การตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดบนผิวดินโดยวิธีทดสอบด้วยลูมินอล

โดย
นางสาวสุวรรณหงษ์ ธรรมวรรณา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2561
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดบนผิวดินโดยวิธีทดสอบด้วยลูมินอล

โดย
นางสาวสุวรรณหงษ์ ธรรมวรรณา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2561
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

EXAMINATION OF PERSISTENCE OF BLOOD STAINS ON SOIL SURFACES BY THE METHOD OF LUMINOL TEST

By

MISS Suwannahong THUMWANNA

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for Master of Science (FORENSIC SCIENCE)

Graduate School, Silpakorn University

Academic Year 2018

Copyright of Graduate School, Silpakorn University

หัวข้อ	การตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดบนผิวดินโดยวิธีทดสอบด้วยลูมินอล
โดย	สุวรรณหงษ์ ธรรมวรรณา
สาขาวิชา	นิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	อาจารย์ ดร. ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.จุไรรัตน์ นันทานิช)

พิจารณาเห็นชอบโดย

..... ประธานกรรมการ
(อาจารย์ ดร. ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(อาจารย์ ดร. ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี)

..... ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ยุภาพร สมีน้อย)

60312313 : นิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
คำสำคัญ : ทดสอบด้วยเทคนิคมาตรฐานลูมินอล , รอยเลือดบนผิวดิน

นางสาว สุวรรณหงษ์ ธรรมวรรณา: การตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดบนผิวดินโดยวิธีทดสอบด้วยลูมินอล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : อาจารย์ ดร. ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดบนผิวดิน โดยวิธีทดสอบด้วยลูมินอล การทดลองนำเลือดมนุษย์มาเจือจางในอัตราส่วนต่างๆ จนกระทั่งความเข้มข้นต่ำสุด 1:1,000,000 โดยปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำเลือด และเลือดที่เจือจางหยดลงบนผิวดินเหนียว และดินทราย และนำไปเก็บไว้ 3 สภาวะ แบ่งออกเป็น สภาวะที่อยู่กลางแดด สภาวะอยู่ในร่ม และสภาวะที่ดินเปียก เก็บไว้นานทั้งสิ้น 18 วัน และในทุก ๆวันก็นำออกมาตรวจด้วยวิธีลูมินอล จากผลการทดลองพบว่าสามารถตรวจพบเลือดที่เจือจางที่สุดได้ชัดเจนบนดินเหนียวและดินทราย เพียง 2 วันหลังหยดเลือด อย่างไรก็ตามในตัวอย่างเลือดที่อัตราส่วนเจือจาง 1:100 โดยปริมาตร สามารถตรวจพบคราบเลือดได้ชัดเจนในดินเหนียวเมื่อเปรียบเทียบกับคราบเลือดในดินทราย โดยพบว่าในสภาวะที่เก็บไว้ในร่มคราบเลือดที่หยดลงบนดินเหนียวสามารถตรวจพบอย่างชัดเจนได้นานถึง 13 วัน ในขณะที่คราบเลือดที่หยดลงบนดินทรายตรวจพบคราบเลือดที่มองเห็นอย่างชัดเจนเพียง 9 วันเท่านั้น จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าวิธีดังกล่าวสามารถนำมาประยุกต์ในตัวอย่างเลือดที่เจือจางและสามารถใช้ในตัวอย่างจริงทางนิติวิทยาศาสตร์ได้

มหาวิทยาลัยศิลปากร

60312313 : Major (FORENSIC SCIENCE)

Keyword : Tested with standard luminol techniques, Blood on the surface

MISS SUWANNAHONG THUMWANNA : EXAMINATION OF PERSISTENCE OF BLOOD STAINS ON SOIL SURFACES BY THE METHOD OF LUMINOL TEST THESIS ADVISOR : SUPACHAI SUPALAKNARI, Ph.D.

The aim of this research was to examine the persistence of blood stains on soil surfaces by the method of luminol test. Initially, serial dilutions of blood samples were made in distilled water to the dilution of 1:1,000,000 V/V before applying onto clay and sandy soil surfaces. Samples of blood stains were kept at three different conditions namely under the sun, indoors, and on the wet surface for one day to 18 days and were taken for testing after each day. It was found that the blood stains at the lowest concentration on clay and sandy soil can only clearly be detected after 2 days. However, for the blood samples of 1:100 dilution, better results were obtained on clay soil as compared to that on the sandy soil surfaces. On clay soil sample kept indoors, the blood stains can be readily clearly detected even on the samples aged 13 days while the blood stains on sandy soil were clearly detectable only on samples aged less than for 9 days. The results demonstrated that the method developed in this study may be used to detect blood stains on soil surfaces in authentic forensic samples.

มหาวิทยาลัยศิลปากร

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ดี เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์จากบุคคลหลายท่าน หลากหลายหน่วยงานที่ให้การช่วยเหลือและอำนวนความสะดวกในด้านต่าง ๆ

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี, อาจารย์ ดร. ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง ที่ได้ให้ความกรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาให้ทั้งด้านคำแนะนำ ความช่วยในทุก ๆ ด้าน ตรวจทานแก้ไขในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เพื่อให้มีความถูกต้องและเรียบร้อย และสมบูรณ์กับงานวิจัยฉบับนี้ขอกราบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณพนักงานห้องปฏิบัติการทดลอง ณ มหาวิทยาลัยศิลปากร นครปฐม ทุกท่านที่ให้ความร่วมมือและช่วยเหลือในการจัดหาอุปกรณ์การทดลอง สารเคมี จนจบสิ้นงานวิจัย

สุดท้ายผู้วิจัยขอขอบพระคุณ บิดา มารดา ครอบครัว อาจารย์ เพื่อน ที่ช่วยเหลือและให้กำลังใจจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุวรรณหงษ์ ธรรมวรรณา

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญรูป ..... ญ

บทที่ 1 บทนำ 1

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

วัตถุประสงค์ของการวิจัย 3

สมมติฐานของการศึกษา 3

ขอบเขตการศึกษา 3

ข้อจำกัดการวิจัย 4

ประโยชน์ที่ได้รับ 4

นิยามศัพท์ 4

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 5

ความสำคัญของนิติวิทยาศาสตร์ 5

วัตถุพยาน และการเก็บวัตถุพยาน 6

ความรู้เกี่ยวกับเลือด 7

การตรวจพิสูจน์คราบเลือด 9

Luminol 11

ทฤษฎีการเรืองแสง (Chemiluminescence) 13

ความรู้เกี่ยวกับดิน 13
องค์ประกอบของดิน 14
คุณสมบัติของดิน 15
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 19
งานวิจัยภายในประเทศ 19
งานวิจัยต่างประเทศ 19
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 21
สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย 21
การเตรียมเลือดเพื่อศึกษา 22
การทำการวิจัย 24
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล 25
บทที่ 5 สรุป อภิปราย และข้อเสนอแนะ 32
ข้อจำกัดการวิจัย 33
ข้อแนะนำในการทำวิจัย 33
รายการอ้างอิง 37
ประวัติผู้เขียน 39

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยและแหล่งที่มา.....21

ตารางที่ 2 สารเคมีที่ใช้ในการวิจัยและแหล่งที่มา.....21

ตารางที่ 3 สรุปผลการทดลองความคงอยู่ของคราบเลือดบนผิวดินที่เห็นชัดเจนมากที่สุด.....32

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 1 ส่วนประกอบของโลหิต (Composition of the blood) 7
รูปที่ 2 เม็ดเลือดแดง (Red blood cell) 8
รูปที่ 3 เซลล์เม็ดเลือดขาว (White blood cells) 9
รูปที่ 4 โครงสร้างทางเคมีของ Luminol 12
รูปที่ 5 โครงสร้างของสาร Luminol เมื่อทำปฏิกิริยากับเลือด 12
รูปที่ 6 โครงสร้างของสาร Luminol เมื่อทำปฏิกิริยากับเลือดและเกิดปฏิกิริยา Chemiluminescence 13
รูปที่ 7 ดินและคุณสมบัติของดิน 14
รูปที่ 8 แสดงชั้นดิน 16
รูปที่ 9 ดินสีน้ำตาลเข้มหรือสีดำ 17
รูปที่ 10 ดินสีเหลืองหรือสีแดง 18
รูปที่ 11 วิธีการเจือจางเลือดในอัตราส่วนต่าง ๆ ด้วยน้ำกลั่น 22
รูปที่ 12 แผนที่แสดงสถานที่เก็บดินทรายและดินเหนียว 23
รูปที่ 13 กระบะใส่ดิน 23
รูปที่ 14 การตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดบนผิวดินเหนียวภายใต้สภาวะที่อยู่กลางแดด 26
รูปที่ 15 การตรวจสอบความคงอยู่ของเลือดบนผิวดินเหนียวภายใต้สภาวะดินเปียก 27
รูปที่ 16 การตรวจสอบความคงอยู่ของเลือดบนผิวดินเหนียวภายใต้สภาวะที่อยู่ในร่ม 28
รูปที่ 17 การตรวจสอบความคงอยู่ของเลือดบนผิวดินทรายภายใต้สภาวะที่อยู่กลางแดด 29
รูปที่ 18 การตรวจสอบความคงอยู่ของเลือดบนผิวดินทรายภายใต้สภาวะที่ดินเปียก 30
รูปที่ 19 การตรวจสอบความคงอยู่ของเลือดบนผิวดินทรายภายใต้สภาวะที่อยู่ในร่ม 31

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันมีการก่อคดีอาญาในไทยมากขึ้นในไตรมาสที่สี่ปี 2561 คดีอาญารวมเพิ่มขึ้นร้อยละ 17.6 เช่น คดียาเสพติด คดีข่มขืน คดีชิงทรัพย์ ทำร้ายร่างกาย หรือคดีฆาตกรรม คดีดังที่กล่าวมานั้นผู้วิจัยขอยกตัวอย่าง คดีฆาตกรรม หลังจากเกิดเหตุการณ์นั้นในสถานที่เกิดเหตุมักจะพบร่องรอยหรือหลักฐานเสมอตามหลักการที่ว่าอาชญากรนั้นต้องทิ้งร่องรอยไว้เสมอ และสามารถพบร่องรอยของเลือดทั้งที่เห็นด้วยตาเปล่าหรือไม่เห็นด้วยตาเปล่า [35]

สถานที่เกิดเหตุ มักพบวัตถุพยานซึ่งสามารถใช้เป็นหลักฐานสำคัญเพื่อใช้พิสูจน์ความผิดของผู้กระทำ หรือเพื่อใช้สืบสวนหาอาวุธได้อย่างถูกต้องและรวดเร็ว คราบเลือดที่พบในสถานที่เกิดเหตุแม้จะมีเพียงเล็กน้อยก็สามารถนำมาดีเอ็นเอ (DNA) หรือลักษณะเฉพาะในแต่ละบุคคลได้

เลือดประกอบไปด้วยฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) เป็นส่วนประกอบในเม็ดเลือดแดง (Red blood cell) ทำหน้าที่นำออกซิเจนไปยังส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย ฮีโมโกลบินประกอบไปด้วยโพลีเปปไทด์ (Polypeptide) กับกลุ่มฮีม (Heme) ส่วนของฮีมจะมีพอไพริน (Pophyrin) ซึ่งจะจับอยู่กับเหล็ก (Fe^{+})

ปัจจุบันมีคดีฆาตกรรมหลายๆ คดีที่มีฆาตกรรมอำพลางศพเพื่อให้ผู้กระทำความผิดพ้นจากการถูกจับดำเนินคดีจึงทำการย้ายศพจากที่หนึ่งไปอีกที่หนึ่งที่มีเรื่องของดินเข้ามาเกี่ยวข้อง ดังนั้นจึงต้องมีการเข้าสู่สถานที่เกิดเหตุซึ่งเป็นหน้าที่ของเจ้าหน้าที่ตำรวจจากกองพิสูจน์หลักฐาน พนักงานสอบสวน ดำเนินการตรวจหาวัตถุพยานเมื่อเกิดเหตุฆาตกรรมต่าง ๆ สิ่งที่สำคัญอย่างหนึ่งที่ปรากฏในคดีอย่างหนึ่งคือเลือด เลือดจัดว่าเป็นชีววัตถุพยานที่สำคัญในการเชื่อมโยงที่เกิดเหตุ เชื่อมโยงผู้ต้องสงสัย อาวุธ และสถานที่เกิดเหตุ เลือดมีความพิเศษตรงที่เกาะติดพื้นผิวได้เกือบทุกชนิด และยึดติดนานเป็นปี ๆ ยากแก่การล้างทำความสะอาด และคงมีร่องรอยหลงเหลือ

การตรวจคราบเลือดในงานนิติวิทยาศาสตร์มีหลากหลายวิธีได้แก่ วิธี Phenolphthalein, Luminol และ Fluorescein ปัจจุบันใช้เป็นวิธีทดสอบเบื้องต้น ต่อจากนั้น Kastle ได้นำ Phenolphthalein เป็น Color indicator ในการตรวจ Hemoglobin ของเม็ดเลือดแดง ต่อมา Meyer พัฒนาการทดสอบซึ่งมีชื่อเรียกว่า Kastle-Meyer Test Meyer และ Specht เริ่มนำ Luminol ใช้ตรวจหาคราบเลือดบนวัตถุพยานที่พบในสถานที่เกิดเหตุ การตรวจคราบเลือดด้วยวิธีมาตรฐานลูมิ

นอล (Luminol) มีความจำเพาะและสามารถตรวจคราบเลือดที่เจือจางได้ จนกระทั้ง Grodsky พัฒนา Luminol โดยใช้ Sodium carbonate และ Sodium percarbonate ผสมน้ำกลั่นแต่สารดังกล่าวมีความเป็นพิษสูงและไม่สเถียร จนกระทั่ง Weber ปรับปรุงสูตรโดยใช้ Sodium hydroxide แต่สารละลายดังกล่าวต้องเก็บในที่เย็นและพ้นแสง แต่ยังมีข้อจำกัด คือ ต้องถ่ายภาพในที่มืด Joanne, Jonathan และ Terence ศึกษาและเปรียบเทียบเทคนิคการตรวจคราบเลือดทางนิติวิทยาศาสตร์ 5 วิธี ได้แก่ วิธี Luminol ที่เป็นสาร Chemiluminescent และวิธี Phenolphthalein (Kastle-Meyer), Leucomalachite green, Hemastix® และ Forensic light source ที่ไม่ใช่สาร Chemiluminescent จากการศึกษาพบว่าวิธี Luminol มีความไวและปลอดภัย และยังนำเลือดที่ผ่านการตรวจสอบนำมาตรวจสารพันธุกรรมต่อไปอีกได้ และวิธีทดสอบโดยวิธี Luminol ไม่ทำลายดีเอ็นเอ และยังพบว่า Fluorescein เป็นอีกวิธีที่ใช้ในการตรวจสอบเลือด การตรวจคราบเลือดด้วยวิธี Luminol นั้นจะเปล่งแสงสีฟ้าในที่มืดสนิทสามารถเห็นได้ด้วยตาเปล่าแต่วิธี Fluorescein ต้องใช้แหล่งกำเนิดแสง (Light source) ที่ความยาวคลื่น 450 nm และ Orange barrier

Jakovish ได้ทำศึกษาการตรวจ Short Tandem Repeat (STRs) analysis จากคราบเลือดบนพื้นพรมที่ผ่านการตรวจด้วยเทคนิค Luminol, Fluorescein และ BlueStar พบว่าการตรวจด้วยวิธีดังที่กล่าวข้างต้นไม่มีผลต่อการยับยั้ง Short Tandem Repeat (STRs) analysis

Ron Gabel และคณะ ได้ทำการศึกษาการตรวจหาเลือดในดินในระยะเวลา 6 ปี ด้วยเทคนิค Luminol ได้ศึกษาความเป็นไปได้ในการตรวจหาเลือดในดินตัวอย่างโดยกำหนดตารางขึ้นบนยอดเขาที่ประเทศสหรัฐอเมริกา ตารางมีขนาด 24*24 นิ้ว ซึ่งใช้เลือดม้าปริมาณ 500 มล. ซึ่งผู้ทำการทดลองได้ใช้เลือดม้าปริมาณ 500 มล. เทลงในตารางเป็นสัญลักษณ์รูปตัว X จำนวน 7 ตาราง จากการทดสอบฉีดด้วย Luminol พบว่าในหลุมดินที่มีระยะเวลา 4 เดือน และ 8 เดือนพบการเรืองแสงรูปตัว X และเมื่อครบกำหนด 6 ปียังพบการเรืองแสง

Ivanie Stene และคณะ ได้ทำการศึกษาการตรวจเลือดในดินในระยะเวลา 8 ปี เพื่อตรวจหาการเรืองแสงของลูมินอลที่ทำปฏิกิริยากับเลือด ผู้เขียนได้เริ่มศึกษาเพื่อตรวจสอบความเป็นไปได้ในการตรวจหาเลือดในดินตัวอย่างโดยกำหนดตารางขึ้นบนยอดเขาที่ประเทศสหรัฐอเมริกา ตารางตัวอย่างประกอบไปด้วยหน่วย ขนาด 24*24 นิ้ว ซึ่งใช้เลือดม้าปริมาณ 500 มล. ซึ่งผู้ทำการทดลองได้ใช้เลือดม้าปริมาณ 500 มล. เทลงในตารางเป็นสัญลักษณ์รูปตัว X ในแต่ละตาราง เพื่อทดสอบประสิทธิผลของการใช้ Luminol ผลการทดลองพบว่าเมื่อฉีด Luminol ลงบนผิวดินที่กำหนดไว้ยังสามารถพบการเรืองแสงจาก Luminol ที่ทำปฏิกิริยากับเหล็กในเลือดเมื่อเวลาผ่านไป 8 ปี

จากตัวอย่างงานวิจัยข้างต้นดินและสภาพอากาศมีความแตกต่างจากประเทศไทย สมควรแก่การนำมาประยุกต์ใช้ในการทดสอบการเจือจางเลือดในปริมาตรที่แตกต่าง คือ 1:100, 1:10,000 และ 1:1,000,000 โดยปริมาตร เทียบกับระยะเวลา สภาวะต่าง ๆ เช่น สภาวะที่อยู่กลางแดด สภาวะที่อยู่ในร่ม สภาวะที่ดินเปียก มีผลต่อร่องรอยของคราบเลือดหรือไม่ทดสอบด้วยวิธี Luminol

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดบนผิวดินในสภาวะที่แตกต่างกัน

เพื่อตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดบนผิวดินในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

เพื่อตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดบนผิวดินเมื่อทำการเจือจางเลือดในปริมาตรที่แตกต่างกัน

สมมติฐานของการศึกษา

การตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดบนผิวดินในสภาวะที่แตกต่างกันด้วยวิธี luminol สามารถทำให้คราบเลือดปรากฏได้ชัดเจน

การตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดบนผิวดินในระยะเวลาที่แตกต่างกันด้วยวิธี luminol สามารถทำให้คราบเลือดปรากฏได้ชัดเจน

การตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดบนผิวดินเมื่อทำการเจือจางเลือดในปริมาตรที่แตกต่างกันด้วยวิธี luminol สามารถทำให้คราบเลือดปรากฏได้ชัดเจน

ขอบเขตการศึกษา

1. ศึกษาดิน 2 ชนิด ได้แก่ ดินเหนียว ดินทราย

2. ดินเหนียว ถูกแบ่งออกเป็น 3 สภาวะ ได้แก่ สภาวะที่ดินเปียก สภาวะที่อยู่ในร่ม สภาวะที่อยู่กลางแดด

3. ดินทราย ถูกแบ่งออกเป็น 3 สภาวะ ได้แก่ สภาวะที่ดินเปียก สภาวะที่อยู่ในร่ม สภาวะที่อยู่กลางแดด

4. ตัวอย่างเลือดมนุษย์ที่นำมาเจือจางในอัตราส่วน (อัตราส่วนเลือด:น้ำ) 1:100, 1:10,000 และ 1:1,000, 000 โดยปริมาตร

5. ศึกษาความคงอยู่ของคราบเลือดบนผิวดินในสภาวะที่แตกต่างกัน

6. ศึกษาความคงอยู่ของคราบเลือดบนผิวดินในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

7. ศึกษาความคงอยู่ของคราบเลือดบนผิวดินเมื่อทำการเจือจางเลือดในปริมาตรที่แตกต่างกัน

8. การตรวจสอบคราบเลือดด้วยวิธี Luminol ภายหลังการหยดเลือดทิ้งไว้

ข้อจำกัดการวิจัย

1. การตรวจคราบเลือดด้วยวิธี Luminol มองเห็นได้ด้วยตาเปล่าในที่มืด
2. สารละลาย Luminol จะมีประสิทธิภาพดี หลังจากเตรียมสารและใช้งานภายใน 1-3 ชั่วโมง

ประโยชน์ที่ได้รับ

1. สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ เพื่อตรวจคราบเลือดบนผิวดินต่างชนิดกัน ที่พบในสถานที่เกิดเหตุอาชญากรรมได้
2. สามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่อตรวจสอบคราบเลือดที่ถูกเจือจางในอัตราส่วนต่าง ๆ ได้

นิยามศัพท์

1. Chemiluminescence หมายถึง ปลดปล่อยแสง โดยมาจากการกระตุ้นปฏิกิริยาทางเคมี
2. Hemoglobin หมายถึง โปรตีนที่มีความสำคัญในเม็ดเลือดแดงช่วยนำออกซิเจนไปเลี้ยงเซลล์ต่าง ๆ ของร่างกาย
3. ดิน วัตถุตามธรรมชาติมีที่มาจากการผุพังของซากพืชซากสัตว์และหินกับแร่ธาตุต่าง ๆ ผสมรวมกันจนเป็นเนื้อเดียวกัน มีลักษณะร่วนไม่เกาะกันแข็งเป็นหิน ปกคลุมอยู่บนพื้นผิวโลกเป็นชั้นบาง ๆ
4. Luminol หมายถึง สารเคมีที่สามารถพบร่องรอยของเลือดได้ เพื่อหาร่องรอยของเลือด เลือดที่ถูกชะล้างไปแล้ว

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ความสำคัญของนิติวิทยาศาสตร์

นิติวิทยาศาสตร์ คือ การนำศาสตร์ความรู้ทางวิทยาศาสตร์ เช่น ฟิสิกส์ เคมี ชีววิทยา คอมพิวเตอร์ และกีฏวิทยา ประยุกต์ใช้เก็บและพิสูจน์หลักฐาน วัตถุพยาน เพื่อพิสูจน์ข้อเท็จจริงในคดี เพื่อนำไปบังคับใช้กฎหมาย และลงโทษในคดีอาญาตามกระบวนการยุติธรรม ดังนั้นจึงมีการนำความรู้ทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีต่าง ๆ มาพิสูจน์หลักฐานทางนิติวิทยาศาสตร์

1. การตรวจทางฟิสิกส์ (Forensic physics) เป็นการตรวจวิเคราะห์ทางกายภาพและด้านคุณภาพ เพื่อเปรียบเทียบวัตถุพยาน เช่น ชิ้นส่วนยานยนต์ หิน ดิน ทราย เป็นต้น
2. การตรวจทางเคมี (Forensic chemistry) งานพิสูจน์ทางเคมี เป็นการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านปริมาณ วัตถุพยานของแข็ง ของเหลว แก๊ส และวัตถุมีพิษ ยาเสพติด เขม่าดินปืน เป็นต้น
3. การตรวจทางชีววิทยา (Biological trace evidence) งานตรวจทางชีววิทยาตรวจวัตถุพยานที่มาจากสิ่งมีชีวิต เช่น คราบเลือด คราบอสุจิ คราบน้ำลาย เส้นผม สารพันธุกรรม เป็นต้น
4. การตรวจทางนิติเวช (Forensic medicine) วิชาแพทย์สาขาหนึ่งที่นำเอาทุกสาขามาประยุกต์กับกระบวนการยุติธรรม โดยแยกออกเป็นหลายสาขาย่อย ได้แก่ พิษวิทยา นิติเวชคลินิก นิติดิจิตอล นิติจิตเวชศาสตร์ และกฎหมายที่เกี่ยวข้องกับการแพทย์ เป็นต้น
5. การตรวจสถานที่เกิดเหตุ และการถ่ายรูป (Crime scene investigation and forensic)

ในประเทศไทยเป็นหน้าที่ของเจ้าหน้าที่ตำรวจ ทำงานร่วมกับพนักงานสอบสวน เพื่อตรวจหาวัตถุพยานร่วมกับเจ้าหน้าที่ตำรวจกองพิสูจน์หลักฐานในคดี อาชญากรรม หรือกรณีมีการตายเกิดขึ้น

6. การตรวจเอกสาร (Document) เช่น ลายมือเขียน ลายเซ็น เป็นต้น
7. การตรวจลายพิมพ์นิ้วมือ ฝ่าเท้า ฝ่ามือ (Fingerprint palm print and footprint)
8. การตรวจอาวุธปืน และกระสุนปืนของกลาง (Forensic ballistics)

วัตถุพยาน และการเก็บวัตถุพยาน

วัตถุพยาน หมายถึง พยานหลักฐานเชิงวัตถุที่สามารถจับต้องได้และสามารถเป็นพยานในชั้นศาล วัตถุพยานได้แก่ สารเคมี ศพ ยานยนต์ ภาพจากกล้อง เป็นต้น สถานที่ที่สามารถพบวัตถุพยาน เช่น สถานที่เกิดเหตุ ตัวผู้ตาย ผู้เสียหาย หรือตัวคนร้าย เป็นต้น

เมื่อมีอาชญากรรมเกิดขึ้นทั้งอาญาและแพ่งต้องนำตัวผู้กระทำผิดมาลงโทษตามกระบวนกรรมยุติธรรม ต้องมีการรวบรวมพยานหลักฐานให้สามารถพิสูจน์หลักฐานมายืนยันความบริสุทธิ์และความผิดที่ชัดเจน สามารถแบ่งวัตถุพยานแบ่งได้ ดังนี้

1. พยานเอกสาร หมายถึง เอกสารอ้างเป็นพยาน เช่น ภาพถ่าย เอกสารทางการแพทย์ เสียงที่บันทึก เป็นต้น

2. พยานบุคคล หมายถึง บุคคลเบิกความต่อศาล คำให้การจากพนักงานอัยการ พนักงานสอบ คำรับสารภาพความผิดจากจำเลย เป็นต้น

3. พยานวัตถุ หมายถึง วัตถุที่คู่ความอ้างถึงเพื่อเป็นพยาน แบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่

3.1 วัตถุพยานทั่วไป เป็นวัตถุที่ได้จากสิ่งไม่มีชีวิต เช่น อาวุธปืน รองเท้า พรม หมอน เป็นต้น

3.2 วัตถุพยานทางชีวภาพ เป็นวัตถุที่ได้จากสิ่งมีชีวิต เช่น เส้นขน คราบเลือด อสุจิ รอยมือ รอยเท้า เป็นต้น

4. ผู้ชำนาญการพิเศษ หมายถึง บุคคลมีความเชี่ยวชาญศาสตร์สาขาใดสาขาหนึ่ง เพื่อเบิกความโดยการให้ความเห็น ได้แก่ นักจิตวิทยาแพทย์ นักนิติวิทยาศาสตร์ นักพิษวิทยา เป็นต้น เสื้อผ้า มีด เป็นต้น

ในคดีอาญาถือว่าวัตถุพยานทางชีววิทยา (Biological evidences) เป็นวัตถุพยานที่ได้มาจากสิ่งมีชีวิต หรือมีชีวิตมาก่อน เช่น เส้นขน เส้นผม คราบเลือด คราบอสุจิ รอยเท้า รอยนิ้วมือ เป็นต้น ซึ่งวัตถุพยานทางชีววิทยา สามารถแสดงความสัมพันธ์กับเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นกับผู้เสียหาย ผู้ต้องหา การเก็บพยาน การส่งหลักฐาน ต้องมีความต่อเนื่องของการครอบครองวัตถุพยาน (Chain of custody) เพื่อประโยชน์ในการสืบสวน และสอบสวนหาตัวผู้เสียหาย ผู้กระทำผิด ผู้ต้องหา

หลักความต่อเนื่องการรักษาวัตถุพยาน (Chain of custody) คือความต่อเนื่องของวัตถุพยานที่บันทึก บุคคลที่ครอบครองวัตถุพยาน เป็นลำดับลายมือชื่อที่ผ่านจากบุคคลโดยมีหลักการดังนี้

1. การจัดการ (Talking) โดยระบุวัน เดือน ปี เวลาเก็บตัวอย่าง วาดแผนผังรายละเอียดต่าง ๆ ของวัตถุพยานนั้นจากสถานที่เกิดเหตุ

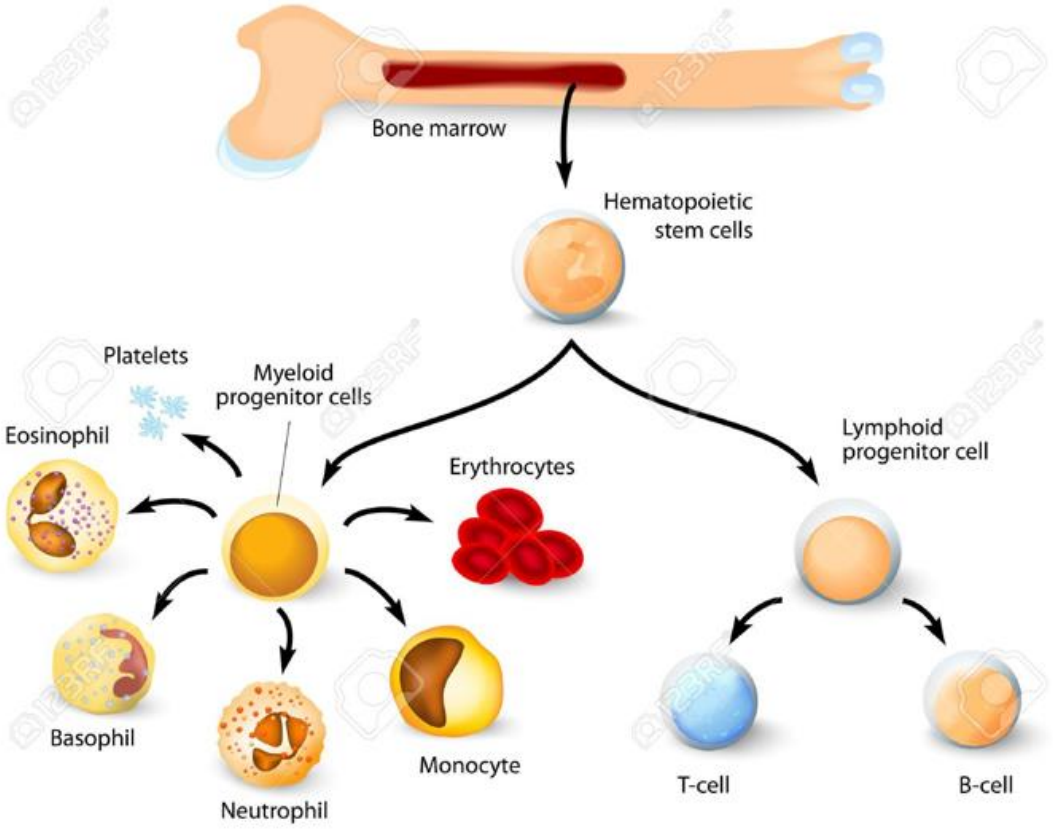
2. การเก็บ (Keeping) แสดงวิธีเก็บทางวิชาการ และจำกัดผู้เกี่ยวข้อง

3. การขนส่ง (Transporting) แสดงวัตถุพยาน การบรรจุหีบห่อ ติดฉลาก อย่างเหมาะสม

4. การส่งมอบ (Delivering) แสดงให้เห็นถึงของกลาง การส่งมอบ ระยะเวลารับและปิดผนึกของของกลาง และลงรายมือชื่อผู้รับ ผู้นำส่ง ทุกครั้ง

ความรู้เกี่ยวกับเลือด

เลือด (Blood) มีลักษณะสีแดงสด ทำหน้าที่เป็นตัวกลางระหว่างเซลล์ต่าง ๆ เลือดนำอาหารไปเลี้ยงเนื้อเยื่อต่าง ๆ ทั่วร่างกาย และของเสีย สารคัดหลั่งจากเนื้อเยื่อออกจากกระแสโลหิตไปยังอวัยวะเป้าหมายเพื่อกำจัดออกจากร่างกาย มนุษย์มีโลหิตประมาณ 7-8% ของน้ำหนักร่างกาย หรือ 5-6 ลิตร



รูปที่ 1 ส่วนประกอบของโลหิต (Composition of the blood)

ที่มา : Encyclopedia Britannica, Inc. Blood components. 2006 [cited 2016 11/08]; Available from http://kids.britannica.com/elementary/art-88528/Blood-is-made-up-of-red-blood-cells-white-blood

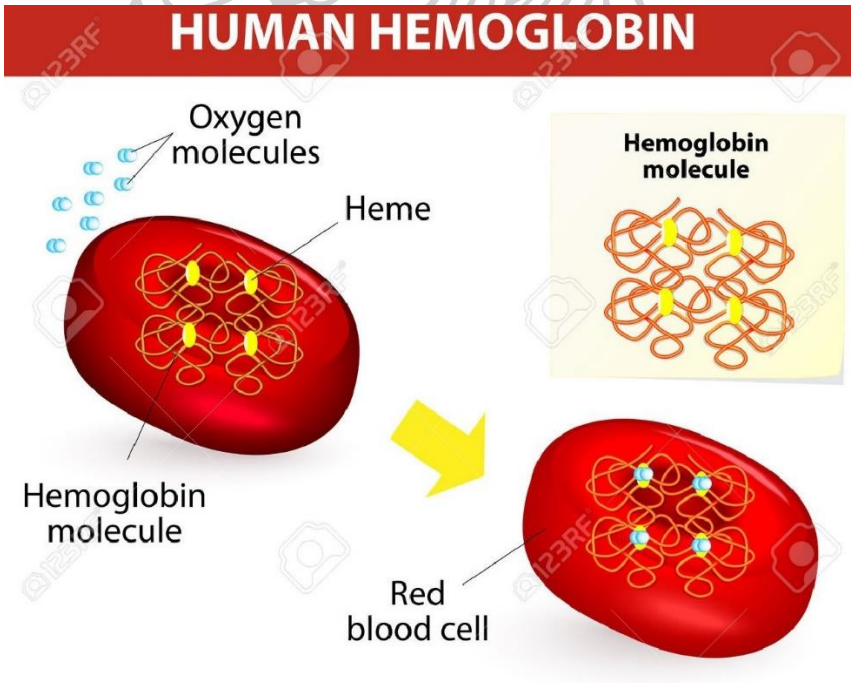
1. ส่วนประกอบของเลือด (Composition of the blood)

1.1 เซลล์เม็ดเลือด (Blood cell) ประกอบไปด้วย เซลล์เม็ดเลือดแดง (Red blood cells) เม็ดเลือดขาว (White Blood cells) และเกล็ดเลือด (Blood platelets) ในเพศชายมีเลือดประมาณ45% และเพศหญิง 42% ของน้ำหนักตัว

1.2 พลาสมา (Plasma) คือ ส่วนที่เป็นน้ำ หรือของเหลว ประมาณ 55% ประกอบด้วยน้ำ 90-92% โปรตีน 8-9% เกลืออินทรีย์ 0.9% สารอินทรีย์ แก๊ส และอื่น ๆ

2. ชนิดของเม็ดเลือด

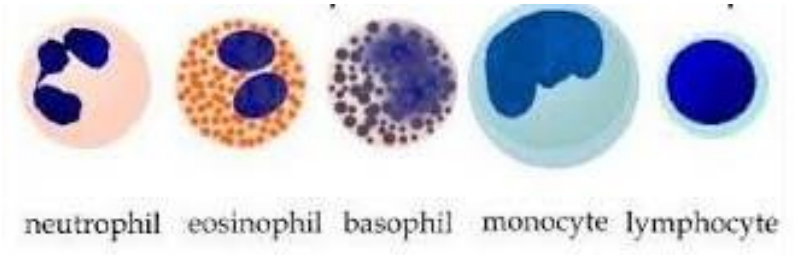
2.1 เม็ดเลือดแดง (Red blood cell) ลักษณะกลมแบน ตรงกลางเว้า 2 ด้าน (Biconcave disc) เส้นผ่านศูนย์กลาง 7-8 ไมโครเมตร หนา 2 ไมโครเมตร ผนังเซลล์ไม่แข็งยืดหยุ่นและเปลี่ยนรูปร่างได้เมื่อผ่านไปตามหลอดเลือด ไม่มีนิวเคลียส ประกอบไปด้วย ฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) ซึ่งมีธาตุเหล็ก (Fe^{2+}) เมื่อรวมกับ ออกซิเจน (O_2) กลายเป็นออกซีฮีโมโกลบิน (Oxyhemoglobin) ขนส่งออกซิเจนไปยังปอด เซลล์เม็ดเลือดแดงพบมาสุดในเลือด สร้างจากไขกระดูกแดง (Red bone marrow) มีอายุประมาณ 120 วัน เมื่อหมดอายุจะถูกทำลายที่ตับและม้าม



รูปที่ 2 เม็ดเลือดแดง (Red blood cell)

ที่มา: https://www.123rf.com/photo_88459000_stock-vector-red-blood-cell-with-hemoglobin-illustration-.html

2.2 เซลล์เม็ดเลือดขาว (White blood cells) มีนิวเคลียส (Nucleus) พบประมาณ 5,000-10,000 เซลล์ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตรของเลือด แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ Granulocytes เป็น specific granules ใน (Cytoplasm) มี 3 ชนิด ได้แก่ Neutrophil, Eosinophil และ Basophil ส่วนกลุ่ม Agranulocytes เป็นพวกไม่มี Specific granules ใน (Cytoplasm) ได้แก่ Lymphocyte และ Monocyte



รูปที่ 3 เซลล์เม็ดเลือดขาว (White blood cells)

ที่มา : https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcSd5m_qdP2KngblSmLvmbxSi0

2.3 เกล็ดเลือด (Blood platelet) กำเนิดมาจาก Megakaryocyte ที่อยู่ในไขกระดูกมีขนาดเล็ก รูปร่างเป็นแผ่นแบบนูนทั้ง 2 ด้าน มีความสำคัญในกระบวนการแข็งตัวของเลือด

การตรวจพิสูจน์คราบเลือด

การตรวจคราบเลือดแบ่งเป็นขั้นตอนดังนี้

1. ตรวจว่าเป็นคราบเลือดหรือไม่ โดยวิธี Benzidine, O-tolidine, Phenolphthalein, Leucomalachite green และ Luminol ตรวจว่าเป็นคราบเลือดหรือไม่ โดยวิธี Immunology ได้แก่ Precipitin test เป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจคราบเลือด โดยใช้หลัก แอนติบอดี้ (Antibody) จับกับแอนติเจน (Antigen) ผลการทดสอบถ้าเป็นเลือดมนุษย์จะมีตะกอนขาวขุ่น มีความไวสูง และไม่ให้ผลบวกกับเลือดสัตว์อื่น ยกเว้นลิง

2. ตรวจว่าเป็นคราบเลือดของใคร แบ่งออกเป็น 2 ประเภท ตรวจหาหมู่เลือด ตรวจเพื่อเปรียบเทียบดีเอ็นเอหรือสารพันธุกรรมสำหรับการเก็บและรักษาสภาพเลือดจากสถานที่เกิดเหตุ เช่น พรม พื้นดิน พื้นห้อง ฝาบ้าน เสื้อผ้า รองเท้า อาวุธ เป็นต้น วิธีเก็บตัวอย่างขึ้นอยู่กับลักษณะแวดล้อมต่าง ๆ ของคราบเลือด มีดังนี้

1. เลือดสด

1.1 ใช้ Dropper หรือ Syringe ดูดเลือด 5-10 ml. ใส่หลอดแก้ว มีสารป้องกัน

เลือดแข็ง เช่น Ethylene diamine tetra-acetic acid (EDTA), Heparin

1.2 ใช้ไม้พันสำลี หรือผ้าฝ้าย ซับเลือด ผึ่งให้แห้งนำใส่ซองกระดาษ

2. คราบเลือดแห้ง

2.1 คราบเลือดที่ติดอยู่บนวัตถุ เก็บสิ่งส่งตรวจทั้งชิ้น หากเป็นวัตถุขนาดใหญ่หรือคราบเลือดติดผนัง ใช้ของมีคมขูดออกหรือไม้พันสำลี ชุบน้ำกลั่นหมาดๆ นำส่งตรวจ

การตรวจคราบเลือดในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ที่น่าเชื่อถือนั้นมีหลายวิธีที่นิยมในปัจจุบัน สำหรับงานวิจัยนี้ ได้แก่ Luminol (3-Aminophthalhydrazide) สูตรเคมี คือ $C_8H_7N_3O_2$ เป็นสารเคมีผงที่มีคุณสมบัติเรืองแสง (Chemiluminescence)

การตรวจลักษณะทั่วไป

ลักษณะของคราบเลือดที่พบนำมาบอกพฤติการณ์ของรูปคดีบางอย่างได้จากลักษณะของร่องรอยคราบเลือด รูปร่างคราบเลือด รูปร่างหยดเลือด การกระเซ็นของเลือด หยดเลือดจะมีลักษณะกลม แต่ถ้าเกิดการเคลื่อนไหวขณะเกิดเหตุ เช่น การใช้ไม้ตีจะเกิดการสะบัดทำให้หยดเลือดมีรูปร่างเรียวทำให้ผู้วิเคราะห์สามารถบอก ทิศทางของเลือดได้ โดยทิศทางจะไปทางเดียวกับปลายเรียวของเลือด

ตำแหน่งของคราบเลือดบอกพฤติกรรม เช่น การเคลื่อนไหวของผู้บาดเจ็บจะทำให้คราบเลือดกระจายเป็นวงกว้างนองกับพื้น

ปริมาณของคราบเลือดสามารถบอกได้ว่าเกิดการฉีกขาดของเส้นเลือดขนาดใหญ่ เช่น ถ้าพบคราบเลือดปริมาณมาก แต่บาดแผลมีขนาดเล็กทำให้รู้ว่ามีการเคลื่อนย้ายศพจากที่หนึ่งมาอีกที่หนึ่ง ส่วนคราบเลือดตามผนังและประตูอาจจะเกิดจากการปะทะของผู้ร้ายและผู้บาดเจ็บ หรือเกิดจากการสัมผัสเลือดที่พื้น หรือร่องรอยการกระเซ็น

ความสัมพันธ์กับวัตถุแวดล้อม ตำแหน่ง ลักษณะ ตำแหน่ง การกระจายของรอยเลือดจะบอกความสัมพันธ์ระหว่างวัตถุ เช่น อาวุธ ที่ใช้ในการก่อเหตุ ทำให้บ่งชี้ตัวผู้ก่อเหตุได้ และทำให้ลำดับเหตุการณ์ และสถานการณ์ที่เกิดขึ้นได้ อีกทั้งทำให้สันนิษฐานได้ในกรณีที่ศพถูกย้ายจากที่หนึ่งมาอีกที่หนึ่ง และถ้าพบคราบเลือดเบาบางอาจจะแสดงได้ว่าผู้ถูกกระทำวิ่งมาพัก ณ ยังจุดนี้ การพิสูจน์คราบเลือดว่าเป็นของคนหรือสัตว์

การตรวจคราบเลือดด้วยกล้องจุลทรรศน์ สามารถตรวจได้ในกรณีคราบเลือดใหม่ สามารถนำมาดูขนาด รูปร่าง ของเม็ดเลือด โดยปกติคนจะมีรูปร่างเม็ดเลือดบุ๋มตรงกลาง (Biconcave) ไม่มีนิวเคลียส เส้นผ่านศูนย์กลาง 7.5 ไมครอน ขณะที่ กบ งู มีนิวเคลียสและรูปร่างมีลักษณะนูน

การตรวจคราบเลือดทางอิมมูโนวิทยา (Immunology) นิยมใช้ในปัจจุบัน อาศัยหลักการที่แอนติเจนกับแอนติบอดีจับกันที่ความจำเพาะทำให้เกิดตะกอนขาวขุ่น ถ้าเกิดเป็นเลือดมนุษย์จะเกิดตะกอนบริเวณรอยต่อของตัวอย่างเลือดที่สกัดออกมา

การตรวจคราบเลือดว่าเป็นของใคร

ตรวจได้จากคราบเลือด คือ การตรวจหา drum sticks จากเม็ดเลือดในเพศหญิง หรือการตรวจหา Chromosome Y ในเพศชาย สามารถหาได้ด้วยการย้อม quinacrine แต่มีข้อจำกัดคือ เลือดจะต้องมีอายุไม่เกิน 6 เดือน ถึงสามารถตรวจได้ถูกต้องมากกว่า 80%

ตรวจอายุคราบเลือดไม่สามารถบอกอายุของเจ้าของเลือดได้ แต่สามารถบอกได้ว่าเป็นเด็กหรือเป็นผู้ใหญ่ สำหรับเด็กแรกเกิดนั้นจะมีฮีโมโกลบินเอฟ (HbF) และจะลดลงเรื่อย ๆ เมื่ออายุถึง 2 ขวบ ซึ่งแตกต่างจากผู้ใหญ่จะมีฮีโมโกลบินเอ (HbA)

การตรวจคราบเลือดแม้เม็ดเลือดจะแตกแต่ยังคงหลงเหลือแอนติบอดีและแอนติเจนคงอยู่ในคราบเลือด จึงสามารถทำให้ตรวจวิธีต่าง ๆ ดังนี้ได้

Absorption-inhibition method หลักการคือแอนติเจนในคราบเลือดจับกับแอนติบอดีชนิดเดียวกัน ทำให้แอนติบอดีลดลง ทำให้เกิดการจับกันกับกลุ่มเม็ดเลือดที่เติมลงไปว่ามากหรือน้อยหรือไม่เกิดการจับกลุ่มขึ้นเลย

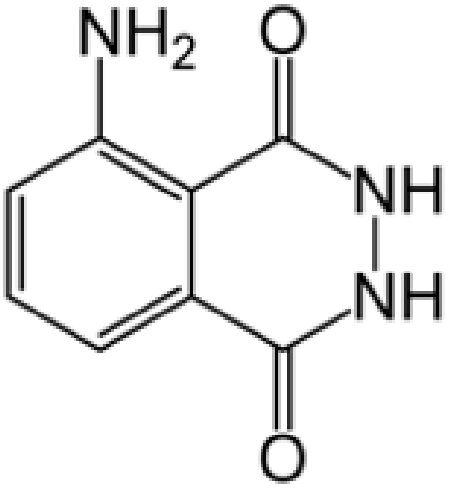
Absorption-elution method หลักการคือ แอนติเจนในคราบเลือดจับกับแอนติบอดี เมื่ออบที่ 56C° แอนติบอดีจะหลุดออกมาจึงนำไปทดสอบกับเม็ดเลือด

การตรวจหาแอนติบอดี A และ B โดยวิธี Lattes crust test ทำการทดสอบโดยการนำคราบเลือดขนาด 4x4 mm จำนวน 3 แผ่น บนสไลด์ A, B และ O ปิดด้วย cover slip เติม 0.2% suspensions ของ A, B และ O ใส่ moisture chamber ทิ้งไว้ 6 ชม. สังเกตการณ์จับกลุ่มของเม็ดเลือด

Luminol

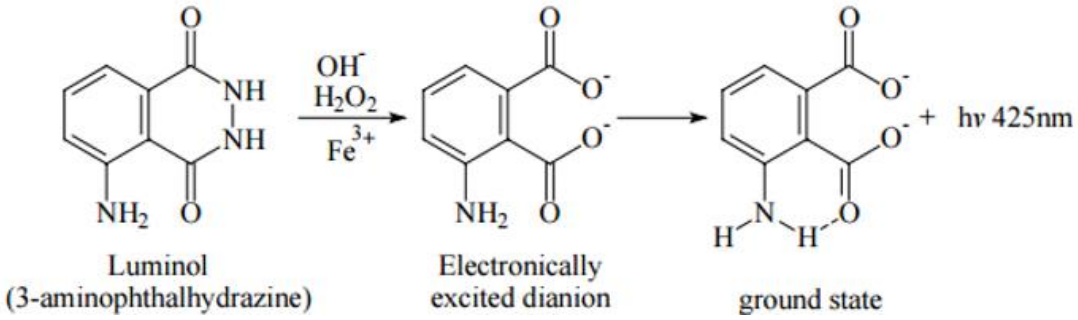
ในปี ค.ศ. 1937 Walter Specht เป็นผู้นำ Luminol (3-aminophthalhydrazide) ใช้ในวงการการตรวจเลือดในงานนิติวิทยาศาสตร์ เมื่อ Luminol เจอกับเลือดจะทำปฏิกิริยาเกิดเป็นแสงสีน้ำเงินเขียว ในปี ค.ศ.1951 Grodsky et al. นำ Luminol ผสมกับ Sodium carbonate, Sodium oerborate และน้ำกลั่นนำมาตรวจเลือด พบว่าไม่เสถียร และปี ค.ศ. 1966 weber นำเอาสูตร Luminol ของ Grodsky ผสมกับ Sodium perborate และ Hydrogen peroxide ค้นพบว่าสูตรนี้มีความเสถียรและเป็นที่ยอมรับมานานกว่า 40 ปี Luminol ทำปฏิกิริยากับเหล็ก (Fe^{2+}) ในเลือด สารละลาย Luminol เตรียมจาก Sodium hydroxide ทำให้ Luminol อยู่ในรูป Dianion แต่เมื่อเติม Hydrogen peroxide

(H_2O_2) ทำให้ได้ก๊าซออกซิเจน (O_2) ซึ่งทำปฏิกิริยากับ Luminol เกิดเป็นโครงสร้างที่ไม่สเถียร (Intermediate luminol) และเมื่อเกิดพลังงานสูงจึงปลดปล่อยพลังงานออกมาเป็นรูปแสงสีฟ้า มีความยาวคลื่น 425-454 nm ต้องใช้กล้องสำหรับถ่ายภาพตอนกลางคืน (Night-vision)



รูปที่ 4 โครงสร้างทางเคมีของ Luminol

ที่มา : Wikipedia. Luminol. [cited 2016 12/29]; Available from https://en.wikipedia.org/wiki/Phenolphthalein

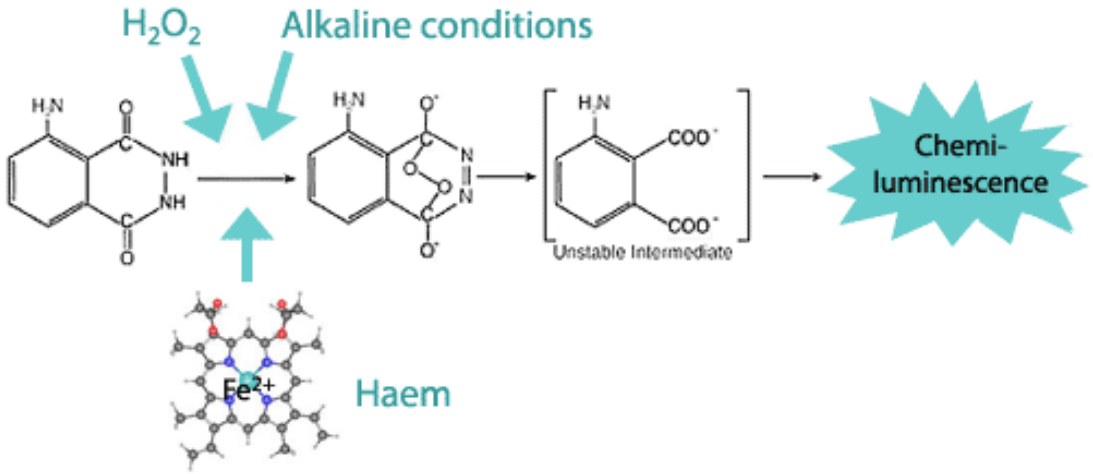


รูปที่ 5 โครงสร้างของสาร Luminol เมื่อทำปฏิกิริยากับเลือด

ที่มา : XII-Biotech-A-Blood Detection. Blood detection by chemical methods. [cited 2016 12/29]; Available from http://nzic.org.nz/ChemProcesses/biotech/12A.pdf

ทฤษฎีการเรืองแสง (Chemiluminescence)

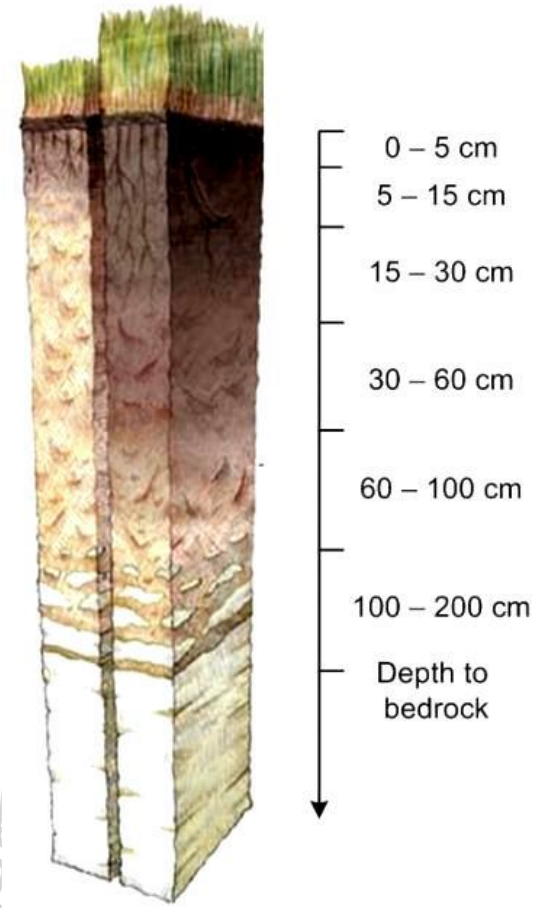
ทฤษฎีพื้นฐานของเคมิลูมิเนสเซนซ์ (Chemiluminescence) คือปรากฏการณ์ที่มีความเกี่ยวกับการเปล่งคลื่นแสง เป็นผลมาจากการทำปฏิกิริยาทางเคมีทำให้มีการเปลี่ยนแปลงพลังงานภายในของสารในผลิตภัณฑ์ทำให้อยู่ในสภาวะเร้า เมื่อสู่สภาวะพื้นจะมีการเปล่งแสงออกมา



รูปที่ 6 โครงสร้างของสาร Luminol เมื่อทำปฏิกิริยากับเลือดและเกิดปฏิกิริยา Chemiluminescence
ที่มา : https://www.bluestar-forensic.com/img/bluestar/iafs_reaction_gb.png

ความรู้เกี่ยวกับดิน

ดิน” หมายถึง วัตถุตามธรรมชาติที่มาจากผลของการผุพังสลายตัวของหินและแร่ต่าง ๆ ผสมรวมกับอินทรียวัตถุที่มาจากการย่อยสลายของซากพืชและสัตว์เป็นเนื้อเดียวกัน มีลักษณะร่วนไม่เกาะกันแข็งเป็นหิน ปกคลุมพื้นผิวโลกอยู่เป็นชั้นบาง ๆ ดินประกอบด้วย อนินทรียวัตถุ อินทรียวัตถุ น้ำ และอากาศ สมบัติที่สำคัญของดินแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่ สมบัติทางกายภาพ สมบัติทางเคมี สมบัติทางชีวภาพ และสมบัติด้านธาตุอาหารพืช ส่วนคุณสมบัติของดินที่เหมาะสาหรับการเพาะปลูกนั้นควรมีสัดส่วนของ อนินทรียวัตถุ : อินทรียวัตถุ : น้ำ : อากาศ เท่ากับ 45 : 5 : 25 : 25 [28]



รูปที่ 7 ดินและคุณสมบัติของดิน

ที่ ม า : www.spm38.go.th/home/attachments/article/1189/ห น่ ว ย ที่ % 201.pdf [cited 2016/12/29]

สรุปว่า ดิน หมายถึง วัตถุตามธรรมชาติมีที่มาจากการผุพังของซากพืชซากสัตว์และหิน แร่ต่าง ๆ ผสมกันจนเป็นเนื้อเดียวลักษณะร่วนไม่เกาะกันแข็งเป็นหิน ปกคลุมอยู่บนพื้นผิวโลกเป็นชั้น

องค์ประกอบของดิน

1. อนินทรียวัตถุ หรือ แร่ธาตุ ที่มีปริมาณมากที่สุดในดินทั่วไป (ยกเว้นดินอินทรีย์) ที่เกิดจากการสลายตัวของหินและแร่ อยู่ในดินมีลักษณะเป็นชิ้นส่วนเล็ก ๆ เรียกว่า อนุภาพดิน ซึ่งมีหลายรูปทรง และลักษณะที่แตกต่างกันไป สามารถแบ่งได้ 3 กลุ่ม 1) กลุ่มอนุภาคขนาดทราย (เส้นผ่าศูนย์กลาง 2.00-0.05 ม.ม.) 2) กลุ่มอนุภาคขนาดทรายแป้ง (เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.05-0.002 ม.ม.) และ 3)กลุ่มอนุภาคขนาดดินเหนียว (เส้นผ่าศูนย์กลาง < 0.002

ม.ม) อนินทรียวัตถุ หรือเรียกอีกอย่างว่า แร่ธาตุในดินนี้ เป็นส่วนที่สำคัญในการควบคุมลักษณะของเนื้อดิน และยังเป็นส่วนสำคัญที่ก่อให้เกิดกระบวนการทางเคมีที่แตกต่างกันในดินแต่ละชนิด

2. อินทรียวัตถุ อินทรียวัตถุในดิน หมายถึงส่วนของซากพืชและสัตว์ที่เกิดการสลายตัว เซลล์จุลินทรีย์ทั้งที่มีชีวิตและตาย หรือส่วนที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นใหม่ แต่ไม่รวมถึงซากสัตว์ที่ยังไม่ย่อยสลายและรากพืช อินทรียวัตถุมีอิทธิพลอย่างมากต่อสมบัติของดินด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพ เพราะสามารถบ่งบอกถึงโครงสร้างดิน ความร่วนซุย การระบายน้ำ การถ่ายเทอากาศ การดูดซับน้ำในดิน [28]

คุณสมบัติของดิน

“ชั้น O” หรือเรียกว่า ชั้นดินอินทรีย์ คือ ชั้นที่มีการสะสมอินทรียวัตถุทั้งที่มาจากพืชและสัตว์ ซึ่งส่วนใหญ่มักจะมาจากพืช

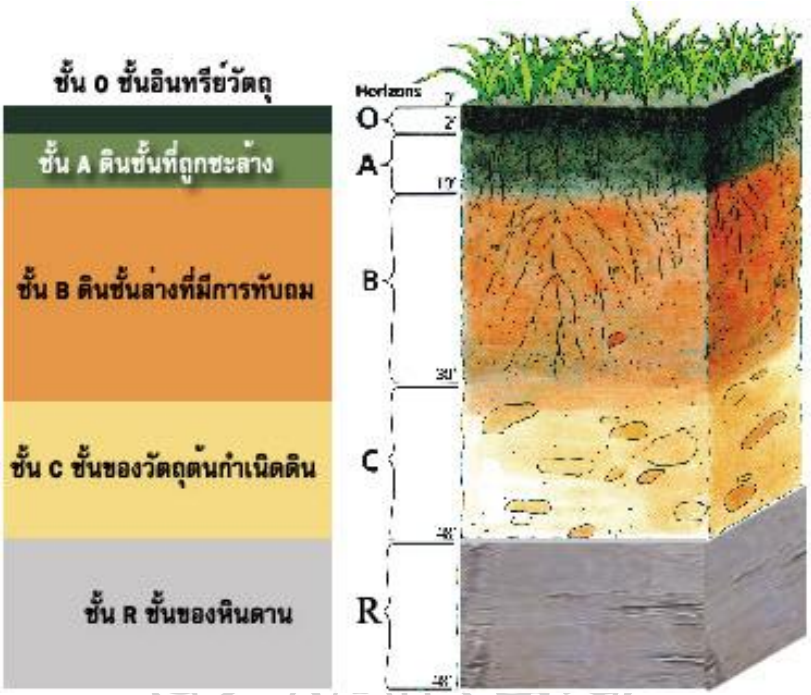
“ชั้น A” หรือ ชั้นดินบน ชั้นดินที่ประกอบด้วยอินทรียวัตถุที่สลายตัวแล้วผสมคลุกเคล้าอยู่กับแร่ธาตุในดิน มักมีสีคล้ำ

“ชั้น E” หรือ ชั้นชะล้างเป็นชั้นดินที่มีสีซีดจาง มีปริมาณอินทรียวัตถุน้อยกว่ากว่าชั้น A และมักจะมีเนื้อดินหยาบกว่าชั้น B ที่อยู่ตอนล่างลงไป

“ชั้น B” หรือ ชั้นดินล่างเป็นชั้นที่แสดงถึงการเคลื่อนย้ายมาสะสมของวัสดุต่าง ๆ เช่น อนุภาคดินเหนียว

“ชั้น C” หรือ ชั้นวัตถุต้นกำเนิดดิน เป็นชั้นของวัสดุที่เกาะตัวกันอยู่หลวมๆ อยู่ใต้ชั้นที่เป็นดิน ประกอบด้วยหินและแร่ที่กำลังผุพัง

“ชั้น R” หรือ ชั้นหินพื้นเป็นชั้นหินแข็งที่ยังไม่ผุพังสลายตัว อาจจะมีหรือไม่มีในหน้าตัดดินก็ได้

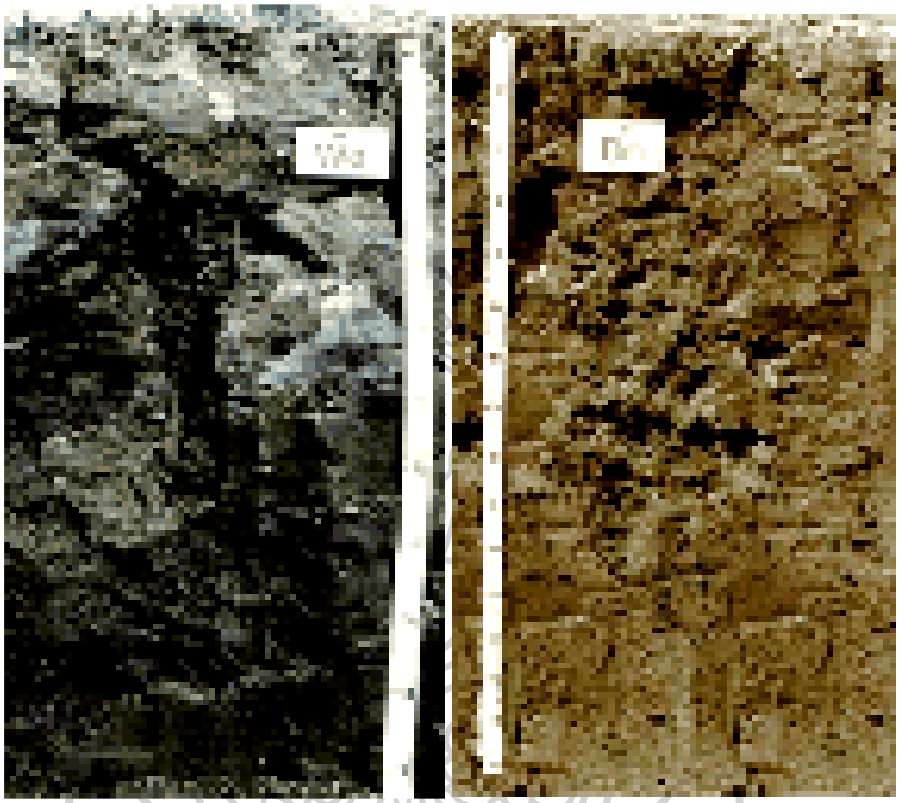


รูปที่ 8 แสดงชั้นดิน

ที่มา : Jakkaphan Nuntawong (2556), [cited 2016 12/29]; Available from http://119.46.166.126/digitalschool/science1_2_2/science14/page1_10.php

สีของดิน (color) สีดิน เป็นสมบัติของดินที่มองเห็นได้ชัดเจน เป็นคุณสมบัติที่สะท้อนถึงสภาพแวดล้อม กระบวนการเกิดดิน แร่ที่เป็นองค์ประกอบของดิน หรือวัสดุอื่น ๆ ที่อยู่ในดิน ทำให้ทราบถึงสมบัติทางเคมีและกายภาพของดินได้ เช่น การระบายน้ำ

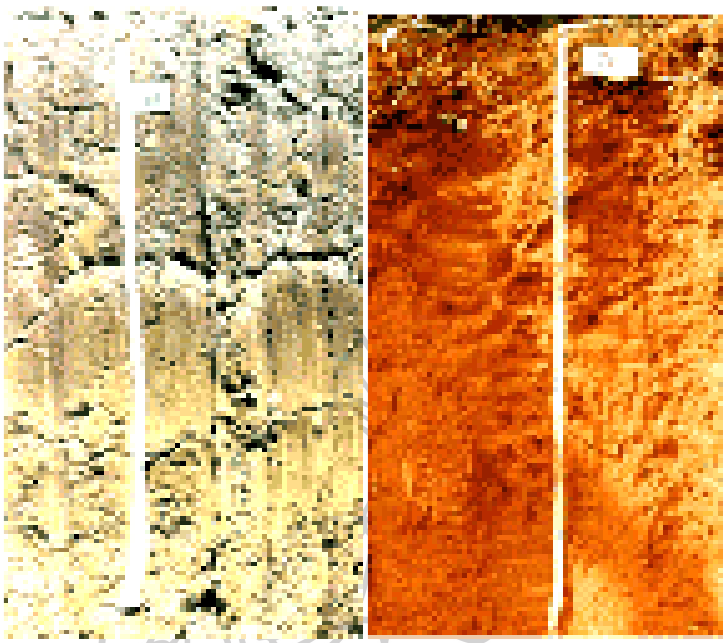
ดินสีน้ำตาลเข้มหรือสีดำ คือดินที่มีอินทรียวัตถุในดินมากที่เกิดจากการผุพังของหิน และแร่จึงมีสีเข้มและระบายน้ำไม่ดีนัก มีส่วนประกอบของแร่ธาตุ ซากพืช ซากสัตว์ เป็นดินที่ความอุดมสมบูรณ์สูง



รูปที่ 9 ดินสีน้ำตาลเข้มหรือสีดำ

ที่มา : สำนักสำรวจดินและวางแผนการใช้ที่ดิน กรมพัฒนาที่ดิน (มปป.)

ดินสีเหลืองหรือสีแดง คือดินที่มีอัตราการผุพังและย่อยสลายสูงมีพวกเหล็กออกไซด์เคลือบผิวมักอยู่ตามเนินเขา ที่ราบไหล่เขา ดินชนิดนี้ระบายน้ำดีถึงดีมาก



รูปที่ 10 ดินสีเหลืองหรือสีแดง

ที่มา : สำนักสำรวจดินและวางแผนการใช้ที่ดิน กรมพัฒนาที่ดิน (มปป.)

เนื้อดิน (texture) เป็นสมบัติที่บอกถึงความหยาบหรือละเอียดของเรียกว่า “อนุภาคของดิน” ขนาดใหญ่เรียกว่าอนุภาคขนาดทราย (2.0-0.05 มิลลิเมตร) ขนาดกลางเรียกว่าอนุภาคขนาดทรายแป้ง (0.05-0.002 มิลลิเมตร) และขนาดเล็กที่สุดคืออนุภาคดินเหนียว (< 0.002 มิลลิเมตร)

ดินทราย เป็นดินที่มีอนุภาคของเม็ดทรายมากถึงร้อยละ 85 โดยเกาะตัวกันอยู่อย่างหลวม ๆ มองเห็นเป็นเม็ดเดี่ยว ๆ มีความสามารถในการระบายน้ำและอากาศได้ดี

ดินเหนียว เนื้อดินมีอนุภาคดินเหนียวร้อยละ 40 เนื้อดินละเอียดสามารถปั้นเป็นก้อนและเส้นได้ มีความสามารถในการเก็บน้ำได้ดี

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยภายในประเทศ

เสาวรส ปุริมโน ศึกษาเปรียบเทียบการตรวจคราบเลือดที่เจือจางบนพื้นผิวรูพรุน และไม่มีรูพรุน โดยวิธี Phenolphthalein, Tetramethylbenzidine, Luminol และ BlueStar ทำการทดลองโดยนำเลือดมาเจือจางในอัตราส่วนต่าง ๆ จนถึงความเข้มข้นที่ 1:100,000,000 โดยปริมาตร จากนั้นหยดลงบนพื้นผิวทั้ง 2 ประเภทในอุณหภูมิห้อง ทิ้งไว้ 8 สัปดาห์ วิธี Tetramethylbenzidine และ Phenolphthalein สามารถตรวจคราบเลือดเจือจางได้ที่ความเข้มข้นสุดบนพื้นผิวรูพรุน คือ กระดาษ 80 แกรม ซองจดหมาย กระดาษร้อยปอนด์ ผ้าป่าน พรม และผ้าฝ้าย และในพื้นผิวไม่มีรูพรุน พบว่าวิธี Teramethylbenzidine มากกว่า Phenolphthalein บนผิวกระจก ไม้อัด และกระเบื้อง ในส่วนของ BlueStar ตรวจพบเลือดที่เจือจางได้มากกว่า Luminol

พินิตา กรทอง ศึกษาเปรียบเทียบการตรวจคราบเลือดโดยวิธี Kastle-Meyer, Luminol และ BlueStar® บนผิวรูพรุนและไม่มีรูพรุน พบว่าพื้นผิวพลาสติกและกระจกที่ไม่มีรูพรุน เมื่อหยดเลือดทิ้งไว้ให้แห้ง พบว่าเลือดไม่ยึดเกาะพื้นผิว เนื่องจากลื่น และเรียบ ส่งผลให้ตรวจคราบเลือดได้ไม่ดีนัก

งานวิจัยต่างประเทศ

Jonne, Jonathan และ Terence ศึกษาเปรียบเทียบ 5 เทคนิคในการตรวจสอบคราบเลือดในงานนิติวิทยาศาสตร์ ได้แก่ วิธี Luminol ที่เป็นสาร Chemiluminescent และวิธี Phenolphthalein (Kastle-Meyer), Leucomalachite green, Hemastix® และ Forensic light source ที่ไม่ใช่สาร Chemiluminescent พบว่า เทคนิค Luminol ไวต่อการตรวจสอบคราบเลือดที่สุด และปลอดภัย

Watkins และ Brown ศึกษาเทคนิคด้วยวิธี Luminol และ BlueStar® โดยเจือจางเลือดในอัตราส่วน 1:10, 1:100, 1:1,000, 1:5,000, 1:10,000, 1:50,000, 1:100,000 และ 1:1,000,000 โดยปริมาตร บนผ้าไม้อัด กระดาษ พรม กระเบื้องไวนิล ผนังทาสี ไม้ ผ้า หลังจากหยดเลือด และทิ้งให้แห้ง 10, 20 และ 30 วัน พบว่า ระยะเวลาที่ 30 BlueStar® มีประสิทธิภาพมากกว่าวิธี Luminol

Ron Gabel, Denver Police Department (CO), Sheri Shimamoto, Lakewood Police Department (CO), Ivanie Stene, Westminster Police Department (CO), and Tom Adair. ได้ทำการศึกษาการตรวจหาเลือดในดินในระยะเวลา 6 ปี ด้วยเทคนิค Luminol ได้ศึกษาความเป็นไปได้ในการตรวจหาเลือดในดินตัวอย่างโดยกำหนดตารางขึ้นบนยอดเขาที่ประเทศสหรัฐอเมริกา ตารางมีขนาด 24*24 นิ้ว ซึ่งใช้เลือดม้าปริมาณ 500 มล. ซึ่งผู้ทำการทดลองได้ใช้เลือดม้าปริมาณ 500 มล. เทลงในตารางเป็นสัญลักษณ์รูปตัว X จำนวน 7 ตารางจากการทดสอบฉีดด้วย Luminol

พบว่าในหลุมดินที่มีระยะเวลา 4 เดือน และ 8 เดือนพบการเรืองแสงรูปตัว X และเมื่อครบกำหนด 6 ปียังพบการเรืองแสง

Ivanie Stene, Sheri Shimamoto, Ron Gabel, Rich Tewes, Tom Adair. (2013) ได้ทำการศึกษาการตรวจเลือดในดินในระยะเวลา 8 ปี เพื่อตรวจหาการเรืองแสงของลูมินอลที่ทำปฏิกิริยากับเลือด ผู้เขียนได้เริ่มศึกษาเพื่อตรวจสอบความเป็นไปได้ในการตรวจหาเลือดในดินตัวอย่างโดยกำหนดตารางขึ้นบนยอดเขาที่ประเทศสหรัฐอเมริกา ตารางตัวอย่างประกอบไปด้วยหน่วย ขนาด 24*24 นิ้ว ซึ่งใช้เลือดม้าปริมาณ 500 มล. ซึ่งผู้ทำการทดลองได้ใช้เลือดม้าปริมาณ 500 มล. เทลงในตารางเป็นสัญลักษณ์รูปตัว X ในแต่ละตาราง เพื่อทดสอบประสิทธิผลของการใช้ Luminol ผลการทดลองพบว่าเมื่อขุดดินลึกลงไปและฉีด Luminol ลงในพื้นที่ที่กำหนดไว้ยังสามารถพบการเรืองแสงจาก Luminol ที่ทำปฏิกิริยากับเหล็กในเลือด

Lisa Dilbeck ทำการตรวจคราบเลือดบนผิววัตถุ 6 อย่าง พรม กระเบื้องเซรามิกและไวนิล ไม้ เสื้อ และเส้นใย ด้วยวิธี Luminol และวิธี Blue Star ทดลองโดยการหยดเลือดทิ้งไว้ 12 วัน หลังจากนั้นจึงนำวัตถุทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ ไม้ กระเบื้องไวนิลและกระเบื้องเซรามิก และพรมล้างและทำความสะอาดคราบเลือดที่เปื้อนออก อีก 2 ชนิดนั้น ผู้วิจัยได้นำรองเท้าที่เปื้อนเลือดวางบนเสื้อผ้าทั้ง 2 ชนิด และทิ้งไว้ให้แห้ง 8 นาที การทดสอบเริ่มจากเสื้อด้านในทดสอบด้วยเทคนิค Blue Star และเสื้อด้านนอกทดสอบด้วยเทคนิค Luminol ผลการทดสอบพบว่าทั้ง 2 วิธีนี้สามารถตรวจสอบคราบเลือดได้ที่สุดเท่า ๆ กัน

จากการศึกษาเอกสารและทบทวนงานวิจัยที่เกี่ยวข้องจะเห็นได้ว่างานวิจัยข้างต้นล้วนทำให้ดินบนยอดเขาสูงซึ่งมีหิมะปกคลุมตลอดปีและมีสภาพอากาศที่หนาวเย็น ซึ่งแตกต่างจากประเทศไทย ด้วยเหตุผลที่กล่าวมาข้างต้นจึงทำให้ผู้วิจัยเล็งเห็นว่าการนำมาทดสอบกับดินภายในประเทศไทยเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในด้านนิติวิทยาศาสตร์

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาเชิงทดลอง เพื่อตรวจสอบคราบเลือดด้วยวิธี Luminol โดยมีขั้นตอนและรายละเอียดในการดำเนินการวิจัยดังนี้

สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

ตารางที่ 1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยและแหล่งที่มา

สารเคมี	แหล่งที่มา
Luminol	Sigma-Aldrich Corporation
NaOH (Sodium hydroxide)	Merck Chemicals
3%hydrogen peroxide	Merck Schuchardt OHG
น้ำกลั่น	-
เลือดมนุษย์	ห้องปฏิบัติการกลาง โรงพยาบาลจุฬาภรณ์

ตารางที่ 2 สารเคมีที่ใช้ในการวิจัยและแหล่งที่มา

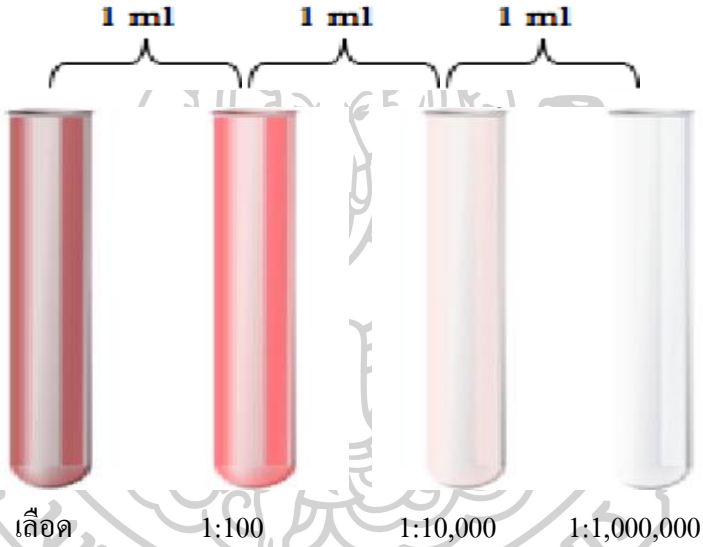
อุปกรณ์	แหล่งที่มา
Erlenmayer Flask 100 ml	Pyrex
Dropper	Buytropicalife
ถุงมือยาง	ศรีตรัง
หลอดทดลอง	Pyrex
กล้อง	Nikon

การเตรียมสารละลาย Luminol

การเตรียม Luminol โดยชั่งสาร Luminol 0.25 g และ NaOH 2.5 g ละลายด้วยน้ำกลั่น 50 ml และเติม 10 ml. ของ 3% H2O2 (Hydrogen peroxide) ในน้ำกลั่น 50 ml จะได้ luminol ที่ต้องการ

การเตรียมเลือดเพื่อศึกษา

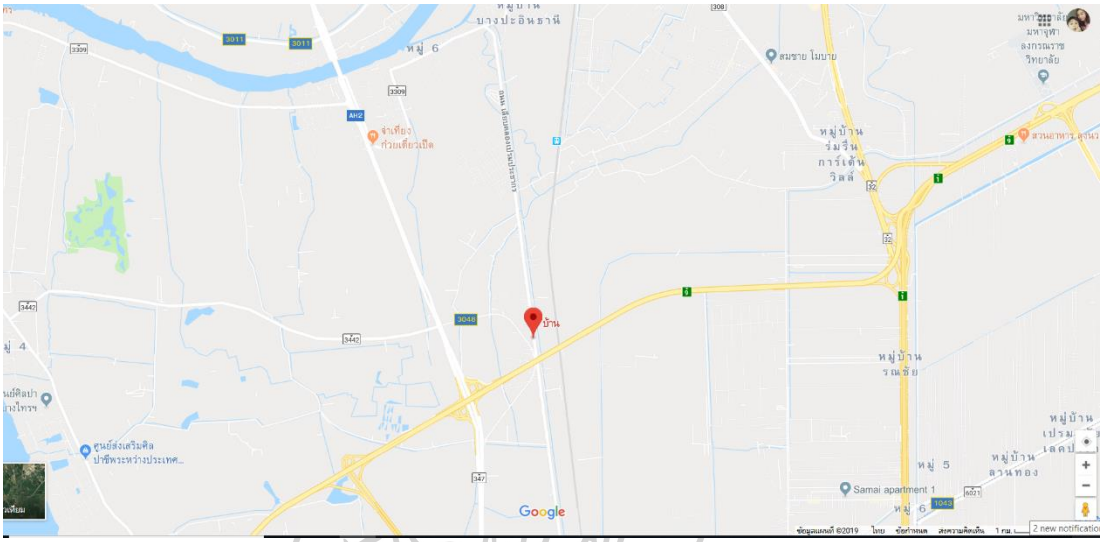
เก็บตัวอย่างเลือดมนุษย์ 10 ml บรรจุในหลอดเคลือบด้วยสาร EDTA (Ethylene diamine tetra acetic acid) ที่มีคุณสมบัติจับกับแคลเซียม (Ca^{2+}) เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด และเพื่อรักษาสภาพของเม็ดเลือด เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°C [17] เจือจางเลือดมนุษย์ โดยเจือจางในน้ำกลั่นตามอัตราส่วนต่าง ๆ ดังนี้ 1:100, 1:10,000 และ 1:1,000,000 โดยปริมาตร การเตรียมเลือดอัตราส่วน 1:100 โดยใช้เลือดปริมาตร 1 ml. ละลายในน้ำ 99 ml. การเตรียมเลือดอัตราส่วน 1:10,000 นำเลือดจากอัตราส่วน 1:100 มาปริมาตร 1 ml. ละลายในน้ำ 99 ml. นำเลือดจากอัตราส่วน 1:1,000,000 นำเลือดจากอัตราส่วน 1:10,000 ml. มาปริมาตร 1 ml. ละลายในน้ำ 99 ml.



รูปที่ 11 วิธีการเจือจางเลือดในอัตราส่วนต่าง ๆ ด้วยน้ำกลั่น

ตัวอย่างดินที่ใช้ในการวิจัย

1. ดินเหนียว
2. ดินทราย

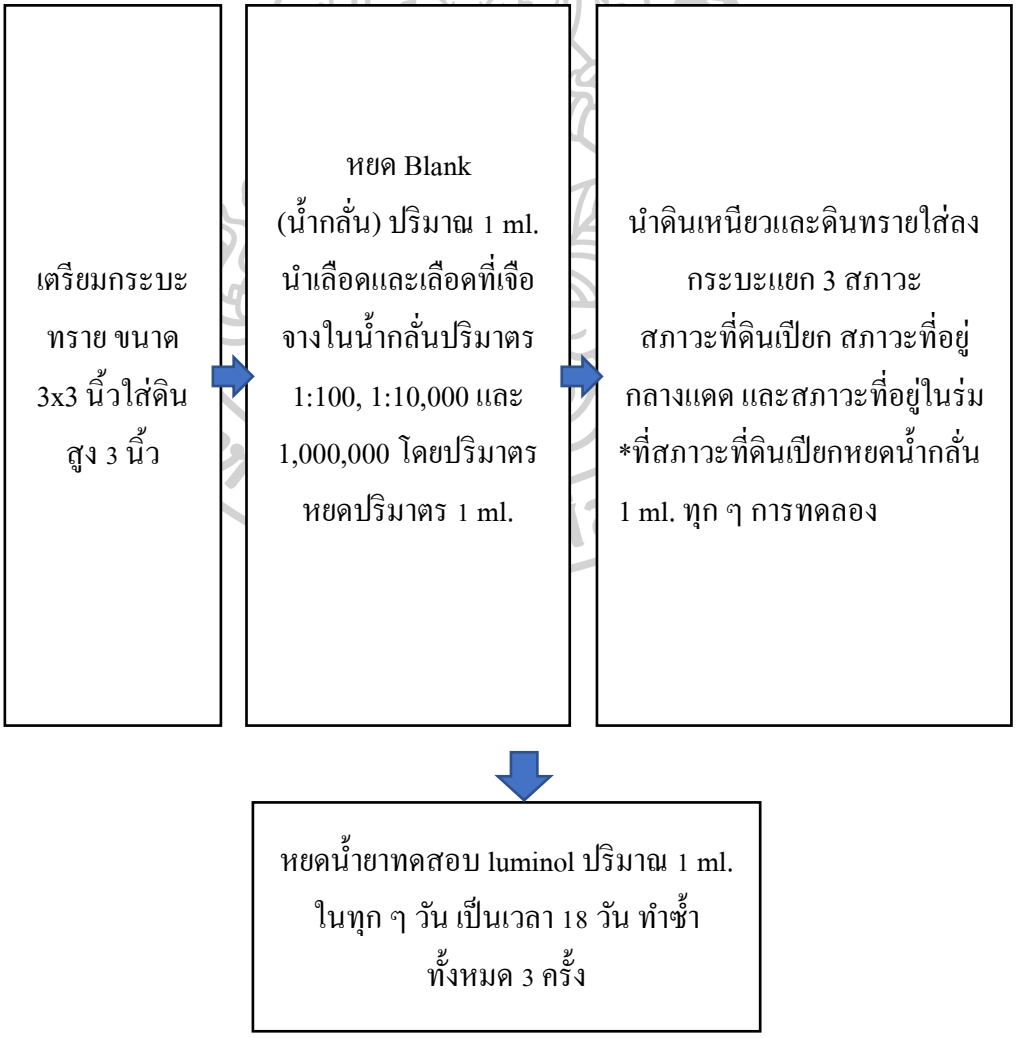


รูปที่ 12 แผนที่แสดงสถานที่เก็บดินทรายและดินเหนียว
จังหวัดพระนครศรีอยุธยา อ.บางปะอิน ต.เชียงรากน้อย

รูปที่ 13 กระบะใส่ดิน

การทำการวิจัย

โดยการเตรียมกระบะทรายขนาด 3x3 นิ้ว ใส่ดินสูง 3 นิ้ว ดินตัวอย่างที่ใช้ได้แก่ ดินเหนียว ดินทราย จากจังหวัดพระนครศรีอยุธยา อำเภอบางปะอิน ตำบลเชียงรากน้อย จากนั้นนำดินทราย และดินเหนียวใส่ลงในกระบะ นำเลือดที่เจือจางในปริมาตร 1:100, 1:10,000 และ1:1,000,000 หยดลงบนผิวดินปริมาตร 1 ml. จากนั้นนำไปเก็บไว้ใน 3 สภาวะ ได้แก่ *สภาวะที่อยู่ในร่ม สภาวะที่อยู่กลางแดด สภาวะที่ดินเปียก เป็นเวลา 18 วัน* หยดตัวควบคุม (Blank) คือ น้ำกลั่น ปริมาตร 1 ml. ลงในช่อง blank นำเลือดและเลือดที่เจือจางในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ml. หยดลงบนผิวดิน จากนั้นนำดินในสภาวะที่อยู่กลางแดดไปวางไว้กลางแจ้ง สภาวะที่อยู่ในร่มวางไว้ในห้อง และสภาวะที่ดินเปียกวางไว้ในห้องในสภาวะที่ดินเปียกผู้วิจัยจะทำการหยดน้ำกลั่นปริมาตร 1 ml. จากนั้นหยดน้ำยา luminol 1 ml. ถ่ายรูปบันทึกผล ในทุก ๆ วัน



บทที่ 4

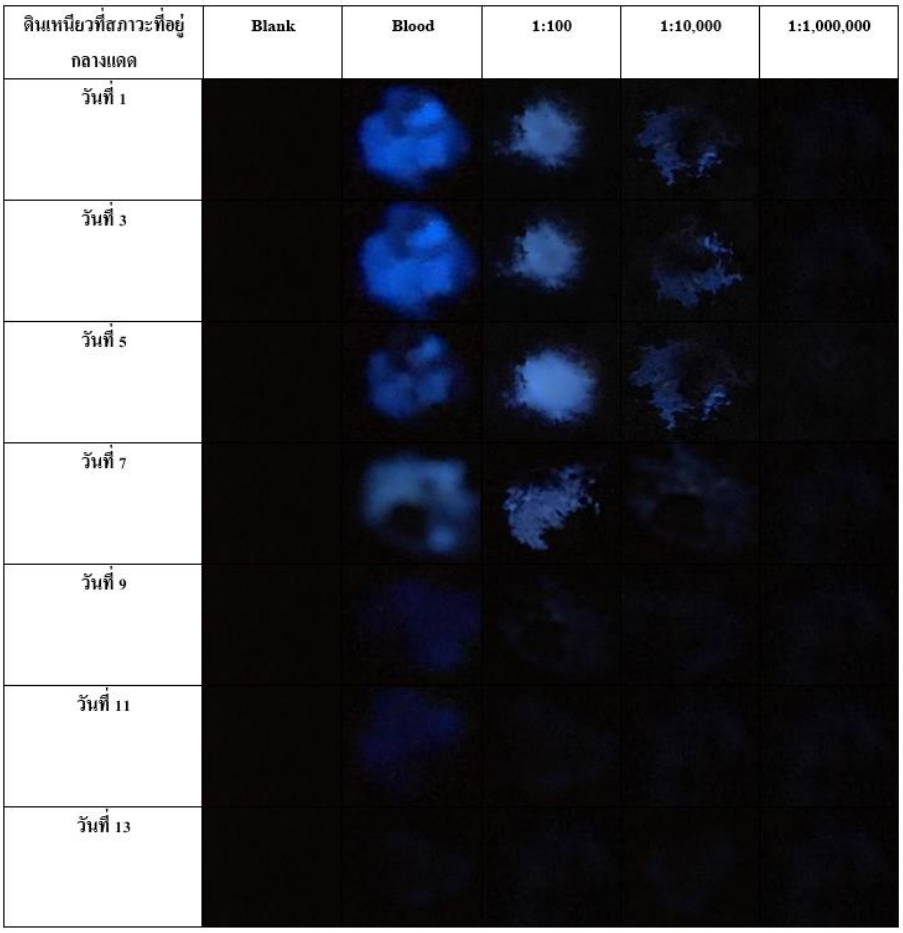
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

จากผลการวิเคราะห์ผลการทดลองความคงอยู่ของเลือดบนผิวดินโดยใช้ luminol ในการทดสอบในการตรวจสอบดินเหนียว และดินทราย ทั้ง 3 สภาวะ (ทำซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง) ผลการศึกษานี้ดูจากลักษณะการเรืองแสงของคราบเลือดเมื่อทดสอบด้วย luminol ลักษณะดิน 2 ชนิด ระยะเวลาทดสอบ 18 วัน ทดสอบในทุก ๆ วัน และการเจือจางเลือดในปริมาตรที่แตกต่างกันคือ 1:100, 1:10,000 และ1:1,000,000 โดยปริมาตร ผู้วิจัยได้ศึกษาผลการเรืองแสงของเลือดเมื่อทดสอบด้วย luminol

จากการทดลองความคงอยู่ของเลือดบนผิวดินในสภาวะที่อยู่กลางแดดได้ผลการทดลองจากรูปที่ 14 พบว่าการตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดบนผิวดินเหนียวที่สภาวะที่อยู่กลางแดดที่ระยะเวลาต่าง ๆ และการเจือจางของเลือดในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน จากการทดสอบพบว่าอัตราส่วน 1:100 โดยปริมาตรพบว่าแสดงผลได้ชัดเจนถึง 7 วัน และที่อัตราส่วน 1:10,000 และ 1:1,000,000 โดยปริมาตร แสดงผลได้ชัดเจน 5 วัน และ 1 วันตามลำดับ แต่การเรืองแสงนั้นก็ยังสามารถตรวจสอบได้ถึง 18 วัน แม้สีจะจางลง

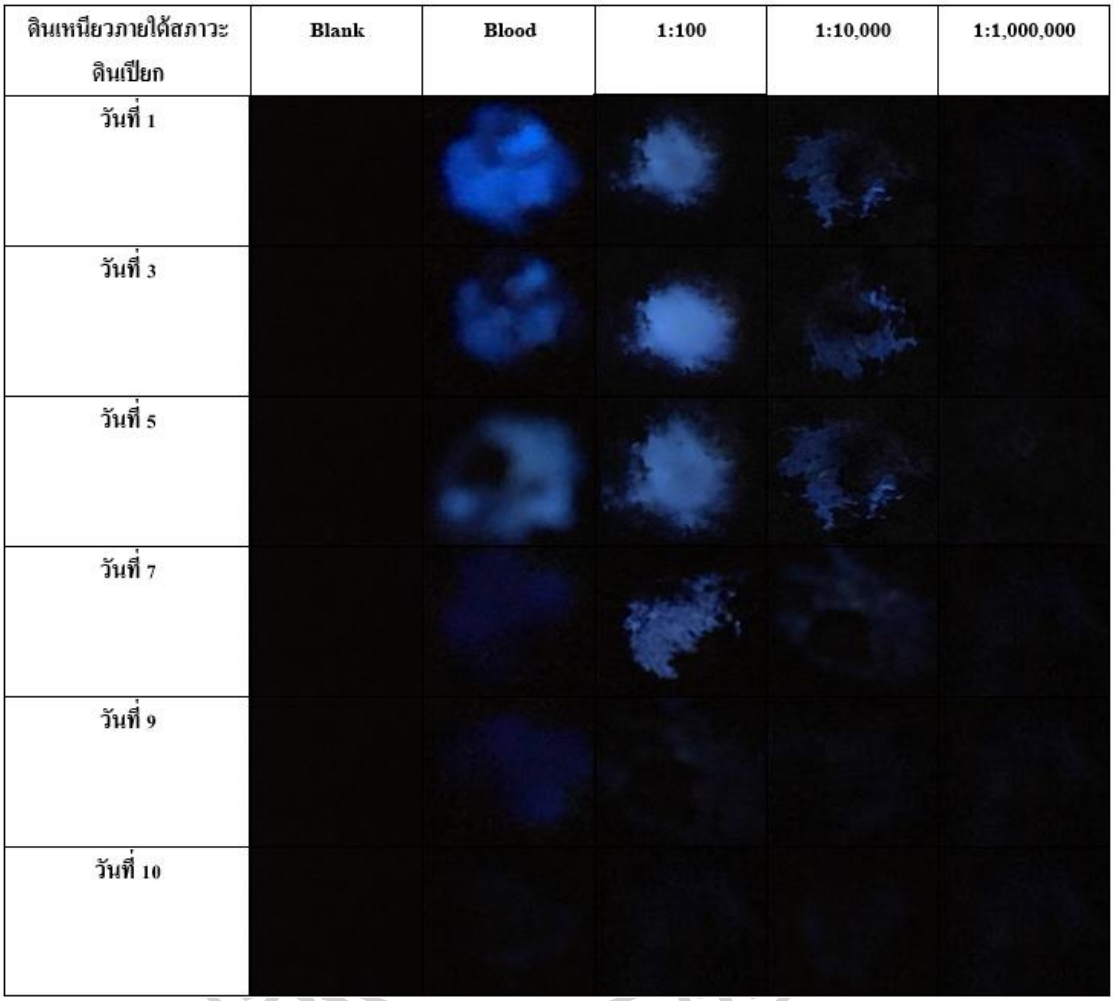
มหาวิทยาลัยศิลปากร

รูปที่ 14 การตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดบนผิวดินเหนียวภายใต้สภาวะที่อยู่กลางแดด



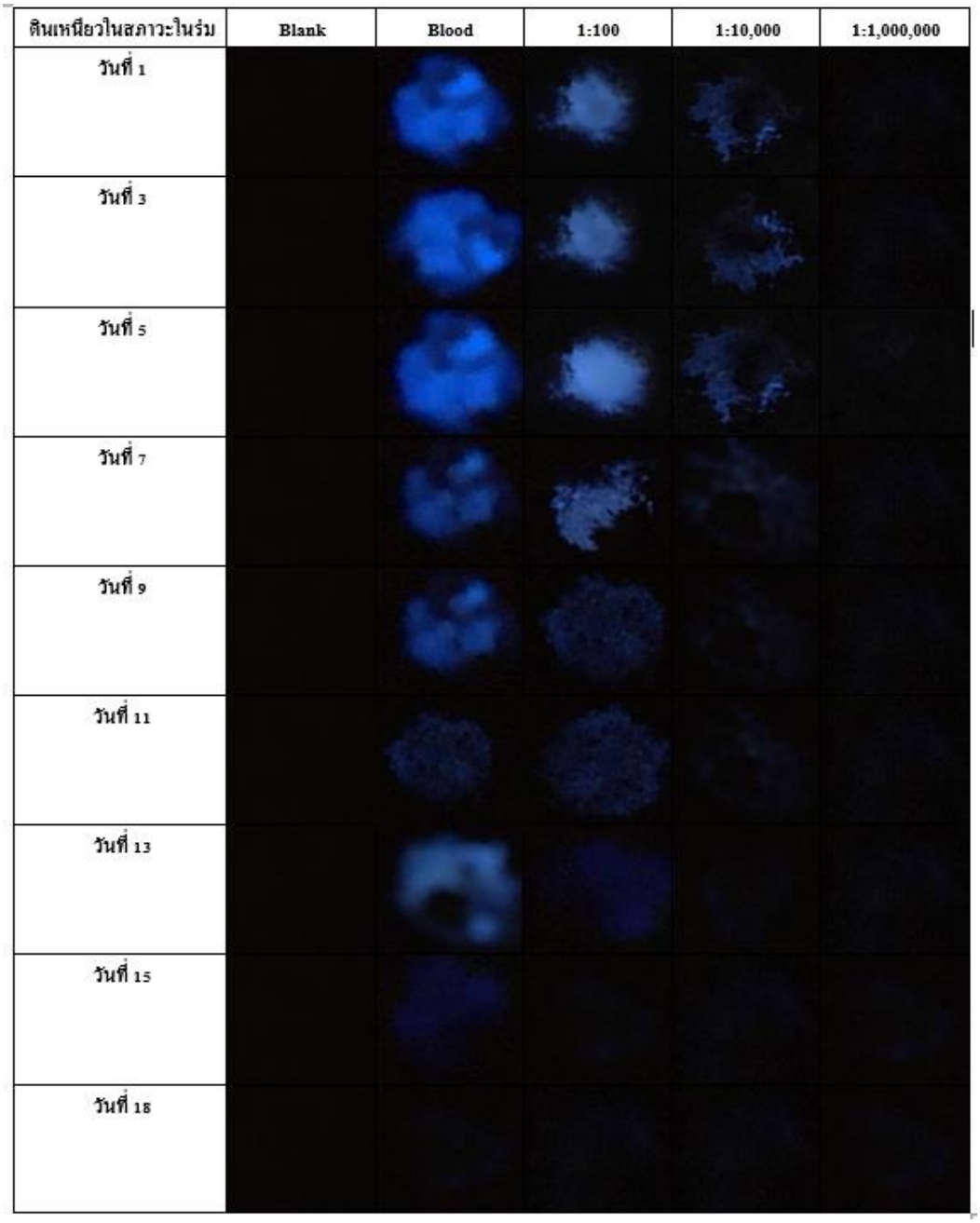
และเมื่อทำการทดลองในดินเหนียวที่สภาวะที่ดินเปียกพบว่าที่อัตราส่วน 1:100 โดยปริมาตรพบว่าแสดงผลชัดเจนถึง 7 วัน เมื่อดูที่อัตราส่วน 1:10,000 และ 1:1,000,000 แสดงผลได้ชัดเจน 5 วัน และ 1 วันตามลำดับ แต่การเรืองแสงนั้นก็ยังสามารถตรวจสอบได้ถึง 18 วัน แม้สีจะจางลง ดังรูปภาพที่ 15

รูปที่ 15 การตรวจสอบความคงอยู่ของเลือดบนผิวดินเหนียวภายใต้สภาวะดินเปียก



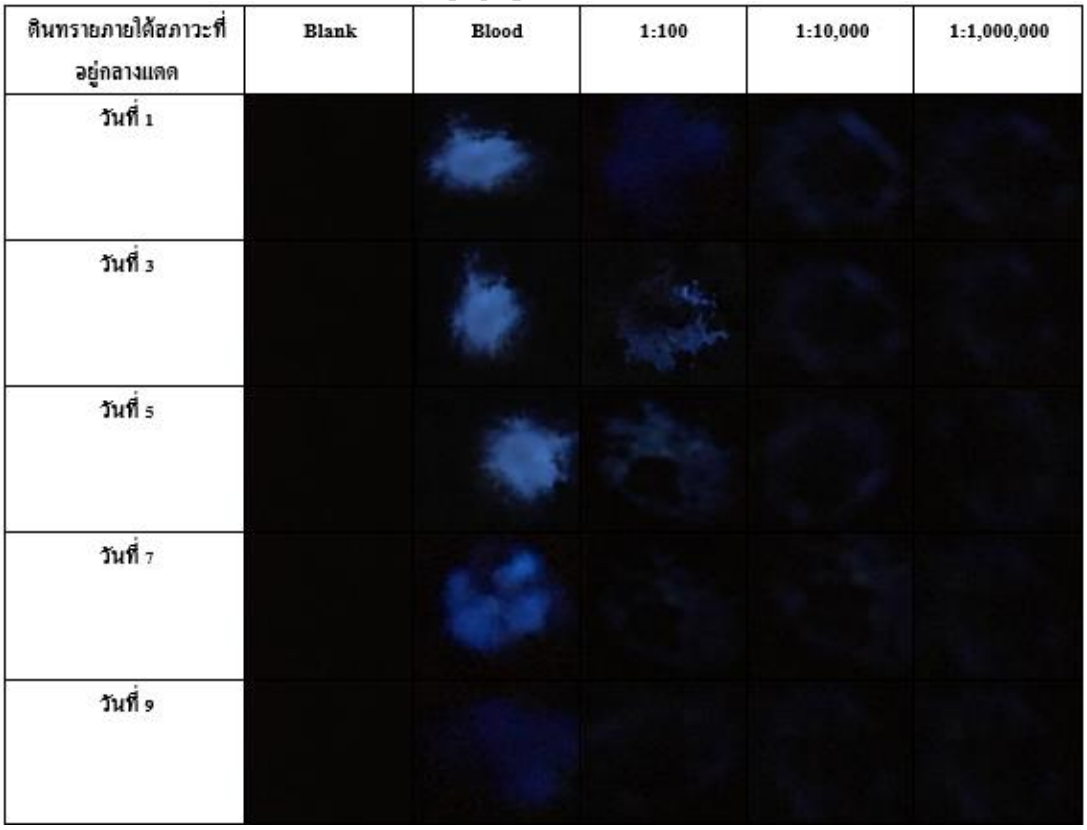
จากการทดลองความคงอยู่ของคราบเลือดในดินเหนียวที่สภาวะที่อยู่ในร่ม จากรูปที่ 16 พบว่าการตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดบนผิวดินเหนียวที่สภาวะที่อยู่ในร่ม ที่อัตราส่วน 1:100 โดยปริมาตรแสดงผลได้ชัดเจนถึง 13 วัน และที่อัตราส่วน 1:10,000 และ 1:1,000,000 โดยปริมาตร แสดงผลชัดเจนสุด 11 และ 12 วันตามลำดับ แต่ยังสามารถตรวจพบคราบเลือดได้อีกแม้เวลาจะผ่านไป 18 วัน

รูปที่ 16 การตรวจสอบความคงอยู่ของเลือดบนผิวดินเหนียวภายใต้สภาวะที่อยู่ในร่ม



เมื่อทำการศึกษาความคงอยู่ของคราบเลือดบนผิวดินทรายที่สภาวะที่อยู่กลางแดดพบว่าที่อัตราส่วน 1:100 โดยปริมาตรแสดงผลได้ชัดเจนถึง 5 วัน และที่อัตราส่วน 1:10,000 และ 1:1,000,000 พบการเรืองแสงชัดเจนสุด 3 และ 1 วัน ตามลำดับ แต่ยังสามารถตรวจพบคราบเลือดได้อีกแม้เวลาจะผ่านไป 18 วัน ดังรูปที่ 17

รูปที่ 17 การตรวจสอบความคงอยู่ของเลือดบนผิวดินทรายภายใต้สภาวะที่อยู่กลางแดด



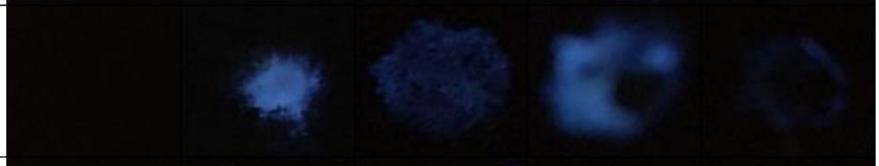
จากรูปที่ 17 พบว่าการตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดบนผิวดินทรายที่สภาวะดินเปียกที่ถูกนำมาเจือจางที่อัตราส่วน 1:100 โดยปริมาตร แสดงผลได้ชัดเจนถึง 3 วัน และที่อัตราส่วน 1:10,000 และ 1:1,000,000 โดยปริมาตรแสดงผลได้ชัดเจนเท่ากันคือถึง 1 วัน แต่ยังสามารถตรวจพบคราบเลือดได้อีกแม้เวลาจะผ่านไป 18 วัน

รูปที่ 18 การตรวจสอบความคงอยู่ของเลือดบนผิวดินทรายภายใต้สภาวะที่ดินเปียก

ดินทรายภายใต้สภาวะที่ดินเปียก	Blank	Blood	1:100	1:10,000	1:1,000,000
วันที่ 1					
วันที่ 3					
วันที่ 5					
วันที่ 7					

เมื่อเปรียบเทียบกับการตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดบนผิวดินทรายภายใต้สภาวะที่อยู่ในร่มพบว่าเลือดที่เจือจางที่อัตราส่วน 1:100 โดยปริมาตรแสดงผลชัดเจนถึง 9 วัน และ 1:10,000 และ 1:1,000,000 โดยปริมาตร แสดงผลชัดเจน 7 และ 2 วันตามลำดับ แต่ยังสามารถตรวจพบคราบเลือดได้อีกแม้เวลาจะผ่านไป 18 วัน ดังรูปที่ 19

รูปที่ 19 การตรวจสอบความคงอยู่ของเลือดบนผิวดินทรายภายใต้สภาวะที่อยู่ในร่ม

ดินทรายภายใต้สภาวะที่อยู่ในร่ม	Blank	Blood	1:100	1:10,000	1:1,000,000
วันที่ 1					
วันที่ 3					
วันที่ 5					
วันที่ 7					
วันที่ 9					

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 5

สรุป อภิปราย และข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาความคงอยู่ของคราบเลือดบนผิวดินด้วยวิธีทดสอบ luminol งานวิจัยนี้เจือจางเลือดในปริมาตรที่แตกต่างกันได้แก่ 1:100, 1:10,000 และ 1:1,000,000 โดยปริมาตร โดยแบ่งดินออกเป็น 3 สภาวะ ได้แก่ สภาวะที่อยู่กลางแดด สภาวะที่อยู่ในร่ม สภาวะที่ดินเปียก การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ดังนี้ เพื่อศึกษาความคงอยู่ของคราบเลือดบนผิวดินในสภาวะที่แตกต่างกัน ระยะเวลาที่แตกต่างกัน การวิจัยในครั้งนี้ผู้วิจัยได้ทำการทดลองเป็นเวลา 18 วัน (ทำซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง) เมื่อนำมาทดสอบด้วย luminol ดูการปรากฏแสงของคราบเลือดจากวันที่ชัดเจนมากที่สุด ผลการศึกษาดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 สรุปผลการทดลองความคงอยู่ของคราบเลือดบนผิวดินที่เห็นชัดเจนมากที่สุด

ปริมาตรการเจือจาง	**1:100**		**1:10,000**		**1:1,000,000**	
ลักษณะดิน	**ดินเหนียว**	**ดินทราย**	**ดินเหนียว**	**ดินทราย**	**ดินเหนียว**	**ดินทราย**
สภาวะ	**ระยะเวลา (วัน)**	**ระยะเวลา (วัน)**	**ระยะเวลา (วัน)**	**ระยะเวลา (วัน)**	**ระยะเวลา (วัน)**	**ระยะเวลา (วัน)**
สภาวะที่อยู่กลางแดด	7	5	5	3	1	1
สภาวะที่ดินเปียก	7	3	5	1	1	1
สภาวะที่อยู่ในร่ม	13	9	11	5	2	2

จากการศึกษา “เพื่อตรวจสอบความคงอยู่ของคราบเลือดบนผิวดินในสภาวะที่แตกต่างกัน” พบว่าที่สภาวะกลางแดดและที่สภาวะที่ดินเปียกพบการแสดงผลที่มีความใกล้เคียงกัน และพบการแสดงผลของคราบเลือดดีที่สุดในสภาวะร่มที่อัตราส่วน 1:100 แสดงผลชัดเจนสุด 13 วัน เมื่อเทียบกับดินทราย 9 วัน และ 1:10,000 แสดงผลได้ชัดเจนสุด 11 และ 5 วัน ตามลำดับ ตารางที่ 3 พบว่าดินเหนียวได้ดีกว่าดินทราย เนื่องมาจาก ดินเหนียว คือ ดินสีน้ำตาลเข้มหรือสีดำซึ่งมีอินทรียวัตถุในดิน

จึงมีสีเข้มและระบายน้ำไม่ดี มีการอัดแน่นของซากพืช ซากสัตว์ หิน แร่ ธาตุ ซึ่งมีความแตกต่างกับดินทราย ลักษณะดินทรายคือมีสีเหลืองแดง คือดินที่มีอัตราการผุพังการย่อยสลายสูงพบตามที่ราบลุ่มมักน้ำดีถึงดีมาก ซึ่งตรงกับงานวิจัยของ ผศ.ดร.พงษ์สันติ์ สีจันทร์ และคณะ [33] แต่ในปริมาตรการเจือจางเลือดที่ 1:1,000,000 ในดินเหนียวและดินทรายพบสูงสุด 2 วัน จากผลการทดลองข้างต้นพบว่า ร่องรอยคราบเลือด หยดเลือด มีความคงทนชะล้างได้ค่อนข้างยาก แม้เวลาจะผ่านไปนาน คราบเลือดที่ผ่านการชะล้างแล้วก็ยังคงเกาะติดพื้นผิวดินอยู่ แม้ว่าพื้นผิวดินนั้นจะมีความเป็นรูพรุนและไม่มีรูพรุนซึ่งตรงกับงานวิจัยของ พินิตา กรทอง และคณะ [33] ที่อัตราส่วน 1:1,000,000 ในดินเหนียวและดินปนทรายไม่มีความแตกต่างกัน อาจเกิดจากการเจือจางที่เลือดที่มากที่สุดร่วมกับการระบายน้ำของดินเหนียวและดินทราย เมื่อทำการหยดน้ำยาทดสอบ luminol ลงบนผิวดินจึงทำการเรืองแสงไม่ดีนัก ซึ่งงานวิจัยนี้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kotaro Yamagishi และคณะ ที่ได้ทำการตรวจสอบคราบเลือดที่เจือจางในปริมาตรที่แตกต่างกันด้วยวิธีทดสอบ luminol, leucomalachite และ hemascein ว่าสามารถตรวจสอบคราบเลือดที่เจือจางในปริมาตรที่แตกต่าง 1:100, 1:10,000 และ 1:1,000,000 โดยปริมาตรที่เจือจางที่สูงได้ [35] สิ่งหนึ่งที่ทำให้การตรวจสอบคราบเลือดด้วยวิธีลูมินอลมีความแตกต่างคือ ระยะเวลา การเจือจางของเลือดที่ปริมาตรที่แตกต่างกัน และองค์ประกอบอื่น ๆ ก็มีผล เช่น อุณหภูมิ องค์ประกอบด้านสิ่งแวดล้อม องค์ประกอบของดินเหนียว ดินทราย แสงแดด น้ำ การเจือจางของเลือด ฯลฯ มีส่วนทำให้รอยเลือดบนผิวดินจางหายไป

ข้อจำกัดการวิจัย

1. การตรวจคราบเลือดด้วยวิธี luminol ต้องอาศัยภายใต้ความมืดสนิทจึงทำให้มีข้อจำกัดในการถ่ายภาพ

ข้อแนะนำในการทำวิจัย

1. ควรทำการศึกษาเปรียบเทียบกับวัตถุพยานที่สามารถพบได้ในสถานที่เกิดเหตุชนิดอื่น ๆ
2. เนื่องจากการวิจัยนี้ศึกษาคราบเลือดบนผิวดินเหนียวและดินปนทราย ดังนั้นจึงควรทำการศึกษาบนผิวดินชนิดอื่น ๆ เพิ่มเติม

รายการอ้างอิง

Goodwin, W., A. Linacre, and S. Hadi, Forensic Human Identification - An Introduction. 2007, Boca Raton: CRC Press

Castro, D.M. Biological Evidence Collection and Forensic Blood Identification. 2013 [cited 2016 12/30] ; Available from: http://www. identacode. org/ Castro_Review_ Biological_Evidence_2011.pdf.

รำแพน พรเทพเกษมสันต์, กายวิภาคศาสตร์และสรีรวิทยาของมนุษย์ 4ed. 2541, กรุงเทพมหานคร: โสภณการพิมพ์.

ดารณี เจริญสุข. ศูนย์วิจัยและพัฒนาอุตสาหกรรมไทย. 2560 [cited 2017 01/31]; Available from: http://www.rubbercenter.org/files/soles.pdf.

Stock, J.T. and J.D. Stuart, The decomposition of hydrogen peroxide by blood. George center's discovery of the enzyme involved. Bull. Hist. Chem, 2005. 30: p. 113-117.

Kastle, J.H. and O.M. Shedd, Phenolphthalein as a reagent for the oxidizing ferments. Am Chem J, 1901. 26: p. 526.

Meyer, E., Beitrage zur leukocytenfrage. Muench Med Wochenshr, 1903. 50(35): p. 1489.

Specht, W., The Chemiluminescense of Hemin as a means of finding and recognizing blood traces of forensic importance. Angew Chem, 1937. 50: p. 155-157.

Watkins, M.D. and K.C. Brown. A comparison of visual enhancement chemicals study for the recovery of possible blood stains at the crime scene luminol vs. blue star®. 2006 [cited 2017 02/20]; Available from: http://docplayer.net/11075020-Blood-detection-a-comparisonof-visual-enhancement-chemicals-for-the-recovery-of-possible-blood-stains-at-the-crimescene-luminol-vs.html.

Grodsky, M., K. Wright, and P.L. Kirk, Simplified preliminary blood testing: an improved technique and a comparative study of methods. Journal of Criminal Law, Criminology and Police Science 1951. 42(1): p. 95-104.

Weber, K., Die andwendung der chemiluminescenz des luminols in der gerichtlichenmedizin und toxicologie. Deutsche Zeitschriftfür die GesamteGerichtlicheMedizin 1966. 57: p. 410423.

Joanne, W.L., C.I. Jonathan, and Q.I. Terence, A comparison of the presumptive luminol test for blood with four non-chemiluminescent forensic techniques. The Journal of Biological and Chemical Luminescence, 2006. 21: p. 214-220.

Gross, A.M., K.A. Harris, and G.L. Kaldun, The effect of luminol on presumptive tests and DNA analysis using the polymerase chain reaction. J Forensic Sci, 1999. 44(4): p. 837-40.

Martin, L.A. and C.F. Cahill, Recovery of DNA from latent blood after identification by fluorescein. J Forensic Sci, 2004. 54(6): p. 660-67.

Cheeseman, R. and L. DiMeo, Fluorescein as a Field-worth Latent Bloodstain Detection System. J Forensic Sci, 1995. 45(6): p. 637-339.

J., J.C., STR Analysis Following Latent Blood Detection by Luminol, Fluorescein, and Bluestar. J Forensic Sci, 2007. 57(4): p. 193.

Banfi, G., G.L. Salvagno, and G. Lippi, The role of ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) as in vitro anticoagulant for diagnostic purposes. Clin Chem Lab Med, 2007. 45(5): p. 56576.

สวรส ปุริมโน, การตรวจคราบเลือดโดยใช้เทคนิคฟีนอล์ฟทาลีน เตตระเมทิลเบนซิดีน บลูสตาร์ และลูมินอล. 2555, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัยศิลปากร.

สรวง สมานหมู่. การตรวจร่องรอยเลือดจากการเรืองแสงของลูมินอล. 2554 [cited 2016 12/30]; Available from: http://nstda.or.th/sciencecamp/th/file/4432738T9UBODRSK5.pdf.

Tomboc, R. The Fluorescein Method of Latent Blood Detection. 2011 [cited 2017 02/20]; Available from: http://www.crime-scene-investigator.net/fluoresceinmethod.html.

เลี้ยง หุยประเสริฐ. การชันสูตรพลิกศพและตรวจสถานที่เกิดเหตุ. 2549 [cited 2017 02/10]; Available from: http://www.ifm.go.th/th/ifm-book/ifm-textbook/113-lesson-2.html

ศรันยภัทร เสียงสูง, การรับฟังพยานหลักฐานทางนิติวิทยาศาสตร์ในคดีอาญาของประเทศไทย : กรณีศึกษาพยานหลักฐานทางชีววิทยาตามแนวคำพิพากษาศาลฎีกา, in การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 53. 2553: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สฤษดิ์ สืบพงษ์ศิริ. วัตถุพยานทางนิติวิทยาศาสตร์ 2551 [cited 2016 12/28]; Available from: http://www.ajarnpat.com/data/forensic-evidence.pdf.

วิไล ชินธเนศ ธันวา ตันสถิต และ มนตกาน ตันสถิต, กายวิภาคศาสตร์ของมนุษย์. 3 ed. 2539,

กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์เฟื่องฟ้า.

ศิริพร พันธศรี, การตรวจพิสูจน์คราบเลือด. วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่, 2549. 39(3): p. 25-28.

Petersen, D. and F. Kovacs, Phenolphthalein false-positive reactions from legume root nodules. J Forensic Sci, 2014. 59(2): p. 481-4.

Barni, F., et al., Forensic application of the luminol reaction as a presumptive test for latent blood detection. Talanta, 2007. 72(3): p. 896-913.

ผศ.ดร.พงษ์สันติ์ สีจันทร์ ดร.นภาพร พันธุ์กมลศิลป์, การเปรียบเทียบสมบัติของดิน. การประชุมวิชาการ “การนำเสนอผลงานวิจัยวิทยาศาสตร์โลกทั้งระบบ ระดับโรงเรียน ครั้งที่ 4”, 2555, ภาคปฐพีวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พินิตา กรทอง, เปรียบเทียบการตรวจคราบโลหิตโดยวิธี Kastle-Meyer, Luminol และ Bluestar บนพื้นผิวที่มีรูพรุนและไม่มีรูพรุน. 2558, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Ron Gabel, Denver Police Department (CO), Sheri Shimamoto, Lakewood Police Department (CO), Ivanie Stene, Westminster Police Department (CO), and Tom Adair, Detecting Blood in Soil after Six Years with Luminol. Journal of the Association for Crime Scene Reconstruction, 2011. 17(1): p.1-4.

Stene I, Shimamoto S, Gabel R, Tewes R, Adair T, Using Luminol to Detect Blood in Soil Eight Years after Deposition. J Assoc Crime Scene Reconstr, 2013. 19(1): p.1-4.

Dilbeck, Lisa. (2005) “Use of Blue Star Forensic in Lieu Luminol at crime scence” Journal of Forensic Identification 5 (October): 706-720

ผศ.ดร.พงษ์สันติ์ สีจันทร์ ดร.นภาพร พันธุ์กมลศิลป์, การเปรียบเทียบสมบัติของดิน. การประชุมวิชาการ “การนำเสนอผลงานวิจัยโลกทั้งระบบ ครั้งที่ 4”, 2555, ภาคปฐพีวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์)

Kotaro Yamagishi, Kazuhiko Tsukada, Akihiro Kato, Yuzo Shiozawa, Masamitsu Ichioka. Effectiveness of New Bloodstain Preliminary Examination Reagent. Japanese Forensic Science and Technology (JAFST). 2011

ศูนย์ข้อมูลข้อสนเทศ สำนักงานตำรวจแห่งชาติ. (2561). ข้อมูลสถิติ. [cited 2016 12/30]; Available from: http://pitc.police.go.th/2014/

รายการอ้างอิง

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	สุวรรณหงษ์ ธรรมวรรณา
วัน เดือน ปี เกิด	18 กุมภาพันธ์ 2534
สถานที่เกิด	พระนครศรีอยุธยา
วุฒิการศึกษา	พ.ศ. 2557 สำเร็จการศึกษา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วิทยาศาสตร์การแพทย์) มหาวิทยาลัยรังสิต จังหวัดปทุมธานี พ.ศ. 2560 - ปัจจุบัน เข้าศึกษาต่อ สาขาวิชา นิติวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาตร์ วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
ที่อยู่ปัจจุบัน	39/2 ม.4 ต.เชียงรากน้อย อ.บางปะอิน จ.พระนครศรีอยุธยา
ผลงานตีพิมพ์	ผลงานวิจัยเรื่อง การทดสอบคราบเลือดบนผิวดินโดยวิธีทดสอบลูมินอล เผยแพร่ในวารสารสังคมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ตะวันออก ปีที่ ๑๒ ฉบับที่ ๒ (กรกฎาคม - ธันวาคม ๒๕๖๒)