่อทำการประมาณอายุของคราบเลือดดังกล่าวโดยวิธีการทาง Optical Spectroscopy [2]

นอกจากนี้ ยังมีงานวิจัยอื่นๆ ที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับการประมาณอายุของคราบเลือด โดยใช้ส่วนประกอบอื่นๆ ของคราบเลือด ได้แก่ งานวิจัยที่ทำการวิเคราะห์หาปริมาณ RNA ที่มีสลายตัวออกมาจากเม็ดเลือดขาวที่อยู่ในคราบเลือด โดยใช้เทคนิค Real-time PCR เพื่อประมาณอายุของคราบเลือด [5] และงานวิจัยที่ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการใช้ DNA ที่อยู่ในนิวเคลียสของเซลล์เม็ดเลือดขาวเพื่อประมาณอายุของคราบเลือด [6] เนื่องจากมีงานวิจัยที่พบว่า RNA ในนิวเคลียสของเซลล์เม็ดเลือดขาวจะมีการสลายตัวอย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับ DNA ที่มีความเสถียรมากกว่า [5]

จากงานวิจัยที่ได้กล่าวในข้างต้น อาจมีบางวิธีที่มีค่าใช้จ่ายสูง ใช้เวลานานในการวิเคราะห์ และไม่สามารถนำไปใช้ได้ทันทีที่เกิดเหตุ ดังนั้น ในส่วนของงานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาการประมาณอายุคราบเลือดโดยการหยดเลือดลงบนผ้าฝ้าย เพื่อศึกษาคราบเลือดด้วยวิธีวิเคราะห์ภาพ จากการอ่านค่าสี RGB ในระยะเวลาต่างๆภายหลังการหยดเลือด และนำมาสร้างสมการความสัมพันธ์ระหว่างค่าสีที่วัดได้เทียบกับระยะเวลาในช่วงต่างๆ เพื่อใช้ในการทำนายอายุคราบเลือด ซึ่งถือว่าเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็วในการวิเคราะห์ และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในที่เกิดเหตุได้ นอกจากนี้ยังเป็นการเปรียบเทียบว่าเทคนิคดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการประมาณอายุของคราบเลือดเช่นเดียวกับงานวิจัยที่ได้กล่าวไว้ในข้างต้นหรือไม่

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาการประเมินอายุของคราบเลือดบนผ้าฝ้าย โดยใช้วิธีวิเคราะห์ภาพ (Image analysis)

สมมติฐานของการวิจัย

ความสัมพันธ์ระหว่างค่าสีของคราบเลือดที่วัดได้จริงกับระยะเวลาภายหลังการหยดเลือดมีความแปรผันตรงกัน สามารถนำมาใช้ในการทำนายอายุของคราบเลือดได้

ขอบเขตของการวิจัย

1. ตัวอย่างเลือดที่ใช้ในการวิจัย มาจากอาสาสมัครชายและหญิงที่มีสุขภาพแข็งแรง และเก็บตัวอย่างเลือดที่ได้ในหลอดเลือดชนิดที่ไม่มีสารกันเลือดแข็ง (Clotted blood)
2. พื้นผิวที่ใช้ในการหยดเลือด จะเป็นผ้าฝ้ายสีขาวที่ผ่านการซักแล้วจำนวน 10 ครั้ง ตัดเป็นขนาด 3×15 นิ้วเท่ากันทุกผืน
3. ในการศึกษาการทำนายอายุคราบเลือดแต่ละตัวอย่าง มีระยะเวลาเท่ากับ 48 ชั่วโมง

ข้อจำกัดของการวิจัย

1. ค่าระดับ Hemoglobin ในอาสาสมัครแต่ละคนอาจไม่เท่ากัน ซึ่งส่งผลต่อความเข้มของสีคราบเลือดได้ โดยค่าปกติในเพศชายจะอยู่ที่ 14-18 g/dl ในเพศหญิงจะอยู่ที่ 12-16 g/dl เมื่อนำคราบเลือดในแต่ละตัวอย่างไปทำการอ่านค่าสีอาจทำให้ค่าสีที่ได้มีค่าที่แตกต่างกัน และทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนในการหาสมการเพื่อทำนายอายุของคราบเลือดได้
2. ความเร็วชัตเตอร์ (Speed shutter) ในการถ่ายภาพ เนื่องจากใช้โหมดอัตโนมัติ (Automatic mode) ในการถ่ายภาพ ซึ่งไม่สามารถควบคุมความเร็วชัตเตอร์ได้ อาจส่งผลต่อความสว่างของภาพในแต่ละครั้งที่ทำการถ่ายภาพ

นิยามศัพท์เฉพาะ

Hemoglobin หมายถึง สารสีแดงที่มีส่วนประกอบของโกลบิน (Globin) และฮีม (Heme) และเป็นส่วนประกอบสำคัญของเม็ดเลือดแดง ทำหน้าที่ในการลำเลียงออกซิเจนจากปอดไปสู่ส่วนต่างๆของร่างกาย

Image analysis หมายถึง การใช้รูปภาพช่วยในการวิเคราะห์ต่างๆ เช่น การวัดค่าสีจากภาพคราบเลือด การวิเคราะห์เอกลักษณ์บุคคล การตรวจสอบหาข้อผิดพลาดของชิ้นงาน เป็นต้น

RGB หมายถึง ระบบสีของแสง โดยเกิดจากการหักเหของแสงกลายเป็นสีรุ้ง ซึ่งเป็นช่วงแสงที่ตาของคนเราสามารถมองเห็นได้

ประโยชน์ที่ได้รับ

1. สามารถทำนายอายุของคราบเลือดที่พบในที่เกิดเหตุได้ โดยใช้สมการความสัมพันธ์ที่ได้จากการอ่านค่าสีของคราบเลือดเทียบกับอายุของคราบเลือด
2. การใช้วิธีวิเคราะห์ภาพเพื่อทำนายอายุคราบเลือดเป็นวิธีที่วิเคราะห์ได้ง่าย และสะดวก สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการทำนายอายุของคราบเลือดที่พบในที่เกิดเหตุได้



บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

เลือดและส่วนประกอบของเลือด

เลือด เป็นพยานหลักฐานที่สามารถพบได้บ่อยในสถานที่เกิดเหตุ เช่น ในกรณีของการฆาตกรรม หรือการฆ่าตัวตาย และสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างหลากหลาย ไม่ว่าจะเป็นการทำ DNA Profiling เพื่อสืบหาตัวบุคคล หรือการย้อนลำดับเหตุการณ์ด้วยการวิเคราะห์รูปแบบของหยดเลือด (Blood pattern analysis) [7]

โดยเลือดจะประกอบไปด้วย 2 องค์ประกอบหลัก ได้แก่

1. น้ำเหลือง (Plasma) ประมาณ 55% ประกอบด้วย ส่วนที่เป็นน้ำ 93% และส่วนที่เป็นสารชีวโมเลกุล ได้แก่ โปรตีน และแร่ธาตุต่างๆ อีก 7%

2. เซลล์เม็ดเลือด (Blood cells) ประมาณ 45% ประกอบด้วย เม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว และเกร็ดเลือด

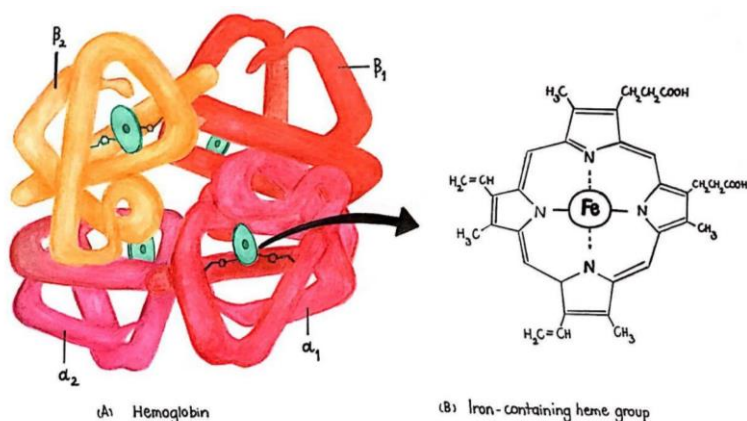
2.1 เม็ดเลือดแดง เป็นเซลล์เม็ดเลือดที่ไม่มีนิวเคลียส ลักษณะกลม มีรอยคอดตรงกลาง (Biconcave) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 7.5 ไมครอน โดยหน้าที่สำคัญของเม็ดเลือดแดง คือ การแลกเปลี่ยนก๊าซ โดยการนำออกซิเจนจากปอดไปสู่เนื้อเยื่อต่างๆของร่างกาย และนำคาร์บอนไดออกไซด์จากเนื้อเยื่อต่างๆกลับเข้าสู่ปอดเพื่อทำการกำจัดออกนอกร่างกาย ในเม็ดเลือดแดง มีส่วนประกอบสำคัญ คือ Hemoglobin ซึ่งเป็นสารสีแดง โดย Hemoglobin จะมีหมู่ฮีม (Heme) ที่มีธาตุเหล็กเป็นองค์ประกอบ [8]

2.2 เม็ดเลือดขาว เป็นเซลล์ที่มีนิวเคลียส ลักษณะกลม มีปริมาณน้อยกว่าเม็ดเลือดแดง มีหน้าที่สำคัญในการกำจัดเชื้อโรค และสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย โดยเม็ดเลือดขาวจะแบ่งออกเป็น 5 ชนิด ได้แก่ เม็ดเลือดขาวชนิด Neutrophil, Lymphocyte, Monocyte, Eosinophil และ Basophil

2.3 เกร็ดเลือด เป็นเศษชิ้นส่วนเซลล์ที่มีความสำคัญในกระบวนการห้ามเลือด และการแข็งตัวของเลือด โดยในคนปกติจะมีค่าปกติของปริมาณเกร็ดเลือดอยู่ที่ 150,000 ถึง 400,000 เซลล์/ลูกบาศก์มิลลิเมตร

Hemoglobin

Hemoglobin คือ สารสีแดงที่เป็นส่วนประกอบสำคัญของเม็ดเลือดแดง มีความสามารถในการจับและปล่อยก๊าซออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ได้ ซึ่ง Hemoglobin 1 โมเลกุล จะประกอบด้วยหน่วยย่อย 4 หน่วย จึงเรียกว่า Tetramer และเรียกในแต่ละหน่วยย่อยว่า Monomer ซึ่งแต่ละหน่วยย่อยของ Hemoglobin จะประกอบไปด้วย Polypeptide 1 สายที่มีโมเลกุลของฮีมีที่มีธาตุเหล็ก 1 โมเลกุล ดังภาพต่อไปนี้



ภาพที่ 1 ลักษณะของ Hemoglobin และ โมเลกุลของธาตุเหล็กที่แทรกอยู่ตรงกลางของฮีมี
ดัดแปลงจาก *Hemoglobin and Iron Metabolism*. 2017 [cited 2017 05/28]; 1:[Available from
http://www.apsubiology.org/anatomy/2020/2020_Exam_Reviews.

โดย Hemoglobin ประกอบด้วย องค์ประกอบหลัก 2 ชนิด ได้แก่

1. โกลบิน (Globin) เป็นสายของกรดอะมิโนที่เรียงตัวกันเป็น Polypeptide โดยสายของโกลบินจะมี 4 สาย และ 1 สายจะมี 1 ฮีม ใน 1 ฮีม จะมีเหล็ก 1 โมเลกุล และเหล็ก 1 โมเลกุลจะจับกับออกซิเจน 1 โมเลกุล ซึ่งโกลบินในมนุษย์จะมีอยู่ด้วยกัน 6 ชนิด ได้แก่

- 1.1 แอลฟา (Alpha : α)
- 1.2 เบต้า (Beta : β)
- 1.3 แกมมา (Gamma : γ)
- 1.4 เดลต้า (Delta : δ)
- 1.5 อีปซิลอน (Epsilon : ϵ)
- 1.6 ซีต้า (Zeta : ζ)

ซึ่งการสร้างโกลบินในเซลล์จะต้องมีการประสานงานกับการสร้างฮีม เพราะหากเซลล์ที่สร้างโกลบินน้อย ก็จะต้องลดการสร้าง Protoporphyrin ด้วย และหากเซลล์สร้าง Protoporphyrin ได้น้อย ก็จะต้องลดการสร้าง Hemoglobin ให้น้อยลง ในสัดส่วนที่เหมาะสมเพื่อจะทำการรวมกันเป็นโมเลกุลของ Hemoglobin

2. ฮีม (Heme) เป็นหมู่ Prostatic group มีโครงสร้างทางเคมีเป็น Porphyrin ring โดยมีโมเลกุลของธาตุเหล็กแทรกอยู่ตรงกลาง ซึ่งธาตุเหล็กอาจอยู่ในรูปของ Fe^{2+} (Ferrous heme) หรืออาจอยู่ในรูปของการเป็นส่วนประกอบ Fe^{3+} (Ferric heme) เซลล์เกือบทุกเซลล์ภายในร่างกายสามารถสร้างฮีมได้ เว้นแต่เม็ดเลือดแดงตัวเต็มวัย (Matured red blood cell) และเซลล์ที่สามารถสร้างฮีมได้มากที่สุด คือ เม็ดเลือดแดงตัวอ่อนที่อยู่ในไขกระดูกแดง (Red bone marrow) และเซลล์ตับ โดยฮีมที่ถูกสร้างในเม็ดเลือดแดงตัวอ่อน จะมีองค์ประกอบทางเคมีเช่นเดียวกับ Cytochrome ที่เป็นส่วนประกอบของ Myoglobin

การสังเคราะห์ Hemoglobin จะเป็นการประสานงานกันระหว่างการสร้างฮีมและการสร้างโกลบิน โดยฮีมจะอยู่ในก้อนโกลบิน ซึ่งจะทำหน้าที่ไม่ให้ฮีมถูกทำลาย โดยการสร้าง Hemoglobin จะมีการเปลี่ยนแปลงไปตามวิวัฒนาการของการเจริญเติบโตของมนุษย์ ตั้งแต่เริ่มปฏิสนธิ ไปจนถึงระยะเวลาหลังคลอดและเติบโตขึ้นเป็นผู้ใหญ่

ความผันแปรของ Hemoglobin

สิ่งที่ส่งผลต่อการแสดงออกของ Hemoglobin ที่เปลี่ยนแปลงไปจากสภาวะปกติ แบ่งออกได้เป็น 3 ประเภท ได้แก่

1. การเปลี่ยนแปลงของ Hemoglobin ตามธรรมชาติ (Normal variations) ซึ่งไม่ได้เกิดจากพยาธิสภาพ แต่เป็นการเปลี่ยนแปลงไปตามอายุ ตั้งแต่เริ่มมีการปฏิสนธิจนกระทั่งเข้าสู่วัยผู้ใหญ่

2. การกลายพันธุ์ของ Hemoglobin จากการมีพยาธิสภาพ (Hemoglobinopathies) แบ่งเป็น 2 ประเภท

2.1 ความผิดปกติในเชิงคุณภาพ คือ ความผิดปกติที่เกิดขึ้นจากโครงสร้างของ Hemoglobin ทำให้คุณสมบัติของ Hemoglobin เปลี่ยนแปลงไป

2.2 ความผิดปกติในเชิงปริมาณ คือ ความผิดปกติในกระบวนการสร้าง Hemoglobin ทำให้มีการสร้างโกลบินสายใดสายหนึ่งผิดปกติไป ซึ่งจะเรียกความผิดปกตินี้ว่า ธาลัสซีเมีย (Thalassemia)

3. Hemoglobin ที่ผิดปกติ เนื่องจากถูกออกซิไดส์หรือจับกับสารพิษ ได้แก่

3.1 Methemoglobin

3.2 Carboxyhemoglobin

3.3 Sulphemoglobin

ความผิดปกติของ Hemoglobin เนื่องจากการถูกออกซิไดส์

1. Carboxyhemoglobin

Hemoglobin สามารถจับกับ Carbonmonoxide ได้ในสัดส่วนที่เท่ากับออกซิเจน แต่ความสามารถในการจับ Carbonmonoxide จะมีมากกว่าออกซิเจนถึง 210 เท่า และถึงแม้ว่า Carbonmonoxide ในสภาพแวดล้อมจะมีเพียงเล็กน้อย แต่ก็จะมีโอกาสจับกับ Hemoglobin ได้มากกว่า และ Carboxyhemoglobin จะไม่สามารถจับกับออกซิเจนได้อีก โดยทั่วไปจะมี Carboxyhemoglobin เกิดขึ้นในร่างกายคนปกติประมาณ 0.5% แต่จะเพิ่มปริมาณมากขึ้นในผู้ที่สูบบุหรี่ ผู้ที่ได้รับมลภาวะเป็นประจำ และผู้ที่มีการแตกของเม็ดเลือดแดง (Hemolytic anemia)

2. Sulphemoglobin

เป็น Hemoglobin ที่มีความผิดปกติ เนื่องจากมีกำมะถันอยู่ในโมเลกุลด้วย โดยเมื่อทดลองให้ Hemoglobin มีการทำปฏิกิริยากับ Hydrogen sulfide และออกซิเจน พบว่า Hemoglobin จะเปลี่ยนเป็นสีเขียว เรียกว่า Sulphemoglobin ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงของ Hemoglobin อย่างถาวร ในคนปกติจะพบ Sulphemoglobin ได้ไม่เกิน 1% แต่จะสูงขึ้นเมื่อได้รับยาหรือสารเคมีที่ผลิตอนุมูลอิสระ (Oxidizing drug) เช่น Phenacetin และ Sulfonamide หากระดับของ Sulphemoglobin สูงขึ้น

จะทำให้มีอาการตัวเขียว เนื่องจาก Sulfhemoglobin ไม่สามารถนำออกซิเจนไปเลี้ยงเนื้อเยื่อในส่วนต่างๆของร่างกายได้ และนอกจากนี้ Sulfhemoglobin สามารถจับกับ Carbonmonoxide ได้เป็น Carboxysulfhemoglobin

3. Methemoglobin

เป็น Hemoglobin ที่ธาตุเหล็กถูกออกซิไดส์อยู่ในรูปของ Ferric (Fe^{3+}) ซึ่งจะมีความสามารถจับกับออกซิเจนได้ โดย Methemoglobin จะเกิดได้จาก 2 สาเหตุด้วยกัน ได้แก่

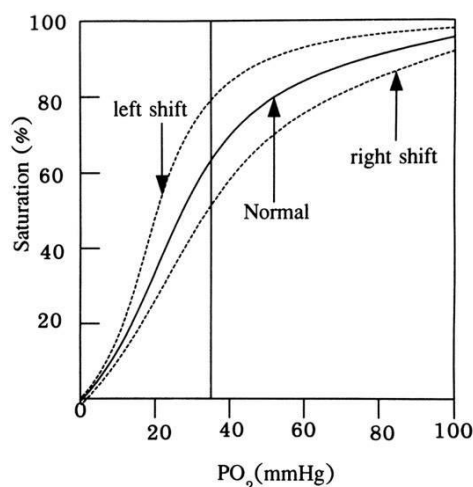
3.1 ความผิดปกติในกระบวนการเมตาบอลิซึมในเม็ดเลือดแดง

3.2 ความผิดปกติทางพันธุกรรมในการสร้าง Hemoglobin ทำให้ถูกออกซิไดส์ได้ง่าย และจะไม่สามารถเปลี่ยนกลับไปเป็น Reduced hemoglobin ได้

การจับและปล่อยออกซิเจนของ Hemoglobin (Oxygen dissociation)

จากข้างต้นที่ได้กล่าวถึงความสำคัญของเม็ดเลือดแดงไปแล้วว่า มีหน้าที่ในการนำออกซิเจนไปเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนต่างๆของร่างกาย และนำก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากเนื้อเยื่อกลับเข้าสู่ปอดเพื่อทำการกำจัดออกนอกร่างกาย ดังนั้น Hemoglobin จึงต้องทำการจับและปล่อยก๊าซออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ได้ในขณะที่มีการแลกเปลี่ยนก๊าซ

โดยปกติ Hemoglobin จะมีโครงสร้างที่สามารถปรับตัวได้เมื่อจับและปล่อยออกซิเจน โดยการปรับโครงสร้างแต่ละครั้ง จะส่งผลต่อความหนาแน่นในการจับกับออกซิเจน (Oxygen affinity) ถ้าหากวัดความอึดตัวของ Hemoglobin ในการจับกับออกซิเจน ขณะที่ออกซิเจนอยู่ในระดับความดันต่างๆกัน แล้วทำการสร้างกราฟ จะได้กราฟที่เรียกว่า Oxyhemoglobin dissociation curve ดังภาพต่อไปนี้



ภาพที่ 2 กราฟ Oxyhemoglobin dissociation curve ระหว่าง % ความอิ่มตัวของ Hemoglobin ในการจับกับออกซิเจนเทียบกับออกซิเจนที่ระดับความดันต่างๆ
 ที่มา อีฐรัตน์, ว.อ., *โลหิตวิทยาทันสมัย (Modern Hematology)*, 1 ed, 2545, กรุงเทพมหานคร: เรือนแก้วการพิมพ์. 529.

จากกราฟ จะสามารถนำลักษณะของเส้นกราฟที่ได้ไปใช้ในการวินิจฉัยความผิดปกติของ Hemoglobin ได้ว่ามีผลต่อการขนส่งออกซิเจนหรือไม่ เนื่องจากออกซิเจนเป็นก๊าซ จึงวัดระดับของปริมาณที่มีอยู่ในค่าของความดัน (Partial pressure) เช่น ความดันที่ P_{50} หมายถึง ความดันของออกซิเจนที่จับกับ Hemoglobin แล้วทำให้ Hemoglobin มีความอิ่มตัว 50% ซึ่งหมายถึง ภาวะที่เม็ดเลือดแดงมีความเข้มข้นของ Oxyhemoglobin เท่ากับ Deoxyhemoglobin แต่หาก Hemoglobin จับกับออกซิเจนแน่นกว่าปกติ จะเห็นกราฟ Oxyhemoglobin dissociation curve เบ้ไปทางซ้าย (Left shift) หมายถึง การที่ Hemoglobin ไม่ปล่อยออกซิเจนไปสู่เนื้อเยื่อต่างๆ ทำให้มีภาวะคล้ายกับการขาดออกซิเจน (Hypoxia) ในทางตรงกันข้าม หาก Hemoglobin จับกับออกซิเจนได้ไม่แน่นเท่าปกติ ทำให้ออกซิเจนหลุดออกจาก Hemoglobin ได้ง่าย จะเห็นกราฟ Oxyhemoglobin dissociation curve เบ้ไปทางขวา (Right shift) ซึ่งสาเหตุที่ทำให้เกิดการเบี่ยงเบนของกราฟ Oxyhemoglobin dissociation curve ได้แก่

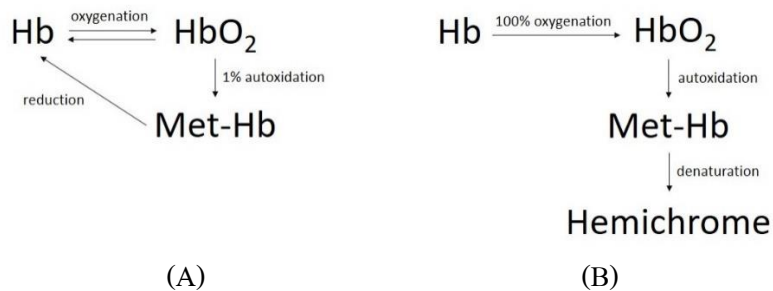
1. Hemoglobin F ในทารกที่มีปริมาณมากกว่าผู้ใหญ่ จะจับกับออกซิเจนได้แน่นกว่า Hemoglobin A ทำให้มีออกซิเจนอยู่ในเส้นเลือดของรกได้นานขึ้น ดังนั้นกราฟ Oxyhemoglobin dissociation curve ของเม็ดเลือดแดงทารกแรกคลอดจึงเบ้ไปทางซ้าย

2. ความผิดปกติของ Hemoglobin ที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนในโกลบินบางชนิด ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อความหนาแน่นในการจับและปล่อยออกซิเจนของ Hemoglobin ด้วย

3. ความผิดปกติที่ทำให้ฮีมในโมเลกุลของ Hemoglobin ถูกออกซิไดส์ ซึ่ง Hemoglobin จะถูกเปลี่ยนเป็น Methemoglobin ที่จับกับออกซิเจนได้แน่นกว่า Hemoglobin ปกติ [8]

Hemoglobin reaction kinetics

Hemoglobin สามารถปรากฏได้ในหลากหลายรูปแบบ ซึ่งจะเรียกว่า Hemoglobin derivatives และนอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงระหว่าง Hemoglobin derivatives ทั้งภายในและภายนอกร่างกายยังมีความแตกต่างกัน ซึ่ง Hemoglobin จะประกอบไปด้วย 2 รูปแบบหลัก คือ Hemoglobin แบบที่ไม่จับกับออกซิเจน เรียกว่า Deoxyhemoglobin และ Hemoglobin ที่จับกับออกซิเจน เรียกว่า Oxyhemoglobin โดยค่าเฉลี่ยของความอิ่มตัวของระดับออกซิเจนภายในหลอดเลือดแดงมีมากกว่า 90% และในหลอดเลือดดำจะมีมากกว่า 70% ซึ่งจะมีเพียงส่วนน้อย ประมาณ 1% ของ Oxyhemoglobin เท่านั้นที่จะเกิด Autoxidized เป็น Methemoglobin [1] ซึ่งจะถูกรีดิวซ์กลับไปเป็น Hemoglobin โดย Reductase protein cytochrome b5 [9] ในสภาวะภายนอกร่างกาย Hemoglobin จะอยู่ในรูปของ Oxyhemoglobin ทั้งนี้ที่เลือดได้สัมผัสกับก๊าซออกซิเจนในบรรยากาศ อย่างไรก็ตาม การลดลงของประสิทธิภาพของ Cytochrome b5 ซึ่งมีความจำเป็นต่อกระบวนการรีดักชันของ Methemoglobin การเปลี่ยนจาก Oxyhemoglobin ไปเป็น Methemoglobin จึงไม่สามารถทำได้ และเมื่อ Hemoglobin ได้มีการ Autoxidized ไปเป็น Methemoglobin จะสลายตัวเป็น Hemichrome ซึ่ง Hemichrome จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างโปรตีน ดังนั้น อะตอมภายในโปรตีนจะจับกับธาตุเหล็กที่บริเวณแกนที่ 6 (sixth ligand) ของโมเลกุล ซึ่งสามารถแสดงเป็นแผนภาพโดยย่อได้ดังนี้

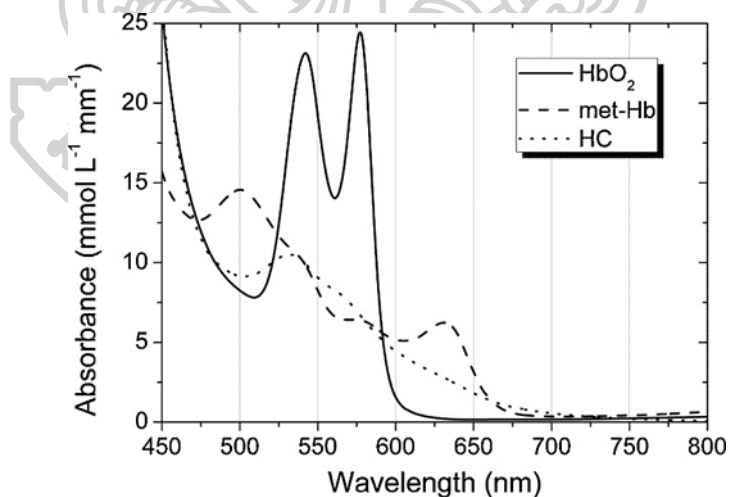


ภาพที่ 3 (A) Hemoglobin reaction kinetics ภายในร่างกาย

(B) Hemoglobin reaction kinetics ของคราบเลือด

คัดแปลจาก Bremmer, R.H., et al., *Age estimation of blood stains by hemoglobin derivative determination using Reflectance Spectroscopy*. Forensic Science International, 2011. 206(1): p. 166-171.

จากภาพแสดงให้เห็นถึงภาพรวมของกลไกปฏิกิริยาของ Hemoglobin ทั้งภายในร่างกายและภายนอกในร่างกาย เนื่องจากการดูดกลืนแสงสเปกตรัมของ Oxyhemoglobin, Methemoglobin และ Hemichrome มีความแตกต่างกันออกไป ดังภาพกราฟเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับความยาวคลื่น ต่อไปนี้



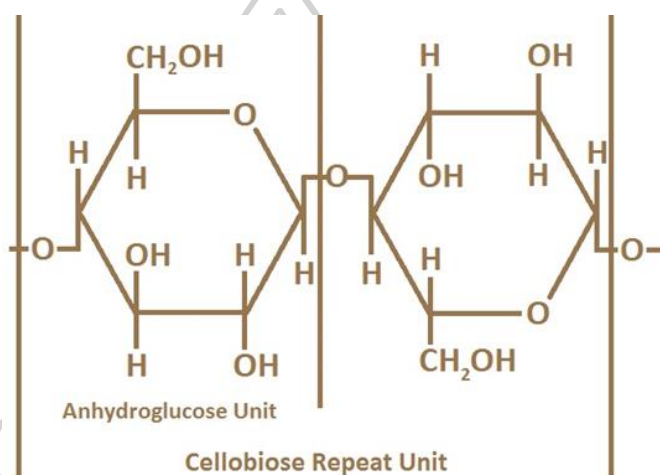
ภาพที่ 4 กราฟเปรียบเทียบระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของ Oxyhemoglobin, Methemoglobin และ Hemichrome เทียบกับความยาวคลื่น (นาโนเมตร)

ที่มา Bremmer, R.H., et al., *Age estimation of blood stains by hemoglobin derivative determination using Reflectance Spectroscopy*. Forensic Science International, 2011. 206(1): p. 166-171.

จากกราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงของ Oxyhemoglobin, Methemoglobin และ Hemichrome เป็นส่วนสำคัญที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีของคราบเลือดจากสีแดงเป็นสีน้ำตาลได้

ผ้าฝ้าย และคุณลักษณะของผ้าฝ้าย

ผ้าฝ้ายประกอบด้วย Cellulose ประมาณ 99% โดย Cellulose จะเป็นโมเลกุลขนาดใหญ่ ซึ่งเป็นโพลิเมอร์สายยาวที่เกิดจากการเชื่อมต่อกันของโมเลกุลของกลูโคส ดังภาพต่อไปนี้



ภาพที่ 5 ภาพโครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส

ดัดแปลงจาก *Cotton Morphology and Chemistry*. 2017 [cited 2017 06/01]; 1:[Available from: <http://www.cottoninc.com/product/NonWovens/Nonwoven-Technical-Guide/Cotton-Morphology-And-Chemistry/index.cfm>].

โดยลักษณะโครงสร้างของเส้นใยฝ้าย จะประกอบไปด้วย

1. ชั้น Cuticle เป็นชั้นที่มีสารเคลือบอยู่นอกสุด ซึ่งจะมีส่วนประกอบของเพคติน (Pectin) และ โปรตีน ทำให้ผ้าฝ้ายมีความนุ่ม และมีสารเคลือบกันน้ำ เพื่อเป็นการป้องกันเส้นใย โดยชั้นนี้จะถูกชะล้างออกไปได้
2. ชั้น Primary wall เป็นชั้นที่ 2 ต่อจากชั้น Cuticle เป็นชั้นผนังเซลล์ที่มีความบาง และมีส่วนประกอบหลักเป็นเซลลูโลส ซึ่งจะมีการจัดเรียงเส้นใยที่เป็นระเบียบ และมีความละเอียด ทำให้ดูดซับน้ำได้ดีกว่าเส้นใยที่มีการจัดเรียงแบบหยาบ

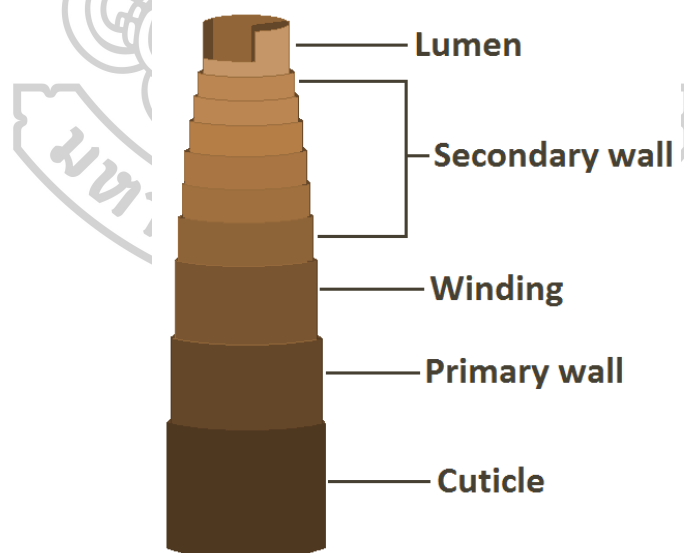
3. ชั้น Winding หรือชั้น S1 ซึ่งจะมีความแตกต่างในเชิงโครงสร้างเมื่อเทียบกับชั้น Primary wall ประกอบไปด้วยไฟบริล (Fibril) ที่จัดเรียงอยู่ในแนวเดียวกัน ทำมุม 40-70 องศาจากแกนกลาง

4. ชั้น Secondary wall หรือชั้น S2 ประกอบด้วยชั้นของเซลลูโลสที่มีความหนาแน่นเป็นส่วนประกอบหลักของเส้นใย ซึ่งหลังจากที่เส้นใยมีการขยายไปจนสุดขอบเขตแล้วนั้น จะมีการสร้างชั้นใหม่ของเซลลูโลสขึ้นภายในชั้น Secondary wall นี้ โดยเส้นใยของชั้นนี้จะเรียงตัวกันไปมาทำมุมประมาณ 70-80 องศาจากแกนกลางของเส้นใย จึงทำให้เส้นใยเหล่านั้นเรียงตัวกันอย่างแน่นหนา และมีรูพรุนขนาดเล็ก

5. ชั้น Lumen wall หรือชั้น S3 จะเป็นชั้นที่แยกระหว่างชั้น Secondary wall กับชั้น Lumen และมีความทนทานต่อสารที่ใช้เป็นตัวทำปฏิกิริยาต่างๆมากกว่าชั้น Secondary wall

6. ชั้น Lumen เป็นชั้นที่มีความกลวงตลอดแนวของเส้นใย และเป็นที่อยู่ของ Protoplast ในระหว่างระยะที่มีการเจริญเติบโต เมื่อเส้นใยมีการเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว และส่วนของเมล็ดฝ้ายเปิดออก Protoplast จะแห้งไปในที่สุด และชั้น Lumen จะสลายไปเหลือแต่เพียงรูกลวงตรงกลางในแต่ละเส้นใย

โดยส่วนประกอบของแต่ละชั้นของเส้นใยฝ้ายจะแสดงดังภาพต่อไปนี้



ภาพที่ 6 โครงสร้างของเส้นใยฝ้าย

คัดแปลงจาก *Cotton Morphology and Chemistry*. 2017 [cited 2017 06/01]; 1:[Available from:

<http://www.cottoninc.com/product/NonWovens/Nonwoven-Technical-Guide/Cotton-Morphology-And-Chemistry/index.cfm>.

ในแต่ละโครงสร้างของเส้นใยจะมีความหลากหลายของขนาดรูพรุนที่แตกต่างกันออกไป ซึ่งเส้นใยฝ้ายจะมีขนาดรูพรุนที่เล็กมาก ด้วยเหตุนี้ จึงทำให้เส้นใยฝ้ายมีคุณสมบัติในการดูดซับน้ำได้เป็นอย่างดี [10]

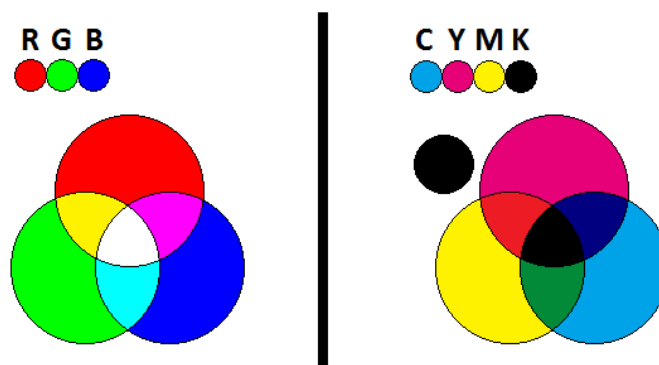
วิธีการถ่ายภาพ

การถ่ายภาพสถานที่เกิดเหตุ จะประกอบไปด้วย การถ่ายภาพระยะใกล้ คือต้องการรายละเอียดของภาพสูง ต้องมีสเกลวางเทียบเพื่อให้ทราบขนาดที่แน่ชัด เช่น การถ่ายภาพกระสุนปืน การถ่ายภาพทราบเลือด เป็นต้น การถ่ายภาพระยะกลาง จะให้รายละเอียดของภาพที่มากกว่าการถ่ายภาพระยะใกล้ เช่น การกระจายตัวของเลือด ส่วนการถ่ายภาพระยะไกล จะเป็นภาพมุมกว้าง ต้องการเก็บรายละเอียดทุกอย่างภายในที่เกิดเหตุ มักเป็นการถ่ายภาพรวมของสถานที่เกิดเหตุ ซึ่งการถ่ายภาพควรครอบคลุมสภาพหรือเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นในสถานที่เกิดเหตุ โดยเฉพาะวัตถุพยานที่พบ และจะต้องถ่ายภาพที่เกี่ยวข้องกับสถานที่เกิดเหตุตามหลักการและขั้นตอนที่ถูกต้อง ตั้งแต่สภาพโดยรอบสถานที่เกิดเหตุ สิ่งที่เกี่ยวข้องกับสถานที่เกิดเหตุ เส้นทางเข้า-ออกของคนร้าย ผู้เสียชีวิต รอยบาดแผล อาวุธหรือสิ่งของที่นำไปสู่การหาตัวผู้กระทำความผิด

การประมวลผลภาพเบื้องต้น

การประมวลผลภาพ คือ การนำภาพมาทำการวิเคราะห์ผ่านโปรแกรมทางคอมพิวเตอร์ ซึ่งการประมวลผลภาพ มีอยู่ด้วยกันหลายวิธี เช่น การนำค่าสีแต่ละพิกเซลมาทำการคำนวณเป็นบริเวณหลายๆจุดรวมกัน เช่น การวิเคราะห์หัวดลาย และการวิเคราะห์รูปร่างของตัวสิ่งที่อยู่ในภาพที่นำมาวิเคราะห์ เป็นต้น โดยภาพที่นำมาวิเคราะห์อาจมาจากภาพถ่าย หรือภาพสแกน แล้วนำมาผ่านกระบวนการในการทำภาพ เพื่อให้ได้ภาพใหม่ที่ง่ายและเหมาะสมต่อการวิเคราะห์นั้นๆ

มาตรฐานของสีที่ใช้ในการประมวลผลของภาพที่นำมาวิเคราะห์ มีอยู่ด้วยกันหลายแบบ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับนำไปใช้ โดยปกติระบบสีที่มักใช้บ่อย ได้แก่ ระบบสี RGB และระบบสี CYMK โดยระบบสี RGB เป็นระบบสีที่เกิดจากการรวมกันของแม่สีหลัก 3 สี ได้แก่ สีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน โดยมีการรวมกันแบบ Additive หมายความว่า หากไม่มีสีใดในระบบสี จะทำให้มองเห็นได้เป็นสีดำ แต่หากมีสีครบทุกสี จะทำให้มองเห็นเป็นสีขาว ซึ่งตรงข้ามกับระบบสีแบบ CYMK ที่สีจะเกิดจากการสะท้อน ซึ่งทำให้เราเห็นเป็นสีของวัตถุนั้นๆ ดังภาพต่อไปนี้



ภาพที่ 7 ระบบสี RGB และระบบสี CMYK

คัดแปลงจาก *Impressão na gráfica | Entendendo RGB e CMYK*. 2014 [cited 2017 05/25];

1:[Available from <https://webprintsgrafica.wordpress.com/category/design/>].

นอกจากนี้ ระบบสี RGB ยังสามารถแบ่งมาตรฐานของสีที่ได้รับความนิยมในการใช้งาน ดังนี้

1. ระบบสี RGB_{CIE} เป็นระบบที่พัฒนาโดย Commission International de L' Eclairage (CIE) ซึ่งทำการอ้างอิงด้วยแสงสีแดงที่มีความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร แสงสีเขียวที่ 546.1 นาโนเมตร และแสงสีน้ำเงินที่ 435.8 นาโนเมตร

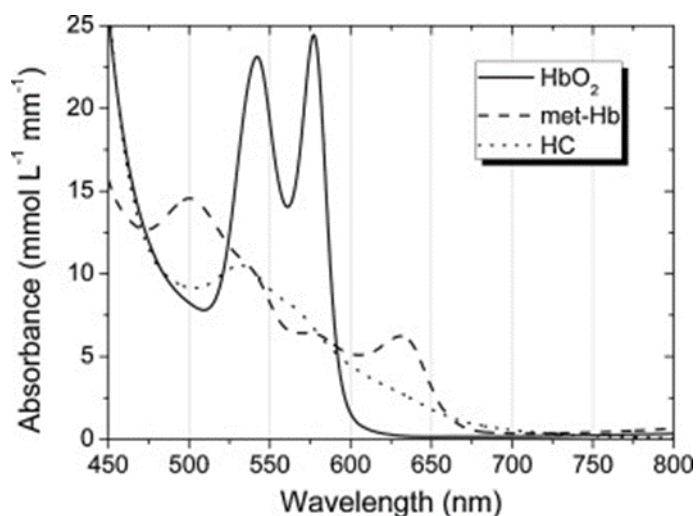
2. ระบบสี RGB_{NTSC} เป็นระบบที่พัฒนาโดย National Television System Committee (NTSC) ใช้สำหรับการแสดงภาพของหน้าจอแบบ CRT ซึ่งจะกำหนดเป็นมาตรฐานเดียวกันสำหรับผู้ผลิตหน้าจอ CRT [11]

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Phuvaldol Thanakiatkrai และคณะ [7] ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการประมาณอายุคราบเลือดโดยการถ่ายภาพ ซึ่งคราบเลือดจะถูกนำมาหยดลงบนพื้นผิวชนิดต่างๆ และถ่ายภาพด้วยกล้องโทรศัพท์ เพื่อนำภาพที่ได้มาอ่านค่าสี CMYK โดยจะทำการเปรียบเทียบกันระหว่างกล้องโทรศัพท์ทั้งสามยี่ห้อ ได้แก่ Samsung Galaxy S Plus, Apple iPhone 4 และ Apple iPad 2 และศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการประมาณอายุของคราบเลือด ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น แสงสว่าง และสารกันเลือดแข็ง จากการวิเคราะห์ค่าสีพบว่า สี Magenta มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาภายหลังการหยดเลือดมากที่สุด โดยค่า R^2 เท่ากับ 0.966 และภาพถ่ายคราบเลือดที่ได้จากโทรศัพท์ Samsung Galaxy

S plus จะมีแนวโน้มของการลดลงของค่าสีที่คงที่กว่าเมื่อระยะเวลาเพิ่มมากขึ้น เมื่อเทียบกับโทรศัพท์อีก 2 แบบ ในส่วนของปัจจัยด้านอุณหภูมิ พบว่ายิ่งอุณหภูมิสูงขึ้นจะยิ่งเพิ่มอัตราการสลายของฮีโมโกลบินมากขึ้น ทำให้การเปลี่ยนแปลงสีของคราบเลือดจะลดลงมากกว่า ซึ่งสอดคล้องกับปัจจัยทางด้านแสงสว่าง โดยพบว่าในที่มืดและภายใต้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์จะไม่พบความแตกต่างของการเปลี่ยนแปลงสีคราบเลือดที่ระยะเวลาต่างๆ แต่หากอยู่ในที่กลางแจ้ง จะพบว่าสีของคราบเลือดจะลดลงมากกว่า ซึ่งปัจจัยทางด้านแสงสว่างและอุณหภูมิจะแปรผกผันกับปัจจัยด้านความชื้น เพราะถ้าความชื้นยิ่งสูงอัตราการเปลี่ยนแปลงสีของคราบเลือดก็จะยิ่งช้าลง และส่วนปัจจัยด้านสารกันเลือดแข็ง พบว่าสารกันเลือดแข็งไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสีคราบเลือดแต่อย่างใด และเมื่อนำข้อมูลค่าสีจากคราบเลือดแต่ละตัวอย่างมาทำการศึกษาความถูกต้องของการทำนายอายุคราบเลือดโดยใช้การวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้น พบว่า เมื่อระยะเวลาของคราบเลือดเพิ่มมากขึ้น จะทำให้การทำนายอายุของคราบเลือดมีความแปรปรวนสูงขึ้น ซึ่งผู้วิจัยกล่าวว่า สามารถทำนายอายุคราบเลือดได้อย่างถูกต้องที่ระยะเวลามากกว่า 42 วันด้วยอัตราความผิดพลาด 12% และการใช้โทรศัพท์มือถือในการถ่ายภาพเพื่อนำมาทำนายอายุคราบเลือด ถือเป็นเทคนิคที่มีราคาถูกรวดเร็วใช้งานง่าย และสามารถพกพาได้สะดวกเมื่อเทียบกับเทคนิคการวิเคราะห์แบบอื่นๆ เช่น เทคนิค Spectroscopy หรือ เทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) เป็นต้น

Rolf H. Bremmer และคณะ [12] ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการประมาณอายุคราบเลือด โดยการวัดปริมาณ Hemoglobin derivative ด้วยเทคนิค Reflectance Spectroscopy บนผ้าฝ้ายสีขาว ซึ่งจะทำการวัด Oxyhemoglobin, Methemoglobin และ Hemichrome ในคราบเลือด และพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของ Spectrum เมื่อคราบเลือดมีระยะเวลาที่เปลี่ยนแปลงไป



ภาพที่ 8 การดูดกลืนแสงของ Hemoglobin derivative ทั้ง 3 ชนิดจากการวิเคราะห์คราบเลือดโดยใช้เทคนิค Reflectance Spectroscopy

ที่มา Bremmer, R.H., et al., *Age estimation of blood stains by hemoglobin derivative determination using Reflectance Spectroscopy*. Forensic Science International, 2011. 206(1): p. 166-171.

จากภาพจะเห็นได้ถึงการเปลี่ยนแปลงของ Hemoglobin derivative แต่ละชนิด ซึ่งการดูดกลืนแสงของ Oxyhemoglobin มีความแตกต่างกับ Methemoglobin และ Hemichrome อย่างเห็นได้ชัด จากการเปลี่ยนแปลงนี้เป็นอีกกระบวนการสำคัญที่ทำให้สีของคราบเลือดเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีน้ำตาล เมื่อวิเคราะห์คราบเลือดโดยใช้เทคนิค Reflectance Spectroscopy ในระยะเวลาต่างๆ ซึ่งจะสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงของ Spectrum โดยที่ความยาวคลื่นที่ 540 และ 576 นาโนเมตร และจะสูงขึ้นอย่างชัดเจนที่ความยาวคลื่น 600 และ 650 นาโนเมตร ซึ่งสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของ Oxyhemoglobin ดังภาพที่ 8 และจะเห็นได้ว่ายิ่งเวลาผ่านไปนาน Spectrum ในช่วงความยาวคลื่น 540 และ 576 นาโนเมตร จะค่อยๆหายไป และในช่วงความยาวคลื่น 600 และ 650 นาโนเมตรจะมีความชันน้อยลง ซึ่งเมื่อทำการสร้างกราฟระหว่าง Hemoglobin fraction ทั้ง 3 ชนิดเทียบกับระยะเวลา จะเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาผ่านไป Oxyhemoglobin จะลดลง ขณะที่ Hemichrome และ Methemoglobin จะเพิ่มขึ้น เมื่อนำมาสร้างกราฟเปรียบเทียบระหว่างระยะเวลาที่ทำนายได้กับระยะเวลาจริง จะพบว่า สามารถทำนายได้ใกล้เคียงกับระยะเวลาจริง เช่นคราบเลือดอายุ 3 วัน เมื่อทำนายจะอยู่ในช่วง 1.5 ถึง 6 วัน ที่ 12 วัน จะทำนายได้ในช่วง 6 ถึง 16 วัน และที่ 35

วัน จะทำนายได้ในช่วง 25 ถึง 55 วัน ซึ่งจะสังเกตว่า ยิ่งระยะเวลามากขึ้น ความผิดพลาดในการทำนายอายุของคราบเลือดจะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย

Gerda Edelman และคณะ [13] ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการประมาณอายุของคราบเลือดโดยเทคนิค Hyperspectral imaging โดยจะทำการบันทึกค่าของ Visible reflectance spectrum ของคราบเลือดด้วย Pushbroom hyperspectral imaging system ซึ่งการบันทึกผลที่แสดงเป็นกราฟระหว่างค่า Reflectance ที่วัดได้จากคราบเลือดเทียบกับความยาวคลื่น จะเรียกว่า Hypercube โดยสังเกตได้ว่า Hypercube ที่ได้จากเลือดที่ทำการหยดใหม่ กับคราบเลือดเก่า จะให้ค่า Reflectance ที่มีความแตกต่างกัน และเมื่อทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของ Hemoglobin fraction เป็นระยะเวลา 200 วัน พบว่า Oxyhemoglobin จะลดลงเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น ในขณะที่ Methemoglobin จะเพิ่มปริมาณขึ้นในช่วง 3 สัปดาห์แรกแล้วจึงลดลง ส่วน Hemichrome จะเพิ่มขึ้นตลอดเวลา ซึ่งจากการเปรียบเทียบระหว่าง Hemoglobin fraction กับค่าอ้างอิงของชุดข้อมูล มีการประมาณอายุคราบเลือดมากกว่า 200 วัน โดยค่าความผิดพลาดของการทำนายอายุคราบเลือดจะเพิ่มมากขึ้นเมื่ออายุของคราบเลือดมากขึ้น โดยมีค่าความคลาดเคลื่อนอยู่ที่ 13.4% ของระยะเวลาจริง

Gerda Edelman และคณะ [14] ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการใช้เทคนิค Near Infrared Spectroscopy เพื่อบ่งชี้และประมาณอายุของคราบเลือดบนผ้าฝ้ายสีต่างๆ รวมไปถึงการศึกษาความไวและความจำเพาะของการแยกระหว่างตัวอย่างที่เป็นคราบเลือดออกจากตัวอย่างที่ไม่ใช่คราบเลือด เมื่อนำผ้าฝ้ายสีต่างๆมาทำการวิเคราะห์การดูดกลืนแสง พบว่า ผ้าฝ้ายสีขาวจะไม่ดูดกลืนแสงสีใดๆที่ความยาวคลื่นในช่วงที่ตามองเห็น (Visible region) ส่วนผ้าฝ้ายสีอื่นๆจะมีการดูดกลืนที่ความยาวคลื่นต่างๆ แตกต่างกันไป และที่ความยาวคลื่นมากกว่า 1150 นาโนเมตร Spectrum ของสีต่างๆจะซ้อนทับกันเป็นส่วนใหญ่ เมื่อทำการประมาณอายุคราบเลือดบนผ้าฝ้ายสีต่างๆ โดยใช้ Partial Least Squares (PLS) model ซึ่งเป็น Absorbance spectrum ของคราบเลือดบนผ้าฝ้ายทุกสี และสร้างกราฟเปรียบเทียบระหว่างระยะเวลาที่ทำนายได้ของคราบเลือดเทียบกับระยะเวลาจริง พบว่า เมื่อระยะเวลาเพิ่มมากขึ้นค่าความคลาดเคลื่อนจะมากขึ้นตามไปด้วย และเป็นเช่นเดียวกันในผ้าฝ้ายทุกสีที่นำมาทำการทดลอง

สุภาพร บุตรเขียว และรัชดาภรณ์ เบญจวัฒนานนท์ [15] ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับสารละลายทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ NaCl 0.9 %, 0.1M Tris-HCl (pH 8), 0.1M Tris-EDTA (pH 8) และ Drabkin's reagent ว่าสารละลายชนิดใดมีความเหมาะสมในการละลายคราบเลือดเพื่อใช้ประมาณ

อายุคราบเลือด บนผ้า 2 ชนิด ได้แก่ ผ้าโพลีเอสเตอร์ และผ้าฝ้าย โดยการตรวจวัดด้วยเทคนิค UV-Vis spectrophotometry ที่ความยาวคลื่น 200-800 นาโนเมตร เพื่อศึกษา Blue spectral shift ของฟิคของฮีโมโกลบินที่อยู่ในคราบเลือด (ความยาวคลื่นสูงสุด เท่ากับ 412 นาโนเมตร) พบว่า Blue spectral shift ของฟิคฮีโมโกลบินของสารละลาย 3 ชนิด ได้แก่ NaCl 0.9%, 0.1M Tris-HCl (pH 8) และ 0.1M Tris-EDTA (pH 8) จะลดลงเมื่อระยะเวลาของคราบเลือดมากขึ้น ซึ่งสารละลาย NaCl 0.9% จะมีประสิทธิภาพในการละลายคราบเลือดเพื่อนำมาทำนายอายุของคราบเลือดมากที่สุด และสามารถประมาณอายุคราบเลือดได้ถึง 15 วันบนผ้าโพลีเอสเตอร์ และ 12 วันบนผ้าฝ้าย

สรารุช แหยมศิริ [16] ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการทำนายอายุของคราบเลือด ที่ได้จากการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธี KBr disc โดยหดยคเลือดลงบนกระจกสไลด์ และวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) ในช่วงเลขคลื่นที่ $4000-400\text{ cm}^{-1}$ โดยทำการวัดพื้นที่ใต้ฟิคที่ช่วงเลขคลื่น $3700-3000\text{ cm}^{-1}$ (A_{3300}) และคำนวณอัตราส่วนของพื้นที่ที่วัดได้กับพื้นที่ฟิคที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในระยะเวลาต่างๆ ที่ช่วงเลขคลื่น $770-730\text{ cm}^{-1}$ (A_{744}) แล้วนำอัตราส่วนของพื้นที่ฟิคระหว่าง A_{3300}/A_{744} มาสร้างกราฟเทียบกับระยะเวลาภายหลังการหดยคเลือด เพื่อนำมาหาสมการที่ใช้ในการแทนค่าเพื่อทำนายอายุคราบเลือด พบว่า อายุของคราบเลือดที่ทำนายได้จะมีค่าใกล้เคียงกับระยะเวลาจริง และเมื่อทำการสร้างกราฟหาความสัมพันธ์ระหว่างอายุของคราบเลือดที่ทำนายได้เทียบกับอายุจริงของคราบเลือด จะได้ค่า R^2 เท่ากับ 0.893 จากกราฟพบว่า อายุของคราบเลือดที่ทำนายได้แปรผันตรงกับอายุจริงของคราบเลือด

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยเชิงทดลอง เพื่อศึกษาการประมาณอายุคราบเลือด โดยสังเกตจากการเปลี่ยนแปลงสีของคราบเลือดบนผ้าซึ่งอาจเป็นพยานวัตถุที่สามารถพบได้ในที่เกิดเหตุ โดยจะทำการถ่ายภาพคราบเลือดบนผ้าฝ้ายสีขาวในช่วงเวลาต่างๆ และนำภาพถ่ายคราบเลือดที่ได้มาอ่านค่าสี RGB โดยใช้โปรแกรม MATLAB แล้วจึงนำมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าสีกับอายุของคราบเลือด และนำมาหาสมการความสัมพันธ์ เพื่อใช้ในการทำนายอายุของคราบเลือดที่ตรวจพบ




วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

ตารางที่ 1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองและแหล่งที่มา

อุปกรณ์	แหล่งที่มา
<p>ผ้าฝ้ายสีขาว</p> 	ร้านแอนแอน อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี
<p>กล่องกระดาษขนาด 60×60 เซนติเมตร</p> 	ร้าน ป.การ์เมนต์ อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี

อุปกรณ์	แหล่งที่มา
<p>คลิปหนีบกระดาษขนาดใหญ่</p> 	<p>ร้านยงฟ้า อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี</p>
<p>แท่นไม้สำหรับชิงช้า</p> 	<p>โรงไม้รุ่งชัยการช่าง อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี</p>
<p>กระบอกฉีดยา และเข็มฉีดยา</p> 	<p>TERUMO</p>
<p>หลอดเลือดชนิดไม่มีสารกันเลือดแข็ง ฝาสีแดง (Clotted blood)</p> 	<p>VACUETTE</p>

อุปกรณ์	แหล่งที่มา
Tourniquet, หมอนรองแขน 	บ้านโป่งแลป
70% Alcohol 	Alcohol LPSSOFF
สำลีก้อน 	สำลีก้อนตรารถพยาบาล
เทปแต่งแผลชนิดใส (Transpore) 	3M Nexcare
หลอดไฟ, สายไฟเชื่อมต่อ 	OPPLLE Fixed Luminaires

อุปกรณ์	แหล่งที่มา
<p>ถุงมือยาง</p> 	<p>Pro Gloves</p>
<p>Automatic pipette ขนาด 100 μl, Pipette tips</p> 	<p>Pipette BLUE</p>
<p>กล้องถ่ายรูป</p> 	<p>FUJI รุ่น XA-2 camera</p>

ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

ตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย

ตัวอย่างเลือดที่ใช้ ได้มาจากอาสาสมัครที่มีสุขภาพแข็งแรงจำนวน 18 คน โดยทำการเจาะเลือดอาสาสมัครประมาณ 2-3 ml ใส่ลงในหลอดบรรจุเลือดชนิดไม่มีสารกันเลือดแข็ง (Clotted blood) แบ่งเป็นเลือดที่ใช้ในการนำเลือดมาสร้างกราฟมาตรฐาน (Calibration curve) จำนวน 3 ตัวอย่าง และเลือดที่นำมาใช้ในการทดลองการทำนายอายุของคราบเลือด จำนวน 15 ตัวอย่าง

วิธีการทดลอง

1. นำกล่องลังขนาดประมาณ 60×60 เซนติเมตร เพื่อใช้ในการควบคุมปัจจัยต่างๆ ในการทดลอง มาทำการติดตั้งหลอดไฟเพื่อให้แสงสว่างขณะทำการถ่ายภาพหยดเลือด โดยเจาะช่องด้านบนกล่องเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาดประมาณ 6×6 เซนติเมตร ไว้เพื่อทำการถ่ายภาพหยดเลือดในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน ดังภาพที่ 9



(A)



(B)

ภาพที่ 9 (A) กล่องลังที่ทำการเจาะช่องสี่เหลี่ยมเตรียมไว้สำหรับถ่ายภาพหยดเลือด

(B) ลักษณะภายในกล่องลังที่ทำการติดตั้งหลอดไฟเพื่อให้แสงสว่างขณะถ่ายภาพ

2. เตรียมแท่นไม้ขนาด 35×60 เซนติเมตร ไว้สำหรับชิงผ้าเพื่อทำการหยดเลือด และเพื่อให้ง่ายต่อการถ่ายภาพหยดเลือดในช่วงเวลาต่างๆ

3. เตรียมผ้าที่จะนำมาทำการทดลอง โดยเลือกใช้ผ้าฝ้าย นำมาซักด้วยผงซักฟอกจำนวน 10 ครั้งเพื่อชะล้างสิ่งสกปรกที่อยู่บนพื้นผ้าออก และนำมาตัดแบ่งให้มีขนาด 3×15 เซนติเมตรเท่ากัน

4. นำผ้าที่ตัดเรียบร้อยแล้วมาขึงไว้บนแท่นไม้ให้ตึง โดยใช้คลิปหนีบกระดาษเป็นตัวยึดระหว่างแท่นไม้และผืนผ้า ดังภาพที่ 10

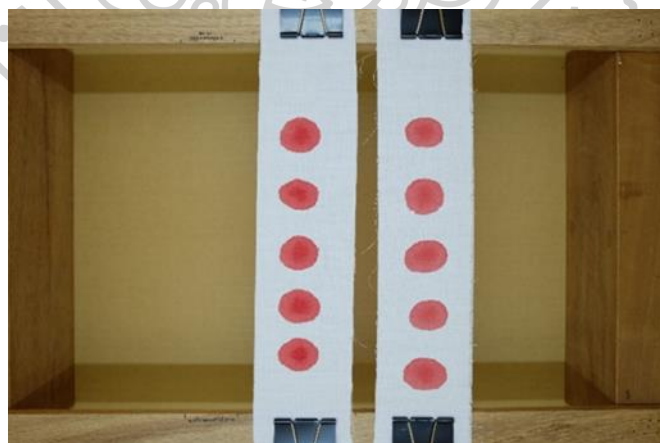


ภาพที่ 10 ลักษณะของการขึงผ้าไว้บนแท่นไม้เพื่อเตรียมไว้สำหรับการหยดเลือด

5. เตรียมเลือดเพื่อใช้เป็นสารมาตรฐาน

5.1 ทำการปิเปตเลือดของอาสาสมัครที่อยู่ในหลอดบรรจุเลือดชนิดไม่มีสารกันเลือดแข็งที่ได้จากอาสาสมัครปริมาณ 50 μ l

5.2 หยดเลือดลงบนผืนผ้าที่ขึงอยู่บนแท่นไม้ จำนวน 5 หยดเรียงตามลำดับ โดยที่ความสูงในการหยด และระยะห่างระหว่างหยดเลือดแต่ละหยดจะต้องเท่ากัน (หยดเลือดบนผืนผ้า 1 ผืนต่ออาสาสมัคร 1 คน) ทำเช่นเดียวกันทั้งหมด 3 ตัวอย่าง ดังภาพที่ 11



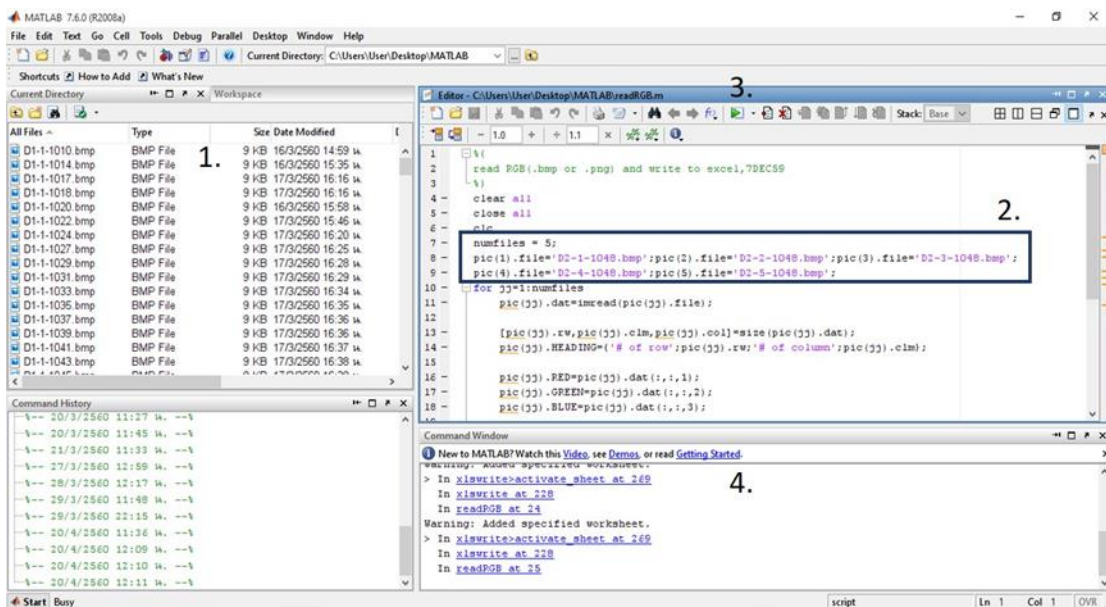
ภาพที่ 11 ลักษณะของหยดเลือดที่ใช้ในการถ่ายภาพเพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าสี โดยหยดเลือดบนผ้า 1 ผืนจะมาจากตัวอย่างเลือดของอาสาสมัคร 1 คน

6. กำหนดช่วงเวลาของการถ่ายภาพเพื่อทำการอ่านค่าสี ซึ่งในแต่ละคราบเลือดจะใช้ระยะเวลารวมทั้งสิ้น 48 ชั่วโมง โดยได้ทำการกำหนดระยะเวลาในการถ่ายภาพที่เป็นรูปแบบเดียวกัน ได้แก่ เวลาภายหลังหยดเลือดทันที ซึ่งนับเป็นเวลาเริ่มต้น และเวลาที่ 0.25, 0.50, 1, 1.50, 2, 2.50, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 42, 48 ชั่วโมง ตามลำดับ

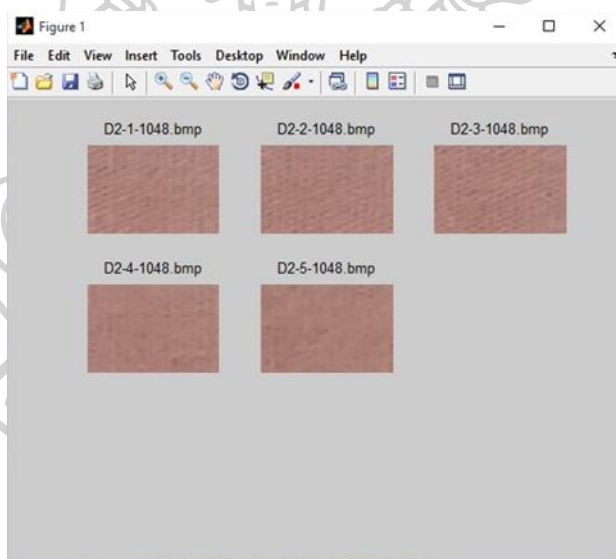
7. ทำการถ่ายภาพตัวอย่างเลือดตามช่วงเวลาที่ได้กำหนดไว้ในข้างต้น ซึ่งกล้องถ่ายรูปจะถูกตั้งค่าไว้ ดังนี้ Automatic mode, $f = 5.6$, ISO 400 และจะต้องเป็นเช่นเดียวกันทุกครั้งเพื่อเป็นการควบคุมตัวแปรของภาพถ่ายที่ได้ โดยการถ่ายภาพในแต่ละครั้งจะทำการตั้งกล้องด้านบนของกล้องลงที่ได้จะเป็นช่องสี่เหลี่ยมไว้ และต้องเปิดไฟที่ติดตั้งไว้ เพื่อให้มีแสงสว่างที่เพียงพอต่อการถ่ายภาพ หลังจากถ่ายภาพเสร็จจึงทำการปิดไฟ เพื่อเป็นการควบคุมปัจจัยทางด้านแสงสว่างเช่นเดิม

8. ใช้โปรแกรม Adobe Photoshop CS โดยนำภาพถ่ายคราบเลือดที่ได้ในแต่ละตัวอย่างมาซ้อนทับกัน เพื่อที่เวลาทำการตัดภาพ จะได้ภาพที่อยู่บริเวณเดียวกัน หรือใกล้เคียงกันมากที่สุด หลังจากนั้นจึงทำการตัดภาพให้มีขนาด 54×54 pixels เท่ากันในทุกตัวอย่าง และบันทึกไฟล์ภาพเป็นนามสกุล .BMP เพื่อเตรียมนำมาวิเคราะห์ค่าสีในโปรแกรม MATLAB

9. นำภาพที่ตัดเรียบร้อยแล้วมาคำนวณหาค่าสี RGB โดยใช้โปรแกรม MATLAB ทำการกรอกชื่อไฟล์ภาพ ซึ่งสามารถตรวจสอบความถูกต้องของชื่อไฟล์ภาพนั้นๆ ได้จากช่องหมายเลข 1 ดังแสดงในภาพที่ 12 โดยเป็นช่องที่แสดงไฟล์ภาพทั้งหมดที่สามารถเลือกใช้ในการคำนวณหาค่าสี RGB ได้ เมื่อทำการกรอกชื่อไฟล์ลงในช่องสี่เหลี่ยมหมายเลข 2 ซึ่งจะคำนวณได้สูงสุด 5 ภาพต่อครั้งแล้ว จากนั้นจึงทำการกดปุ่ม RUN ในหมายเลข 3 เพื่อเป็นการอ่านค่าสี RGB ส่วนหมายเลข 4 จะทำการแสดงข้อมูลขณะโปรแกรมคำนวณค่าสีในแต่ละไฟล์ภาพ เมื่อโปรแกรม MATLAB อ่านค่าสี RGB เสร็จในแต่ละครั้ง จะแสดงหน้าต่างภาพของคราบเลือดที่ทำการอ่านค่าสีแล้วขึ้นมา (ภาพที่ 13) โดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel ซึ่งจะแยกเป็นตารางค่าสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงินตามลำดับ ในแต่ละตัวอย่าง (ภาพที่ 14)



ภาพที่ 12 โปรแกรม MATLAB ที่ใช้ในการอ่านค่าสี RGB



ภาพที่ 13 หน้าต่างแสดงภาพที่ได้ทำการอ่านค่าสี RGB เรียบร้อยแล้ว

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R
1	# of row	177	175	165	167	168	178	178	174	179	178	170	165	168	175	179	178	178
2	54	171	166	173	177	167	174	176	167	174	183	179	168	169	177	176	170	176
3	# of column	173	176	191	173	165	173	163	169	178	187	186	168	167	174	169	172	175
4	54	179	182	175	164	168	167	171	176	175	178	176	167	168	175	172	172	177
5		183	168	158	166	168	171	184	180	177	178	171	167	169	175	173	170	171
6		167	159	168	174	174	186	174	164	174	185	178	171	173	173	171	169	169
7		159	169	177	179	179	177	160	158	174	188	182	171	171	168	167	169	178
8		171	176	173	178	172	165	175	183	184	176	164	167	170	172	171	179	179
9		175	173	174	173	169	175	185	181	185	181	170	161	167	177	178	171	175
10		171	172	174	176	176	175	173	170	181	185	174	166	168	176	168	166	172
11		173	178	181	183	176	172	168	172	178	189	181	166	168	170	167	175	176
12		174	177	174	170	170	173	175	177	178	180	170	166	169	169	175	174	172
13		174	157	159	166	168	176	180	171	171	175	173	166	170	176	172	162	171
14		162	157	167	167	172	178	164	147	177	182	174	172	176	177	158	154	175
15		159	170	175	175	178	161	145	155	179	186	177	171	174	173	161	168	179
16		175	181	178	171	156	149	168	181	174	178	166	157	167	173	177	179	179
17		177	173	174	163	153	169	183	175	174	169	152	154	172	176	179	174	174
18		169	165	163	165	171	179	173	164	163	165	169	169	176	182	172	170	172
19		162	172	171	172	177	167	163	161	165	176	179	177	175	171	168	169	172
20		175	179	178	171	162	165	168	169	173	179	176	169	169	171	173	176	177
21		182	171	169	163	158	169	172	176	175	174	170	167	172	177	179	177	174
22		170	163	164	167	174	178	176	173	172	172	173	175	179	178	175	170	170
23		163	170	173	174	177	173	172	171	174	178	179	179	175	171	167	169	176
24		175	171	169	168	165	168	172	174	178	176	173	170	169	169	170	173	180
25		175	165	165	165	166	176	173	170	175	171	167	166	169	172	172	172	175

ภาพที่ 14 ค่าสีที่อ่านได้จากโปรแกรม MATLAB ซึ่งจะทำกรอ่านค่าสีในทุกๆ pixel ของภาพและแสดงผลในลักษณะตารางตัวเลข

10. นำค่าสี RGB ที่อ่านได้ในแต่ละคราบเลือดมาสร้างตารางระหว่างค่าสีเทียบกับอายุของคราบเลือด ทำการหาค่าเฉลี่ยของแต่ละตัวอย่าง รวมถึงค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าสีเทียบกับอายุของคราบเลือด เพื่อหาสมการที่ได้จากค่าสีของเลือดที่นำมาสร้างกราฟมาตรฐานเทียบกับอายุของคราบเลือด

11. นำค่าสีของเลือดที่นำมาสร้างกราฟมาตรฐานมาคำนวณหาอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสี โดยใช้สูตรดังต่อไปนี้

$$\text{อัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสี} = \left| \frac{\text{ค่าสีที่อ่านได้ในเวลาที่ 2} - \text{ค่าสีที่อ่านได้ในเวลาที่ 1}}{\text{เวลาที่ 2} - \text{เวลาที่ 1}} \right|$$

ตัวอย่างเช่น ค่าสีที่ 0.5 ชั่วโมง เท่ากับ 185 ค่าสีที่ 1 ชั่วโมง 175 จะแทนค่าตามสูตรได้ดังนี้

$$\text{อัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสี} = \left| \frac{175 - 185}{1 - 0.5} \right| = 20$$

และในส่วนของการหาอายุของคราบเลือด จะใช้สูตรดังต่อไปนี้

$$\text{อายุของคราบเลือด} = \left| \frac{\text{เวลาที่ 1} + \text{เวลาที่ 2}}{2} \right|$$

ตัวอย่างเช่น เวลาที่ 0.5 ชั่วโมง และ เวลาที่ 1 ชั่วโมง

$$\text{อายุของคราบเลือด} = \left| \frac{0.5+1}{2} \right| = 0.75$$

ซึ่งจากสูตรข้างต้น จะได้อัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีกับอายุของคราบเลือด แล้วจึงนำข้อมูลตัวเลขที่ได้มาสร้างตาราง และกราฟมาตรฐานเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ข้อมูลค่าสีที่อ่านได้จริงเทียบกับอายุของคราบเลือด ดังที่กล่าวไว้ในข้อ 10 เพื่อหาสมการความสัมพันธ์จากอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีของเลือดที่นำมาสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าสีที่อ่านได้ในแต่ละเวลา

12 เตรียมเลือดเพื่อใช้ในการทำนายอายุของคราบเลือด

12.1 ทำการปิเปตเลือดของอาสาสมัครที่อยู่ในหลอดบรรจุเลือดชนิดไม่มีสารกันเลือดแข็ง ปริมาณ 50 μl

12.2 หยดเลือดลงบนผืนผ้าที่ขึงอยู่บนแท่นไม้ จำนวน 5 หยดเรียงตามลำดับ โดยที่ความสูงในการหยด และระยะห่างระหว่างหยดเลือดแต่ละหยดจะต้องเท่ากัน ทำเช่นเดียวกันทั้งหมด 15 ตัวอย่าง

13. ทำการถ่ายภาพที่เวลาต่างๆ ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อให้ได้ความหลากหลายของระยะเวลาในการเปลี่ยนแปลงสีของคราบเลือด และเป็นการทดสอบความแม่นยำของสมการที่หาได้จากค่าสีของคราบเลือดเทียบกับอายุของคราบเลือดเพื่อทำนายอายุของคราบเลือดดังกล่าว

14. ทำการตัดภาพและอ่านค่าสีด้วยโปรแกรม MATLAB เช่นเดียวกับข้อ 8 และ 9

15. นำค่าสีที่อ่านได้จากคราบเลือดมาทำการวิเคราะห์ เช่นเดียวกับข้อ 10 และ 11

16. ทำการแทนค่าค่าสีที่วัดได้ลงในสมการความสัมพันธ์ระหว่างค่าสีกับอายุของคราบเลือด และสมการความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีกับอายุของคราบเลือด

17. นำอายุของคราบเลือดที่ทำนายได้จากสมการมาสร้างกราฟเทียบกับอายุจริงของคราบเลือดเพื่อดูความสัมพันธ์ของกราฟที่ได้ และนำไปวิเคราะห์ผลการทดลองต่อไป

หมายเหตุ

1. การติดตั้งหลอดไฟในกล่องกระดาษ จะต้องทำให้ครบเลือดในทุกตัวอย่างได้รับแสงสว่างที่เท่ากัน หรือใกล้เคียงกันมากที่สุด เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดข้อผิดพลาดในการอ่านค่าสี RGB ในแต่ละจุดของครบเลือด

2. วิธีการคำนวณค่าสีของตัวอย่างเลือดเทียบกับอายุของครบเลือด จะทำเช่นเดียวกันทั้งตัวอย่างเลือดที่นำมาสร้างกราฟมาตรฐาน และตัวอย่างเลือดที่นำมาทำนายอายุของครบเลือด

3. การหยดเลือดและถ่ายภาพในแต่ละครั้งจะควบคุมปัจจัยทางด้านอุณหภูมิให้อยู่ที่อุณหภูมิห้องตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง

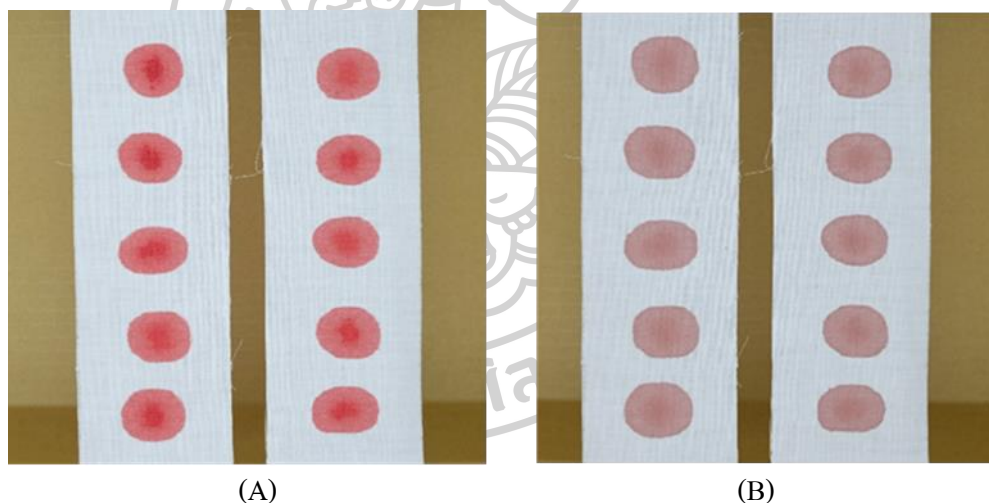


บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

การทดลองนี้เป็นการศึกษาการประมาณอายุของคราบเลือดบนผ้าฝ้ายสีขาวโดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ภาพ (Image analysis) โดยการถ่ายภาพ และนำภาพที่ได้มาอ่านค่าสีผ่านทางโปรแกรม MATLAB แล้วจึงนำค่าสีที่ได้มาสร้างกราฟหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าสีกับอายุของคราบเลือด เพื่อหาสมการความสัมพันธ์ระหว่างค่าสีเทียบกับอายุของคราบเลือด ที่สามารถนำมาใช้ในการทำนายอายุของคราบเลือดได้ ซึ่งในการถ่ายภาพจะมีการควบคุมปัจจัยทางด้านแสงสว่าง โดยตัวอย่างคราบเลือดที่หยดลงบนผ้าฝ้ายสีขาวจะอยู่ในที่มีดสนิทตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง ยกเว้นในเวลาที่ทำการถ่ายภาพ อีกทั้งการควบคุมปัจจัยทางด้านอุณหภูมิ ซึ่งตัวอย่างเลือดที่ใช้ในการทดลองจะอยู่ที่อุณหภูมิห้องตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง ดังที่ได้กล่าวไว้ในบทที่ 3

จากการนำตัวอย่างเลือดมาหยดลงบนผ้าฝ้ายสีขาวจะสังเกตได้ว่า เมื่อทำการถ่ายภาพในระยะเวลาต่าง ๆ กัน จะเห็นว่ามีเปลี่ยนแปลงของสีคราบเลือดเมื่อระยะเวลาผ่านไป ดังภาพที่

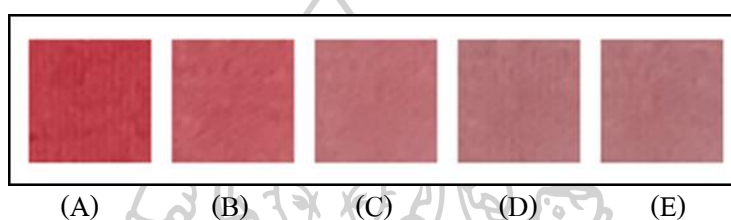
15



ภาพที่ 15 (A) ตัวอย่างของภาพถ่ายคราบเลือดที่ระยะเวลาเริ่มต้น

(B) ตัวอย่างของภาพถ่ายคราบเลือดหลังจากผ่านไป 7 ชั่วโมงภายหลังการหยดเลือด

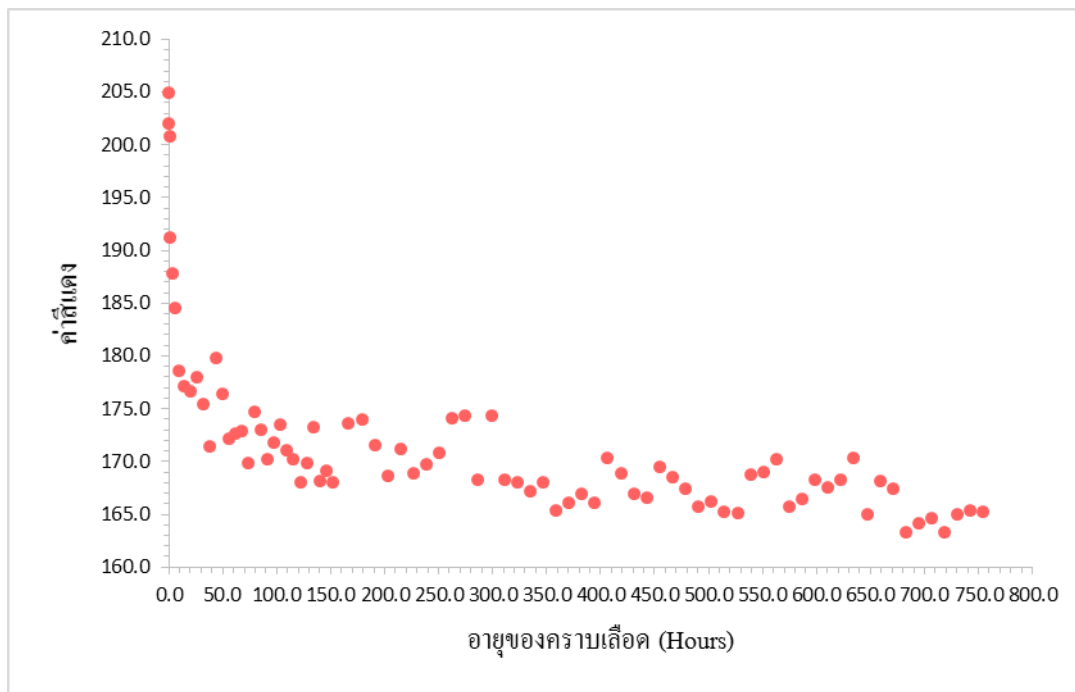
จากตัวอย่างของคราบเลือดในภาพ (A) เป็นคราบเลือดที่ได้ทำการถ่ายภาพไว้หลังจากหยุดเลือดเสร็จ นับเป็นเวลาเริ่มต้น ซึ่งจะสังเกตเห็นว่าลักษณะของคราบเลือดเป็นวงรี บริเวณด้านนอกมีสีอ่อนกว่าด้านใน มีขอบเขตที่ชัดเจน ส่วนตัวอย่างของคราบเลือดในภาพ (B) เป็นคราบเลือดที่ถ่ายภาพไว้ในชั่วโมงที่ 7 ภายหลังจากการหยุดเลือด เมื่อระยะเวลาผ่านไป จะสังเกตเห็นว่าสีของคราบเลือดจะจางลงอย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับภาพแรก ซึ่งเมื่อนำภาพถ่ายของคราบเลือดที่ได้ในแต่ละช่วงเวลามาทำการตัดให้มีขนาด 54×54 pixels เท่ากันทุกตัวอย่างของคราบเลือด โดยใช้โปรแกรม Adobe Photoshop CS จะทำให้สังเกตเห็นความเปลี่ยนแปลงของสีคราบเลือดด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนยิ่งขึ้น ดังภาพที่ 16



ภาพที่ 16 ตัวอย่างของภาพถ่ายคราบเลือดบนผ้าฝ้ายสีขาวที่เวลาต่างๆ (A) ที่เวลาเริ่มต้น (B) ที่ 0.50 ชั่วโมง (C) ที่ 2 ชั่วโมง (D) ที่ 12 ชั่วโมง (E) ที่ 24 ชั่วโมง ภายหลังจากการหยุดเลือดโดยใช้โปรแกรม Adobe Photoshop CS

จากภาพที่ 16 จะสังเกตเห็นได้ว่าในระยะเวลาที่แตกต่างกัน สีของคราบเลือดจะเปลี่ยนแปลงไปเช่นกัน โดยระยะเวลาเริ่มต้นในภาพ (A) เทียบกับภาพ (B) และ (C) เมื่อเวลาผ่านไป 0.50 ชั่วโมง และ 2 ชั่วโมงภายหลังจากการหยุดเลือด จะเห็นได้ว่าสีของคราบเลือดจางลงอย่างเห็นได้ชัด ส่วนภาพ (D) และ (E) ที่ระยะเวลา 12 และ 24 ชั่วโมงภายหลังจากการหยุดเลือด อาจไม่สามารถสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงด้วยตาเปล่าได้ ซึ่งอาจต้องนำภาพคราบเลือดนี้ไปทำการวิเคราะห์ค่าสีด้วยโปรแกรม MATLAB ต่อไป

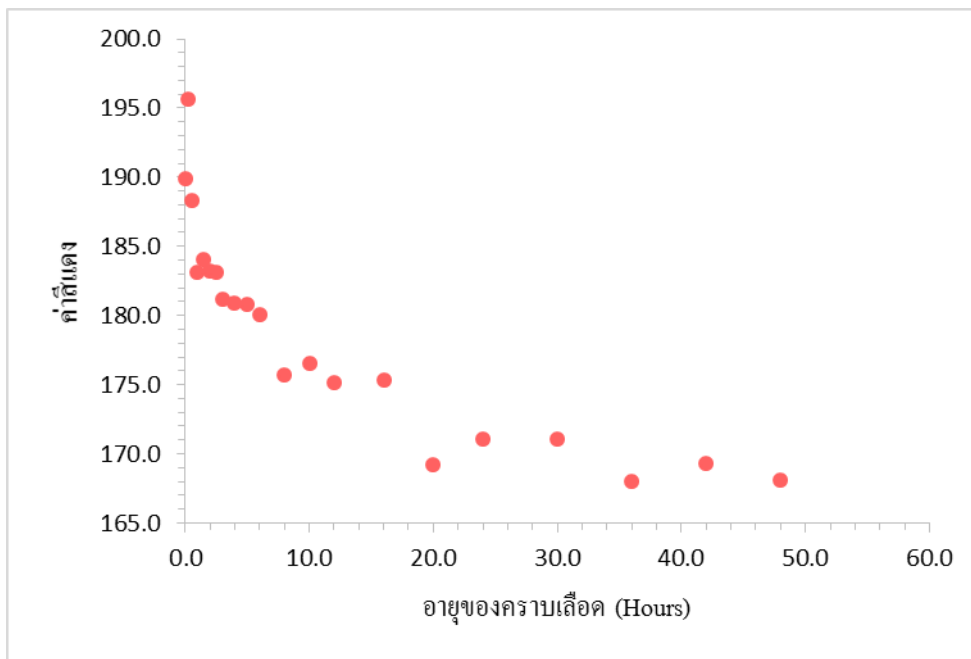
เมื่อได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าสีของคราบเลือดในระยะเวลา 1 เดือน พบว่าหลังจาก 48 ชั่วโมงผ่านไป ค่าสีที่อ่านได้จากคราบเลือดมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก หรือแทบจะคงที่ ดังภาพตัวอย่างของค่าสีแดงที่วัดได้กับอายุของคราบเลือด ที่แสดงต่อไปนี้



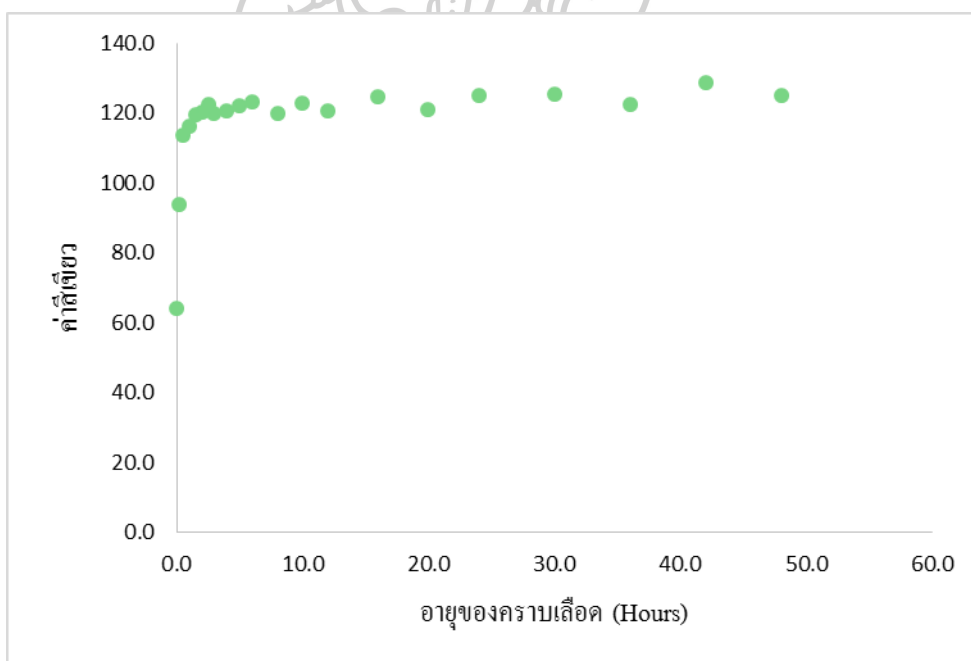
ภาพที่ 17 ค่าสีแดงเทียบกับอายุของคราบเลือด จำนวน 3 ตัวอย่าง

จากภาพข้างต้นจะเห็นได้ว่า ค่าสีแดงของคราบเลือดมีการเปลี่ยนแปลงอย่างเห็นได้ชัด ในช่วง 48-50 ชั่วโมงแรก ดังนั้นจึงเลือกทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงค่าสีของคราบเลือดและอายุของคราบเลือด เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง

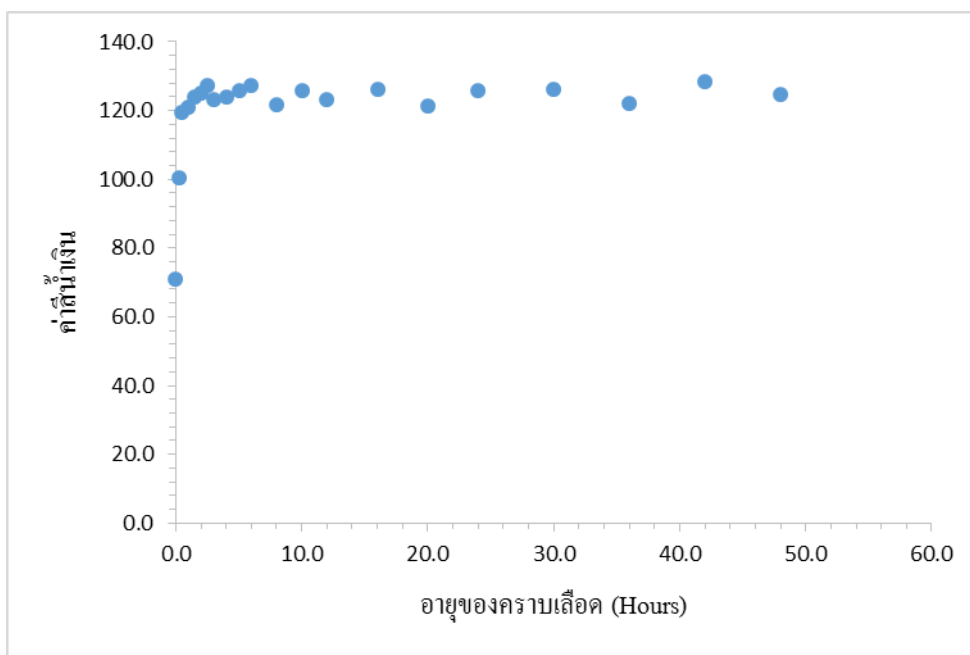
นอกจากนี้ เมื่อทำการวิเคราะห์ทั้งค่าสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน ในระยะเวลา 48 ชั่วโมงภายหลังการหยดเลือด แล้วพบว่าแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของค่าสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน จะแตกต่างกันออกไป ดังภาพที่ 18, 19 และ 20 ตามลำดับ



ภาพที่ 18 ค่าสีแดงกับอายุของคราบเลือด ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง



ภาพที่ 19 ค่าสีเขียวกับอายุของคราบเลือด ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง



ภาพที่ 20 ค่าสีน้ำเงินกับอายุของคราบเลือด ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง

จากกราฟแสดงค่าสีกับอายุของคราบเลือดในภาพที่ 18,19 และ 20 จะเห็นได้ว่า ค่าสีแดงจะลดลงอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงได้ชัดเจนที่สุดเมื่อเทียบกับค่าสีเขียว และสีน้ำเงิน ที่จะมีการเปลี่ยนแปลงเพียง 2-3 ชั่วโมงแรกภายหลังการหยุดเลือดเท่านั้น ดังนั้นจึงเลือกทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของค่าสีแดงเพียงอย่างเดียว

เมื่อทำการถ่ายภาพคราบเลือดบนผ้าฝ้ายสีขาวเพื่อนำมาวัดค่าสีแดง จากตัวอย่างเลือดของอาสาสมัครจำนวน 3 คน ในช่วงเวลาต่างๆ แล้วนำภาพถ่ายที่ได้มาตัดเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสให้มีขนาดเท่ากัน โดยโปรแกรม Adobe Photoshop CS มาวัดค่าสีแดงโดยโปรแกรม MATLAB ดังที่ได้กล่าวไว้ในบทที่ 3 นั้น ค่าสีแดงที่อ่านได้ในแต่ละตัวอย่างเลือดจะถูกนำมาสร้างเป็นตาราง 2 แบบ ได้แก่ ตารางเปรียบเทียบระหว่างค่าสีแดงเทียบกับอายุของคราบเลือด และตารางเปรียบเทียบระหว่างอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีกับอายุของคราบเลือด ซึ่งจะได้ดังตารางที่ 2 และ 3 ดังต่อไปนี้

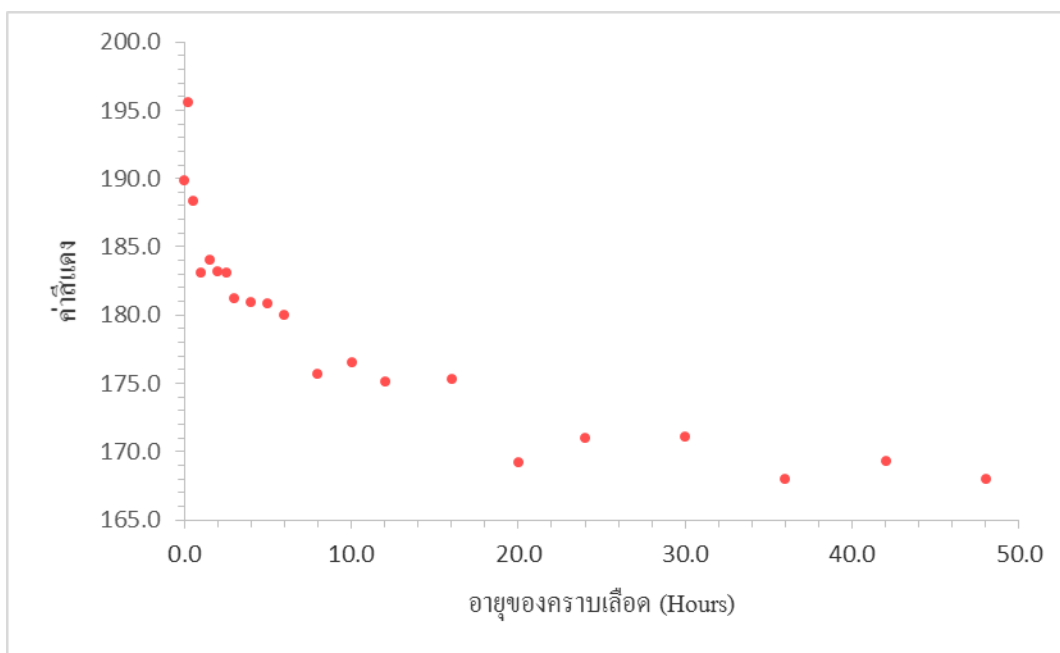
ตารางที่ 2 ค่าสีแดงของกราฟเลือดบนผ้าฝ้ายสีขาวโดยใช้โปรแกรม MATLAB ของตัวอย่างเลือด
จากอาสาสมัครจำนวน 3 คน เทียบกับอายุของกราฟเลือด

อายุของกราฟเลือด (Hours)	ค่าสีแดงเฉลี่ยจากเลือดจำนวน 3 ตัวอย่าง (n=15)	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของ ข้อมูลทั้งหมด
0.00	189.89	3.70
0.25	195.61	1.26
0.50	188.33	0.78
1.00	183.09	1.18
1.50	184.01	1.29
2.00	183.26	1.02
2.50	183.08	1.27
3.00	181.20	1.21
4.00	180.93	1.21
5.00	180.85	0.93
6.00	180.07	1.23
8.00	175.74	1.25
10.00	176.51	0.82
12.00	175.16	1.32
16.00	175.34	1.33
20.00	169.22	1.31
24.00	171.04	1.37
30.00	171.09	1.44
36.00	167.98	1.25
42.00	169.35	1.38
48.00	168.06	1.12

ตารางที่ 3 อัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงของคราบเลือดบนผ้าฝ้ายสีขาวของตัวอย่างเลือดจากอาสาสมัครจำนวน 3 คน เทียบกับอายุของคราบเลือด

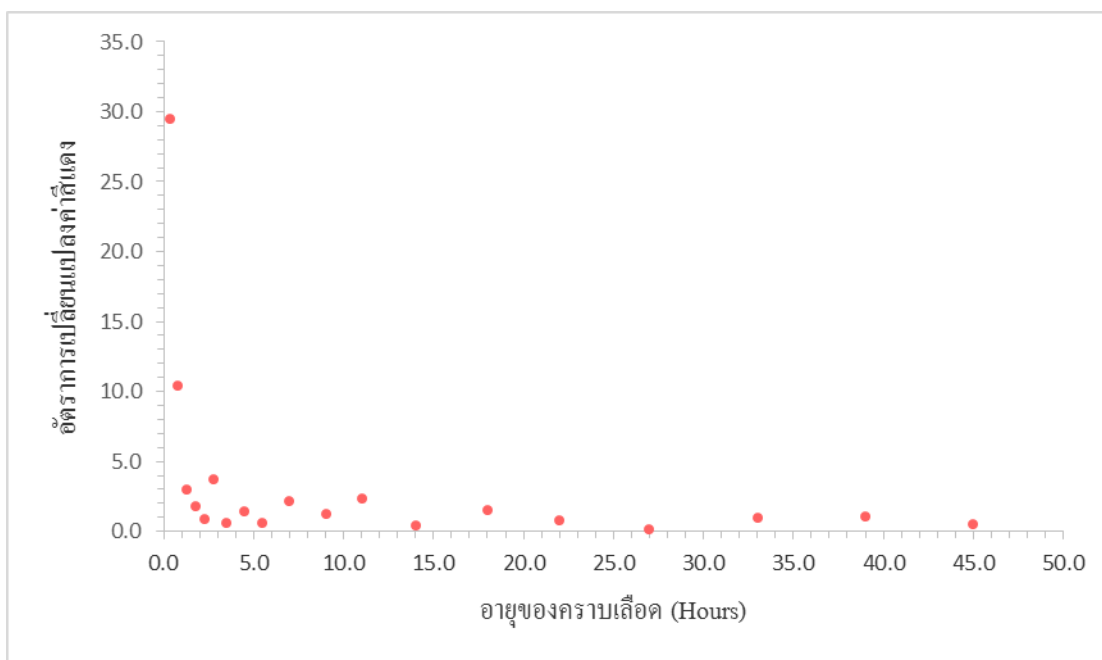
อายุของคราบเลือด (Hours)	อัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงจากเลือดจำนวน 3 ตัวอย่าง (n=15)	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูลทั้งหมด
0.38	29.53	8.42
0.75	10.42	3.93
1.25	2.99	1.42
1.75	1.84	0.89
2.25	0.91	0.33
2.75	3.70	0.72
3.50	0.64	0.34
4.50	1.48	0.23
5.50	0.65	0.35
7.00	2.16	0.31
9.00	1.27	0.24
11.00	2.32	0.29
14.00	0.42	0.09
18.00	1.54	0.16
22.00	0.80	0.17
27.00	0.13	0.09
33.00	0.95	0.62
39.00	1.11	0.08
45.00	0.48	0.09

จากตารางที่ 2 ซึ่งแสดงค่าสีแดงจากคราบเลือดบนผ้าฝ้ายสีขาวเทียบกับอายุของคราบเลือด จึงได้ทำการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าสีแดงของคราบเลือดกับอายุของคราบเลือด เพื่อสังเกตถึงความเปลี่ยนแปลงของค่าสีแดงที่ระยะเวลาแตกต่างกัน ดังภาพที่ 21



ภาพที่ 21 การเปลี่ยนแปลงของค่าสีแดงในแต่ละช่วงเวลาตั้งแต่เวลาเริ่มต้นถึง 48 ชั่วโมง

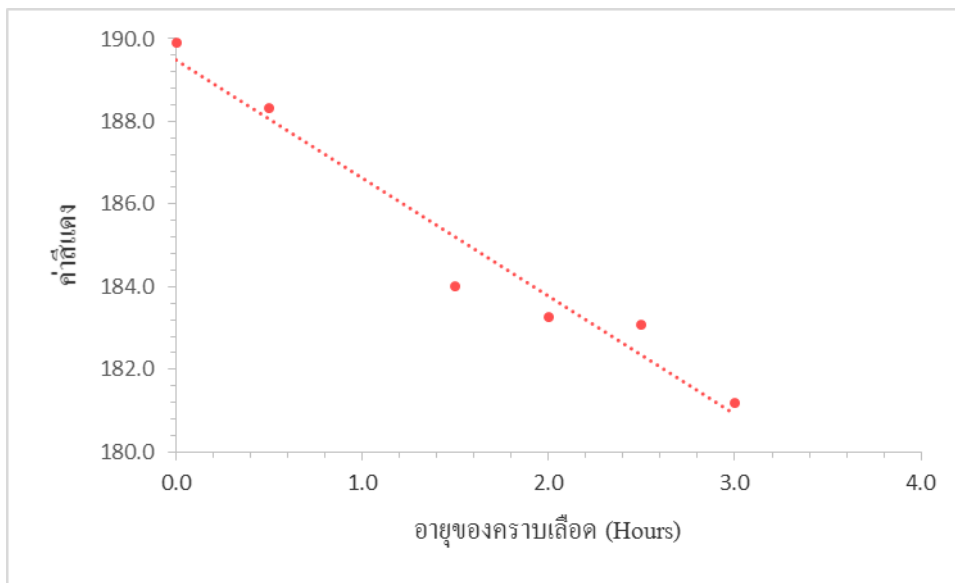
จากกราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าสีแดงในแต่ละช่วงเวลาตั้งแต่เวลาเริ่มต้นถึง 48 ชั่วโมงดังภาพที่ 21 จะสังเกตได้ว่า เมื่อระยะเวลามากขึ้น ค่าสีแดงของคราบเลือดจะลดลงอย่างต่อเนื่อง ซึ่งจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 8 ชั่วโมงแรก และมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยในช่วง 15 ชั่วโมงเป็นต้นไป โดยในส่วนของตารางที่ 3 ซึ่งแสดงอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงกับอายุของคราบเลือด ได้มีการสร้างกราฟในลักษณะเดียวกัน เพื่อสังเกตแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงว่าเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับกราฟการเปลี่ยนแปลงของค่าสีแดงที่เทียบกับอายุของคราบเลือดหรือไม่ ดังภาพที่ 22



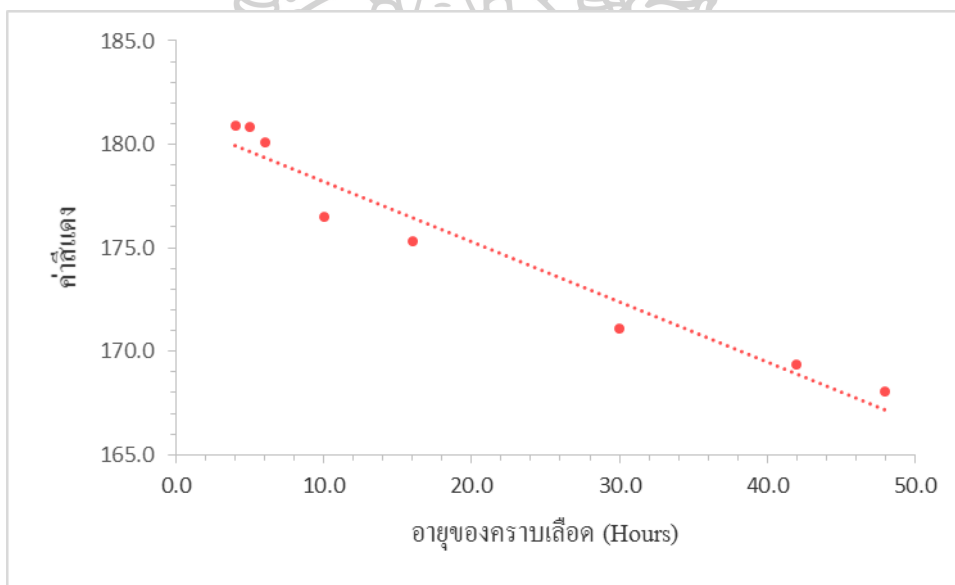
ภาพที่ 22 อัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงของคราบเลือดกับอายุของคราบเลือด ตั้งแต่เวลาเริ่มต้นถึง 45 ชั่วโมง

จากกราฟอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงของคราบเลือดเทียบกับอายุของคราบเลือดในภาพที่ 22 จะพบว่า มีการลดลงอย่างรวดเร็วของอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงในช่วง 2-3 ชั่วโมงแรก และจะเริ่มคงที่ในช่วง 5 ชั่วโมงเป็นต้นไป ซึ่งแตกต่างจากกราฟแสดงการลดลงของค่าสีแดงของคราบเลือดเมื่อเทียบกับอายุของคราบเลือดอย่างเห็นได้ชัด

จากการสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงของค่าสีแดงของกราฟทั้งสอง จึงทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของค่าสีแดงของคราบเลือดในช่วงเวลาของกราฟดังกล่าว โดยทำการสร้างกราฟเพื่อหาสมการความสัมพันธ์ระหว่างค่าสีแดงเทียบกับอายุของคราบเลือด ที่มีประสิทธิภาพในทำนายอายุของคราบเลือดที่อยู่บนผ้าฝ้ายสีขาวโดยไม่ทราบระยะเวลาที่แน่ชัด ซึ่งเมื่อนำมาสร้างกราฟมาตรฐานจะพบว่า สามารถแบ่งกราฟออกได้เป็น 2 ช่วง เพื่อให้ได้สมการความสัมพันธ์ระหว่างค่าสีแดงเทียบกับระยะเวลาหลังการหยดเลือดที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น ดังภาพที่ 23 และ 24 ตามลำดับ



ภาพที่ 23 ค่าสีแดงกับอายุของคราบเลือดตั้งแต่เวลาเริ่มต้นถึง 3 ชั่วโมงแรก



ภาพที่ 24 ค่าสีแดงกับอายุของคราบเลือดที่ระยะเวลา 4 ถึง 48 ชั่วโมง

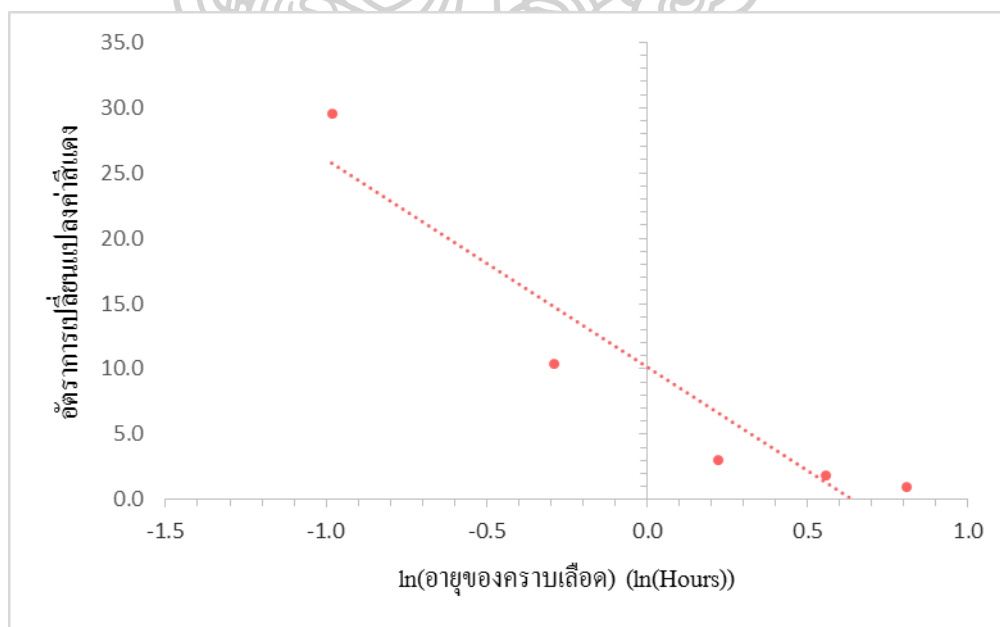
จากภาพจะเห็นได้ว่า เมื่อทำการแบ่งกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการทำนายอายุคราบเลือดออกเป็น 2 ช่วงจะสามารถหาสมการทางคณิตศาสตร์ได้ในลักษณะสมการเส้นตรง ดังต่อไปนี้

ตารางที่ 4 สมการความสัมพันธ์ระหว่างค่าสีแดงเทียบกับอายุของคราบเลือด แบ่งเป็น ระยะเวลาที่ 0-3 ชั่วโมงภายหลังการหยุดเลือดและ ระยะเวลาที่ 4-48 ชั่วโมงภายหลังการหยุดเลือด ตามลำดับ

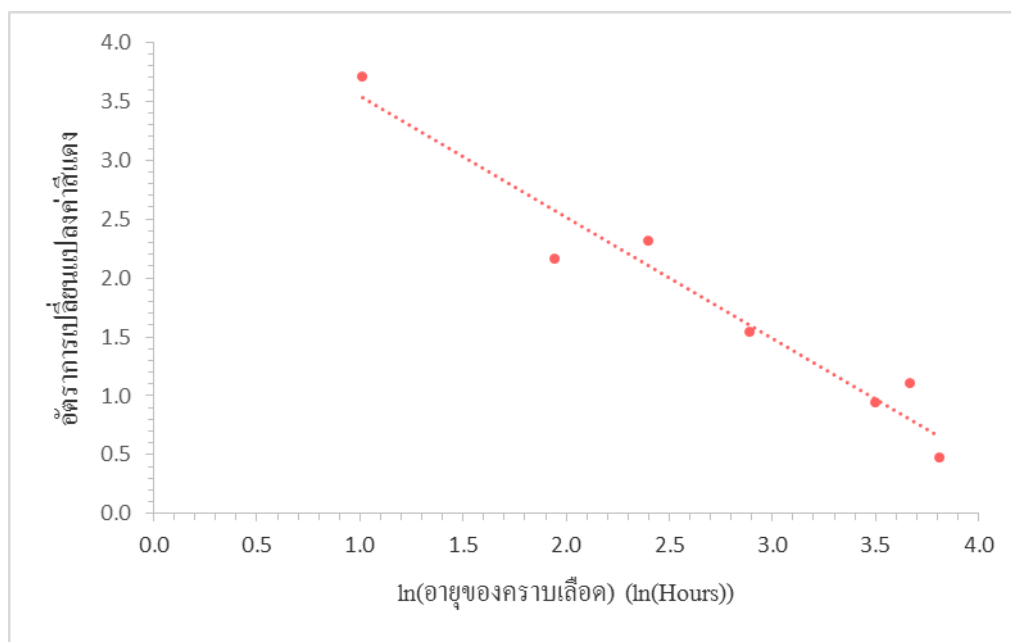
เวลา (Hours)	สมการ	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R)
0-3	$y = -2.8533x + 189.48$	0.9777
4-48	$y = -0.2908x + 181.13$	0.9745

จะเห็นได้ว่าสมการเส้นตรงที่ได้ในช่วงเวลาที่ 0 ถึง 3 ชั่วโมง และ 4 ถึง 48 ชั่วโมง ภายหลังการหยุดเลือด มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่สูงจนเข้าใกล้ 1 ซึ่งเป็นอีกหนึ่งตัวชี้วัดว่า เมื่อนำสมการดังกล่าวมาใช้ในการทำนายอายุของคราบเลือด จะทำให้ได้อายุของคราบเลือดที่ทำนายได้ มีความใกล้เคียงกับอายุจริงของคราบเลือดมากที่สุด

และในส่วนของอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงเทียบกับอายุของคราบเลือด เมื่อนำอายุของคราบเลือดมาแทนค่าใน $\ln(x)$ และนำอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงกับค่า $\ln(x)$ ที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการประมาณอายุคราบเลือด จะสามารถแบ่งได้เป็น 2 ช่วง เช่นเดียวกับกราฟของค่าสีแดงเทียบกับอายุของคราบเลือด ดังภาพที่ 25 และ 26 ตามลำดับ



ภาพที่ 25 อัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงเทียบกับ $\ln(\text{อายุของคราบเลือด})$ ที่ระยะเวลา 0.375 ถึง 2.25 ชั่วโมง



ภาพที่ 26 อัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงเทียบกับ $\ln(\text{อายุของคราบเลือด})$ ที่ระยะเวลา 2.75 ถึง 45 ชั่วโมง

จากภาพที่ 25 และ 26 จะเห็นได้ว่า เมื่อทำการแบ่งกราฟมาตรฐานของอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงออกเป็น 2 ช่วง จะได้สมการเส้นตรงระหว่างอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงเทียบกับ $\ln(\text{อายุของคราบเลือด})$ ที่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ดังตารางไปนี้

ตารางที่ 5 สมการอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงเทียบกับ $\ln(\text{อายุของคราบเลือด})$ แบ่งเป็นที่ระยะเวลา 0.375 ถึง 2.25 ชั่วโมงภายหลังการหยดเลือดและ 2.75 ถึง 45 ชั่วโมงภายหลังการหยดเลือด ตามลำดับ

เวลา (Hours)	สมการ	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R)
0.375-2.25	$y = -15.895x + 10.172$	0.9469
2.75-45	$y = -1.027x + 4.5688$	0.9733

ทำการเตรียมเลือดจากอาสาสมัครจำนวน 15 คน และทำเช่นเดียวกับเลือดที่นำมาสร้างกราฟมาตรฐานก่อนหน้านี้ แล้วจึงนำมาหาอายุของคราบเลือดที่ได้โดยการนำค่าสีแดงที่วัดได้มาแทนค่าลงในสมการ และนำมาเปรียบเทียบกับอายุจริงของคราบเลือดว่ามีความ

ใกล้เคียงกันหรือไม่ ดังตารางแสดงอายุที่ทำนายได้ของคราบเลือดเทียบกับอายุจริงของคราบเลือด ตารางที่ 6 และ 7 ตามลำดับ

ตารางที่ 6 อายุของคราบเลือดที่ทำนายได้จากสมการของค่าสีแดงเทียบกับอายุจริงของคราบเลือด

อายุจริงของคราบเลือด (Hours)	อายุของคราบเลือดที่ทำนายได้ (Hours)	อายุจริงของคราบเลือด (Hours)	อายุของคราบเลือดที่ทำนายได้ (Hours)
0.83	0.19	10.33	6.84
1.00	1.24	12.00	5.04
1.25	1.12	13.00	6.72
1.50	1.35	16.00	14.60
1.67	-0.13	16.33	13.49
1.75	1.41	18.75	8.42
2.00	2.44	20.00	21.54
2.08	0.10	20.33	13.71
2.33	0.74	21.00	16.54
2.50	1.18	22.08	15.53
2.92	1.07	24.00	21.47
3.00	2.04	24.33	19.55
3.33	1.20	30.00	29.61
3.75	1.18	30.33	26.26
4.00	9.42	31.00	21.84
6.00	5.14	36.00	24.40
8.00	1.24	42.00	32.17
9.00	5.39	48.00	38.88
10.00	9.42		

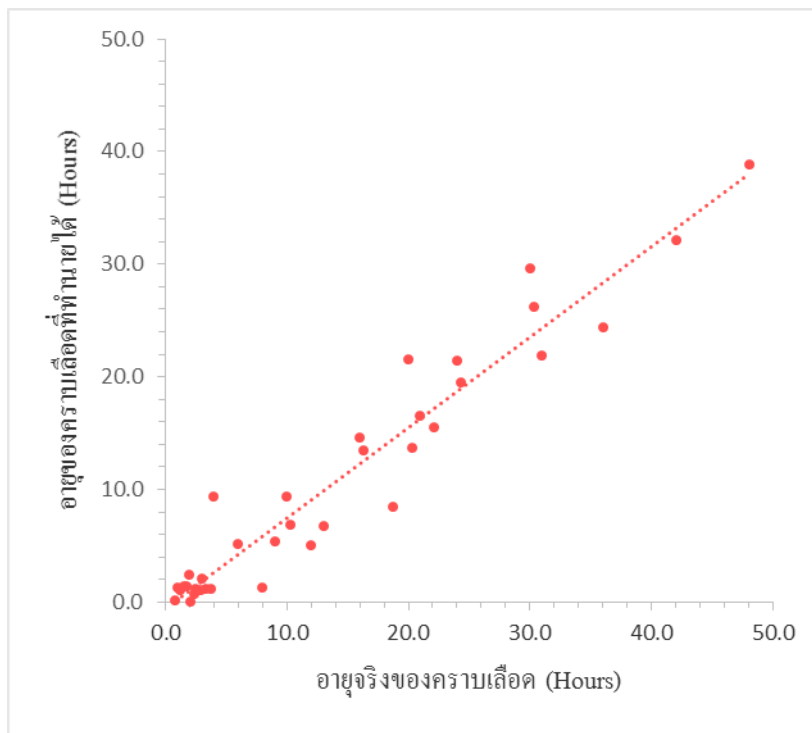
จากตารางที่ 6 จะเห็นว่า สมการที่ได้จากค่าสีกับอายุของคราบเลือดที่ใช้ในการแทนค่า เพื่อทำนายอายุคราบเลือดสามารถทำนายได้ตั้งแต่ 1 ถึง 48 ชั่วโมง และเมื่อใช้สมการของอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีเทียบกับอายุของคราบเลือดเพื่อทำนายอายุของคราบเลือด จะได้ผลดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 อายุของคราบเลือดที่ทำนายได้จากสมการอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงเทียบกับอายุจริงของคราบเลือด

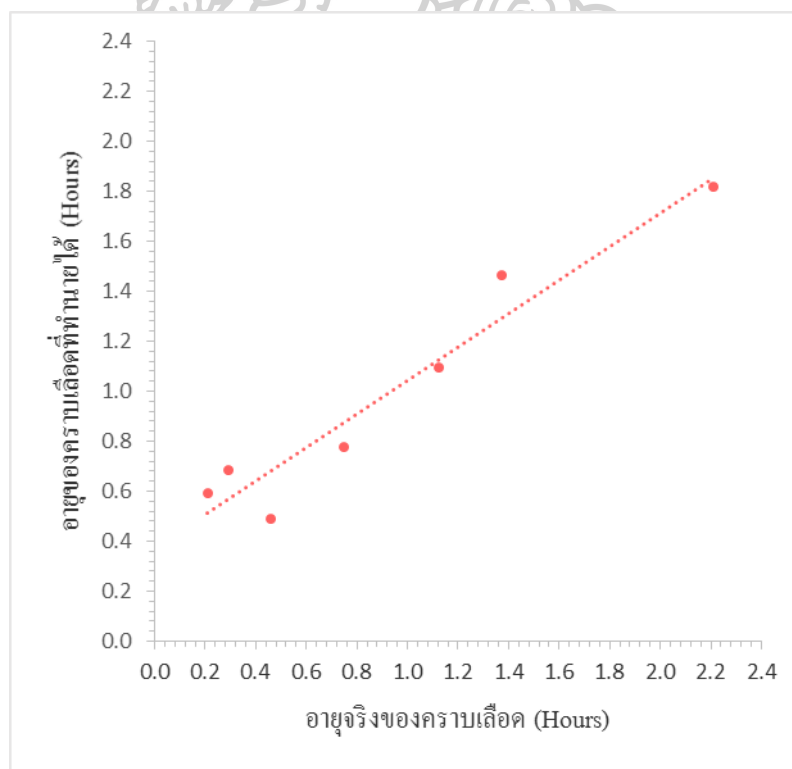
อายุจริงของคราบเลือด (Hours)	อายุของคราบเลือดที่ทำนายได้ (Hours)
0.21	0.59
0.29	0.69
0.46	0.49
0.75	0.78
1.13	1.10
1.38	1.46
2.21	1.82

จากตารางที่ 7 จะพบว่าสมการของอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงเทียบกับอายุของคราบเลือด สามารถทำนายอายุของคราบเลือดได้เพียง 2 ชั่วโมงแรกเท่านั้น

จากตารางที่ 6 และ 7 เป็นตารางที่แสดงอายุของคราบเลือดที่ทำนายได้จากค่าสีแดงเฉลี่ยของตัวอย่างเลือดจำนวน 15 ตัวอย่างเทียบกับอายุจริงของคราบเลือดนั้นๆ ซึ่งข้อมูลเหล่านี้จะต้องมีการทำ t-Test ในรูปแบบ Two-Sample Assuming Unequal Variances เพื่อดูว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหรือไม่ โดยเมื่อทำ t-Test แล้ว อายุของคราบเลือดทำนายได้ค่าใดมีค่า p-value < 0.05 จะถือว่าค่านั้นไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ หลังจากนั้น จึงทำการสร้างกราฟหาความสัมพันธ์ของทั้งอายุของคราบเลือดที่ทำนายได้จากสมการเส้นตรงของค่าสีแดงเทียบกับอายุจริงของคราบเลือด และอายุของคราบเลือดที่ทำนายได้จากสมการของอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงเทียบกับอายุจริงของคราบเลือด ซึ่งจะได้ดังภาพที่ 27 และ 28 ตามลำดับ



ภาพที่ 27 อายุของคราบเลือดที่ทำนายได้จากสมการเส้นตรงของค่าสีแดงกับอายุจริงของคราบเลือด



ภาพที่ 28 อายุของคราบเลือดที่ทำนายได้จากสมการเส้นตรงของอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงกับอายุจริงของคราบเลือด

จะเห็นได้ว่า จากกราฟข้างต้นอายุของคราบเลือดที่ทำนายได้ (ภาพที่ 27) จากสมการเส้นตรงของค่าสีแดงเทียบกับอายุจริงของคราบเลือด มีสมการแสดงความสัมพันธ์ คือ $y = 0.8041x - 0.5851$ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9659 โดยที่สมการเส้นตรงนี้บ่งชี้ว่า ค่าอายุของคราบเลือดที่ทำนายได้มีความใกล้เคียงกับอายุจริงของคราบเลือดตั้งแต่ระยะเวลา 1 ชั่วโมงแรกไปจนถึงระยะเวลาประมาณ 48 ชั่วโมง และจากกราฟอายุของคราบเลือดที่ทำนายได้ (ภาพที่ 28) จากสมการเส้นตรงของอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงกับอายุจริงของคราบเลือด มีสมการแสดงความสัมพันธ์ คือ $y = 0.67x + 0.3747$ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9663 โดย สามารถใช้ในการทำนายอายุของคราบเลือดที่มีความใกล้เคียงกับอายุจริงของคราบเลือดได้ในช่วง 2 ชั่วโมงแรกเท่านั้น เพราะฉะนั้น จากผลการทดลองที่ได้จึงแสดงให้เห็นว่า สมการเส้นตรงของค่าสีแดงเทียบกับอายุของคราบเลือด มีประสิทธิภาพในการทำนายอายุของคราบเลือดได้มากกว่าสมการเส้นตรงของอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงของคราบเลือดเทียบกับอายุของคราบเลือด

อย่างไรก็ตาม ค่าสีที่วัดได้จากโปรแกรม MATLAB อาจมีความคลาดเคลื่อนได้เนื่องจากปัจจัยทางด้านการถ่ายภาพ ซึ่งในการวิจัยครั้งนี้ได้ตั้งค่ากล้องถ่ายรูปเป็นโหมดอัตโนมัติ (Automatic mode) ซึ่งถือว่าเป็นโหมดพื้นฐานที่ใช้กันโดยทั่วไป แต่จะมีข้อเสียตรงที่ไม่สามารถควบคุมความเร็วชัตเตอร์ (Speed shutter) ได้ รวมถึงแสงสว่างจากหลอดไฟที่ทำการติดตั้งภายในกล้องที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างเลือดอาจให้แสงสว่างที่ไม่สม่ำเสมอ และตัวอย่างเลือดจากอาสาสมัครที่แตกต่างกัน ซึ่งค่า Hemoglobin ของอาสาสมัครแต่ละคนอาจไม่เท่ากัน จึงเป็นปัจจัยให้ค่าสีที่อ่านได้มีความแตกต่างกันออกไปในแต่ละตัวอย่าง โดยรายละเอียดของแต่ละปัจจัยที่ส่งผลต่ออ่านค่าสีของคราบเลือดในแต่ละตัวอย่าง จะอธิบายไว้ในบทที่ 5

บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผล

จากการใช้ตัวอย่างเลือดมาหยดลงบนผ้าฝ้ายสีขาวเพื่อทำนายอายุของคราบเลือด โดยทำการถ่ายภาพ และอ่านค่าสี RGB โดยใช้โปรแกรม MATLAB เพื่อนำมาสร้างสมการหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าสีกับอายุของคราบเลือด พบว่า สมการเส้นตรงระหว่างค่าสีแดงเทียบกับอายุของคราบเลือด สามารถทำนายอายุของคราบเลือดได้ตั้งแต่ระยะเวลาประมาณ 1 ชั่วโมงไปจนถึง 48 ชั่วโมง โดยเมื่อนำมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างอายุจริงของคราบเลือดเทียบกับอายุของคราบเลือดที่ทำนายได้ จะมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9659 และในส่วนของสมการเส้นตรงระหว่างอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงเทียบกับอายุของคราบเลือด พบว่า สามารถทำนายอายุของคราบเลือดได้ในช่วง 2 ชั่วโมงแรกเท่านั้น โดยเมื่อทำการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างอายุจริงของคราบเลือดเทียบกับอายุของคราบเลือดที่ทำนายได้ จะมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9663 จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า สมการความสัมพันธ์ระหว่างค่าสีแดงเทียบกับอายุของคราบเลือด มีประสิทธิภาพในการทำนายอายุของคราบเลือดมากกว่าสมการความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดงเทียบกับอายุของคราบเลือด ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ สราวุธ แหยมศิริ และคณะ [16] ที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับการตรวจหาอายุคราบโลหิตด้วยวิธี Fourier Transform Infrared Spectroscopy โดยใช้สมการความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนพื้นที่ได้พีค A_{3300}/A_{744} ของอายุคราบเลือดเทียบกับเวลา พบว่า สามารถใช้ประมาณอายุของคราบเลือดได้สูงสุดที่ 51 ชั่วโมง โดยเมื่อทำการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาที่ทำนายได้เทียบกับระยะเวลาจริง จะมีค่า R^2 เท่ากับ 0.893 โดยระยะเวลาของคราบเลือดที่ทำนายได้จะแปรผันตรงกับระยะเวลาจริง นอกจากนี้ยังมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Rolf H. Bremmer และคณะ [12] ที่ทำการศึกษาในเรื่องประมาณอายุของคราบเลือดบนผ้าฝ้ายสีขาวจากการหา Hemoglobin derivative ด้วยวิธี Reflectance Spectroscopy โดยใช้ค่าเฉลี่ยของ Diffuse Reflectance Spectroscopy ในการนำมาประมาณอายุของคราบเลือด โดยกำหนดระยะเวลาทั้งสิ้น 60 วัน พบว่าจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาที่ทำนายได้เทียบกับระยะเวลาจริง เมื่อระยะเวลาเพิ่มมากขึ้นยังมีความแปรปรวนในการทำนายอายุเพิ่มมากขึ้นเช่นกัน และในส่วนของงานวิจัยของ Phuvadol Thanakiatkrai และคณะ [7] ที่ได้ทำการศึกษาเรื่องการประมาณอายุของคราบเลือดด้วยการถ่ายภาพทางโทรศัพท์และการวิเคราะห์ภาพดิจิทัล ซึ่งทำนายอายุคราบเลือดบนแผ่นกระดาษกรองจากค่าสีแดงอมม่วง (Magenta) โดยการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้น (Linear regression) จะสามารถ

ประมาณอายุคราบเลือดได้ในระยะเวลาไม่เกิน 5 วัน โดยเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น ทั้งความถูกต้องและแม่นยำในการทำนายอายุของคราบเลือดจะลดลง ซึ่งจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาที่ทำนายได้กับระยะเวลาจริงหลังการหยดเลือด จะมีค่า R^2 เท่ากับ 0.830 และจากกราฟการวิเคราะห์ผลกระทบของสารตั้งต้นในการสังเกตการเปลี่ยนสี Magenta ของคราบเลือด พบว่า ฟ้าฝ้ายสีขาว กระดาษกรอง และหนังสือพิมพ์ จะมีการเปลี่ยนแปลงของค่าสี Magenta ที่มีความสัมพันธ์กัน

จากความสอดคล้องของงานวิจัยดังกล่าวข้างต้น จะเห็นได้ว่าผลการทดลองที่ได้ในแต่ละงานวิจัยเป็นไปในทิศทางเดียวกัน แต่อาจทำนายระยะเวลาได้แตกต่างกัน ซึ่งอาจขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายๆด้าน เช่น แสงสว่าง อุณหภูมิ ความชื้น ค่า Hemoglobin ของแต่ละบุคคล ซึ่งจะอธิบายไว้ในส่วนของการอภิปรายผลต่อไป

การอภิปรายผล

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยที่ต้องการพัฒนาวิธีการประมาณอายุของคราบเลือดที่เป็นพยานหลักฐานสำคัญ และสามารถพบได้บ่อยในที่เกิดเหตุ ให้มีความถูกต้อง แม่นยำ สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในกระบวนการเก็บพยานวัตถุประเภทคราบเลือดบนผ้าได้ง่าย และสามารถสร้างชุดอุปกรณ์เองได้ในราคาข่อมเยา ซึ่งจากการศึกษาโดยใช้วิธีดังกล่าวไว้ในบทที่ 3 พบว่า การถ่ายภาพคราบเลือดบนผ้าฝ้ายสีขาว และนำมาอ่านค่าสีด้วยโปรแกรม MATLAB เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างอายุของคราบเลือดที่ทำนายได้ และอายุจริงของคราบเลือด สามารถนำมาใช้ทำนายอายุของคราบเลือดได้ ซึ่งจะเห็นได้จากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ในแต่ละกราฟของอายุของคราบเลือดที่ทำนายได้เทียบกับอายุจริงของคราบเลือดทั้งแบบสมการของค่าสีแดง ที่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9659 ซึ่งสามารถทำนายอายุคราบเลือดได้ตั้งแต่ชั่วโมงแรกไปจนถึง 48 ชั่วโมง และสมการของอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าสี โดยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9663 ที่สามารถทำนายอายุคราบเลือดได้เพียง 2 ชั่วโมงแรกเท่านั้น ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าว อาจมีหลายปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อผลการทดลองได้ เช่น แสงสว่าง อุณหภูมิ ความชื้น อันเป็นปัจจัยทางด้านสภาพแวดล้อม ค่า Hemoglobin ของแต่ละบุคคล รวมไปถึงวิธีการถ่ายภาพ ดังรายละเอียดต่อไปนี้

1. สภาพแวดล้อม

Patterson ได้ทำการรายงานไว้ราวปี 1960s ว่าการเปลี่ยนแปลงสีของคราบเลือด ขึ้นอยู่กับปัจจัยทางด้านสภาพแวดล้อมเป็นสำคัญ ได้แก่ ปัจจัยด้านอุณหภูมิ แสงสว่าง และความชื้น ซึ่งปัจจัยเหล่านี้สามารถส่งผลต่อกระบวนการ Oxidation ของ Hemoglobin ได้ [17] โดยพบว่าคราบเลือดจะมีการสลายตัว และเกิดกระบวนการ Oxidation ได้เร็วกว่าหากคราบเลือดนั้นอยู่ในอุณหภูมิที่สูงขึ้น [3] ในด้านแสงสว่างที่มีผลกระทบต่อคราบเลือด Inoue และคณะ พบว่า หากคราบเลือดอยู่ในในที่ที่มีแหล่งกำเนิดแสงเป็นหลอดฟลูออเรสเซนต์เทียบกับในที่มืด จะมีอัตราการเปลี่ยนแปลงของอายุคราบเลือดที่ช้าลง [18] ส่วนปัจจัยทางด้านความชื้นจะพบว่า ที่อุณหภูมิสูงขึ้น ปัจจัยทางด้านความชื้นจะมีผลกระทบน้อยกว่า และหากมี % ความชื้นสูงจะพบว่าค่าสีของคราบเลือดจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 1 ชั่วโมงแรกหลังทำการหยดเลือด [19]

2. การถ่ายภาพ

จากการวิจัยนี้ จะทำการตั้งกล้องในตำแหน่งเดียวกันตลอดการทดลอง ไม่มีการเคลื่อนย้าย และตั้งค่าไว้ในโหมดอัตโนมัติ ซึ่งจะมีข้อเสียตรงที่ไม่สามารถควบคุมความเร็วชัตเตอร์ (Speed shutter) ได้ ทั้งนี้จึงอาจส่งผลกระทบต่อสี และความสว่างของภาพคราบเลือดที่ได้ในแต่ละภาพ เมื่อนำมาวัดค่าสีจึงทำให้ค่าสีที่วัดได้มีความคลาดเคลื่อน แต่อย่างไรก็ตาม การใช้กล้อง Mirrorless ถือว่ามีประสิทธิภาพมากกว่ากล้องโทรศัพท์มือถือบางรุ่น ในด้านของความละเอียด ความคมชัดของภาพและสีที่ได้ โดยกล้อง FUJI รุ่น XA-2 ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ มีพิกเซล 16.3 Megapixel ถือว่ามีความคมชัดเทียบเท่าหรือใกล้เคียงกับกล้อง DSLR

ในส่วนของกล้องที่ใช้เก็บตัวอย่างคราบเลือดเพื่อถ่ายภาพ สามารถประดิษฐ์ขึ้นเอง และนำไปใช้ในสถานที่เกิดเหตุได้ แต่อาจจะต้องลดขนาดของกล้องลง เนื่องจากในงานวิจัยนี้ มีตัวอย่างคราบเลือดจำนวนมาก จึงต้องทำกล้องให้มีขนาดใหญ่เพียงพอในการเก็บตัวอย่างคราบเลือด นอกจากนี้แหล่งกำเนิดแสงที่ใช้ ได้แก่ หลอดฟลูออเรสเซนต์ OPPLLE 14 วัตต์ จำนวน 2 หลอด ต่อ 1 กล้อง ทั้งนี้เนื่องจากกล้องที่ใช้เก็บตัวอย่างคราบเลือดมีขนาดใหญ่ เวลาทำการถ่ายภาพคราบเลือดควรมีความสว่างเท่ากันในทุกตัวอย่าง ซึ่งหากมีการพัฒนาเพื่อนำไปใช้ในการตรวจสอบสถานที่เกิดเหตุ อาจใช้เป็นหลอดไฟแบบตะเกียบ หรือ Light bulb แทนได้

3. ความหลากหลายในแต่ละตัวอย่างเลือด

เลือดของอาสาสมัครที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างคราบเลือด แต่ละคนอาจมีค่าระดับ Hemoglobin ที่แตกต่างกันออกไป โดยปกติแล้ว ผู้ที่มีสุขภาพแข็งแรง ระดับฮีโมโกลบินจะอยู่ที่

ประมาณ 14-18 g/dl ในเพศชาย และ 12-16 g/dl ในเพศหญิง หากอาสาสมัครที่มีค่าระดับ Hemoglobin ที่สูงอาจทำให้สีของคราบเลือดที่ได้มีความเข้มมากกว่า จึงอาจมีความหลากหลายของค่าสีที่อ่านได้ในแต่ละตัวอย่าง ทั้งนี้ จำนวนของอาสาสมัครที่นำมาเก็บตัวอย่างเลือดจะขึ้นอยู่กับเทคนิคที่ใช้ในการประมาณอายุของคราบเลือดด้วยเช่นกัน [2]

4. วัสดุที่ใช้ในการหยดเลือด

พื้นผิวของวัสดุที่นำมาหยดเลือดนั้นถือว่าเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญในการวิเคราะห์รูปแบบของหยดเลือด โดยงานวิจัยส่วนใหญ่มักใช้ผ้าฝ้ายสีขาว หรือกระดาษกรอง ซึ่งสามารถดูดซับของเหลวต่างๆ และเป็นตัวสะท้อนได้ดี Andrasko J. ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบการประมาณอายุคราบเลือดระหว่างผ้ากับกระดาษ พบว่า ในการศึกษาไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ [20]

ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้พื้นผิวที่ทำการหยดเลือดเป็นผ้าฝ้ายสีขาว เนื่องจากสามารถหาได้ง่าย และมักใช้ในการตัดเย็บเป็นเสื้อผ้าที่สวมใส่โดยทั่วไป จึงอาจพบได้ง่ายในสถานที่เกิดเหตุ

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาการเปรียบเทียบระหว่างปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อการวัดค่าสีของคราบเลือด เช่น ชนิดของวัสดุที่นำมาใช้ในการหยดเลือด อุณหภูมิที่แตกต่างกัน ปริมาณแสงสว่างที่ได้รับ รวมถึงไปถึงปัจจัยทางด้านความชื้น กล้องถ่ายภาพต่างชนิดกัน หรือระยะเวลาที่แตกต่างกันออกไป โดยใช้เทคนิคการประมาณอายุของคราบเลือดด้วยวิธีวิเคราะห์ภาพ (Image analysis) เพื่อนำไปสู่การพัฒนาการทำนายระยะเวลาของคราบเลือดที่มีประสิทธิภาพ และสามารถใช้ได้จริงในสถานที่เกิดเหตุ

รายการอ้างอิง

1. Shikama, K., *The Molecular Mechanism of Autoxidation for Myoglobin and Hemoglobin: A Venerable Puzzle*. Chemical Reviews, 1998. **98**(4): p. 1357-1373.
2. Bremmer, R.H., et al., *Forensic quest for age determination of bloodstains*. Forensic Science International, 2012. **216**(1): p. 1-11.
3. Fujita, Y., et al., *Estimation of the age of human bloodstains by electron paramagnetic resonance spectroscopy: Long-term controlled experiment on the effects of environmental factors*. Forensic Science International, 2005. **152**(1): p. 39-43.
4. Stefan, S., et al., *Age determination of blood spots in forensic medicine by force spectroscopy*. Forensic Science International, 2007. **170**(1): p. 8-14.
5. Dissing, J., A. Søndervang, and S. Lund, *Exploring the limits for the survival of DNA in blood stains*. Journal of Forensic and Legal Medicine, 2010. **17**(7): p. 392-396.
6. Bauer, M., S. Polzin, and D. Patzelt, *Quantification of RNA degradation by semi-quantitative duplex and competitive RT-PCR: a possible indicator of the age of bloodstains?* Forensic Science International, 2003. **138**(1): p. 94-103.
7. Thanakiatkrai, P., A. Yaodam, and T. Kitpipit, *Age estimation of bloodstains using smartphones and digital image analysis*. Forensic Science International, 2013. **233**(1): p. 288-297.
8. อีจันรัตน์, ว.อ., โลหิตวิทยาทันสมัย (*Modern Hematology*). 1 ed. 2545, กรุงเทพมหานคร: เรือนแก้วการพิมพ์. 529.
9. April Marrone, J.B., *Changes in dry state hemoglobin over time do not increase the potential for oxidative DNA damage in dried blood*. PLoS ONE, 2009. **4**(4): p. e51110.
10. *Cotton Morphology and Chemistry*. 2017 [cited 2017 06/01]; 1:[Available from: <http://www.cottoninc.com/product/NonWovens/Nonwoven-Technical-Guide/Cotton-Morphology-And-Chemistry/index.cfm>].
11. บุญคง, ก., การประยุกต์ใช้เทคนิคประมวลผลภาพในการวิเคราะห์หิมตกกระทบของรอยคราบเลือด, in คณะวิทยาศาสตร์ (นิติวิทยาศาสตร์). 2552, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์: มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, บัณฑิตวิทยาลัย. p. 104.

12. Bremmer, R.H., et al., *Age estimation of blood stains by hemoglobin derivative determination using Reflectance Spectroscopy*. Forensic Science International, 2011. **206**(1): p. 166-171.
13. Edelman, G., T.G. van Leeuwen, and M.C.G. Aalders, *Hyperspectral imaging for the age estimation of blood stains at the crime scene*. Forensic Science International, 2012. **223**(1): p. 72-77.
14. Edelman, G., et al., *Identification and age estimation of blood stains on colored backgrounds by near infrared spectroscopy*. Forensic Science International, 2012. **220**(1): p. 239-244.
15. บุตรเขียว, ส. and ร. เบลูวัฒนานนท์, การศึกษาสารละลายที่เหมาะสมกับการละลายคราบเลือดบนพื้นผิวผ้าเพื่อใช้ประมาณอายุของคราบเลือด, in การประชุมสวนสุนันทาวิชาการระดับชาติ ด้าน“การวิจัยเพื่อการพัฒนาอย่างยั่งยืน”ครั้งที่ ๔. 2017: มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา. p. 923-932.
16. แหยมศิริ., ส., การตรวจหาอายุคราบ โลหิตด้วย *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* / โดย สราวุธ แหยมศิริ. 2554, สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร: นครปฐม .: p. ๖-๗, 68 หน้า : ภาพประกอบสี, ตาราง.
17. Patterson, D., *Use of Reflectance Measurements in assessing the Colour Changes of Ageing Bloodstains*. Nature, 1960. **187**: p. 688-689.
18. Hanson, E.K. and J. Ballantyne, *A blue spectral shift of the hemoglobin solet band correlates with the age (time since deposition) of dried blood stain*. PLoS ONE, 2010. **5**(9): p. e12830.
19. Stacey E. Anderson Ph.D., Gerald R. Hobbs Ph.D., and C.P.B. Ph.D., *Multivariate analysis for estimating the age of a bloodstain*. Journal of Forensic Sciences, 2010. **56**(1): p. 186-193.
20. Andrasko, J., *The estimation of age of bloodstains by HPLC analysis*. Forensic Science International, 1997. **42**(4): p. 601-7.



ภาคผนวก

ตารางที่ 8 ค่าสีแดงของคราบเลือดที่นำมาสร้างกราฟมาตรฐานจากอาสาสมัครจำนวน 3 คนเทียบกับอายุของคราบเลือด

ระยะเวลาที่ทำการถ่ายภาพ (Hours)	Donor1					Donor2					Donor3					
	ค่าเฉลี่ยของกราบเลือด (n=5)					ค่าเฉลี่ยของกราบเลือด (n=5)					ค่าเฉลี่ยของกราบเลือด (n=5)					
	หยดที่ 1	หยดที่ 2	หยดที่ 3	หยดที่ 4	หยดที่ 5	หยดที่ 1	หยดที่ 2	หยดที่ 3	หยดที่ 4	หยดที่ 5	หยดที่ 1	หยดที่ 2	หยดที่ 3	หยดที่ 4	หยดที่ 5	
0.00	189.15	191.31	192.04	192.45	190.38	191.07	187.39	191.71	194.26	191.63	191.23	193.48	188.40	184.11	179.26	187.38
0.25	193.53	194.79	194.41	194.41	193.11	194.05	194.48	197.28	199.43	197.53	197.09	194.04	196.48	196.58	195.31	195.70
0.50	184.71	184.91	184.89	185.16	183.45	184.92	193.17	194.91	194.75	192.71	193.99	185.04	186.66	186.65	185.18	186.08
1.00	180.15	182.33	181.67	182.41	181.55	181.99	182.53	184.73	186.66	184.91	185.07	180.54	183.06	183.00	181.63	182.21
1.50	183.45	185.07	183.81	184.33	182.84	183.90	183.92	186.20	188.83	186.58	186.60	180.30	182.56	182.05	180.64	181.54
2.00	182.91	184.53	183.38	183.92	182.18	183.38	183.56	185.75	187.32	185.64	185.83	178.11	180.46	180.95	179.98	180.56
2.50	183.55	185.35	183.64	184.34	182.66	183.87	183.78	186.03	187.53	185.68	186.03	177.30	180.01	180.42	178.85	179.34
3.00	181.31	183.57	182.13	183.13	180.99	182.23	182.16	183.67	185.80	183.67	183.96	175.55	177.79	178.49	177.05	177.41
4.00	181.73	183.52	182.29	183.37	181.44	182.47	181.73	184.15	186.13	184.03	184.17	174.75	177.07	176.38	175.59	176.15
5.00	180.28	182.33	181.17	181.65	179.92	181.07	180.45	183.00	184.13	182.69	183.38	176.47	178.87	178.90	177.47	178.10
6.00	179.37	182.16	180.57	181.59	180.35	180.81	180.02	182.08	184.14	182.04	182.29	175.66	178.02	177.68	176.50	177.10
8.00	176.02	178.35	176.09	176.60	175.14	176.44	176.10	177.55	179.53	177.46	177.74	171.05	173.82	174.28	172.34	173.05
10.00	177.69	179.51	178.12	178.73	177.49	178.31	176.90	180.01	182.13	179.99	180.80	167.96	170.62	170.69	169.63	170.43
12.00	173.99	175.66	174.22	174.47	172.83	174.23	173.19	176.15	177.80	175.40	175.75	173.85	176.64	176.35	174.73	175.50
16.00	175.11	177.18	175.68	176.12	174.37	175.69	174.71	177.57	178.57	176.54	177.05	171.07	174.02	174.50	172.85	173.29
20.00	168.43	170.33	169.02	169.55	168.25	169.12	167.33	170.62	171.83	169.45	170.06	166.76	169.26	169.58	167.83	168.47
24.00	172.08	174.58	173.12	173.56	171.62	172.99	171.78	173.74	175.96	173.45	173.82	164.12	167.22	167.53	165.74	166.32
30.00	171.19	173.21	172.65	173.47	171.66	172.44	170.35	172.87	175.65	173.20	173.25	165.72	168.60	168.49	166.98	167.58
36.00	165.33	167.33	166.27	165.76	164.05	165.75	163.96	166.90	168.68	165.87	166.43	168.60	171.83	172.35	171.03	171.76
42.00	171.40	173.77	171.70	171.98	170.26	171.82	170.66	173.03	174.28	172.51	172.70	161.20	164.50	164.93	162.77	163.52
48.00	167.98	170.79	169.12	169.19	167.86	168.99	167.12	169.15	171.22	168.87	169.11	163.53	166.25	166.38	165.34	166.08

ตารางที่ 9 อัตราการเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยของควรมีเลือดที่นำมาสร้างกราฟมาตรฐานจากอาสาสมัครจำนวน 3 คนเทียบกับอายุของควรมีเลือด

ระยะเวลาที่ทำการถ่ายภาพ (Hours)	Donor1					Donor2					Donor3							
	หอดที่ 1	หอดที่ 2	หอดที่ 3	หอดที่ 4	หอดที่ 5	อัตราารเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยของควรมีเลือด (n=5)	หอดที่ 1	หอดที่ 2	หอดที่ 3	หอดที่ 4	หอดที่ 5	อัตราารเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยของควรมีเลือด (n=5)	หอดที่ 1	หอดที่ 2	หอดที่ 3	หอดที่ 4	หอดที่ 5	อัตราารเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยของควรมีเลือด (n=5)
	0.38	35.28	39.52	38.08	37.00	38.64	37.70	5.24	9.48	18.72	19.28	9.20	12.38	36.00	36.92	39.28	39.72	40.52
0.75	9.12	5.16	6.44	5.50	3.80	6.00	21.28	20.36	16.18	15.60	15.82	17.85	9.00	7.64	7.64	7.30	7.10	7.74
1.25	6.60	5.48	4.28	3.84	2.58	4.56	2.78	2.94	4.34	3.34	1.92	3.06	0.48	1.00	1.34	1.90	1.98	1.34
1.75	1.08	1.08	0.86	0.82	1.32	1.03	0.72	0.90	3.02	1.88	1.18	1.54	4.38	4.20	2.64	2.20	1.32	2.95
2.25	0.88	1.64	0.52	0.84	0.96	0.97	0.44	0.56	0.42	0.08	0.48	0.40	1.62	0.90	1.50	1.06	2.26	1.47
2.75	4.08	3.56	3.02	2.42	3.34	3.28	3.24	4.72	3.46	4.02	5.24	4.14	3.50	4.44	3.82	3.86	3.60	3.84
3.50	0.42	0.05	0.16	0.24	0.45	0.26	0.43	0.48	0.33	0.36	0.32	0.38	0.80	0.72	1.22	2.11	1.46	1.26
4.50	1.45	1.19	1.12	1.72	1.52	1.40	1.28	1.15	2.00	1.34	1.13	1.38	1.72	1.80	1.83	2.52	1.88	1.95
5.50	0.91	0.17	0.60	0.06	0.43	0.43	0.43	0.92	0.01	0.65	0.52	0.51	0.81	0.85	1.15	1.22	0.97	1.00
7.00	1.68	1.91	2.24	2.50	2.61	2.18	1.96	2.27	2.30	2.29	2.55	2.27	2.30	2.10	1.95	1.70	2.08	2.03
9.00	0.83	0.58	1.02	1.07	1.18	0.93	0.40	1.23	1.30	1.27	1.50	1.14	1.55	1.60	1.49	1.80	1.36	1.56
11.00	1.85	1.93	1.95	2.13	2.33	2.04	1.86	1.93	2.16	2.30	2.43	2.13	2.94	3.01	2.57	2.83	2.55	2.78
14.00	0.28	0.38	0.37	0.41	0.38	0.36	0.38	0.35	0.19	0.28	0.41	0.32	0.70	0.65	0.47	0.46	0.47	0.55
18.00	1.67	1.71	1.67	1.64	1.53	1.64	1.85	1.74	1.69	1.77	1.69	1.75	1.08	1.19	1.28	1.23	1.26	1.21
22.00	0.91	1.06	1.03	1.00	0.84	0.97	1.11	0.78	1.03	1.00	0.77	0.94	0.66	0.51	0.48	0.51	0.52	0.54
27.00	0.15	0.23	0.08	0.02	0.01	0.10	0.24	0.15	0.05	0.04	0.00	0.10	0.27	0.23	0.18	0.16	0.21	0.21
33.00	0.98	0.98	1.06	1.29	1.27	1.11	1.07	1.00	1.16	1.22	1.24	1.14	0.48	0.54	0.62	0.64	0.68	0.59
39.00	1.01	1.07	0.90	1.04	1.04	1.01	1.12	1.02	0.93	1.11	1.04	1.04	1.23	1.22	1.27	1.24	1.38	1.27
45.00	0.57	0.50	0.43	0.46	0.40	0.47	0.59	0.65	0.51	0.61	0.64	0.60	0.39	0.29	0.37	0.23	0.43	0.34

ตารางที่ 10 ค่าสีแดงของกราฟเลือดที่นำมาทำนยาจากอาสาสมัครจำนวน 15 คนเทียบกับอายุของกราฟเลือด

ระยะเวลา ที่ทำการ ถ่ายภาพ (Hours)	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 1	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 2	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 3	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 4	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 5	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 6	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 7	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 8	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 9	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 10	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 11	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 12	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 13	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 14	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 15	ค่าสีเฉลี่ย ของกราฟ เลือดที่อ่าน ได้ (n=15)
0.17							187.07	187.13			203.65	204.17	206.18	204.17	205.82	198.16
0.25	193.32	188.91	195.71	195.63							203.07	202.78	204.35	202.64	204.23	198.40
0.33							186.40	185.59			204.22	203.85	206.01	203.47	205.19	197.59
0.42									201.51	194.71	201.19	200.30	201.95	200.39	200.42	199.82
0.50	188.13	186.83	201.37	196.51							201.97	203.32	204.61	201.34	202.31	197.96
0.67							186.58	187.38			192.56	191.87	194.41	191.55	191.31	190.33
0.83			188.27	187.13					189.36	185.92	190.13	189.21	192.14	189.31	189.10	188.82
1.00	179.60	174.89					185.36	185.66			190.19	188.88	191.21	188.84	188.88	185.49
1.25			184.94	184.49					186.38	182.72	188.46	186.76	188.89	187.20	186.66	186.11
1.50	178.77	175.87			192.24						187.43	185.71	187.86	186.11	185.70	185.50
1.67							181.52	181.55			193.94	192.46	194.41	192.63	192.54	188.82
1.75			178.89	179.25							188.58	186.63	190.28	187.48	187.14	184.67
2.00	177.05	173.64									186.08	184.12	186.78	185.49	184.52	181.63
2.08									184.59	181.17	192.39	190.86	192.98	191.59	190.84	188.41
2.33			180.88	181.12			182.28	182.59			192.59	191.16	193.14	191.75	190.87	186.81
2.50	176.50	177.09									190.58	188.67	190.79	189.86	189.33	184.95
2.92									186.25	182.85	188.14	185.96	188.44	187.27	186.08	186.19
3.00	174.70	169.14	180.45	180.69	185.79	185.00					189.65	187.80	189.99	188.87	188.17	183.30
3.33							183.90	183.99			187.94	185.50	188.12	186.97	186.05	185.80
3.75									184.85	181.39	188.47	185.93	188.50	187.41	186.34	185.75
4.00	173.17	168.39	177.69	177.71							182.79	180.38	183.21	181.56	180.61	177.98

ตารางที่ 10 ค่าสีแดงของกราฟเลือดที่นำมาทำนายนายจากอาสาสมัครจำนวน 15 คนเทียบกับอายุของกราฟเลือด (ต่อ)

ระยะเวลา ที่ทำการ ถ่ายภาพ (Hours)	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 1	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 2	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 3	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 4	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 5	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 6	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 7	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 8	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 9	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 10	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 11	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 12	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 13	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 14	ค่าสีที่อ่าน ได้จาก ตัวอย่างที่ 15	ค่าเฉลี่ย ของกราฟ เลือดที่อ่าน ได้ (n=15)
4.33						176.09	176.25				189.50	187.31	189.85	188.26	187.57	183.88
5.00	175.15	169.80									188.18	186.12	188.40	187.09	186.68	181.74
5.33						174.92	175.29				187.07	184.27	187.12	185.90	185.21	181.86
5.42									184.10	180.68	187.98	185.82	188.37	186.90	186.52	185.34
6.00	174.19	172.11	178.49	178.78	187.81	186.83					180.56	178.35	180.98	179.40	178.48	179.64
6.33						175.96	176.21				185.72	183.34	185.79	184.67	183.31	181.39
7.08									181.84	178.49	183.40	180.52	183.14	181.97	181.09	181.33
8.00	169.70	166.08									187.07	184.94	186.89	185.91	184.79	179.16
8.33						176.53	176.64				177.22	174.61	177.35	176.08	167.66	175.33
8.75									180.83	177.62	181.77	179.19	181.81	180.66	179.73	180.10
9.00											185.57	183.11	185.53	184.40	183.40	178.96
10.00	166.54	164.08									184.90	182.35	184.83	183.51	182.52	176.75
10.33						168.42	168.81				184.46	182.07	184.80	183.34	182.09	177.83
12.00	172.46	166.38									184.90	182.78	184.79	183.79	182.55	178.38
12.08									180.54	177.41	185.37	183.39	184.99	184.77	183.10	182.32
12.33						175.96	175.91				184.53	182.31	184.60	183.65	182.22	180.64
13.00											183.62	181.47	183.63	182.81	181.37	178.11
15.00					179.62	179.12					181.09	178.45	180.97	180.50	178.68	179.73
15.42									178.08	175.26	182.02	179.30	182.05	181.23	182.02	179.58
16.00	170.16	169.86									180.82	178.20	180.90	179.75	178.51	176.03
16.33						171.65	171.82				180.50	177.86	180.61	179.93	178.09	176.52
18.00											181.32	178.46	181.16	180.21	179.12	178.34
18.75									175.28	172.47	181.89	178.86	181.82	180.87	179.59	178.08

ตารางที่ 10 ค่าสัมประสิทธิ์ของคราบเลือดที่นำมาทำนายอายุจากอาสาสมัครจำนวน 15 คนเทียบกับอายุของคราบเลือด (ต่อ)

ระยะเวลา ที่ทำการ ถ่ายภาพ (Hours)	ค่าสัมบูรณ์ ได้จาก ตัวอย่างที่ 1	ค่าสัมบูรณ์ ได้จาก ตัวอย่างที่ 2	ค่าสัมบูรณ์ ได้จาก ตัวอย่างที่ 3	ค่าสัมบูรณ์ ได้จาก ตัวอย่างที่ 4	ค่าสัมบูรณ์ ได้จาก ตัวอย่างที่ 5	ค่าสัมบูรณ์ ได้จาก ตัวอย่างที่ 6	ค่าสัมบูรณ์ ได้จาก ตัวอย่างที่ 7	ค่าสัมบูรณ์ ได้จาก ตัวอย่างที่ 8	ค่าสัมบูรณ์ ได้จาก ตัวอย่างที่ 9	ค่าสัมบูรณ์ ได้จาก ตัวอย่างที่ 10	ค่าสัมบูรณ์ ได้จาก ตัวอย่างที่ 11	ค่าสัมบูรณ์ ได้จาก ตัวอย่างที่ 12	ค่าสัมบูรณ์ ได้จาก ตัวอย่างที่ 13	ค่าสัมบูรณ์ ได้จาก ตัวอย่างที่ 14	ค่าสัมบูรณ์ ได้จาก ตัวอย่างที่ 15	ค่าเฉลี่ย ของคราบ เลือดที่อ่าน ได้ (n=15)
20.00	165.40	160.86								181.07	177.80	180.85	179.73	178.34	173.40	
20.33						171.02	170.83			181.47	178.00	180.41	179.88	178.38	176.37	
21.00					182.51	181.74				175.49	172.04	174.95	174.41	173.09	177.05	
22.08									173.71	179.76	176.57	179.02	178.59	177.03	176.12	
24.00	162.88	162.90	174.91	175.83						181.12	178.17	180.26	179.80	178.11	174.31	
24.33							168.08	167.81		180.22	177.01	179.24	178.48	177.28	174.51	
28.75									174.21	179.87	176.03	178.50	178.25	176.68	175.87	
30.00	164.09	160.36			174.82	173.76				177.98	174.50	176.38	176.23	174.54	172.09	
30.33							167.79	167.61		177.91	174.22	176.50	175.99	174.42	172.77	
31.00			171.84	172.41						177.86	174.28	176.43	176.09	174.55	174.45	
35.42									171.74	177.66	174.37	176.82	176.23	174.52	173.92	
36.00	168.16	160.71								180.06	176.15	178.45	178.19	176.53	172.83	
36.33							169.97	169.75		165.51	161.36	164.05	163.96	162.12	165.82	
39.00			172.02	172.65	184.12	183.24				178.16	174.70	177.04	176.32	174.62	177.09	
42.00	160.44	166.03								177.20	173.57	175.89	175.80	173.50	170.71	
42.09									171.22	178.70	175.21	177.51	177.03	175.33	174.29	
42.33						166.76	166.43			179.08	175.75	178.44	177.85	175.89	173.35	
48.00	162.71	156.44	167.11	168.08						176.16	173.44	176.07	175.36	173.05	169.20	

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	ภัทราริป เลาหบุตร
วัน เดือน ปี เกิด	21 เมษายน 2535
สถานที่เกิด	ราชบุรี
วุฒิการศึกษา	ปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต (สาขาเทคนิคการแพทย์) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล
ที่อยู่ปัจจุบัน	225/7 หมู่ 3 หมู่บ้านตั้งสุขวิลล่า ต.เบิกไพร อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี 70110

