



เปรียบเทียบการตรวจคราบโลหิตโดยวิธี Kastle-Meyer, Luminol และ Bluestar®

บนพื้นผิวที่มีรูพรุนและไม่มีรูพรุน

Comparison of Bloodstain Detection Using Kastle-Meyer, Luminol and Bluestar® Methods on Porous and Non-porous Substrates

พินิตา กรทอง (Pinita Kornthong)¹ สุทธิเดช ปรีชารัมย์ (Sutthidech Preecharram)²วีรชัย พุฒธวงศ์ (Weerachai Phutdhawong)³

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของการตรวจคราบโลหิตของมนุษย์ และกระต่ายที่เจือจางในอัตราส่วน 1:10 ถึง 1:1,000,000,000 โดยปริมาตร บนพื้นผิวที่มีรูพรุน และไม่มีรูพรุน ทั้งไว้เป็นระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์ โดยวิธี Kastle-Meyer, Luminol และ Bluestar® ผลการตรวจคราบโลหิต พบว่าขีดจำกัดของการตรวจคราบโลหิตที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์ของวิธี Kastle-Meyer สามารถตรวจคราบโลหิตเจือจางได้ถึงอัตราส่วน 1:1,000,000,000 โดยปริมาตรทั้งโลหิตมนุษย์ และกระต่ายบนพื้นผิวกระดาษ 80 แกรม ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงกว่า Bluestar® และ Luminol หลายเท่า แต่ให้ประสิทธิภาพต่ำในการตรวจบนพื้นผิวไม้สัก ขณะเดียวกัน Bluestar® สามารถตรวจคราบโลหิตได้บนพื้นผิวไม้สักทั้งโลหิตมนุษย์ และกระต่ายที่เจือจางในอัตราส่วน 1:10,000 โดยปริมาตร ส่วนพื้นผิวกระจก Luminol และ Bluestar® ให้ประสิทธิภาพการตรวจที่เท่ากันบนคราบโลหิตมนุษย์ในอัตราส่วน 1:10,000 โดยปริมาตร บนพื้นผิวแผ่นพลาสติก Bluestar® ให้ผลการตรวจคราบโลหิตที่เจือจางในอัตราส่วน 1:10,000 โดยปริมาตรบนคราบโลหิตมนุษย์ และกระต่าย ซึ่งเท่ากับการตรวจโดย Luminol บนคราบโลหิตมนุษย์ แม้ว่าผลการทดลองของ Luminol และ Bluestar® จะคล้ายกันแต่ Bluestar® ให้ผลความเข้มของสีในที่มืดที่สว่างกว่า

คำสำคัญ คราบโลหิต, ฟีนอล์ฟทาเลอิน, ลูมินอล, บลูสตาร์

Abstract

The purpose of this research is to study the efficacy of presumptive tests for human and rabbit bloods in dilution ratio 1:10 till 1:1,000,000,000 by volume (tenfold dilution) on porous and non-porous substrates such as 80 gram white papers, teak woods, glass slides and plastic sheets. The detection has been carried out of each diluted blood on all substrates by Kastle-Meyer, luminol and bluestar® methods during 2, 4 and 6 weeks. The results were compared the sensitivity limit of presumptive tests at 6 weeks, the Kastle-Meyer method showed the highest sensitivity detection on 80 gram white papers with the 1:1,000,000,000 blood dilution in both of human and rabbit blood comparing to bluestar® and luminol, but showed lowest sensitivity on teak woods. While bluestar® detected both types of blood dilute at 1:10,000 on teak woods. On glass slides, luminol and bluestar® were showed the highest sensitivity of human blood dilute ratio of 1:10,000 and on plastic sheets, bluestar® was detected at ratio 1:10,000 with both types of blood dilute as luminol detected of human blood. Although bluestar® and luminol are resemble in results but bluestar® provided more color intensity in darkness room.

Keywords: Bloodstain, Kastle-Meyer (Phenolphthalein), Luminol, Bluestar®

1 นิสิตหลักสูตรสาขานิติวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ k.pnt19@gmail.com

2 อาจารย์ ประจำสาขานิติวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ faasstd@ku.ac.th

3 รองศาสตราจารย์ ประธานหลักสูตรนิติวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ faaswcp@ku.ac.th



การจัดประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 5

The 5th STOU Graduate Research Conference

บทนำ

ในปัจจุบันการก่ออาชญากรรมในรูปแบบต่างๆมีมากในทุกพื้นที่ทั่วโลก ดังนั้นจึงต้องมีการเข้าสู่สถานที่เกิดเหตุ ซึ่งเป็นหน้าที่ของเจ้าหน้าที่ตำรวจจากกองพิสูจน์หลักฐาน พนักงานสอบสวน ดำเนินการตรวจหาวัตถุพยานเมื่อเกิดอาชญากรรมขึ้นในทุกกรณี สิ่งปรากฏในสถานที่เกิดเหตุเป็นสิ่งที่ปรากฏขึ้นภายหลังจากเหตุการณ์อาชญากรรม เช่น คราบโลหิต น้ำลาย หรือคราบอสุจิ เป็นต้น ในการตรวจสถานที่เกิดเหตุอย่างละเอียดเพื่อให้ได้มาซึ่งหลักฐานสำคัญในการนำไปสู่ผู้กระทำความผิดหลักฐานที่สำคัญอย่างหนึ่ง คือ คราบโลหิตเป็นชีววัตถุพยานที่สำคัญที่สุดในการนำไปใช้ตรวจหาหมู่โลหิต และดีเอ็นเอ เพื่อบ่งบอกระบุตัวบุคคล และยังสามารถใช้เป็นหลักฐานในการเชื่อมโยงผู้เสียหาย ผู้ต้องสงสัย และสถานที่เกิดเหตุเข้าไว้ในเหตุการณ์เดียวกันโดยอาศัยลักษณะของคราบโลหิตที่ปรากฏในที่เกิดเหตุ เช่น ปริมาณโลหิต ขอบเขตการกระจายของโลหิต ลักษณะของหยดโลหิต ขอบรอยโลหิต รอยลากหรือรอยป้ายโลหิต เป็นต้น นอกจากนี้ลักษณะรูปร่างของหยดโลหิต ยังสามารถบ่งบอกถึงระยะและทิศทางของโลหิตที่ตกกระทบพื้นผิวได้ (ศิริพร, 2549, น.25) ข้อมูลเหล่านี้ล้วนเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการที่จะนำไปใช้ประกอบการพิจารณาถึงพฤติกรรมของคดีที่เกิดขึ้น การตรวจพิสูจน์คราบโลหิตในสถานที่เกิดเหตุที่น่าเชื่อถือในการช่วยหาร่องรอยคราบโลหิต ได้แก่ วิธี Kastle- Meyer, Luminol และ Bluestar® ดังนั้นผู้วิจัยจึงทำการศึกษาประสิทธิภาพการตรวจคราบโลหิตโดยวิธีดังกล่าวกับโลหิตมนุษย์ และโลหิตกระต่ายที่ถูกเจือจางในอัตราส่วนต่างๆ บนพื้นผิวต่างชนิดกัน โดยทั้งคราบโลหิตไว้เป็นระยะเวลาถึง 6 สัปดาห์ เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างในการเลือกใช้ในสถานที่เกิดเหตุ

Kastle-Meyer (KM test) เป็นวิธีการเบื้องต้นในการทดสอบคราบโลหิต ในปี ค.ศ.1818 Louis-Jacques Thenard ได้ค้นพบ hydrogen peroxide ต่อมาในปี ค.ศ.1863 Christian Freidrich Schonbein สังเกตเห็น peroxidase-like activity ของ hemoglobin เป็นสาเหตุของ oxidation ของ hydrogen peroxide ผลของปฏิกิริยาระหว่าง hydrogen peroxide กับ hemoglobin ทำให้มีฟองเกิดขึ้น หลังจากนั้นในช่วงต้นของปี ค.ศ.1900 Kastle ได้ใช้ phenolphthalein เป็น color indicator ของการตรวจ hemoglobin และได้ปรับปรุงพัฒนาการทดสอบจึงเรียกการทดสอบนี้ว่า Kastle-Meyer test (James *et al.*, 2005) โดยมีหลักการ คือ ฮีโมโกลบิน (hemoglobin) ในโลหิตเร่งการสลายเอนไซม์ peroxidase จะสลาย hydrogen peroxide ได้น้ำและออกซิเจนจากนั้นออกซิเจนจะออกซิไดซ์สาร phenolphthalin (reduced form) จากที่ไม่มีสีให้เปลี่ยนเป็น phenolphthalein (oxidized form) ได้สีชมพู (ไชยวัฒน์, 2555, น.180)

ลูมินอล (Luminol) มีชื่อ IUPAC คือ 5-Amino-2,3-dihydro-1,4-phthalazinedione เป็นสารชนิดผงสีขาว นิยมใช้ในการตรวจคราบโลหิตมากกว่า 40ปี สามารถตรวจคราบโลหิตที่เจือจางได้โดยการเปล่งแสงสีฟ้า (chemiluminescence) สามารถตรวจได้ในบริเวณพื้นที่กว้าง และรวดเร็ว (Cheyne, 2011) ถูกนำมาทดสอบใช้ทางนิติวิทยาศาสตร์ครั้งแรกในปี ค.ศ. 1937 โดย Specht ปี ค.ศ.1951 Grodsky เตรียม Luminol จากการละลายผง Luminol, โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium Carbonate) และ โซเดียมเปอร์บอเรต (Sodium Perborate) ผสมกับน้ำกลั่น ต่อมาในปี ค.ศ.1996 Webber ผสม Luminol กับ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium Hydroxide) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) Luminol เป็นที่นิยมใช้ในปัจจุบันด้วยคุณสมบัติการเรืองแสง และไวต่อการเกิดปฏิกิริยา (Barni, 2007)



การจัดประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 5

The 5th STOU Graduate Research Conference

บลูสตาร์ (Bluestar®) เป็นสารที่ถูกพัฒนามาจากลูมินอล (Luminol) ในปี ค.ศ.2000 โดย Dr. Loic Blum เป็นสารที่มีประสิทธิภาพ มีขั้นตอนในการเตรียมสารน้อย และสะดวกต่อการใช้ในสถานที่เกิดเหตุ

วัตถุประสงค์การวิจัยและกรอบแนวคิดการวิจัย

1. เพื่อศึกษาการตรวจวัดคราบโลหิตโดยวิธี Kastle-Meyer, Luminol และ Bluestar® บนวัตถุชนิดมีรูพรุน และไม่มีรูพรุน
2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของการตรวจวัดคราบโลหิตที่เจือจางในอัตราส่วน 1:1, 1:10, 1:100, 1:1,000, 1:10,000, 1:100,000, 1:1,000,000, 1:10,000,000, 1:100,000,000 และ 1:1,000,000,000 โดยปริมาตร
3. เพื่อศึกษาความไวของการตรวจวัดคราบโลหิตที่ถูกทิ้งไว้ในระยะเวลาต่างๆ โดยวิธี Kastle-Meyer, Luminol และ Bluestar®

วิธีดำเนินการวิจัย

1. วิธีเก็บตัวอย่างโลหิต

1.1 เก็บโลหิตมนุษย์ และกระต่ายโดยใช้ syringe ขนาด 3 มิลลิลิตร ใช้หัวเข็มขนาด 21 และ 24 นิ้ว ในหลอดเก็บตัวอย่างโลหิตชนิดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของโลหิต (anticoagulant) ภายในมีสาร Ethylenediamine-tetraacetic acid (EDTA) เคลือบอยู่

2. การเตรียมสารตรวจคราบโลหิตวิธี Kastle-Meyer, Luminol และ Bluestar®

2.1 การเตรียมสาร Kastle-Meyer ทำการเตรียม Stock Phenolphthalein Solution โดยชั่งสาร Phenolphthalein 2.0 กรัม, Potassium hydroxide 20.0 กรัม และผงสังกะสี 20.0 กรัม เติม Deionized water ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้ม ประมาณ 2-3 ชั่วโมง จนกระทั่งสารละลายไม่มีสี เติมผงสังกะสีอีกเล็กน้อย เพื่อให้อยู่ใน reduced form (ใส่ขวดสีชา เก็บไว้ในตู้เย็น) เมื่อต้องการใช้สารละลายทดสอบให้เตรียมเป็น Working Phenolphthalein Solution โดยผสม Stock Phenolphthalein Solution 10 มิลลิลิตรกับ Ethanol 40 มิลลิลิตร หยด Working Phenolphthalein Solution 2 หยดลงบน ตัวอย่างคราบโลหิต หากไม่มีการเปลี่ยนแปลงสีให้เติม 3% Hydrogen peroxide 2 หยด (ศิริพร, 2549, น.25) เกิดสีชมพู ภายใน 10 วินาที

2.2 การเตรียมสาร Luminol โดยชั่ง Sodium Carbonate 5.0 กรัม ละลายใน Deionized water 100 มิลลิลิตร เติม 0.1 กรัม Luminol ลงในสารละลายคนให้เข้ากัน ชั่ง Sodium Perborate 0.7 กรัม ผสมในสารละลาย Luminol หยดบริเวณ คราบโลหิต (Grodsky *et al.*, 1951, pp.98-99)

2.3 การเตรียมสาร Bluestar® นำ Bluestar® 1 ชอง ภายในบรรจุ 2 เม็ด ผสม Deionized water ปริมาตร 125 มิลลิลิตร คนให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกันหยดบริเวณคราบโลหิต

3. วิธีเจือจางสารละลายตัวอย่างและตรวจวัดคราบโลหิตมนุษย์และกระต่าย

3.1 นำโลหิตของมนุษย์ และโลหิตกระต่าย มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:10, 1:100, 1:1,000, 1:10,000, 1:100,000, 1:1,000,000, 1:10,000,000, 1:100,000,000 และ 1:1,000,000,000 โดยปริมาตร เตรียมหลอดทดลอง ทั้งหมด 9 หลอด เติมน้ำกลั่นปริมาตร 9 มิลลิลิตร แล้วใช้ pipette ดูดโลหิตที่เก็บได้จากวิธีการข้างต้นปริมาตร 1



การจัดประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 5

The 5th STOU Graduate Research Conference

มิลลิลิตรมาใส่ในหลอดทดลองที่ 1 เขย่าเบาๆให้เข้ากันแล้วดูดสารละลายเจือจางจากหลอดทดลองที่ 1 ใส่ในหลอดทดลองที่ 2 ทำเช่นนี้จนครบทั้ง 9 หลอด

3.2 นำโลหิตที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วนข้างต้นมาหยดลงบนพื้นผิวที่มีรูพรุน ได้แก่ กระดาษขาว 80 แกรม และไม้สัก และบนพื้นผิวที่ไม่มีรูพรุน ได้แก่ กระดาษและแผ่นโพลีเอทิลีน ปริมาตร 100 ไมโครลิตร การทำตัวอย่างควบคุมผลบวก ให้หยดโลหิตสดปริมาตร 50 ไมโครลิตร และตัวอย่างควบคุมผลลบให้หยด Deionized water ปริมาตร 50 ไมโครลิตร นำตัวอย่างทั้งหมดตั้งทิ้งไว้ให้แห้งแล้วบรรจุเก็บในซองพลาสติกที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์ ตามลำดับ

3.3 ตรวจวัดการบไลต์ด้วยวิธี Kastle-Meyer, Luminol และ Bluestar® พร้อมบันทึกผลและถ่ายภาพ

ผลการวิจัย

จากการศึกษาประสิทธิภาพในการตรวจการบไลต์ของมนุษย์ และกระดาษโดยนำโลหิตมาเจือจางในอัตราส่วน 1:10 ถึง 1:1,000,000,000 โดยปริมาตร หยดลงบนพื้นผิวที่มีรูพรุน ได้แก่ กระดาษ 80 แกรม และไม้สัก บนพื้นผิวที่ไม่มีรูพรุน ได้แก่ กระดาษโพลีเอทิลีน และแผ่นโพลีเอทิลีน ตั้งทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้อง แล้วทดสอบด้วยวิธี Kastle-Meyer, Luminol และ Bluestar® ผลปรากฏว่าการตรวจการบไลต์ทั้ง 3 วิธีเป็นการตรวจการบไลต์ที่มีประสิทธิภาพสามารถตรวจการบไลต์ได้ที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์

การตรวจการบไลต์โดยวิธี Kastle-Meyer สามารถตรวจการบไลต์เจือจางในอัตราส่วน 1:1,000,000,000 และในอัตราส่วน 1:10 โดยปริมาตรบนพื้นผิวกระดาษ 80 แกรม และไม้สักตามลำดับ ทั้งโลหิตมนุษย์และกระดาษ ในส่วนของพื้นผิวกระดาษสามารถตรวจการบไลต์เจือจางในอัตราส่วน 1:100 โดยปริมาตรในโลหิตมนุษย์ และในอัตราส่วน 1:10 โดยปริมาตรในโลหิตกระดาษ บนพื้นผิวแผ่นโพลีเอทิลีนสามารถตรวจการบไลต์เจือจางในอัตราส่วน 1:100 โดยปริมาตรในโลหิตมนุษย์ และในอัตราส่วน 1:1,000 โดยปริมาตรในโลหิตกระดาษ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบการบไลต์โดยวิธี Kastle-Meyer หลังจากหยดโลหิตเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

ชนิดโลหิต	ชนิดพื้นผิว	ความเข้มข้นของโลหิต (v/v)										
		10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	Neg. Control
มนุษย์	กระดาษ 80g	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	ไม้สัก	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	กระดาษ	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	แผ่นโพลี	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
กระดาษ	กระดาษ 80g	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	ไม้สัก	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	กระดาษ	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	แผ่นโพลี	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-



การจัดประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 5

The 5th STOU Graduate Research Conference

การตรวจปราบโลหิตโดยวิธี Luminol สามารถตรวจปราบโลหิตเจือจางในอัตราส่วน 1:10,000 โดยปริมาตรทั้งโลหิตมนุษย์ และกระด่ำบนพื้นผิวกระด่ำ 80 แกรม บนพื้นผิวไม้สักสามารถตรวจปราบโลหิตเจือจางในอัตราส่วน 1:100 โดยปริมาตรในโลหิตมนุษย์ และในอัตราส่วน 1:10 โดยปริมาตรในโลหิตกระด่ำ ในส่วนของพื้นผิวกระจกและแผ่นใสพลาสติกสามารถตรวจปราบโลหิตเจือจางในอัตราส่วน 1:10,000 โดยปริมาตรในโลหิตมนุษย์ และในอัตราส่วน 1:1,000 โดยปริมาตรในโลหิตกระด่ำ ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบปราบโลหิตโดยสาร Luminol หลังจากหยดโลหิตเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

ชนิดโลหิต	ชนิดพื้นผิว	ความเข้มข้นของโลหิต (v/v)										
		10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	Neg. Control
มนุษย์	กระด่ำ 80g	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	ไม้สัก	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	กระจก	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	แผ่นใส	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
กระด่ำ	กระด่ำ 80g	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	ไม้สัก	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	กระจก	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	แผ่นใส	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-

การตรวจปราบโลหิตโดยวิธี Bluestar[®] สามารถตรวจปราบโลหิตเจือจางในอัตราส่วน 1:10,000 และ 1:1,000 โดยปริมาตรบนพื้นผิวกระด่ำ 80 แกรม และไม้สักตามลำดับ ทั้งโลหิตมนุษย์ และกระด่ำ ในส่วนของพื้นผิวกระจกสามารถตรวจปราบโลหิตเจือจางในอัตราส่วน 1:10,000 โดยปริมาตรในโลหิตมนุษย์ และในอัตราส่วน 1:1,000 โดยปริมาตรในโลหิตกระด่ำ บนพื้นผิวแผ่นใสพลาสติกสามารถตรวจปราบโลหิตเจือจางในอัตราส่วน 1:10,000 โดยปริมาตรทั้งโลหิตมนุษย์ และกระด่ำ ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบปราบโลหิตโดยชุดตรวจ Bluestar[®] หลังจากหยดโลหิตเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

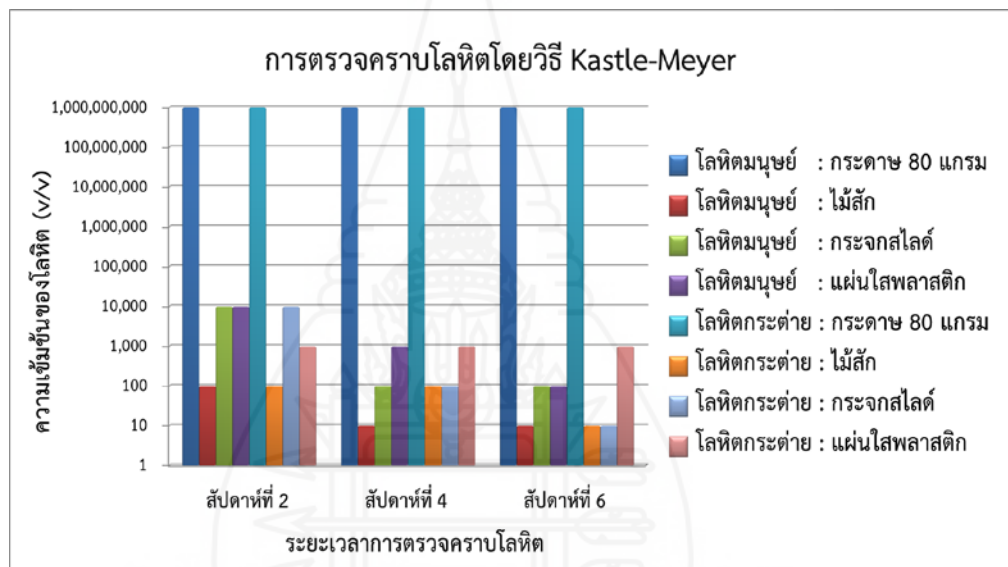
ชนิดโลหิต	ชนิดพื้นผิว	ความเข้มข้นของโลหิต (v/v)										
		10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	Neg. Control
มนุษย์	กระด่ำ 80g	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	ไม้สัก	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	กระจก	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	แผ่นใส	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
กระด่ำ	กระด่ำ 80g	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	ไม้สัก	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	กระจก	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	แผ่นใส	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-



การจัดประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 5

The 5th STOU Graduate Research Conference

เปรียบเทียบประสิทธิภาพการตรวจคราบโลหิตที่ถูกทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์พบว่า ประสิทธิภาพในการตรวจคราบโลหิตลดลงตามระยะเวลาที่ทิ้งคราบโลหิตโดยสามารถตรวจคราบโลหิตได้ดีที่สุดในสัปดาห์ที่ 2, 4 และ 6 ตามลำดับ การตรวจคราบโลหิตโดยวิธี Kastle-Meyer บนพื้นผิวไม้สักสามารถตรวจคราบโลหิตเจือจางในอัตราส่วน 1:100 โดยปริมาตรที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์เมื่อเวลาผ่านไปถึง 6 สัปดาห์ตรวจคราบโลหิตเจือจางได้ในอัตราส่วนเพียง 1:10 โดยปริมาตรทั้งโลหิตมนุษย์และกระด่ำซึ่งต่างจากสัปดาห์ที่ 2 สิบเท่า แต่ในส่วนของพื้นผิวกระด่ำ 80 แกรมที่ตรวจโดยวิธี Kastle-Meyer แปรผันตรงกับระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นทั้งโลหิตมนุษย์และกระด่ำที่สามารถตรวจคราบโลหิตเจือจางในอัตราส่วน 1:1,000,000,000 โดยปริมาตรตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 ถึง 6 ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 แสดงการตรวจคราบโลหิตมนุษย์และกระด่ำที่ถูกเจือจางโดยวิธี Kastle-Meyer บนพื้นผิวที่มีรูพรุนและไม่มีรูพรุนที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์

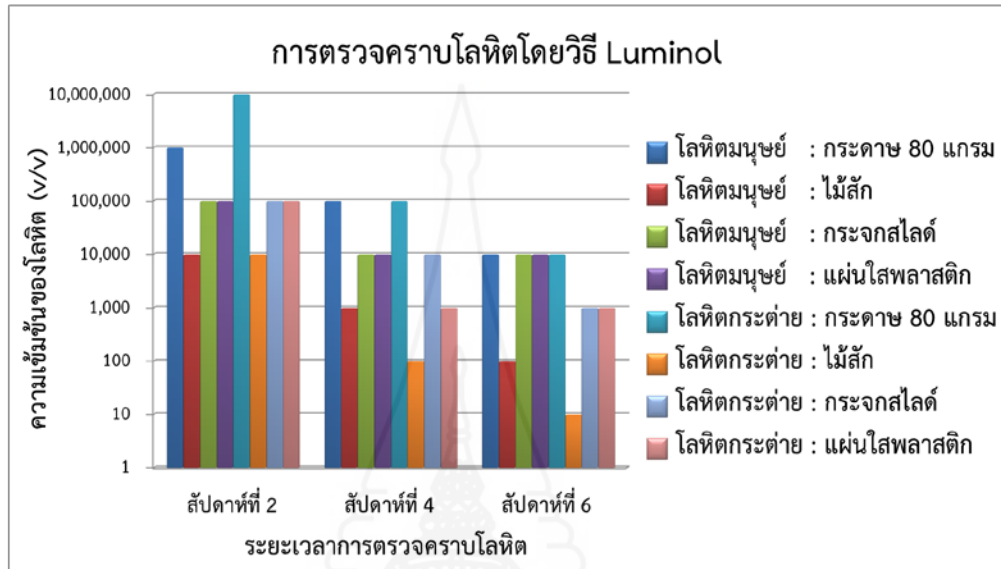
ในการตรวจคราบโลหิตโดยวิธี Luminol ที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์สามารถตรวจคราบโลหิตได้ดีในโลหิตกระด่ำที่เจือจางในอัตราส่วน 1:10,000,000 โดยปริมาตรบนพื้นผิวกระด่ำ 80 แกรม และจะมีประสิทธิภาพลดลงในแต่ละสัปดาห์ ในระยะเวลา 6 สัปดาห์ได้ผลการตรวจที่มีประสิทธิภาพบนพื้นผิวกระด่ำทั้งโลหิตมนุษย์และกระด่ำ บนพื้นผิวกระด่ำ และแผ่นโพลีเอสเตอร์ของโลหิตมนุษย์ที่เจือจางในอัตราส่วน 1:10,000 โดยปริมาตร ส่วนพื้นผิวไม้สักมีประสิทธิภาพการตรวจต่ำมากเมื่อเทียบกับพื้นผิวชนิดอื่นที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์ตรวจคราบโลหิตกระด่ำ เจือจางได้เพียงอัตราส่วน 1:10 โดยปริมาตรดังภาพที่ 2 ผลที่ได้จากการตรวจโดยวิธี Luminol ใกล้เคียงกับการตรวจโดยวิธี Bluestar[®] ในการตรวจคราบโลหิต ที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์โดยวิธี Bluestar[®] สามารถตรวจคราบโลหิตได้มีประสิทธิภาพสูงบนพื้นผิวกระด่ำ 80 แกรมทั้งโลหิตมนุษย์และกระด่ำที่เจือจางในอัตราส่วน 1:1,000,000 โดยปริมาตร รองลงมาคือ พื้นผิวกระด่ำทั้งโลหิตมนุษย์และกระด่ำ และพื้นผิวแผ่นโพลีเอสเตอร์ของ



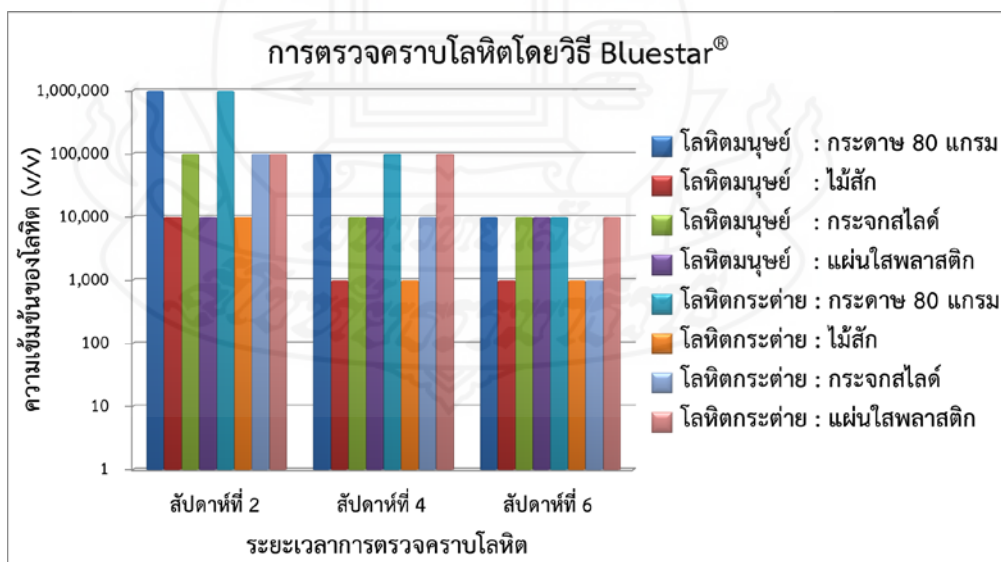
การจัดประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 5

The 5th STOU Graduate Research Conference

โลหิตกระต่ายสามารถตรวจคราบโลหิตได้ในอัตราส่วน 1:100,000 โดยปริมาตร ในระยะเวลา 6 สัปดาห์สามารถตรวจคราบโลหิตได้คืบบนพื้นผิวกระต่าย 80 แกรมทั้งโลหิตมนุษย์และกระต่าย, พื้นผิวกระจกของโลหิตกระต่าย และพื้นผิวแผ่นใสพลาสติกทั้งโลหิตมนุษย์และกระต่ายในอัตราส่วน 1:10,000 โดยปริมาตร ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 2 แสดงการตรวจคราบโลหิตมนุษย์และกระต่ายที่ถูกเจือจางโดยวิธี Luminol บนพื้นผิวที่มีรูพรุนและไม่มีรูพรุนที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์



ภาพที่ 3 แสดงการตรวจคราบโลหิตมนุษย์และกระต่ายที่ถูกเจือจางโดยวิธี Bluestar® บนพื้นผิวที่มีรูพรุนและไม่มีรูพรุนที่ระยะเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์



การจัดประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 5

The 5th STOU Graduate Research Conference

อภิปรายผลการวิจัย

เมื่อทำการศึกษาผลการตรวจคราบโลหิตที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์ทำให้ทราบว่าขีดจำกัดของการตรวจคราบโลหิตแต่ละวิธีแตกต่างกัน ดังเช่น การตรวจคราบโลหิตโดยวิธี Kastle-Meyer มีประสิทธิภาพมากที่สุดบนพื้นผิวกระดาษ 80 แกรมทั้งโลหิตมนุษย์และกระต่ายในอัตราส่วน 1:1,000,000,000 โดยปริมาตร ขณะเดียวกันการตรวจคราบโลหิตโดยวิธี Luminol และ Bluestar® ให้ผลที่เหมือนกัน คือ สามารถตรวจคราบโลหิตมนุษย์และกระต่ายเจือจางในอัตราส่วน 1:10,000 โดยปริมาตร ในทางตรงกันข้ามการตรวจคราบโลหิตที่มีประสิทธิภาพน้อยที่สุด คือ การตรวจบนพื้นผิวไม้สักเหมือนดังที่กล่าวมาข้างต้นแต่แตกต่างที่อัตราส่วนการเจือจาง โดยวิธี Kastle-Meyer สามารถตรวจได้ทั้งโลหิตมนุษย์และกระต่ายเจือจางในอัตราส่วน 1:10 โดยปริมาตร เท่ากับการตรวจคราบโลหิตกระต่ายโดยวิธี Luminol ส่วนในโลหิตมนุษย์วิธี Luminol ตรวจได้มากกว่า 10 เท่า วิธี Bluestar® สามารถตรวจได้มากที่สุด ในอัตราส่วน 1:1,000 โดยปริมาตร ในส่วนของพื้นผิวกระจก วิธี Luminol และ Bluestar® มีประสิทธิภาพการตรวจมากที่สุดกับโลหิตมนุษย์ในอัตราส่วน 1:10,000 โดยปริมาตรมากกว่าการตรวจคราบโลหิตกระต่าย 10 เท่า บนพื้นผิวแผ่นโพลีเอสเตอร์วิธี Bluestar® ตรวจได้มีประสิทธิภาพที่สุดทั้งโลหิตมนุษย์และกระต่ายที่อัตราส่วน 1:10,000 โดยปริมาตรเท่ากับการตรวจโดยวิธี Luminol บนคราบโลหิตมนุษย์

ผลการตรวจคราบโลหิตโดยวิธี Kastle-Meyer ใช้ตรวจได้อย่างมีประสิทธิภาพบนพื้นผิวมีรูพรุนชนิดกระดาษ 80 แกรม ซึ่งให้ผลการตรวจที่มีประสิทธิภาพสอดคล้องกับงานวิจัยของ (Vennemma *et al.*, 2014) ได้ศึกษาทดลองการตรวจคราบโลหิตบนกระดาษกรองโดยเจือจางโลหิตในอัตราส่วน 1:10 ถึง 1:10,000,000 หยดลงบนตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตร แล้วทำการทดสอบโดยหยดสาร Kastle-Meyer 1 หยดตามด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1 หยด และให้ผลบวกในการตรวจคราบโลหิตถึงอัตราส่วน 1:10,000,000 โดยปริมาตร

เมื่อพิจารณาผลการตรวจคราบโลหิตข้างต้นพบว่า มีประสิทธิภาพในการตรวจคราบโลหิตสูงบนพื้นผิวกระดาษ 80 แกรม เมื่อเทียบกับการตรวจคราบโลหิตบนพื้นผิวไม้สักที่ให้ประสิทธิภาพการตรวจต่ำเมื่อระยะเวลาผ่านไปถึง 6 สัปดาห์ แม้ว่าพื้นผิวทั้ง 2 ชนิดจะเป็นวัสดุที่มีรูพรุนเหมือนกัน และมีคุณสมบัติเหมือนกัน คือมีความสามารถในการดูดซึมสารละลาย แต่พื้นผิวกระดาษ 80 แกรม มีความบางกว่าพื้นผิวไม้สักเมื่อพื้นผิวทั้งสองดูดซึมสารละลาย พื้นผิวกระดาษจะดูดซึม และแผ่ขยายเป็นวงกว้างบนผิวหน้ากระดาษทำให้โลหิตที่ถูกเจือจางยังคงติดอยู่บนพื้นผิวในขณะที่พื้นผิวไม้สักดูดซึมโลหิตเจือจางลงไปยังชั้นผิวไม้ที่ลึกลงไปทำให้ปริมาณของโลหิตเจือจางที่หยดลงไปมีอยู่น้อยบนพื้นผิวไม้ เพราะสาเหตุนี้จึงทำให้การตรวจคราบโลหิตในพื้นผิวไม้สักมีประสิทธิภาพน้อยที่สุด ส่วนในพื้นผิวที่ไม่มีรูพรุน สามารถตรวจคราบโลหิตได้ดีที่สุดโดยวิธี Bluestar® บนพื้นผิวแผ่นโพลีเอสเตอร์ และตรวจคราบโลหิตได้น้อยที่สุดโดยวิธี Kastle-Meyer บนพื้นผิวกระจก ในวัสดุที่ไม่มีรูพรุนเมื่อทำการหยดโลหิตเจือจางลงไปโลหิตยังคงอยู่บนพื้นผิวนั้นๆ แต่ด้วยลักษณะของวัสดุทั้ง 2 มีผิวที่เรียบ ลื่น ไม่ยึดเกาะกับสารละลายเมื่อมีการถู, ขูดหรือลอกคราบโลหิตออกไปส่งผลให้โลหิตมีปริมาณน้อยลงทำให้ผลการตรวจคราบโลหิตที่ได้ลดน้อยลงตามลำดับ รวมถึงระยะเวลาที่ทิ้งคราบโลหิต ก็ส่งผลต่อการตรวจคราบโลหิตเช่นกัน อีกทั้งเมื่อทำการเจือจางโลหิตทำให้ปริมาณของฮีโมโกลบินซึ่งเป็นตัวเร่งการเกิดปฏิกิริยาของการทดสอบทั้ง 3 วิธี นั้นลดลงจึงทำให้การเกิดปฏิกิริยาแปรผันตามไปด้วย นอกจากนี้พื้นผิวบางชนิดมีสีเข้มส่งผลต่อการตรวจคราบ



การจัดประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 5

The 5th STOU Graduate Research Conference

โลหิตในบางวิธี ในการวิจัยนี้หากเป็นพื้นผิวที่มีสีเข้มก็ไม่สามารถเลือกใช้วิธี Kastle-Meyer ได้เนื่องจากไม่สามารถมองเห็นสีที่เกิดจากปฏิกิริยา ในกรณีนี้ควรเลือกใช้วิธีการอื่น ได้แก่ Luminol และ Bluestar® เป็นต้น

ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ได้ทำการตรวจคราบโลหิตโดยวิธีต่างๆ กับโลหิตมนุษย์และกระด้าง บนพื้นผิวที่มีรูพรุน และไม่มีรูพรุนอย่างละ 2 ชนิด ผู้ที่สนใจศึกษาต่อโดยวิธีอื่นหรือวิธีการเตรียมสารที่แตกต่างกันที่ทำให้ปฏิกิริยาการเกิดดีขึ้นเหมาะสมแก่สถานที่ที่ใช้ มีการเพิ่มเติมชนิดของพื้นผิว และชนิดของโลหิตให้มีความหลากหลายมากขึ้น ในส่วนของโลหิตอาจมีการทดลองกับสัตว์ใหญ่ เช่น สุกร โค กระบือ เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

- ชัยวัฒน์ ไชยสมบูรณ์. (2555). การทดสอบ Kastle-Meyer และการประยุกต์ใช้ในทางวิทยาศาสตร์ การแพทย์. วารสารนิติเวชศาสตร์, 4(2), 179-184.
- ศิริพร พันธศรี. (2549). การตรวจพิสูจน์คราบโลหิต. วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่, 39(3), 25-28.
- Barni, F., Lewis, S.W., Berti, A., Miskelly, G.M. and Lago, G. (2007). Forensic application of the luminol reaction as a presumptive test for latent blood detection. Talanta, 72, 896-913.
- Cheyne, M. (2011). Illuminating latent blood application methods, fixatives, alternatives and new formulas for luminol (Master's Thesis), The University of Auckland.
- Grodsky, M., Wright, K., Kirk, P.L. (1951). Simplified preliminary blood testing-An improved technique and a comparative study of methods. Journal of criminal law and criminology, 42(1), 95-104.
- James, S.H., Kish, P.E. and Sutton, T.P. (2005). Principles of Bloodstain Pattern Analysis: Theory and Practice. 3th ed. CRC Press, USA.
- Vennemann, M., Scott, G., Curran, L., Bittner, F. and Tobe, S.S. (2014). Sensitivity and specificity of presumptive tests for blood, saliva and semen. Forensic Science medicine Pathology, 10, 69-75.