

การประมาณอายุคราบเลือดบนผ้าโดยวิธีวิเคราะห์ภาพ

Estimation of the age of bloodstain on cloth by the method of image analysis

ภัทรธิป เลหาบุตร (Pattrathip Laohabutr)**

ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง (Sirirat Choosakoonkriang)***

ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี (Supachai Supalaknari)***

บทคัดย่อ

อายุของคราบเลือด ถือเป็นพยานหลักฐานที่สำคัญต่อกระบวนการสืบสวนทางนิติวิทยาศาสตร์ในคดีอุกฉกรรจ์ โดยงานวิจัยนี้ใช้วิธีวิเคราะห์ภาพเพื่อประเมินอายุของคราบเลือดบนผ้าฝ้ายสีขาว ตัวอย่างเลือดที่นำมาจากอาสาสมัครจำนวน 18 คน ซึ่งจะนำเลือดมาหยดลงบนผ้าทันทีโดยไม่ใช้สารกันเลือดแข็ง และนำค่าสีที่อ่านได้จากตัวอย่างเลือดจำนวน 3 ตัวอย่างโดยใช้โปรแกรม MATLAB มาทำการสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าสีที่ได้จากการวิเคราะห์ภาพกับอายุของคราบเลือด และสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐาน 2 สมการจะถูกนำมาใช้ในการประมาณอายุของคราบเลือดที่เตรียมขึ้นมาจำนวน 15 ตัวอย่าง เมื่อนำอายุของคราบเลือดที่ทำนายได้จากอายุจริงของคราบเลือดมาพล็อตกราฟ พบว่า ความสัมพันธ์ของค่าทั้งสองมีความสัมพันธ์กันในระดับมาก โดยดูจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่ได้ คือ 0.9659 ซึ่งอยู่ในระดับความสัมพันธ์เชิงบวกในระดับมาก จากผลการวิจัยนี้ แสดงให้เห็นว่า วิธีการวิเคราะห์ภาพ อาจใช้ในการประมาณอายุของคราบเลือดที่หยดลงบนผ้าฝ้ายสีขาวและเป็นวิธีการที่เหมาะสมกับอายุของตัวอย่างเลือดในช่วง 1 ถึง 48 ชั่วโมง

คำสำคัญ : คราบเลือด การทำนายอายุคราบเลือด วิธีวิเคราะห์ภาพ

* เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการประเมินอายุของคราบเลือดบนผ้าฝ้ายโดยใช้วิธีวิเคราะห์ภาพ (Image analysis) จากการอ่านค่าสีโดยโปรแกรม MATLAB

** สาขานิติวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร (Forensic Science Program, Faculty of Science, Silpakorn University), Pattrathip.lao@gmail.com

*** ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร (Department of Chemistry, Faculty of Science, Silpakorn University)

Abstract

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

Keywords: Bloodstain Age estimation Image Analysis

บทนำ

ในสถานที่เกิดเหตุ ผู้กระทำความผิดมักมีการทิ้งร่องรอย หรือพยานหลักฐานไว้ ซึ่งพยานหลักฐานมีอยู่ด้วยกันหลายรูปแบบ เช่น รอยนิ้วมือ เส้นผม อาวุธที่ใช้ในการก่อเหตุ และพยานหลักฐานที่มักพบได้บ่อย คือ คราบเลือด ซึ่งเป็นสิ่งที่สามารถพบได้บ่อยในสถานที่เกิดเหตุที่มีความเกี่ยวข้องกับอาชญากรรม ถือเป็นหนึ่งในพยานหลักฐานที่มีความสำคัญมากอีกอย่างหนึ่งในกระบวนการสืบสวนทางนิติวิทยาศาสตร์ ซึ่งคราบเลือดสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลายในการช่วยวิเคราะห์พยานหลักฐาน เช่น การวิเคราะห์ DNA Profiling เพื่อสืบหาตัวบุคคล หรือวิเคราะห์รูปแบบการกระจายตัวของเลือดเพื่อนำไปสู่การลำดับเหตุการณ์ในที่เกิดเหตุ นอกจากประโยชน์ดังกล่าวไว้ในข้างต้นแล้ว ยังพบว่าคราบเลือดสามารถนำมาใช้ประมาณอายุของคราบเลือดเพื่อนำไปสู่การทำนายระยะเวลาที่เกิดเหตุ รวมไปถึงการยืนยันคำให้การของประจักษ์พยานได้ โดยคราบเลือดเกิดขึ้นจากการหยดลงของเลือดบนพื้นผิวของวัตถุหนึ่งๆ และถูกทิ้งไว้จนแห้งสนิท ซึ่งการแห้งของคราบเลือดนอกจากปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่มีความสำคัญแล้ว ยังมีอีกหนึ่งกลไกที่สำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงของคราบเลือด คือ Hemoglobin reaction kinetics เนื่องจาก Hemoglobin ประกอบไปด้วย ฮาตุเหล็ก และโปรตีนที่มีส่วนสำคัญในการขนส่งออกซิเจนไปยังปอดและเนื้อเยื่อต่างๆ มีอยู่ด้วยกันหลายรูปแบบ เรียกว่า Hemoglobin derivatives โดยทั่วไปในร่างกายของมนุษย์ จะมีอยู่ด้วยกัน 2 รูปแบบ คือ แบบที่ไม่จับกับออกซิเจน (Deoxyhemoglobin) และแบบที่จับกับออกซิเจน (Oxyhemoglobin) ซึ่งจะอยู่ในหลอดเลือดแดงมากกว่าร้อยละ 90 และในหลอดเลือดดำมากกว่าร้อยละ 70 และจะมีเพียงร้อยละ 1 ของ Oxyhemoglobin เท่านั้นที่จะเกิดการ Auto-oxidized ไปอยู่ในรูปของ Methemoglobin ซึ่งสามารถถูกรีดิวซ์กลับมาเป็น Hemoglobin ได้โดย Reductase protein cytochrome b5 และในส่วนของ Hemoglobin ที่อยู่ภายนอกร่างกายแล้ว จะถูกเปลี่ยนเป็น Oxyhemoglobin ทันทีที่สัมผัสกับออกซิเจน เนื่องจากความสามารถของ Cytochrome b5 ที่

จำเป็นต่อกระบวนการ reduction ของ Methemoglobin ลดลง การเปลี่ยนจาก Oxyhemoglobin ไปเป็น Methemoglobin จึงไม่สามารถเกิดขึ้นได้ แต่จะมีการ Auto-oxidation ของ Oxyhemoglobin กลายเป็น Methemoglobin และเกิดการสลายตัวจนกลายเป็น Hemichrome ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเป็น Hemichrome ทำให้สีของคราบเลือดเปลี่ยนจากสีแดงเข้มไปเป็นสีน้ำตาล (Shikama, 1998: 1357-1373)

จากการศึกษากลไกของ Hemoglobin reaction kinetics ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีของคราบเลือดนี้ จึงได้มีงานวิจัยจำนวนมากที่ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการนำคราบเลือดมาวิเคราะห์ในการทำนายอายุของคราบเลือด เพื่อประมาณระยะเวลาที่เกิดเหตุ ด้วยวิธีการวิเคราะห์ที่แตกต่างกันออกไป อาทิเช่น Phuvaldol Thanakiatkrai และคณะ (2013: 288-297) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการประมาณอายุคราบเลือดโดยการถ่ายภาพ ซึ่งคราบเลือดจะถูกนำมาหยดลงบนพื้นผิวชนิดต่างๆ และถ่ายภาพด้วยกล้องโทรศัพท์ เพื่อนำภาพที่ได้มาอ่านค่าสี CYMK จากการวิเคราะห์ค่าสีพบว่า สี Magenta (M) มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาภายหลังการหยดเลือดมากที่สุด และเมื่อนำข้อมูลค่าสีจากคราบเลือดแต่ละตัวอย่างมาทำการศึกษาความถูกต้องของการทำนายอายุคราบเลือดพบว่า เมื่อระยะเวลาของคราบเลือดเพิ่มมากขึ้นจะทำให้การทำนายอายุของคราบเลือดมีความแปรปรวนสูงขึ้น ส่วน Rolf H. Bremmer และคณะ (2011: 166-171) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการประมาณอายุคราบเลือดด้วยเทคนิค Reflectance spectroscopy บนผ้าฝ้ายสีขาว และ Gerda Edelman และคณะ (2012: 72-77) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการประมาณอายุของคราบเลือดโดยเทคนิค Hyperspectral imaging โดยทำการบันทึกค่าของ Visible reflectance spectrum ของคราบเลือดด้วย Pushbroom hyperspectral imaging system ซึ่งการบันทึกผลที่แสดงเป็นกราฟระหว่างค่า Reflectance ที่วัดได้จากคราบเลือดเทียบกับความยาวคลื่น โดยงานวิจัยทั้งสองทำการศึกษาปริมาณ Hemoglobin derivative พบว่า Oxyhemoglobin จะลดลงเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น ในขณะที่ Methemoglobin จะเพิ่มปริมาณขึ้นในช่วง 3 สัปดาห์แรกแล้วจึงลดลง ส่วน Hemichrome จะเพิ่มขึ้นตลอดเวลา ซึ่งเมื่อนำมาสร้างกราฟเปรียบเทียบระหว่างระยะเวลาที่ทำนายได้กับระยะเวลาจริง จะพบว่า สามารถทำนายได้ใกล้เคียงกับระยะเวลาจริง แต่ยิ่งระยะเวลามากขึ้น ความผิดพลาดในการทำนายอายุของคราบเลือดจะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย นอกจากนี้ Gerda Edelman และคณะ (2012: 239-244) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการใช้เทคนิค Near-Infrared spectroscopy เพื่อบ่งชี้และประมาณอายุของคราบเลือดบนผ้าฝ้ายสีต่างๆ รวมไปถึงการศึกษาความไวและความจำเพาะของการแยกระหว่างตัวอย่างที่เป็นคราบเลือดออกจากตัวอย่างที่ไม่ใช่คราบเลือด เมื่อนำผ้าฝ้ายสีต่างๆมาทำการวิเคราะห์การดูดกลืนแสง พบว่า ผ้าฝ้ายสีขาวจะไม่ดูดกลืนแสงสีใดๆที่ความยาวคลื่นในช่วงที่ตามองเห็น (Visible region) ส่วนผ้าฝ้ายสีอื่นๆจะมีการดูดกลืนที่ความยาวคลื่นต่างๆ แตกต่างกันไป เมื่อทำการประมาณอายุคราบเลือดบนผ้าฝ้ายสีต่างๆ โดยใช้ Partial Least Squares (PLS) model และสร้างกราฟเปรียบเทียบระหว่างระยะเวลาที่ทำนายได้ของคราบเลือดเทียบกับระยะเวลาจริง พบว่า เมื่อระยะเวลาเพิ่มมากขึ้นค่าความคลาดเคลื่อนจะมากขึ้นตามไปด้วย และเป็นเช่นเดียวกันในผ้าฝ้ายทุกสีที่นำมาทำการทดลอง และในส่วนของ สราวุธ แหยมศิริ (2012: 721-729) ที่ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการทำนายอายุของคราบเลือดที่เตรียมตัวอย่างด้วยวิธี KBr disc โดยหยดเลือดลงบนกระจกสไลด์ และวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) ในช่วงเลขคลื่นที่ $4000-400\text{ cm}^{-1}$ โดยทำการวัดพื้นที่ใต้พีคในช่วงเลขคลื่น $3700-3000\text{ cm}^{-1}$ (A_{3300}) และคำนวณอัตราส่วนของพื้นที่ที่วัดได้กับพื้นที่พีคที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในระยะเวลาต่างๆ ที่ช่วงเลขคลื่น $770-730\text{ cm}^{-1}$

(A₇₄₄) แล้วนำอัตราส่วนของพื้นที่ที่พิก ระหว่าง A₃₃₀₀/A₇₄₄ มาสร้างกราฟเทียบกับระยะเวลาภายหลังการหยุดเลือด เพื่อหาสมการที่ใช้ในการแทนค่าเพื่อทำนายอายุคราบเลือด พบว่า อายุของคราบเลือดที่ทำนายได้จะมีค่าใกล้เคียงกับระยะเวลาจริง

นอกจากนี้ ยังมีงานวิจัยอื่นๆ ที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับการประมาณอายุของคราบเลือดโดยใช้ส่วนประกอบอื่นๆ ของคราบเลือด ได้แก่ งานวิจัยของ Anderson และคณะ (Anderson, Hobbs, and Bishop 2011: 392-396) ที่ทำการวิเคราะห์หาปริมาณ RNA ที่มีการสลายตัวออกมาจากเม็ดเลือดขาวที่อยู่ในคราบเลือด โดยใช้เทคนิค Real-time PCR เพื่อประมาณอายุของคราบเลือด และงานวิจัย Bauer และคณะ (Bauer, Polzin, and Patzelt 2003: 94-103) ที่ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการใช้ DNA ที่อยู่ในนิวเคลียสของเซลล์เม็ดเลือดขาวเพื่อประมาณอายุของคราบเลือด เนื่องจากมีงานวิจัยที่พบว่า RNA ในนิวเคลียสของเซลล์เม็ดเลือดขาวจะมีการสลายตัวอย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับ DNA ที่มีความเสถียรมากกว่า (Dissing, Sondervang, and Lund 2010: 392-396) และยังมีการประมาณอายุคราบเลือดโดยศึกษาจากการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียชนิด *E.Coli* พบว่าสามารถประมาณอายุคราบเลือดได้เช่นกัน แต่จะสามารถประมาณอายุคราบเลือดได้ในช่วงระยะเวลาการเกิดเหตุที่ไม่นานมาก (พรวิณัส งามเสมอ 2011: 819-839)

จากงานวิจัยที่ได้กล่าวในข้างต้น อาจมีบางวิธีที่มีค่าใช้จ่ายสูง ใช้เวลานานในการวิเคราะห์ และไม่สามารถนำไปใช้ได้ในที่เกิดเหตุ ดังนั้น ในส่วนของงานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาการประมาณอายุคราบเลือดโดยการหยุดเลือดลงบนผ้าฝ้าย เพื่อศึกษาคราบเลือดด้วยวิธีวิเคราะห์ภาพ จากการอ่านค่าสี RGB ในระยะเวลาต่างๆ ภายหลังการหยุดเลือด และนำมาสร้างสมการความสัมพันธ์ระหว่างค่าสีที่วัดได้เทียบกับระยะเวลาในช่วงต่างๆ เพื่อใช้ในการทำนายอายุคราบเลือด ซึ่งถือว่าเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็วในการวิเคราะห์ และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในที่เกิดเหตุได้ นอกจากนี้ยังเป็นการเปรียบเทียบว่าเทคนิคดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการประมาณอายุของคราบเลือดเช่นเดียวกับงานวิจัยที่ได้กล่าวไว้ในข้างต้นหรือไม่

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการประเมินอายุของคราบเลือดบนผ้าฝ้ายโดยใช้วิธีวิเคราะห์ภาพ (Image analysis) จากการอ่านค่าสีโดยโปรแกรม MATLAB

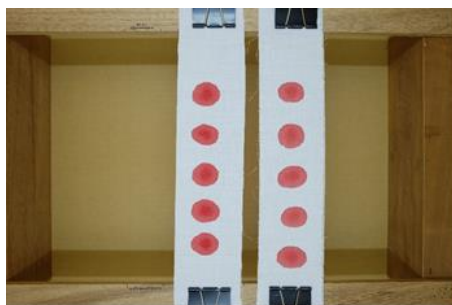
วิธีการวิจัย

ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง

ตัวอย่างเลือดที่ใช้ในการทดลอง ได้มาจากอาสาสมัครที่มีสุขภาพแข็งแรงจำนวน 18 คน โดยทำการเจาะเลือดอาสาสมัครประมาณ 2-3 ml ใส่ลงในหลอดบรรจุเลือดชนิดไม่มีสารกันเลือดแข็ง (Clotted blood) นำมาหยุดลงบนผ้าพันที่ โดยแบ่งเป็น ตัวอย่างเลือดที่นำมาสร้างกราฟมาตรฐาน จำนวน 3 ตัวอย่าง และตัวอย่างเลือดที่จะนำมาทำนายอายุของคราบเลือดโดยใช้กราฟมาตรฐาน จำนวน 15 ตัวอย่าง

วิธีการทดลอง

เตรียมตัวอย่างเลือดเพื่อนำมาสร้างกราฟมาตรฐาน โดยหยดเลือดปริมาณ 50 μl จำนวน 5 หยดเรียงตามลำดับ ลงบนผ้าฝ้ายที่ทำการซักแล้วจำนวน 10 ครั้ง ซึ่งตัดให้มีขนาด 3×15 เซนติเมตรเท่ากันทุกผืนที่ซึ่งอยู่บนแผ่นไม้ ทำซ้ำทั้งหมด 3 ตัวอย่าง ($n=3$) ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ลักษณะของหยดเลือดที่ใช้ในการถ่ายภาพเพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าสี

เตรียมกล่องลังขนาดประมาณ 60×60 เซนติเมตร เพื่อใช้ในการถ่ายภาพ โดยควบคุมปัจจัยต่างๆขณะทำการทดลอง ได้แก่ อุณหภูมิ แสงสว่าง ตำแหน่งในการวางกล้องถ่ายรูป เป็นต้น ซึ่งจะมีการติดตั้งหลอดไฟเพื่อให้แสงสว่างขณะทำการถ่ายภาพหยดเลือด โดยเจาะช่องด้านบนกล่องไว้เพื่อทำการถ่ายภาพหยดเลือด ดังภาพที่ 2(A) และ 2(B)



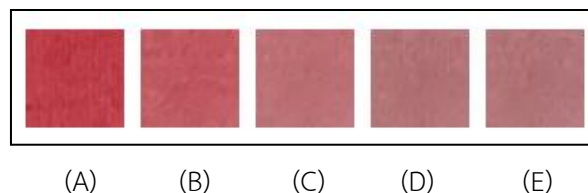
ภาพที่ 2 (A) กล่องลังที่ทำการเจาะช่องสี่เหลี่ยมเตรียมไว้สำหรับถ่ายภาพหยดเลือด
(B) ลักษณะภายในกล่องลังที่ทำการติดตั้งหลอดไฟเพื่อให้แสงสว่างขณะถ่ายภาพ

ทำการถ่ายภาพคราบเลือดตามระยะเวลาที่กำหนด ภายหลังการหยดเลือด ซึ่งกล้องถ่ายรูปจะถูกตั้งค่าไว้ ดังนี้ Automatic mode, $f = 5.6$, ISO 400 จากนั้นนำภาพที่ได้มาทำการตัดด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop CS และบันทึกไฟล์ภาพเป็นนามสกุล .BMP แล้วจึงนำภาพที่ตัดเรียบร้อยแล้วมาคำนวณหาค่าสี RGB โดยใช้โปรแกรม MATLAB

นำตัวอย่างเลือดมาหยดลงบนผ้าฝ้ายสีขาว ทำการถ่ายภาพที่ระยะเวลาต่างๆ และนำค่าสีที่อ่านได้จากคราบเลือดมาทำการวิเคราะห์ เช่นเดียวกับวิธีการข้างต้น หลังจากนั้นจึงทำการทำนายอายุคราบเลือดโดยใช้สมการความสัมพันธ์ระหว่างค่าสีเทียบกับระยะเวลาหลังการหยดเลือด แล้วจึงนำระยะเวลาที่ทำนายได้จากสมการมาสร้างกราฟเทียบกับระยะเวลาจริงเพื่อวิเคราะห์ผลการทดลองที่ได้ต่อไป

ผลการวิจัย

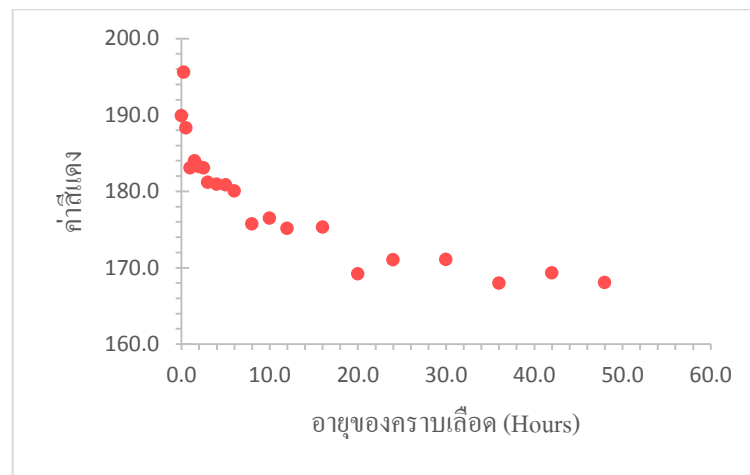
จากการนำตัวอย่างเลือดมาหยดลงบนผ้าฝ้ายสีขาวจะสังเกตได้ว่า เมื่อทำการถ่ายภาพในระยะเวลาต่างๆ จะสังเกตได้ว่าสีของคราบเลือดจะจางลงอย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับช่วงแรก ซึ่งเมื่อนำภาพถ่ายของคราบเลือดที่ได้ในแต่ละช่วงเวลามาทำการตัดให้มีขนาด 54×54 pixels เท่ากันทุกตัวอย่างของคราบเลือด โดยใช้โปรแกรม Adobe Photoshop CS จะทำให้สังเกตเห็นความเปลี่ยนแปลงของสีคราบเลือดด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนยิ่งขึ้น ดังภาพตัวอย่างต่อไปนี้



ภาพที่ 3 ตัวอย่างของภาพถ่ายคราบเลือดหยดบนผ้าฝ้ายสีขาวที่ระยะเวลาต่างๆ (A) ที่ระยะเวลาเริ่มต้น (B) ที่ 0.50 ชั่วโมง (C) ที่ 2 ชั่วโมง (D) ที่ 12 ชั่วโมง (E) ที่ 24 ชั่วโมงภายหลังการหยดเลือด ตามลำดับ

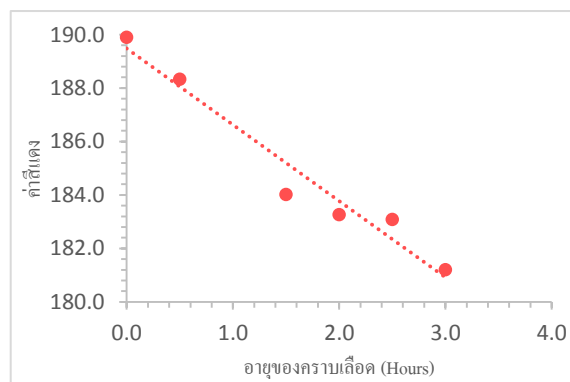
จากภาพ สีของคราบเลือดจะเปลี่ยนแปลงไปตามอายุของคราบเลือด โดยที่ระยะเวลาเริ่มต้น ในภาพ (A) เทียบกับภาพ (B) และ (C) เมื่อเวลาผ่านไป 0.50 ชั่วโมง และ 2 ชั่วโมงตามลำดับภายหลังการหยดเลือด จะเห็นได้ว่าสีของคราบเลือดจางลงอย่างเห็นได้ชัด ส่วนภาพ (D) และ (E) ที่ระยะเวลา 12 และ 24 ชั่วโมงภายหลังการหยดเลือด อาจไม่สามารถสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงด้วยตาเปล่าได้ ซึ่งอาจต้องนำภาพคราบเลือดนี้ไปทำการวิเคราะห์ค่าสีด้วยโปรแกรม MATLAB ต่อไป

เมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าสีของคราบเลือดในระยะเวลา 1 เดือน พบว่า หลังจาก 48 ชั่วโมงผ่านไป ค่าสีของคราบเลือดมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก ซึ่งจะสังเกตได้จากการอ่านค่าสี RGB พบว่าเมื่อนำค่าสีแดงมาพล็อตกับอายุของคราบเลือด ค่าสีแดงจะเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างเห็นได้ชัดในช่วง 48-50 ชั่วโมงแรกเท่านั้น ในขณะที่ค่าสีเขียว และค่าสีน้ำเงินจะมีการเปลี่ยนแปลงอย่างเห็นได้ชัดในช่วง 3-4 ชั่วโมงแรกเท่านั้น ดังนั้นจึงเลือกทำการวิเคราะห์ค่าสีแดงเพียงอย่างเดียว เมื่อทำการสร้างกราฟระหว่างค่าสีแดงที่วัดได้และอายุของคราบเลือด จะได้ดังภาพต่อไปนี้

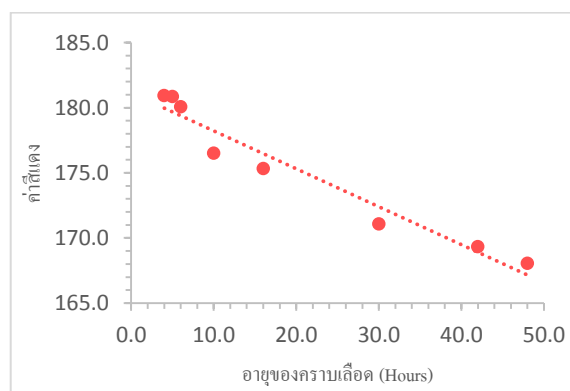


ภาพที่ 4 การเปลี่ยนแปลงของค่าความเข้มสีแดงกับอายุของคราบเลือด

เมื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลงของค่าสีแดงของคราบเลือดที่เวลา 0-48 ชั่วโมงภายหลังการหยุดเลือด จากกราฟในภาพที่ 4 จะเห็นว่าค่าสีแดงมีการลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่ออายุของคราบเลือดเพิ่มขึ้น เมื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าสีแดงที่วัดได้และอายุของคราบเลือด โดยสามารถแบ่งได้เป็น 2 ช่วง คือ ที่เวลาเริ่มต้นจนถึงอายุของคราบเลือดที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง (ภาพที่ 5A) และจากระยะเวลาที่ 4 ถึง 48 ชั่วโมง (ภาพที่ 5B)



(A)



(B)

ภาพที่ 5 (A) ค่าสีแดงและอายุของคราบเลือดจากระยะเวลาเริ่มต้นถึงระยะเวลาที่ 3 ชั่วโมง

(B) ค่าสีแดงและอายุของคราบเลือดจากระยะเวลาที่ 4 ถึง 48 ชั่วโมง

จากกราฟในภาพที่ 5A และ 5B จะได้สมการเส้นตรงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสีแดงที่วัดได้และอายุของคราบเลือด โดย y คือ ค่าสีแดงที่ได้จากการอ่านค่าสีโดยโปรแกรม MATLAB และ x คือ อายุของคราบเลือด ดังนี้

สมการที่	ช่วงเวลา (Hours)	สมการ	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์
1A	0-3	$y = -2.8533x + 189.48$	0.9777
1B	4-48	$y = -0.2908x + 181.13$	0.9745

ตารางที่ 1 (1A) สมการความสัมพันธ์ระหว่างค่าสีแดงและอายุของคราบเลือดที่ระยะเวลาเริ่มต้นถึงระยะเวลาที่ 3 ชั่วโมง

(1B) สมการความสัมพันธ์ระหว่างค่าสีแดงและอายุของคราบเลือดที่ระยะเวลา 4 ถึง 48 ชั่วโมง

จากนั้นจึงนำตัวอย่างเลือดจากอาสาสมัครจำนวน 15 คน มาหยดลงบนผ้าฝ้ายสีขาว ทำการถ่ายภาพและอ่านค่าสี เช่นเดียวกับวิธีการข้างต้น แล้วจึงนำค่าสีที่ได้มาทำนายอายุของคราบเลือดโดยใช้สมการที่ 1A และ 1B ในตารางที่ 1 ซึ่งเมื่อนำอายุของคราบเลือดที่ทำนายได้มาสร้างตารางเทียบกับอายุจริงของคราบเลือด จะได้ตารางดังต่อไปนี้

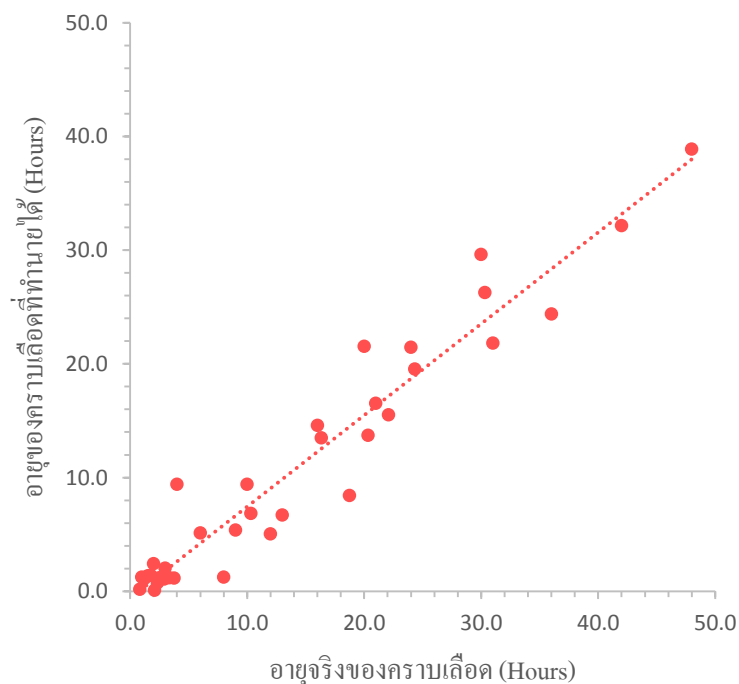
ตารางที่ 2 อายุของคราบเลือดที่ทำนายได้จากสมการเส้นตรงของค่าสีแดงเทียบกับอายุจริงของคราบเลือด

อายุจริงของคราบเลือด (Hours)	อายุของคราบเลือดที่ทำนายได้ (Hours)	อายุจริงของคราบเลือด (Hours)	อายุของคราบเลือดที่ทำนายได้ (Hours)
0.83	0.19	10.33	6.84
1.00	1.24	12.00	5.04
1.25	1.12	13.00	6.72
1.50	1.35	16.00	14.60
1.67	-0.13	16.33	13.49
1.75	1.41	18.75	8.42
2.00	2.44	20.00	21.54
2.08	0.10	20.33	13.71
2.33	0.74	21.00	16.54
2.50	1.18	22.08	15.53
2.92	1.07	24.00	21.47
3.00	2.04	24.33	19.55
3.33	1.20	30.00	29.61
3.75	1.18	30.33	26.26

ตารางที่ 2 อายุของคราบเลือดที่ทำนายได้จากสมการเส้นตรงของค่าสีแดงเทียบกับอายุจริงของคราบเลือด (ต่อ)

อายุจริงของคราบเลือด (Hours)	อายุของคราบเลือดที่ทำนายได้ (Hours)	อายุจริงของคราบเลือด (Hours)	อายุของคราบเลือดที่ทำนายได้ (Hours)
4.00	9.42	31.00	21.84
6.00	5.14	36.00	24.40
8.00	1.24	42.00	32.17
9.00	5.39	48.00	38.88
10.00	9.42		

แล้วจึงนำค่าที่ได้จากการทำนายอายุคราบเลือดมาพล็อตความสัมพันธ์ระหว่างอายุของคราบเลือดที่ทำนายได้เทียบกับอายุจริง แสดงดังภาพที่ 6



ภาพที่ 6 อายุของคราบเลือดที่ทำนายได้จากสมการเส้นตรงของค่าสีแดงกับอายุจริงของคราบเลือด

จากกราฟข้างต้นในภาพที่ 6 จะเห็นว่าอายุของคราบเลือดที่ทำนายได้จากสมการเส้นตรงของค่าสีแดงกับอายุจริงของคราบเลือด (ภาพที่ 6) มีสมการแสดงความสัมพันธ์ คือ $y = 0.8041x - 0.5851$ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9659 โดยที่สมการเส้นตรงนี้บ่งชี้ว่าค่าอายุของคราบเลือดที่ทำนายได้มีความใกล้เคียงกับอายุจริงของคราบเลือดตั้งแต่ระยะเวลา 1 ชั่วโมงแรกไปจนถึงระยะเวลาประมาณ 48 ชั่วโมง

สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ต้องการศึกษาการประเมินอายุของคราบเลือดบนผ้าที่สามารถพบได้ในสถานที่เกิดเหตุ เพื่อนำไปสู่การทำนายระยะเวลาที่เกิดเหตุ ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการสืบสวนทางนิติวิทยาศาสตร์ ทำการศึกษาโดยนำเลือดมาหยดลงบนผ้าฝ้ายสีขาวเพื่อใช้ในการทำนายอายุของคราบเลือด ทำการถ่ายภาพ และอ่านค่าสี RGB ด้วยโปรแกรม MATLAB เพื่อนำมาสร้างสมการหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มสีแดงกับอายุของคราบเลือดพบว่า สมการเส้นตรงในการหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าสีแดงที่วัดได้และอายุจริงของคราบเลือดสามารถทำนายอายุของคราบเลือดได้ตั้งแต่ระยะเวลาประมาณ 1 ชั่วโมงไปจนถึง 48 ชั่วโมง โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9659 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า อายุของคราบเลือดที่ทำนายได้ มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงที่ใกล้เคียงกับอายุจริงของคราบเลือด จากงานวิจัยพบว่า ขั้นตอนการวิเคราะห์ดังกล่าวไม่มีความยุ่งยากซับซ้อน และสามารถทำได้ในเวลาอันรวดเร็ว สามารถใช้กล้องถ่ายรูปที่ใช้ในงานตรวจสถานที่เกิดเหตุทั่วไปได้ และใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ทั่วไปในการวิเคราะห์ผล จึงทำให้มีต้นทุนในการวิเคราะห์ที่ต่ำเมื่อเทียบกับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอื่นๆ เช่น เทคนิค High Performance Liquid Chromatography เทคนิค Reflectance spectroscopy ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ มีค่าใช้จ่ายสูง และต้องใช้ผู้ที่มีความเชี่ยวชาญในการตรวจวิเคราะห์ นอกจากนี้สมการที่ใช้ในงานวิจัยนี้อาจนำมาพัฒนาต่อยอด เพื่อ นำไปสู่การหาสมการที่สามารถใช้ในการประมาณอายุคราบเลือดได้ในเวลาที่ยาวขึ้น และมีความใกล้เคียงกับอายุจริงของคราบเลือดมากที่สุด ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อกระบวนการสืบสวนทางนิติวิทยาศาสตร์อย่างมากในอนาคต โดยผลการวิจัยในการทำนายอายุคราบเลือดโดยใช้ค่าสีแดงที่มาจากค่าสี RGB นี้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Phuvadol Thanakiatkrai และคณะ (2013: 288-297) ที่ได้ทำการศึกษาเรื่องการประมาณอายุของคราบเลือดด้วยการถ่ายภาพทางโทรศัพท์และการวิเคราะห์ภาพดิจิทัล ซึ่งทำนายอายุคราบเลือดจากค่าสีแดงอมม่วง (magenta) สามารถประมาณอายุคราบเลือดได้ในระยะเวลาไม่เกิน 5 วัน โดยเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น ทั้งความถูกต้องและแม่นยำในการทำนายอายุของคราบเลือดจะลดลง จะพบว่าไม่ว่าจะใช้ค่าสี RGB หรือ CYMK ก็จะให้ผลการวิจัยไปในทิศทางเดียวกัน นอกจากนี้ยังพบว่าค่าสีแดงของคราบเลือดที่เปลี่ยนแปลงไปตามระยะเวลามีความสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของ Hemoglobin derivative ชนิดต่างๆ เช่นกัน ดังจะเห็นได้จากงานวิจัยของ Rolf H. Bremmer และคณะ (2011: 166-171) ที่ทำการศึกษาในเรื่องประมาณอายุของคราบเลือดบนผ้าฝ้ายสีขาวจากการหา hemoglobin derivative ด้วยวิธี reflectance spectroscopy โดยใช้ค่าเฉลี่ยของ diffuse reflectance spectroscopy ในการนำมาประมาณอายุของคราบเลือด โดยพบว่าจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาที่ทำนายได้เทียบกับระยะเวลาจริง เมื่อระยะเวลาเพิ่มมากขึ้น ความคลาดเคลื่อนในการทำนายอายุจะเพิ่มมากขึ้นเช่นกัน และ Gerda Edelman และคณะ (2012: 239-244) ศึกษาเกี่ยวกับการประมาณอายุของคราบเลือดโดยเทคนิค Hyperspectral imaging พบว่า Oxyhemoglobin จะลดลงเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น ในขณะที่ Mathemoglobin จะเพิ่มปริมาณขึ้นในช่วง 3 สัปดาห์แรกแล้วจึงลดลง ส่วน Hemichrome จะเพิ่มขึ้นตลอดเวลา และพบว่าสามารถประมาณอายุคราบเลือดมากกว่า 200 วัน โดยค่าความผิดพลาดของการทำนายอายุคราบเลือดจะเพิ่มมากขึ้นเมื่ออายุของคราบเลือดมากขึ้น เมื่อใช้ค่าระหว่าง Hemoglobin fraction กับค่าอ้างอิงของชุดข้อมูล

จะเห็นได้ว่าผลการทดลองที่ได้ในแต่ละงานวิจัยดังที่กล่าวในข้างต้น เป็นไปในทิศทางเดียวกัน แต่อาจทำนายระยะเวลาได้แตกต่างกัน ซึ่งอาจขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายๆด้าน เช่น สภาพแวดล้อม ได้แก่ ปัจจัยด้านอุณหภูมิ แสงสว่าง และความชื้น ซึ่งปัจจัยเหล่านี้สามารถส่งผลกระทบต่อกระบวนการ oxidation ของ Hemoglobin ได้ (Patterson 1960: 688-689) ในส่วนของการถ่ายภาพ พบว่าการตั้งค่าไวน์โมเมนต์อัตโนมัติ จะมีข้อเสียตรงที่ไม่สามารถควบคุมความเร็วชัตเตอร์ (speed shutter) ได้ ทั้งนี้จึงอาจส่งผลกระทบต่อสี และความสว่างของภาพคราบเลือดที่ได้ในแต่ละภาพ เมื่อนำมาวัดค่าสีจึงทำให้ค่าสีที่วัดได้มีความคลาดเคลื่อน แต่อย่างไรก็ตาม การใช้กล้อง mirrorless ถือว่ามีประสิทธิภาพมากกว่ากล้องโทรศัพท์มือถือในด้านของความละเอียด ความคมชัดของภาพและสีที่ได้ ในด้านของความหลากหลายในแต่ละตัวอย่างเลือด จะพบว่าอาสาสมัครแต่ละคนอาจมีค่าระดับ Hemoglobin ที่แตกต่างกันออกไป โดยปกติแล้ว ระดับฮีโมโกลบินจะอยู่ที่ประมาณ 14-18 g/dl ในเพศชาย และ 12-16 g/hl ในเพศหญิง หากอาสาสมัครที่มีค่าระดับ Hemoglobin ที่สูงอาจทำให้สีของคราบเลือดที่ได้มีความเข้มมากกว่า จึงอาจมีความหลากหลายของค่าสีที่อ่านได้ในแต่ละตัวอย่าง ทั้งนี้ จำนวนของอาสาสมัครที่นำมาเก็บตัวอย่างเลือดจะขึ้นอยู่กับเทคนิคที่ใช้ในการประมาณอายุของคราบเลือดด้วยเช่นกัน นอกจากนี้ปัจจัยที่มีผล ดังที่ได้กล่าวในข้างต้นแล้ว พื้นผิวของวัสดุที่ใช้ในการหยดเลือดก็อาจส่งผลด้วยเช่นกัน ซึ่งงานวิจัยส่วนใหญ่ มักใช้ผ้าฝ้ายสีขาว หรือกระดาษกรอง เพราะสามารถดูดซับของเหลวต่างๆ และเป็นตัวสะท้อนได้ดี Andrasko J. (1997: 7) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบการประมาณอายุคราบเลือดระหว่างผ้ากับกระดาษ พบว่า ในการศึกษาครั้งนี้ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งในส่วนของงานวิจัยนี้ พื้นผิววัสดุที่นำมาใช้จึงเลือกเป็นผ้าฝ้ายสีขาว ซึ่งมีคุณสมบัติในการดูดซับของเหลวได้ดี เนื่องจากมีรูพรุนขนาดเล็ก และเป็นวัสดุที่นำมาใช้ตัดเย็บเป็นเสื้อผ้าทั่วไป สามารถพบเห็นได้ง่ายในสถานที่เกิดเหตุ

ทั้งนี้ การใช้อุปกรณ์พื้นฐานในการตรวจสอบสถานที่เกิดเหตุ ได้แก่ กล้องถ่ายรูป ในการถ่ายภาพคราบเลือด และวิเคราะห์ภาพด้วยโปรแกรมทางคอมพิวเตอร์พื้นฐาน เพื่อนำมาทำนายอายุคราบเลือด ถือว่าเป็นเทคนิคที่สามารถใช้งานได้ง่าย มีราคาถูก มีความรวดเร็วในการวิเคราะห์ เมื่อเทียบกับเทคนิคการวิเคราะห์แบบอื่นๆ และเป็นประโยชน์ต่อการสืบสวนทางนิติวิทยาศาสตร์เช่นกัน

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษารเปรียบเทียบระหว่างปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อการวัดค่าสีของคราบเลือด เช่น ชนิดของวัสดุที่นำมาใช้ในการหยดเลือด อุณหภูมิที่แตกต่างกัน ปริมาณแสงสว่างที่ได้รับ รวมไปถึงปัจจัยทางด้านความชื้น กล้องถ่ายรูปต่างชนิดกัน หรือระยะเวลาที่แตกต่างกันออกไป โดยใช้เทคนิคการประมาณอายุของคราบเลือดด้วยวิธีวิเคราะห์ภาพ (image analysis) เพื่อนำไปสู่การพัฒนาการทำนายระยะเวลาของคราบเลือดที่มีประสิทธิภาพ และสามารถใช้ได้จริงในสถานที่เกิดเหตุ

เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

พรวิณัส งามเสมอ. (2011). “การประมาณอายุของคราบเลือดจากการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย.”

Veridian E-Journal SU 4, 1 (May-August): 819-839.

วนิดา อัฐรัตน์. (2545). **โลหิตวิทยาทันสมัย: Modern Hematology**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: เรือนแก้ว
การพิมพ์.

สราวุธ แหยมศิริ. (2012). “การตรวจหาอายุคราบโลหิตด้วย Fourier Transform Infrared Spectroscopy.”

Veridian E-Journal SU 5, 2 (May-August): 721-729.

ภาษาต่างประเทศ

D. Patterson (1960). “Use of reflectance measurements in assessing the colour changes of
ageing bloodstains.” **Nature** 187 (August): 688-689.

Gerda Edelman, Ton G. van Leeuwen, and Maurice C.G. Aalders (2012). “Hyperspectral imaging
for the age estimation of blood stains at the crime scene.” **Forensic Sci. Int.** 223, 1-3
(November): 72-77.

Gerda Edelman, Vicky Manti et al. (2012). “Identification and age estimation of blood stains on
colored backgrounds by near infrared spectroscopy.” **Forensic Sci Int.** 220, 1-3 (July):
239-244.

J. Andrasko (1997). “The estimation of the age of bloodstains by HPLC analysis.” **Forensic Sci.
Int.** 42, 4 (July): 601-7.

J. Dissing, A.Sondervang, and S.Lund (2010). “Exploring the limits for the survival of DNA in
blood stains.” **Forensic Legal Med.** 17, 7 (October): 392-396.

K. Shikama (1998). “The molecular mechanism of autoxidation for myoglobin and hemoglobin:
a venerable puzzle.” **Chemical Reviews.** 98, 4 (August): 1357-1373.

M. Bauer, S. Polzin, and D. Patzelt (2003). “Quantification of RNA degradation by
semiquantitative duplex and competitive RT-PCR: a possible indicator of the age of
bloodstains.” **Forensic Sci. Int.** 138, 1-3 (December): 94-103.

Phuvadol Thanakiatkrai, Alisa Yaodam, and Thitika Kitpipit (2013). “Age estimation of
bloodstains using smartphones and digital image analysis.” **Forensic Sci Int.** 233, 1-3
(December): 288-297.

R.H. Bremmer, A. Nadort et al. (2011). “Age estimation of blood stains by hemoglobin
derivative determination using reflectance spectroscopy.” **Forensic Sci. Int.** 206, 1-3
(March): 166-171.

- R.H. Bremmer, K.G. de Bruin et al. (2012). "Forensic quest for age determination of bloodstains." **Forensic Sci. Int.** 216, 1-3 (March): 1-11.
- S.E. Anderson, G.R. Hobbs, and C.P. Bishop (2011). "Multivariate analysis for estimating the age of a bloodstain." **Forensic Legal Med.** 56, 1 (January): 392-396.