

การตรวจคราบโลหิตของมนุษย์ด้วยวิธีฟีนอล์ฟธาเลิน ลูมินอล และฟลูออเรสเซิน บนพื้นรองเท้าชนิดต่างๆ

Detection of Human Bloodstains on Various Types of Shoe Soles by the Phenolphthalein, Luminol and Fluorescein Methods

จุฑามาศ ยิ้มุ่น¹ ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง² และ ศุภชัย สุภลักษณ์นารี²

Jutamas Yimnoon¹, Sirirat Choosakoonkriang² and Supachai Supalaknari²

¹หลักสูตรนิติวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

²ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

¹Forensic Science program, Faculty of Science, Silpakorn University

²Department of Chemistry, Faculty of Science, Silpakorn University

*Corresponding author; E-mail: YIMNOON_J@su.ac.th

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้ เพื่อเปรียบเทียบการตรวจวัดคราบโลหิตของมนุษย์ บนวัสดุต่างชนิดที่ใช้ทำพื้นรองเท้า ด้วยวิธีฟีนอล์ฟธาเลิน ลูมินอล และฟลูออเรสเซิน เริ่มทำการทดลองโดยนำโลหิตของมนุษย์มาหยดบนพื้นรองเท้าชนิดต่างๆ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง และทำการตรวจวัดคราบโลหิตที่ระยะเวลา 1, 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่าคราบโลหิตที่หยดลงบนพื้นรองเท้าทุกชนิดสามารถตรวจพบได้ด้วยวิธีลูมินอล แม้ว่าคราบโลหิตจะถูกทิ้งไว้นานถึง 8 สัปดาห์ นอกจากนี้ พบว่าวิธีทดสอบทั้งสามวิธีสามารถใช้ตรวจพบคราบโลหิตบนพื้นรองเท้าที่ทำจากเอทิลีนไวนิลอะซิเตดและยางธรรมชาติ ในขณะที่คราบโลหิตที่หยดบนพื้นผิวที่ทำจากไม้ไม่สามารถใช้ในการตรวจวัดด้วยวิธีฟลูออเรสเซิน ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า วิธีการตรวจวัดคราบโลหิตด้วยวิธีทั้งสามนี้ สามารถใช้ในการตรวจวัดคราบโลหิตเกาบนพื้นรองเท้า ถ้าหากว่าเลือกวิธีที่เหมาะสมกับวัสดุที่ใช้ทำพื้นรองเท้า

คำสำคัญ: คราบโลหิตของมนุษย์ พื้นรองเท้า ฟีนอล์ฟธาเลิน ลูมินอล ฟลูออเรสเซิน

Abstract

The objective of this research was to compare the detection of human bloodstains deposited on different materials of shoe soles using phenolphthalein, luminol and fluorescein methods. Initially,



the blood samples were applied to the substrates. After that, the specimens were kept at room temperature for 1, 2, 4, 6 and 8 weeks before testing. It was found that the bloodstains on all types of material studied can be detected by the luminol test even these on specimens were kept for 8 weeks. Moreover, the three test methods can be used to detect the bloodstains on the ethylene vinyl acetate and natural rubber substrates while the bloodstains on the wooden soles were not detectable with the fluorescein test. The results demonstrated that three methods can be used to detect the aging bloodstains on shoe soles if they were used appropriately to the types of material of shoe soles.

Keywords: Bloodstain, Shoe soles, Phenolphthalein, Luminol, Fluorescein

บทนำ

สถานที่เกิดเหตุมักพบวัตถุพยานที่ใช้เป็นหลักฐานสำคัญในการพิสูจน์ความผิดของคนร้าย หรือเพื่อใช้เป็นแนวทางในการช่วยสืบหาผู้กระทำความผิดได้อย่างถูกต้องและรวดเร็วยิ่งขึ้น ในกรณีที่ไม่สามารถพบลายพิมพ์นิ้วมือแฝงบนวัตถุพยาน หรือในสถานที่เกิดเหตุ ครอบงมโลหิตเป็นทางเลือกหนึ่ง ที่นำมาใช้ แม้จะมีปริมาณเพียงเล็กน้อยก็สามารถนำมาตรวจหาดีเอ็นเอ (DNA) หรือรหัสพันธุกรรมที่เฉพาะเจาะจงในแต่ละบุคคลได้ [1] ในโลหิตประกอบด้วย เม็ดเลือดแดงที่มีสารฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) ซึ่งมีธาตุเหล็ก (Fe) เป็นส่วนประกอบสำคัญ โดยฮีโมโกลบินมีความสำคัญในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์หลายด้าน เช่น สามารถนำมาวิเคราะห์หาระดับของฮีโมโกลบินชนิดต่างๆ เพื่อประมาณอายุของเด็กได้ เป็นต้น [2] สารฮีโมโกลบินที่อยู่ในโลหิตจึงมีความสำคัญสามารถใช้เป็นหลักฐานทางนิติวิทยาศาสตร์เพื่อนำไปสู่ความยุติธรรมในคดีได้

ในปัจจุบัน พื้นรองเท้าที่พบแบ่งออกเป็น ยางพื้นรองเท้าที่ผลิตจาก ยางธรรมชาติ พื้นไม้ ที่เป็น

วัสดุที่มาจากไม้ธรรมชาติ และพื้นสังเคราะห์ (Synthetic rubber) ซึ่งพื้นยางสังเคราะห์ คือยางเทียมที่มีลักษณะทางเคมีและคุณสมบัติคล้ายคลึงกับยางธรรมชาติ [3] พื้นโฟมอีวีเอ (EVA; Ethylene vinyl acetate) เป็นโพลิเมอร์ที่เกิดจากการ Polymerization ของสาร Ethylene monomer กับ Vinyl acetate (VA) มีคุณสมบัติคล้ายเรซิน และยางนิยมนำมาใช้เป็นพื้นกันลื่นและพื้นรองเท้า [4] พื้นยางธรรมชาติ (Natural rubber) เป็นโพลิเมอร์ชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติเชิงกลดี ยืดหยุ่นสูง เหนียว และต้านทานต่อการขาดสูง แปรรูปมาจากน้ำยางพาราสด [5] พื้นไบกัน (Birkenstock) เป็นรองเท้าเพื่อสุขภาพ ผลิตจากไม้ก๊อกและยาง [6] ในกรณีพื้นยางสังเคราะห์พียู (PU; Polyurethane) เป็นโพลิเมอร์ชนิดหนึ่งที่เกิดจากการ Polymerization ของ Urethane [7] นอกจากนั้น ยางสังเคราะห์ทีพียู (TPU; Thermoplastic polyurethane) เป็นอีกชั้นหนึ่งของ Polyurethane คุณสมบัติยืดหยุ่นสูง มีความลื่น ทนต่อการสึกกร่อน น้ำมัน และตัวทำละลาย [8] พื้นรองเท้าอีกชนิดหนึ่งคือพีวีซี (PVC; Polyvinyl chloride) เกิดขึ้นจากการ Polymerization ของ Monomer vinylchloride [9] พื้นฟล่อน (Phylon) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการ



นำโฟมอีวีเอ (EVA) เข้าเครื่องฉีดผ่านแม่พิมพ์ ภายใต้อุณหภูมิสูงมีน้ำหนักเบา จึงนิยมนำมาใช้เป็นพื้นกันลื่น และพื้นรองเท้า รองเท้าที่ผู้กระทำ ความผิดสวมใส่ขณะก่อเหตุอาจจะทำให้คราบโลหิตติดอยู่บนพื้นรองเท้า ดังนั้น การตรวจคราบโลหิตที่อยู่บนพื้นรองเท้าจึงมีความสำคัญในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์อย่างยิ่ง

การตรวจคราบโลหิตมีหลายวิธี แต่ที่นิยมคือ Phenolphthalein หรือ Kastle-Meyer (KM test) โดยปัจจุบันใช้เป็นวิธีทดสอบคราบโลหิตแบบเบื้องต้น นอกจากนั้น การตรวจด้วยวิธี Luminol [10] และ Fluorescein [11] ได้ถูกพัฒนา และใช้ในการตรวจคราบโลหิตเช่นกัน

ผู้วิจัยสนใจที่จะทำการตรวจคราบโลหิตด้วยวิธี Phenolphthalein, Luminol และ Fluorescein บนพื้นรองเท้าชนิดต่างๆ เนื่องจากทั้ง 3 วิธีข้างต้น เป็นวิธีที่ให้ผลในการตรวจคราบโลหิตได้อย่างมีประสิทธิภาพ การทดสอบมีความสะดวก รวดเร็วและไม่เป็นอันตราย และสามารถประยุกต์ใช้ในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ได้

วิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการตรวจคราบโลหิตบนพื้นรองเท้าชนิดต่างๆ ได้แก่ พื้นยางสังเคราะห์ (Synthetic rubber) พื้นโฟมอีวีเอ (EVA; Ethylene vinyl acetate) พื้นยางธรรมชาติ (Natural rubber) พื้นไม้ธรรมชาติ (Wooden) พื้นไบบ์กัน (Birkenstock) พื้นยางสังเคราะห์พียู (PU; Polyurethane) พื้นยางสังเคราะห์ทีพียู (TPU; Thermoplastic polyurethane) พื้นพีวีซี (PVC; Polyvinyl chloride) และพื้นไพล่อน (Phylon) ดังแสดงใน Figure 1

วิธีการทดลอง

นำตัวอย่างพื้นรองเท้า 8 ชนิด ตัดตัวอย่างขนาดกว้าง 1.5 cm และยาว 1.5 cm

นำตัวอย่างโลหิตของมนุษย์จากอาสาสมัครที่บรรจู่ในหลอดเคลือบด้วยสาร Ethylene Diamine Tetra-Acetic Acid (EDTA) และนำโลหิตมาเจือจางอัตราส่วน 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



Figure 1. Eight types of shoe soles

หยดโลหิตลงบนตัวอย่างพื้นรองเท้าทุกชนิด ปริมาตร 25 μ l ทิ้งไว้ให้แห้งแล้วเก็บในซองพลาสติก ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1, 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ เมื่อครบเวลา ทำการตรวจคราบโลหิตที่อยู่บนตัวอย่างพื้นรองเท้าด้วยวิธี Phenolphthalein, Luminol และ Fluorescein โดยเตรียมสารเคมีดังนี้

การเตรียม Phenolphthalein โดยการชั่งสาร Phenolphthalein 1 g, KOH 10 g และ Zinc powder 10 g ผสมน้ำกลั่น 50 ml นำไปต้มโดยใช้ Reflux condenser จนกระทั่งสารละลายไม่มีสี และนำสารละลาย 5 ml ผสมกับ Ethanol 20 ml ใส่ในขวดสีชา



เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C ตรวจสอบไลทิตโดยหยด Phenolphthalein 25 μ l ลงบนตัวอย่างพื้นรองเท้าและหยด 3% H₂O₂ 25 μ l ตามทันที จะเกิดการเปลี่ยนสีจากไม่มีสีกลายเป็นสีชมพู ภายใน 10 วินาที [12]

การเตรียม Luminol โดยชั่งสาร Luminol 0.25 g และ NaOH 2.5 g นำมาละลายด้วยน้ำกลั่นจำนวน 50 ml และ 3% H₂O₂ ในน้ำกลั่น 50 ml ตรวจสอบไลทิตโดยการหยด Luminol จำนวน 25 μ l ลงบนตัวอย่างพื้นรองเท้า สามารถมองเห็นการเรืองแสงสีฟ้าในที่มืดสนิท [13]

การเตรียม Fluorescein โดยชั่งสาร Fluorescein 0.1 g และ Zinc powder 2 g ใส่ในบีกเกอร์ ผสมกับน้ำกลั่น 20 ml ผสมให้เข้ากันหลังจากนั้นเติม NaOH 1 g และนำไปแช่ในน้ำอุ่นอุณหภูมิ 37°C เพื่อช่วยให้เกิดปฏิกิริยา reduction ของ Fluorescein เป็น Fluorescin เก็บสารละลายไว้ในขวดสีชาหรือที่มืดที่อุณหภูมิ 4°C เมื่อต้องการนำมาใช้จึงนำสาร Fluorescein เจือจางในน้ำกลั่นอัตราส่วน 1:100 โดยปริมาตร ตรวจสอบไลทิตโดยหยด Fluorescein 25 μ l ลงบนตัวอย่างพื้นรองเท้าและหยด 3% H₂O₂ 25 μ l ตามทันที สามารถมองเห็นการเรืองแสงสีเขียวเหลืองในที่มืดสนิท โดยใช้แหล่งกำเนิดแสง (Light source) ที่มีความยาวคลื่น 450 nm และ Orange barrier [11]

ถ่ายรูปผลการศึกษาด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิทัล (Fujifilm X-A2 16MP CMOS Sensor)

การวิเคราะห์ผลการตรวจสอบไลทิต

นำภาพถ่ายมาเปรียบเทียบวิเคราะห์ผลการตรวจสอบไลทิตบนพื้นรองเท้า โดยเปรียบเทียบความเข้มของสีที่ได้จากการตรวจด้วยวิธี Phenolphthalein, Luminol และ Fluorescein โดยกำหนดความเข้มของสี 4 ระดับ ดังนี้

ความเข้มของสีสูงที่สุด	แทนด้วย	+++
ความเข้มของสีปานกลาง	แทนด้วย	++
ความเข้มของสีต่ำที่สุด	แทนด้วย	+
ไม่ปรากฏสี	แทนด้วย	-

ผลการศึกษา

ผลจากการศึกษา พบว่า เมื่อตรวจสอบไลทิตที่อยู่บนพื้นรองเท้าด้วยวิธี Phenolphthalein, Luminol และ Fluorescein บนพื้นรองเท้าทั้ง 8 ชนิด หลังการหยดไลทิตทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ การตรวจสอบไลทิตด้วยวิธี Phenolphthalein จะพบการเปลี่ยนสีจากไม่มีสีกลายเป็นสีชมพู ภายใน 10 วินาที การตรวจสอบไลทิตด้วยวิธี Luminol สามารถมองเห็นการเรืองแสงสีฟ้าในที่มืดสนิท และการตรวจสอบไลทิตด้วยวิธี Fluorescein สามารถมองเห็นการเรืองแสงสีเขียวเหลืองในที่มืดสนิท ภายใต้แหล่งกำเนิดแสง (Light source) ที่มีความยาวคลื่น 450 nm และ Orange barrier ดังแสดงใน Figure 2 การตรวจสอบไลทิตที่อยู่บนพื้นรองเท้าทุกชนิด ด้วยวิธี Phenolphthalein ตรวจพบความเข้มของสี ปานกลาง ยกเว้นพื้นโฟมอีวีเอ (EVA) และพื้นยางธรรมชาติ สามารถตรวจพบความเข้มของสีสูงที่สุดแต่การตรวจด้วยวิธี Luminol สามารถตรวจพบคราบไลทิตที่อยู่บนพื้นรองเท้าทุกชนิด มีความเข้มของสีสูงที่สุดและวิธี Fluorescein สามารถตรวจพบคราบไลทิตมีความเข้มของสีสูงที่สุดเช่นกัน ยกเว้นบนพื้นไม้ ที่ตรวจพบคราบไลทิตมีความเข้มของสีต่ำที่สุด

เมื่อตรวจสอบไลทิตที่อยู่บนพื้นรองเท้าด้วยวิธี Luminol จะมองเห็นการเปล่งแสงได้นาน 10-15 นาที ยกเว้นบนพื้นไม้จะเปล่งแสงได้นานเพียง 5 นาทีเท่านั้น ในขณะที่วิธี Fluorescein สามารถมองเห็น



การเปล่งแสงของ Fluorescein ได้นาน 20-30 นาที
 ซึ่งยาวนานกว่าการทดสอบด้วยวิธี Luminol

เมื่อเปรียบเทียบวัสดุที่ใช้ทำพื้นรองเท้า พบว่า
 พื้นโฟมอีวีเอ (EVA) สามารถตรวจพบคราบโลหิตมี

ความเข้มของสีสูงที่สุด ในวิธีทั้งสามในการตรวจคราบ
 โลหิต และพื้นรองเท้าที่ทำจากไม้ ตรวจพบคราบโลหิต
 มีความเข้มของสีต่ำที่สุด เมื่อตรวจด้วยวิธี Fluorescein



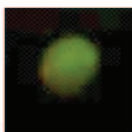
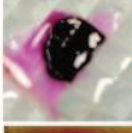

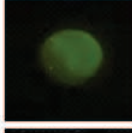
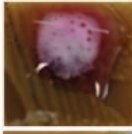
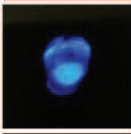
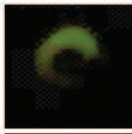

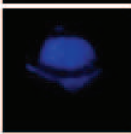

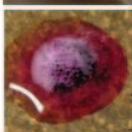

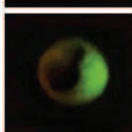
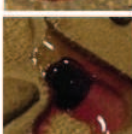

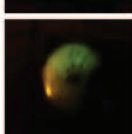
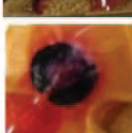


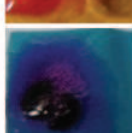
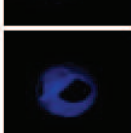
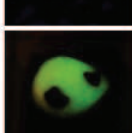
Types of shoe soles	Bloodstain detection		
	Phenolphthalein	Luminol	Fluorescein
Synthetic rubber			
EVA			
Natural rubber			
Wooden			
Birkenstock			
PU/TPU			
PVC			
Phylon			

Figure 2. Bloodstain detection on 8 types of shoe soles kept for 1 week before testing



เมื่อเปรียบเทียบวิธีการตรวจคราบโลหิตบนพื้นรองเท้าทั้ง 3 วิธี ภายหลังจากการหยดโลหิตทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 1 และ 8 สัปดาห์ พบว่า ถึงแม้ว่าจะหยดโลหิตทิ้งไว้นานถึง 8 สัปดาห์ พื้นยางสังเคราะห์ พื้นโฟมอีวีเอ (EVA) พื้นยางธรรมชาติ พื้นไม้ พื้นใบแก้ว พื้นยางสังเคราะห์พียู/ทีพียู (PU/TPU) พื้นพีวีซี (PVC) และพื้นไพล่อน ยังสามารถตรวจพบคราบโลหิตที่มีความเข้มข้นของสีเทียบเท่าการหยดโลหิตทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ ดังแสดงใน Figure 3. เมื่อเปรียบเทียบภาพถ่ายของการตรวจพบคราบโลหิตที่อยู่บนพื้นโฟมอีวีเอ (EVA) ด้วยวิธี Phenolphthalein และ Figure 3. B เมื่อตรวจด้วยวิธี Fluorescein สามารถตรวจพบคราบโลหิตที่หยดทิ้งไว้นาน 8 สัปดาห์ มีความเข้มข้นของสีเท่ากับการหยดโลหิตทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ ในขณะเดียวกัน พบว่า เมื่อตรวจคราบโลหิตที่อยู่บนพื้นไม้ด้วยวิธี Fluorescein ภายหลังจากการหยดโลหิตทิ้งไว้นาน 8 สัปดาห์ ไม่สามารถตรวจพบคราบโลหิตได้ ดังแสดงใน Figure 3. C และเมื่อนำคะแนนความเข้มของสีที่ได้จากการตรวจคราบโลหิตพล็อตกับวิธีการตรวจคราบโลหิต และชนิดของพื้นรองเท้าที่ใช้ ดังแสดงใน Figure 3

พบคราบโลหิตได้ ดังแสดงใน Figure 3. C และเมื่อนำคะแนนความเข้มของสีที่ได้จากการตรวจคราบโลหิตพล็อตกับวิธีการตรวจคราบโลหิต และชนิดของพื้นรองเท้าที่ใช้ ดังแสดงใน Figure 3. เมื่อเปรียบเทียบภาพถ่ายของการตรวจพบคราบโลหิตที่อยู่บนพื้นโฟมอีวีเอ (EVA) ด้วยวิธี Phenolphthalein และ Figure 3. B เมื่อตรวจด้วยวิธี Fluorescein สามารถตรวจพบคราบโลหิตที่หยดทิ้งไว้นาน 8 สัปดาห์ มีความเข้มข้นของสีเท่ากับการหยดโลหิตทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ ในขณะเดียวกัน พบว่า เมื่อตรวจคราบโลหิตที่อยู่บนพื้นไม้ด้วยวิธี Fluorescein ภายหลังจากการหยดโลหิตทิ้งไว้นาน 8 สัปดาห์ ไม่สามารถตรวจพบคราบโลหิตได้ ดังแสดงใน Figure 3. C และเมื่อนำคะแนนความเข้มของสีที่ได้จากการตรวจคราบโลหิตพล็อตกับวิธีการตรวจคราบโลหิต และชนิดของพื้นรองเท้าที่ใช้ ดังแสดงใน Figure 3

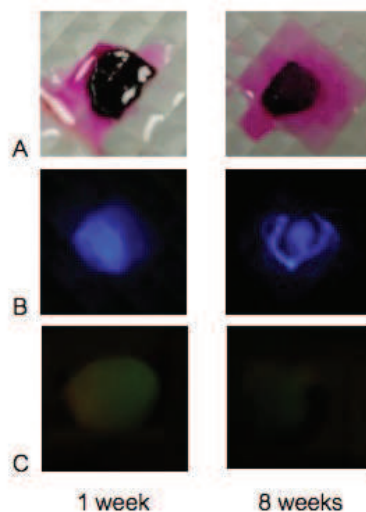


Figure 3. Bloodstain detection at the aging time of 1 week and 8 weeks: A) On EVA soles by phenolphthalein test, B) on EVA soles by the luminol test and C) on wooden soles by the fluorescein test

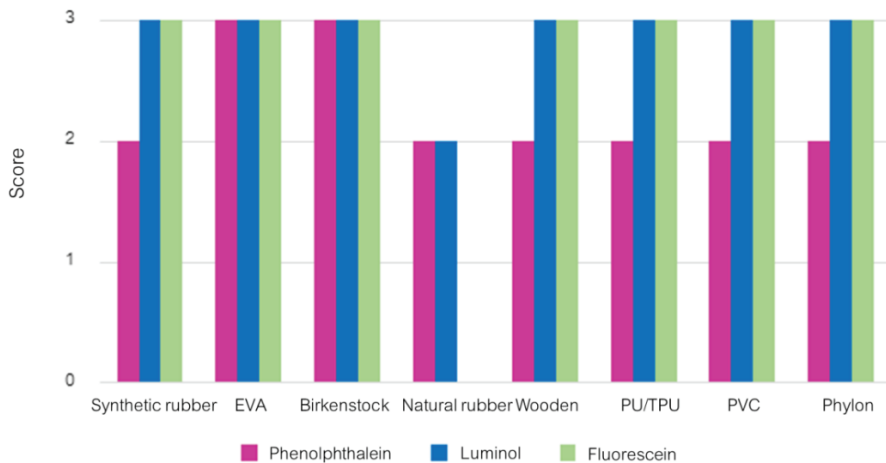


Figure 4. Bloodstain detection scores of various types of shoe soles at the aging time of 8 week

จาก Figure 4 บ่งชี้ได้ว่า เมื่อเปรียบเทียบวิธีการตรวจ คราบโลหิตที่อยู่บนพื้นรองเท้าทั้ง 3 วิธี ภายหลังจาก หยดโลหิตทิ้งไว้เวลานาน 8 สัปดาห์ พบว่า การตรวจคราบ

โลหิตที่อยู่บนพื้นรองเท้าทุกชนิดด้วยวิธี Luminol ตรวจ พบความเข้มข้นของสีสูงที่สุดและวิธี Fluorescein ไม่ สามารถตรวจพบคราบโลหิตบนรองเท้าที่ทำจากไม้ได้

Table 1. Effect of ageing time and blood dilution on detectability of bloodstains by the luminol test on different types of shoe soles

Type of shoe soles	Sole ageing time (week)	Blood dilution (v/v)
Synthetic rubber	1	1:50,000
	8	1:50,000
EVA	1	1:100,000
	8	1:50,000
Natural rubber	2	1:100,000
	8	1:50,000
Wooden	6	1:100
	8	1:10
Birkenstock	1	1:10,000
	8	1:10,000
PU/TPU	1	1:50,000
	8	1:10,000
PVC	1	1:100,000
	8	1:50,000
Phylon	2	1:10,000
	8	1:50,000



จาก Table 1 จากผลทดลองดังที่กล่าวมา ถึงแม้ว่าเวลาจะผ่านไปนานถึง 8 สัปดาห์ การตรวจคราบโลหิตด้วยวิธี Luminol ยังสามารถตรวจพบคราบโลหิตที่อยู่บนพื้นรองเท้าทุกชนิดได้ การศึกษาเปรียบเทียบความไว (Sensitivity) ของการตรวจคราบโลหิตด้วยวิธี Luminol โดยนำโลหิตเจือจางในอัตราส่วน 1:10 ถึง 1:1,000,000 โดยปริมาตร หยดลงบนพื้นรองเท้า และทำการตรวจวัดที่ระยะเวลา 1, 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ พบว่าภายหลังการหยดโลหิตทิ้งไว้ นาน 8 สัปดาห์ สามารถตรวจพบคราบโลหิตที่อยู่บนพื้นโฟมอีวีเอ (EVA) รวมทั้งพื้นยางธรรมชาติ พื้นพีวีซี (PVC) และพื้นไพล่อน ได้ในอัตราส่วนโลหิตเจือจางมากที่สุด 1:50,000 โดยปริมาตร แต่คราบโลหิตที่อยู่บนพื้นไม้ สามารถตรวจพบคราบโลหิตได้ในอัตราส่วนโลหิตเจือจาง 1:10 โดยปริมาตร เท่านั้น

อภิปรายผลและสรุป

จากผลการศึกษาข้างต้น การตรวจคราบโลหิตด้วยวิธี Luminol ภายหลังการหยดโลหิตทิ้งไว้ นานถึง 8 สัปดาห์ สามารถตรวจพบคราบโลหิตที่อยู่บนพื้นรองเท้าทุกชนิด ซึ่งมี ความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Webb [14] ที่ทำการศึกษเปรียบเทียบเทคนิคการตรวจคราบโลหิตที่ใช้ในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ ได้แก่ วิธี Luminol ที่เป็นสาร Chemiluminescent และวิธี Phenolphthalein (Kastle-Meyer), leucomalachite green, Hemastix® และการใช้ Forensic light source ที่ไม่ใช่สาร Chemiluminescent ซึ่งจากการศึกษาพบว่า การตรวจคราบโลหิตโดยวิธี Luminol เป็นเทคนิคที่มีความไวต่อการตรวจคราบโลหิตมากที่สุด

เมื่อเปรียบเทียบชนิดของพื้นรองเท้า พบว่าพื้นโฟมอีวีเอ (EVA) สามารถตรวจพบคราบโลหิตมีความเข้มของสีสูงที่สุด ในทั้ง 3 วิธี เนื่องจากพื้นโฟมอีวีเอ (EVA; Ethylene vinyl acetate) เป็นโพลิเมอร์ที่เกิดจากการ Polymerization ของ Ethylene monomer กับ Vinyl acetate ที่มีคุณสมบัติคล้ายเรซิน และยาง [4] จึงทำให้โลหิตยึดเกาะพื้นรองเท้าได้ดี และไม่ซึมลงไป ในพื้นวัสดุ ทำให้สามารถตรวจพบคราบโลหิตได้มากกว่าพื้นรองเท้าที่ทำจากวัสดุอื่นๆ และยังพบว่าเมื่อเปรียบเทียบการตรวจคราบโลหิตในอัตราส่วนเจือจางต่างๆ ด้วยวิธี Luminol สามารถตรวจพบได้ในอัตราส่วนโลหิตเจือจางมากที่สุด คือ 1:50,000 โดยปริมาตร ที่ตรวจพบได้มากกว่าวิธี Phenolphthalein และวิธี Fluorescein ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Watkins และ Brown [15] ที่ทำการศึกษเปรียบเทียบประสิทธิภาพการตรวจคราบโลหิตด้วยวิธี Luminol และ BlueStar® โดยใช้โลหิตที่เจือจางในอัตราส่วนต่างๆ พบว่า ภายหลังการหยดโลหิตทิ้งไว้ 30 วัน การตรวจคราบโลหิตด้วยวิธี Luminol สามารถตรวจคราบโลหิตบนพื้นพรม ได้ในอัตราส่วนโลหิตเจือจางมากที่สุด อัตราส่วน 1:1,000,000 โดยปริมาตร ในขณะที่คราบโลหิตที่อยู่บนพื้นไม้ เมื่อตรวจด้วยวิธี Luminol สามารถตรวจพบคราบโลหิตได้ในอัตราส่วนโลหิตเจือจางเพียง 1:10 โดยปริมาตร เท่านั้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ สวรรส [16] ที่ศึกษาเปรียบเทียบวิธีการตรวจคราบโลหิตที่เจือจางในอัตราส่วนต่างๆ โดยใช้วิธี Phenolphthalein, Tetramethylbenzidine, Luminol และ BlueStar บนพื้นผิวที่มีรูพรุน และไม่มีรูพรุน และตรวจคราบโลหิตภายหลังการหยดโลหิตทิ้งไว้ 1, 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ พบว่าบนพื้นผิวไม้อัด (พื้นผิวที่ไม่มีรูพรุน) สามารถตรวจคราบโลหิตที่เจือจาง



ในอัตราส่วนได้น้อยกว่าพื้นผิวอื่นๆ และยังพบอีกว่า เมื่อตรวจคราบโลหิตที่อยู่บนพื้นไม้ ด้วยวิธี Fluorescein ไม่สามารถตรวจพบได้ ทั้งนี้เนื่องจากพื้นไม้จัดว่าเป็นพื้นผิวที่ไม่มีรูพรุน จึงทำให้สามารถตรวจพบคราบโลหิตได้ไม่ชัดเจนเท่าพื้นชนิดอื่น การตรวจคราบโลหิตที่อยู่บนพื้นรองเท้าทุกชนิดด้วยวิธี Luminol สามารถมองเห็นการเปล่งแสงได้นาน 10-15 นาที ยกเว้นบนพื้นไม้ จะมองเห็นการเปล่งแสงได้นานเพียง 5 นาที แต่วิธี Fluorescein จะมองเห็นการเปล่งแสงได้นาน 20-30 นาที ซึ่งนานกว่าการตรวจด้วยวิธี Luminol เมื่อพิจารณาผลการศึกษาข้างต้น มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Cheeseman และ DiMeo [11] ที่ทำศึกษาพบว่า สาร Fluorescence ใน Fluorescein สามารถทำปฏิกิริยาได้นานกว่าสาร Luminescence ที่อยู่ใน Luminol และการตรวจคราบโลหิตด้วยวิธี Luminol เมื่อทำปฏิกิริยากับโลหิต สามารถมองเห็นการเปล่งแสงสีฟ้าในที่มืดสนิทด้วยตาเปล่า แต่การตรวจคราบโลหิตด้วยวิธี Fluorescein สามารถมองเห็นได้ในที่มีดสนิท โดยต้องใช้แหล่งกำเนิดแสง (Light source) ความยาวคลื่น 450 nm และ Orange barrier ซึ่งการเตรียมสารเคมี และอุปกรณ์ที่ยุ่งยากกว่าวิธี Luminol

การหยดโลหิตทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง พบว่าคราบโลหิตที่ไม่เจือจางและโลหิตอัตราส่วนเจือจาง 1:10 โดยปริมาตร ที่อยู่บนพื้นยางธรรมชาติ พื้นพีวีซี (PVC) และพื้นไพล่อน มีลักษณะแตกและหลุดล่อนออกจากพื้นรองเท้า เนื่องจากวัสดุดังกล่าวมีพื้นผิวเรียบและลื่น มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ พินิตา [17] ที่ทำการศึกษเปรียบเทียบการตรวจคราบโลหิต โดยวิธี Kastle-Meyer, Luminol และ BlueStar[®] บนพื้นผิวที่มีรูพรุนและไม่มีรูพรุน พบว่าบนพื้นผิวแผ่นใสพลาสติกและกระจก ในวัสดุที่ไม่มีรูพรุน เมื่อหยดคราบ

โลหิตและทิ้งไว้ให้แห้ง พบว่าโลหิตไม่ยึดเกาะกับพื้นผิววัสดุ เนื่องจากมีลักษณะเรียบ ลื่น เมื่อมีการขัดถูหรือถูคอาจจะทำให้มีปริมาณโลหิตลดลงและส่งผลให้การตรวจคราบโลหิตตรวจพบได้น้อยลง

จากผลการศึกษานี้ ทำให้สรุปได้ว่า เมื่อตรวจคราบโลหิตที่อยู่บนพื้นรองเท้าด้วยวิธี Phenolphthalein, Luminol และ Fluorescein บนพื้นรองเท้าทั้ง 8 ชนิด ภายหลังจากการหยดโลหิตทิ้งไว้ 8 สัปดาห์ พบว่าการตรวจคราบโลหิตด้วยวิธี Luminol สามารถตรวจพบคราบโลหิตที่อยู่บนพื้นรองเท้าทุกชนิด มีความเข้มของสีมากที่สุด และการตรวจคราบโลหิตที่อยู่บนพื้นไม้ด้วยวิธี Fluorescein ไม่สามารถตรวจพบคราบโลหิตได้

เมื่อเปรียบเทียบการตรวจคราบโลหิตด้วยวิธี Luminol ในอัตราส่วนโลหิตเจือจาง 1:10 ถึง 1:1,000,000 โดยปริมาตร ภายหลังจากการหยดโลหิตทิ้งไว้เวลานานถึง 8 สัปดาห์ สามารถตรวจพบคราบโลหิตที่อยู่บนพื้นโฟมอีวีเอ (EVA) พื้นยางธรรมชาติ และพื้นพีวีซี (PVC) ได้ในอัตราส่วนโลหิตเจือจางมากที่สุดคือ 1:50,000 โดยปริมาตร และยังพบว่า คราบโลหิตที่อยู่บนพื้นไม้ สามารถตรวจพบคราบโลหิตได้ในอัตราส่วนโลหิตเจือจางเพียง 1:10 โดยปริมาตร

การตรวจคราบโลหิตที่อยู่บนพื้นรองเท้าด้วยวิธี Luminol จึงเป็นวิธีที่มีประโยชน์สำหรับวัตถุประสงค์พื้นรองเท้าที่พบในสถานที่เกิดเหตุในที่มืด หรือวัตถุประสงค์พื้นรองเท้าที่มีลักษณะ หรือสีที่กลมกลืนกับพื้นผิวที่พบในสถานที่เกิดเหตุ เป็นเทคนิคที่มีความไวต่อการตรวจคราบโลหิต แม้คราบโลหิตจะถูกเจือจางมากๆ สามารถใช้ในการตรวจวัดคราบโลหิตเก่าบนพื้นรองเท้าและเป็นวิธีการตรวจคราบโลหิตที่มีความสะดวก รวดเร็ว ไม่เป็นอันตราย สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ได้จริง



อย่างไรก็ตาม การตรวจคราบโลหิตทั้ง 3 วิธี สามารถถูกเลือกใช้ได้ในการตรวจคราบโลหิต โดยพิจารณาให้เหมาะสมต่อชนิดของพื้นรองเท้าที่เป็นวัตถุพยาน

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณาจารย์ทุกท่านในสาขานิติวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่ได้ถ่ายทอดความรู้ทางด้านนิติวิทยาศาสตร์

เอกสารอ้างอิง

- Goodwin, W., Linacre, A. and Hadi, S. 2007. Forensic Human Identification - An Introduction. Boca Raton: CRC Press.
- พีรพงษ์ ต้วงาม. 2555. การวิเคราะห์ระดับของฮีโมโกลิน เพื่อประมาณอายุเด็กทางนิติวิทยาศาสตร์. *วารสารวิทยาศาสตร์แห่งมหาวิทยาลัยเพชรบุรี*. 9:45-53.
- อ้อยใจ ทองเหมอ และนันธินา มูลประสิทธิ์. การศึกษาเบื้องต้นการผสมน้ำยาสังเคราะห์และน้ำยาธรรมชาติ และการศึกษาสัณฐานวิทยาของโพลีเมอร์ผสมที่ได้. [Online]: เข้าถึงได้จาก www2.mtec.or.th 2554.
- Hague, M.M.U. and Pracella, M. 2010. Reactive compatibilization of composites of ethylene-vinyl acetate copolymers with cellulose fibres. *Composites Part a-Applied Science and Manufacturing*. 41:1545-1550.
- วราภรณ์ ขจรไชยกูล. 2549. ยางธรรมชาติและการผลิตและการใช้งาน. กรุงเทพมหานคร: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.).
- Morton, M. Raw material in the production of birkenstocks shoes. [online] available: <http://www.designlife-cycle.com/birkenstock> 2014.
- Howard, G. T. 2002. Biodegradation of polyurethane: a Review. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 49:245-52.
- Oertel G. 1989. Polyurethane handbook. Munich: Hanser Publisher.
- Abbas, H. 2008. Photostabilization of Poly (vinyl) chloride by Bis(2-amino acetate benzothiazole) complexes. M. Sc. Thesis, College of Science, Al Nahrain University.
- Specht, W. 1937. The Chemiluminescence of Hemin as a means of finding and recognizing blood traces of forensic importance. *Angew Chem*. 50:155-157.
- Cheeseman, R. and DiMeo, L. 1995. Fluorescein as a Field-worthy Latent Bloodstain Detection System. *J Forensic Sci*. 45:637-339.
- ศิริพร พันธศรี. 2549. การตรวจพิสูจน์คราบเลือด. *วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่*. 39:25-28.
- สรวง สมานหนู. การตรวจร่องรอยเลือดจากการเรืองแสงของลูมินอล. [Online] available: <http://nstda.or.th/sciencecamp/th/file/4432738T9UBODRSK5.pdf>. 2554.



14. Webb, J.L., Creamer, J.I. and Quickenden, T.I., I. 2006. A comparison of the presumptive luminol test for blood with four non-chemiluminescent forensic techniques. *The Journal of Biological and Chemical Luminescence*. 21:214-220.
15. Watkins, M, D. and Brown, K, C. A comparison of visual enhancement chemicals study for the recovery of possible blood stains at the crime scene luminol vs. blue star[®] [online] available: <http://docplayer.net/11075020-Blood-detection-a-comparison-of-visual-enhancement-chemicals-for-the-recovery-of-possible-blood-stains-at-the-crime-scene-luminol-vs.html>. 2006.
16. สวรรส ปุริมโน. 2555. การตรวจวัดคราบโลหิตโดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีน เตตระเมทิลเบนซิดีนลูมินอลและบลูสตาร์. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยศิลปากร นครปฐม.
17. พินิตา กรทอง. 2558. เปรียบเทียบการตรวจคราบโลหิตโดยวิธี Kastle-Meyer, Luminol และ Bluestar บนพื้นผิวที่มีรูพรุนและไม่มีรูพรุน. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ นครปฐม.

