การประมาณอายุหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* จากสัณฐานวิทยาและการวิเคราะห์สารประกอบไฮโดรคาร์บอนบนผนังลำตัว

โดย
นางสาวปาลิฏา ศิริเสถียร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2565
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

การประมาณอายุหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* จากสัณฐานวิทยาและการวิเคราะห์สารประกอบไฮโดรคาร์บอนบนผนังลำตัว

โดย
นางสาวปาลิฎา ศิริเสถียร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2565
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

ESTIMATING THE AGE OF *CHRYSOMYA MEGACEPHALA* LARVAL STAGES FROM MORPHOLOGY AND CUTICULAR HYDROCARBON ANALYSIS

By

MISS Palita SIRISATIAN

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for Master of Science (FORENSIC SCIENCE)

Silpakorn University

Academic Year 2022

Copyright of Silpakorn University

หัวข้อ	การประมาณอายุหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* จากสัณฐานวิทยาและการวิเคราะห์สารประกอบไฮโดรคาร์บอนบนผนังลำตัว
โดย	นางสาวปาลิฏา ศิริเสถียร
สาขาวิชา	นิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	อาจารย์ ดร. อรทัย เขียวพุ่ม

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นรงค์ ฉิมพาลี)

พิจารณาเห็นชอบโดย

.....ประธานกรรมการ
(อาจารย์ ดร. ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(อาจารย์ ดร. อรทัย เขียวพุ่ม)

.....ผู้ทรงคุณวุฒิภายใน
(อาจารย์ ดร. ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง)

.....ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก
(รองศาสตราจารย์ ดร. ยุภาพร สมีน้อย)

630720048 : นิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
คำสำคัญ : นิติกีฏวิทยา, หนอนแมลงวันหัวเขียว, สัณฐานวิทยา, สารประกอบไฮโดรคาร์บอนบนผนังลำตัว

นางสาว ปาลิฏา ศิริเสถียร: การประมาณอายุหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephal*a จากสัณฐานวิทยาและการวิเคราะห์สารประกอบไฮโดรคาร์บอนบนผนังลำตัว
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : อาจารย์ ดร. อรทัย เขียวพุ่ม

แมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* (Fabricius) เป็นแมลงวันที่มีความสำคัญทางนิติวิทยาศาสตร์มากที่สุดในประเทศไทย รูปแบบการเติบโต และพัฒนาการของหนอนแมลงวันมีความเกี่ยวข้องอย่างมากในการประมาณระยะเวลาหลังการตาย (PMI) วัตถุประสงค์ของการศึกษาเพื่อตรวจระบุอายุตัวอ่อนหนอนแมลงวันด้วยสัณฐานวิทยา และวิเคราะห์ไฮโดรคาร์บอนบนผนังลำตัว (cuticular hydrocarbon) โดยใช้แก๊สโครมาโตกราฟี - แมสสเปกโตรเมตรี (GC–MS) ในการศึกษานี้ได้ตรวจสอบระยะเวลาการเจริญเติบโต ความยาวลำตัวตัวอ่อน และการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของ *C. megacephala* โดยทำการทดลองที่อุณหภูมิ 30 ± 2 °C และความชื้นสัมพัทธ์ ~70 % ผลการศึกษาพบว่า ความกว้างเฉลี่ย และความยาวเฉลี่ยของตัวอ่อนหนอนแมลงวันแปรตามการเจริญเติบโตของหนอนในแต่ละวัน ใช้การวิเคราะห์การถดถอยเพื่อสร้างสมการความแปรผันของความกว้างและความยาวลำตัวตัวอ่อนกับเวลาหลังฟักออกจากไข่ ไฮโดรคาร์บอนบนผนังลำตัวถูกสกัดด้วยเฮกเซน และวิเคราะห์โดยใช้แก๊สโครมาโตกราฟี - แมสสเปกโตรเมตรี ความจำเพาะของสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่ระบุในตัวอ่อนแต่ละวันจะแตกต่างกันไปตามการเจริญเติบโต ผลลัพธ์จากศึกษานี้อาจเป็นประโยชน์ในการประมาณอายุของตัวอ่อนหนอนแมลงวัน และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในกรณีจริงทางนิติวิทยาศาสตร์ได้

630720048 : Major (FORENSIC SCIENCE)
Keyword : Forensic entomology, Chrysomya megacephala, Morphology, Cuticular hydrocarbon

MISS Palita SIRISATIAN : Estimating the age of *Chrysomya megacephala* larval stages from morphology and cuticular hydrocarbon analysis
Thesis advisor : Orathai Kheawpum

Chrysomya megacephala (Fabricius) is one of the most abundant forensic blowfly species in Thailand. Its growth and development patterns have great implications in the estimation of the postmortem interval (PMI). The objective of this study was to age fly larvae by morphology and analysis of cuticular hydrocarbons using Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC–MS). In this experiment, the developmental duration, larval body length and morphological changes of *C. megacephala* were examined. The experiment was conducted at 30 ± 2 ℃ and ~70 % relative humidity. The results showed that the mean width and the mean length of larvae varied according to daily growth of larvae. Regression analysis was conducted to obtain equations of the variation in larval body width and length with time after hatching. The cuticular hydrocarbons were extracted with hexane and analysed using gas chromatography-mass spectrometry. The specificity of the hydrocarbon compounds identified in daily larvae varied which the growth. The results from this work might be useful for estimating the age of fly larvae and could be applied in real forensic cases.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ดีเนื่องด้วยความอนุเคราะห์จากผู้มีพระคุณทั้งหลายที่กรุณาสละเวลาให้คำแนะนำ และความช่วยเหลือที่เป็นประโยชน์ในการทำงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณอาจารย์ดร.อรทัย เขียวพุ่ม อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัย และอาจารย์ดร. ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง ที่กรุณาให้คำแนะนำเป็นที่ปรึกษาชี้แนะแนวทาง ตลอดจนปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในการทดลอง และขอขอบคุณอาจารย์ดร.ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี ที่ได้กรุณาเป็นประธานกรรมการ และ รศ. ดร.ยุภาพร สมีน้อย ที่กรุณาเป็นกรรมการสอบงานวิจัยในครั้งนี้ ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้ง และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่ให้ความอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการและเครื่องมือในการทำงานวิจัย ตลอดจนเจ้าหน้าที่ และบุคลากรที่เกี่ยวข้องทุกท่าน

ขอขอบคุณนางสาวปิยาภา จันทร์มล ที่สละเวลาช่วยเหลือวิเคราะห์ข้อมูล และให้คำปรึกษาจนทำให้งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณครอบครัวอันเป็นที่รักซึ่งเปิดโอกาสให้ได้รับการศึกษาเล่าเรียน ตลอดจนคอยช่วยเหลือ และให้กำลังใจผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา โดยเฉพาะคุณพ่อที่อนุญาตให้ใช้โรงเรือน รวมไปถึงการทำกล่องสำหรับเลี้ยงหนอนแมลงวัน ขอบคุณเพื่อนๆ ที่คอยสนับสนุนช่วยเหลือและให้คำปรึกษามาโดยตลอด และขอกราบขอบพระคุณผู้ที่มิได้เอ่ยนามซึ่งมีส่วนช่วยเหลือในงานวิจัยจนประสบความสำเร็จไปได้ด้วยดี

นางสาว ปาลิฎา ศิริเสถียร

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญรูปภาพ ..... ญ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 3

1.3 สมมติฐานของการวิจัย 3

1.4 ขอบเขตของการวิจัย 3

1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ 3

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 4

บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 5

2.1 นิติวิทยาศาสตร์ 5

2.2 นิติกีฏวิทยา (Forensic Entomology) 7

2.3 การประมาณระยะเวลาการตาย (Post Mortem Interval) 7

2.4 กระบวนการสลายตัว และความสัมพันธ์ของแมลงตามการย่อยสลายของร่างกาย (Decomposition processes and relationships of insects to decomposed body) 15

2.5 การเจริญเติบโตของหนอนแมลงวัน (Insect Activity) 15

2.6 วิธีการจำแนกอายุหนอนแมลงวันหัวเขียว 19

2.7 เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี - แมสสเปกโตรเมทรี (Gas Chromatography-Mass Spectrometry; GC-MS).....21
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....27
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....32
3.1 วัสดุที่ใช้ในการวิจัย.....32
3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย.....32
3.3 ประชากรศึกษา.....32
3.4 เก็บรวบรวมข้อมูลในการวิจัย.....33
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล.....36
4.1 การวิเคราะห์ข้อมูลการเจริญเติบโตของ *Chrysomya megacephala* โดยวัดจากวิธีทางสัณฐานวิทยา.....36
4.2 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างอายุของหนอนแมลงวัน และขนาดความกว้างและขนาดความยาวลำตัว โดยการหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพียร์สัน และสร้างสมการพยากรณ์อายุหนอนแมลงวันจากขนาดลำตัว โดยใช้การวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นพหุคูณ (Multiple Linear Regression).....38
4.3 การจำแนกอายุของหนอน *Chrysomya megacephala* ด้วยวิธีวิเคราะห์ ไฮโดรคาร์บอนบนผนังลำตัว (cuticular hydrocarbon) โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทรกราฟี - แมสสเปคโทรมิเตอร์ (GC–MS).....42
บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....47
5.1 สรุป และอภิปรายผล.....47
5.2 ข้อเสนอแนะในการวิจัย.....49
รายการอ้างอิง.....50
ภาคผนวก.....54
ประวัติผู้เขียน.....67

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 การเจริญเติบโตของหนอน C. megacephala แสดงค่าเฉลี่ย ค่าต่ำสุด (min) และค่าสูงสุด (max).....37

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณ ในการพยากรณ์อายุของหนอน C. megacephala..39

ตารางที่ 3 ผลการพยากรณ์อายุ *C. megacephala* โดยคำนวณจากสมการพยากรณ์.....40

ตารางที่ 4 แสดงชนิดของไฮโดรคาร์บอนจากหนอนวันต่างๆของ *C. megacephala* 44

ตารางที่ 5 แสดงไฮโดรคาร์บอนที่พบเฉพาะวันต่างๆของหนอน C. megacephala 45

ตารางที่ 6 แสดงไฮโดรคาร์บอนที่พบเฉพาะแต่ละวันในงานวิจัยอื่นๆ.....48

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 องค์ประกอบโครงสร้างสรีระภายนอก (External) ของแมลงวัน....17

ภาพที่ 2 ลักษณะตาประกอบของแมลงวันหัวเขียว ก) ตัวเต็มวัยเพศผู้ ข) ตัวเต็มวัยเพศเมีย 17

ภาพที่ 3 วงจรชีวิตแมลงวัน....17

ภาพที่ 4 สัณฐานวิทยาของแมลงวันหัวเขียว C. megacephala 19

ภาพที่ 5 ลักษณะรูปร่าง และลักษณะรูหายใจส่วนท้ายของหนอนแมลงวัน....20

ภาพที่ 6 โครงกระดูกเซฟาโลฟาริงซ์ (cephalopharyngeal skeleton)....21

ภาพที่ 7 ส่วนประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ 22

ภาพที่ 8 ตัวอย่างโครมาโทแกรม....24

ภาพที่ 9 รูปแสดงโครมาโทแกรมเปรียบเทียบของสารมาตรฐาน และสารผสมในตัวอย่าง 24

ภาพที่ 10 รูปแสดงการเปรียบเทียบสเปคตรัมของตัวอย่างกับฐานข้อมูล 25

ภาพที่ 11 รูปแสดงผลการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลและความน่าจะเป็น 26

ภาพที่ 12 การเลี้ยง C. megacephala ตัวเต็มวัยในกรง ซึ่งบรรจุถ้วยใส่ตับหมูสด 34

ภาพที่ 13 ตับซึ่งมีไข่ C. megacephala....34

ภาพที่ 14 ถ้วยตับที่มีไข่ในกล่องพลาสติกซึ่งมีชั้นของขี้เลื่อย....34

ภาพที่ 15 วัดขนาดความกว้างของหนอนแต่ละตัวโดยการใช้เวอร์เนียร์คาลิเปอร์....35

ภาพที่ 16 วัดขนาดความยาวของหนอนแต่ละตัวโดยการใช้เวอร์เนียร์คาลิเปอร์....35

ภาพที่ 17 เปรียบเทียบขนาดลำตัวหนอนแมลงวันในแต่ละวัน 36

ภาพที่ 18 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอายุของหนอนแมลงวัน (วัน)....38

ภาพที่ 19 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอายุของหนอนแมลงวัน (วัน)....39

ภาพที่ 20 ตัวอย่างโครมาโทแกรมที่พบในหนอนวันที่ 1 43

ภาพที่ 21 ตัวอย่างโครมาโทแกรมที่พบในหนอนวันที่ 2 44

ภาพที่ 22 ตัวอย่างโครมาโทแกรมที่พบในหนอนวันที่ 3 44

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การประมาณระยะเวลาหลังการตาย (Post-Mortem Interval , PMI) เป็นข้อมูลที่สำคัญทางนิติเวชศาสตร์ในการชันสูตรพลิกศพที่ตายโดยผิดธรรมชาติ ตามประมวลกฎหมายวิธีพิจารณาความทางอาญา พ.ศ.2477 มาตาร 148 และ 154 บัญญัติไว้ว่า “ให้ผู้ชันสูตรพลิกศพทำความเห็นเป็นหนังสือแสดงเหตุ และพฤติการณ์ที่ตาย ผู้ตายเป็นใคร ตายที่ไหน เมื่อใด ถ้าตายโดยคนทำร้ายให้กล่าวว่าใคร หรือสงสัยว่าใครเป็นผู้กระทำความผิดเท่าที่จะทราบได้” วัตถุประสงค์สำคัญของการชันสูตรพลิกศพที่กำหนดไว้ในกฎหมายก็คือ การระบุเวลาตาย ดังนั้นการหาหลักฐานมาสนับสนุนเพื่อประมาณเวลาการตายจึงมีความสำคัญสำหรับแพทย์และบุคลากรทางนิติเวช สำหรับการประมาณเวลาตายในระยะแรกนั้นสามารถใช้ข้อมูลจากการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของศพ เช่น การแข็งตัวของกล้ามเนื้อ อุณภูมิของศพ การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของน้ำในลูกตาเป็นต้น แต่ในกรณีที่ศพเสียชีวิตมานานกว่า 48 ชั่วโมงแล้ว การอาศัยการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของศพจะมีความแม่นยำน้อยลง จึงมีความจำเป็นต้องหาหลักฐานอื่นมาสนับสนุน ยิ่งไปกว่านั้น เมื่อได้มีการแก้ไขเพิ่มเติมประมวลกฎหมายวิธีพิจารณาความอาญา (ฉบับที่ 21) พ.ศ. 2542 ที่มีความโดยสรุปให้แพทย์มีหน้าที่ออกไปชันสูตรพลิกศพ ณ สถานที่เกิดเหตุ แพทย์จึงมีความจำเป็นที่จะต้องสังเกต ค้นหาพยานหลักฐานที่จะเป็นข้อสนับสนุนการวินิจฉัยเวลาตาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในรายที่ศพเน่า (เผด็จ & นันทนา, 2548) ปัจจุบันความรู้ทางนิติกีฏวิทยา (Forensic Entomology) นั้นมีการพัฒนาอย่างมาก มีการนำความรู้เกี่ยวกับแมลงวันไปใช้ประโยชน์ในด้านนิติกีฏวิทยาหลายกรณี และได้มีการนำมาประยุกต์ในการประมาณระยะเวลาการตาย เนื่องจากแมลงวันมาที่ศพทันทีหลังจากที่มีการเสียชีวิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่ม แมลงวันหัวเขียว (Blow flies) จากงานวิจัยพบว่า ในพื้นที่เปิดโล่ง แมลงวันหัวเขียวสามารถมายังศพภายในเวลาไม่เกิน 5 นาที การเข้าถึงศพของแมลงวันมีรูปแบบที่คาดการณ์ได้ โดยต่างไปตามชนิดของแมลงวันและชีวนิสัย การเจริญเติบโตของแมลงวันสามารถคาดการณ์ได้เช่นเดียวกัน (นพวรรณ, 2562)

การนำข้อมูลของแมลงวันมาใช้ประโยชน์ในการประมาณระยะเวลาหลังการตายจำเป็นต้องมีความรู้เกี่ยวกับรูปร่างลักษณะ และวงจรชีวิตของแมลงวันเป็นอย่างดี โดยตัวอ่อนเป็นช่วงชีวิตที่มักพบได้มากในที่เกิดเหตุ และเป็นข้อมูลที่มีประโยชน์มากที่สุดในการประมาณค่า PMI บ่อยครั้งที่ต้องเลี้ยงตัวอ่อนให้โตเต็มวัยเพื่อยืนยันสายพันธุ์ (Byrd & Castner, 2001; Greenberg & Kunich, 2002;

Smith, 1986) ดังนั้น วิธีการที่สามารถระบุระยะตัวอ่อนจะเป็นประโยชน์ในการลดเวลาที่ต้องใช้ประมาณค่า PMI ในขั้นตอนสำคัญของการสอบสวนคดีอาญา

การศึกษาเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา (morphology) ในการจำแนกอายุของหนอนแมลงวันหัวเขียวสามารถดูได้จากลักษณะทั้งภายนอก และภายใน ลักษณะภายนอกคือ ความยาวลำตัว และจากลักษณะภายในคือ รูหายใจส่วนท้าย (posterior spiracle) และโครงกระดูกเซฟาโลฟาริงซ์ (cephalopharyngeal skeleton) ซึ่งลักษณะทางสัณฐานวิทยานั้นมีจำเพาะแตกต่างกันตามระยะการเจริญเติบโต ดังนั้นความยาวลำตัวจึงเป็นส่วนที่นิยมนำมาศึกษา เนื่องจากสามารถมองเห็นจากภายนอก โดยBunchu et al. (2012) ศึกษา *Hemipyrellia ligurriens* พบว่าระยะเวลาในการพัฒนาตั้งแต่ตัวอ่อนฟักออกจากไข่ไปจนถึงการเริ่มเป็นดักแด้มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว มีการเพิ่มขนาดลำตัวตามระยะ ซึ่งตัวอ่อนมีความยาวเฉลี่ยสูงสุดที่ประมาณ 42 ชั่วโมง ในขณะที่ Li et al. (2014) ทำการศึกษา *C. megacephala* พบว่าความยาวของขนาดลำตัวเพิ่มขึ้นตามระยะการเจริญเติบโต อาจมีปัจจัยของไขมันในอาหารที่ส่งผลต่อขนาดลำตัว

มีรายงานการใช้ การวิเคราะห์ไฮโดรคาร์บอนบนผนังลำตัวแมลง (cuticular hydrocarbons, CHCs) สามารถเป็นวิธีที่ระบุตัวอย่างที่ไม่รู้จัก หรือเพื่อยืนยันสายพันธุ์ที่มีความคลุมเครือ ซึ่งบนผนังลำตัวของแมลงปกคลุมด้วยสารเคลือบผิว ประกอบด้วยไฮโดรคาร์บอน กรดไขมัน แอลกอฮอล์ กลีเซอไรด์ ฟอสโฟลิปิด และไกลโคลิปิด (Gibbs & Elizabeth, 1998; Roux et al., 2006) ไฮโดรคาร์บอนมีมากในแมลงหลายชนิด และพบว่ามีค่าที่คงที่ มีไฮโดรคาร์บอนที่แตกต่างกัน ซึ่งบ่งชี้ได้ว่าแมลงแต่ละสายพันธุ์น่าจะมีไฮโดรคาร์บอนที่เป็นเอกลักษณ์ของตัวเอง โดยการศึกษาการใช้ CHCs ในการจำแนกแมลงในอันดับ Diptera นั้นเน้นไปที่กลุ่มที่มีความสำคัญทางการแพทย์หรือทางการเกษตร หรือสิ่งมีชีวิตที่เป็นแบบจำลองทางพันธุกรรม เช่น แมลงวันทอง (Drosophila) โดยWicker-Thomas et al. (2009) ระบุรายละเอียดทางเคมีโดยทำการทดสอบกับแมลงในอันดับ Diptera ที่มีความสำคัญทางนิติวิทยาศาสตร์ เช่น แมลงวันหัวเขียว (Calliphoridae) ซึ่งการวิเคราะห์ CHCs อาจเป็นวิธีการในการกำหนดสายพันธุ์เมื่อเจอกับปัญหา เช่น เศษขนาดเล็กที่เสื่อมโทรมของดักแด้ที่ว่างเปล่า ซึ่งไม่สามารถระบุได้ด้วยการวิเคราะห์ทางสัณฐานวิทยา และมีรายงานระบุการใช้ CHCs ของแมลงวันหัวเขียวระยะตัวเต็มวัย (Moore, Butcher, et al., 2017; Pechal et al., 2014) ในขณะที่ Moore et al. (2014, 2017) สามารถระบุตัวอ่อนหนอนระยะแรก และระยะดักแด้ของแมลงวันผ่านรายละเอียดของ CHCs โดยการวิเคราะห์ทางเคมีบนผนังลำตัวของแมลงยังเป็นตัวกำหนดอายุของสิ่งส่งตรวจ เช่น ตัวเต็มวัย ตัวอ่อน ดักแด้ หรือตลอดกระบวนการสืบพันธุ์ได้

ในการศึกษาครั้งนี้ ผู้วิจัยใช้วิธีวิเคราะห์ทางสัณฐานวิทยา ร่วมกับวิธีการวิเคราะห์ CHCs วิเคราะห์การพัฒนาของ *C. megacephala* ซึ่งเป็นแมลงวันที่มักพบในศพเป็นกลุ่มแรก และพบเป็นจำนวนมาก ด้วยการใช้การเปลี่ยนแปลงของลักษณะสัณฐาน และรายละเอียดทางเคมี โดย

ไฮโดรคาร์บอนถูกสกัด และวิเคราะห์โดยใช้แก๊สโครมาโตกราฟี– แมสสเปกโตรเมตรี (Gas Chromatography-Mass Spectrometry; GC-MS) เพื่อประยุกต์ใช้ในการประมาณค่า PMI ซึ่งเป็นการคาดการณ์ได้อย่างรวดเร็ว

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อจำแนกอายุของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* ด้วยวิธีทางสัณฐานวิทยา

2. เพื่อวิเคราะห์ไฮโดรคาร์บอนบนผนังลำตัว (cuticular hydrocarbon) ของหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* ที่วันต่างๆ

3. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอายุหนอนแมลงวัน และลักษณะทางสัณฐานวิทยา

1.3 สมมติฐานของการวิจัย

1. ลักษณะทางสัณฐานวิทยามีความสัมพันธ์กับอายุของหนอนอย่างมีนัยสำคัญ

2. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาสามารถใช้พยากรณ์อายุของหนอนได้อย่างมีนัยสำคัญ

3. ชนิดไฮโดรคาร์บอนบนผนังลำตัวมีความสัมพันธ์กับอายุของหนอนอย่างมีนัยสำคัญ

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

ทำการศึกษาการเจริญเติบโตของหนอนแมลงวันหัวเขียวชนิด *Chrysomya megacephala* ตลอดระยะของหนอนแมลง ที่เพาะเลี้ยงในโรงเรือน เพื่อนำไปศึกษาการจำแนกอายุของหนอนด้วยวิธีสัณฐานวิทยา และวิธีวิเคราะห์ไฮโดรคาร์บอนบนผนังลำตัว (cuticular hydrocarbon)

1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ

Forensic entomology คือ การนำความรู้ทางด้านชีววิทยาของแมลงซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตในไฟลัมอาร์โทโปดา (Phylum Arthropod) ชั้นอินเซคตา (Class insecta) มาประยุกต์ใช้อ้างอิงกระบวนการทางกฎหมาย

Postmortem interval (PMI) คือ การประมาณระยะเวลาหลังการตายเป็นการหาว่าผู้ตายเสียชีวิตเป็นระยะเวลานานเท่าใด ซึ่งมีความสำคัญทางกฎหมายทั้งทางแพ่งและอาญา โดยในทางแพ่งจะสามารถช่วยบอกได้ว่าใครเป็นทายาทผู้ที่จะมารับมรดกสืบต่อหรือในกรณีอื่นๆ เช่นกรณีการรับเงินประกันชีวิต ส่วนในทางอาญานอกจากจะช่วยบอกว่าฆาตกรรมเกิดขึ้นเมื่อใดแล้วยังสามารถหาคนที่เป็นผู้ต้องสงสัยหรือคัดคนที่เป็นผู้ต้องสงสัยออกได้ และอาจช่วยยืนยันข้อหักล้างและแก้ตัวของผู้ต้องสงสัย

Blow flies คือ ชื่อสามัญของแมลงวันหัวเขียว เป็นแมลงวันขนาดใหญ่ชนิดหนึ่งที่พบได้ทั่วไปตามชุมชนที่มีสิ่งปฏิกูลต่างๆ เป็นแมลงวันที่ส่วนอกและท้องมีสีแวววาวเหมือนผิวโลหะ ซึ่งอาจเป็นสี

เขียว สีน้ำเงิน ตารวมของแมลงวันกลุ่มนี้มีสีแดงขนาดใหญ่ เห็นได้ชัดเจน และมีหนวด (arista) ฟูแบบขนนก

Chrysomya megacephala คือ แมลงวันหัวเขียวชนิดหนึ่งพบได้มากในประเทศไทย ลำตัวมันวาวมีสีน้ำเงินเขียว ลำตัวมีลักษณะค่อนข้างกลม ส่วนอกมีขนาดใหญ่กว่าทุกส่วน ชอบอาศัยตามบริเวณบ้าน กองขยะ รวมทั้งซากเน่าเปื่อย และสิ่งปฏิกูลต่างๆ

Morphology คือสาขาหนึ่งของวิชาชีววิทยาเกี่ยวกับการศึกษารูปพรรณสัณฐานภายนอกและคุณสมบัติเฉพาะของโครงสร้างของสิ่งมีชีวิต เช่น สี โครงสร้าง ขนาด รูปร่าง รูปแบบ

Cuticular hydrocarbon (CHCs) คือ วิธีการวิเคราะห์รายละเอียดของไฮโดรคาร์บอนบนผลังลำตัวสิ่งมีชีวิต

Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) คือ เครื่องมือในการวิเคราะห์สารประกอบอินทรีย์ที่สามารถระเหยเป็นไอได้ เพื่อการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ ที่ถูกต้องและแม่นยำสูง สามารถเปรียบเทียบผลวิเคราะห์กับฐานข้อมูล (Library) เพื่อความถูกต้อง

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ประมาณระยะเวลาการตายได้อย่างมีประสิทธิภาพ
2. ประยุกต์ใช้วิธีวิเคราะห์ไฮโดรคาร์บอนบนผนังลำตัว ในการจำแนกอายุหนอนของแมลงชนิดอื่นๆ

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาเรื่อง การประมาณอายุหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* จากสัณฐานวิทยา และการวิเคราะห์สารประกอบไฮโดรคาร์บอนบนผนังลำตัว ผู้วิจัยได้ศึกษาแนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ดังต่อไปนี้

2.1 นิติวิทยาศาสตร์

2.2 นิติกีฏวิทยา

2.3 การประมาณระยะเวลาการตาย

2.4 กระบวนการสลายตัวและความสัมพันธ์ของแมลงตามการย่อยสลายของร่างกาย

2.5 การเจริญเติบโตของหนอนแมลงวัน

2.6 วิธีการจำแนกอายุหนอนแมลงวันหัวเขียว

2.7 เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี - แมสสเปกโตรเมทรี

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 นิติวิทยาศาสตร์

นิติวิทยาศาสตร์ (Forensic Science) มาจากคำว่า “นิติ” + “วิทยาศาสตร์” ฉะนั้นคำว่านิติวิทยาศาสตร์ จึงหมายถึง “การนำความรู้ทางวิทยาศาสตร์ทุกสาขามาประยุกต์ใช้ เพื่อประโยชน์แห่งกฎหมาย” ประโยชน์แห่งกฎหมายที่กล่าวถึงนี้ ได้แก่ ประโยชน์ทางนิติบัญญัติในเรื่องการออกกฎหมาย ประโยชน์ของการคลี่คลายปัญหาและการพิสูจน์ข้อเท็จจริงในคดีความ เพื่อผลในการบังคับใช้กฎหมายและการลงโทษ

วิทยาศาสตร์จำแนกกว้างๆ ออกได้เป็น 2 ประเภท

1. วิทยาศาสตร์ธรรมชาติ (Natural Sciences) เป็นเรื่องของสิ่งที่มีความจริงตลอดเวลาวิชาที่อยู่ในวิทยาศาสตร์ธรรมชาตินี้จะเป็นพวกวิทยาศาสตร์บริสุทธิ์ เช่น เคมี ชีววิทยา และฟิสิกส์ เป็นต้น

2. วิทยาศาสตร์ประยุกต์ (Apply Sciences) เป็นสิ่งที่นักวิทยาศาสตร์นำมาประยุกต์ พัฒนาเพื่อใช้ประโยชน์แก่มวลมนุษย์

ดังนั้น นิติวิทยาศาสตร์จึงอาจจำแนกออกได้เป็น 2 ประเภท ตามการจำแนกประเภทของวิทยาศาสตร์ กล่าวคือ

2.1.1 นิติวิทยาศาสตร์ที่เป็นวิทยาศาสตร์ธรรมชาติ ได้แก่ วิชาพิสูจน์หลักฐาน (Criminalities) รวมถึงการตรวจสถานที่เกิดและเก็บรวบรวมวัตถุพยานในสถานที่เกิดเหตุ

2.1.2 นิติวิทยาศาสตร์ที่เป็นวิทยาศาสตร์ประยุกต์ โดยการนำความรู้ทางวิทยาศาสตร์ในสาขาต่างๆ มาประยุกต์ใช้ให้เป็นประโยชน์ต่อกระบวนการยุติธรรม นิติวิทยาศาสตร์ในประเภทนี้จึงมีด้วยกันหลายสาขา ยกตัวอย่างเช่น

1) นิติเวชศาสตร์ (Legal Medicine หรือ Forensic Medicine) หมายถึง วิชาแพทย์ที่เกี่ยวข้องกับกฎหมายและยังรวมไปถึงวิชากฎหมายในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการแพทย์ และประกอบวิชาชีพของแพทย์ด้วย ขอบเขตของวิชานิติเวชศาสตร์ในปัจจุบันกว้างขวางมากอาจแบ่งได้เป็นส่วนๆ ดังต่อไปนี้

(1) ธรรมศาสตร์คลินิก (Clinical Jurisprudence) เป็นการตรวจและให้ความเห็นเกี่ยวกับการตรวจรักษาผู้ป่วยที่มีคดีความ เช่น การตรวจบาดแผลถูกทำร้าย อุบัติเหตุจราจร การตรวจร่างกายผู้เสียหายในคดีความผิดทางเพศ การตรวจผู้ป่วยหรือผู้ที่มีประกันชีวิต เป็นต้น

(2) นิติพยาธิวิทยา (Forensic Pathology) เป็นการตรวจศพคดี รวมถึงการตรวจพยานวัตถุที่เกี่ยวข้อง เพื่อหาสาเหตุและพฤติการณ์เกี่ยวกับการเสียชีวิต

(3) นิติพิษวิทยา (Forensic Toxicology) เป็นการตรวจวิเคราะห์หายาพิษ หรือสารพิษจากศพ หรือส่วนของศพ หรือจากพยานวัตถุอื่น

(4) นิติเซโรโลยี (Forensic Serology) เป็นการตรวจหาหมู่เลือด หมู่น้ำเหลือง หมู่ของโปรตีนในน้ำเหลือง น้ำคัดหลั่ง เช่น น้ำอสุจิ น้ำลาย การตรวจ DNA เพื่อพิสูจน์ความเป็นพ่อ-แม่-ลูก เป็นต้น

(5) นิติจิตเวชศาสตร์ (Forensic Psychiatry) เป็นการตรวจวินิจฉัยผู้ป่วยโรคจิตที่เกี่ยวข้องกับคดีต่างๆ

(6) เวชศาสตร์การจราจร (Traffic Medicine) เป็นการตรวจวิเคราะห์หาสาเหตุของอุบัติเหตุว่าเกิดจากปัจจัยของคนเจ็บ คนเมาหรือหลับใน ปัจจัยของรถ เช่น รถเบรกแตก หรือปัจจัยจากสภาพแวดล้อม มีการตรวจร่างกายผู้ขับขี่ยานพาหนะ การตรวจหาความเมา โดยการวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์ในเลือดในคดีจราจร เป็นต้น

(7) การตรวจพิสูจน์หลักฐาน Criminalities หรือ Evidence Examination) เป็นการตรวจวัตถุพยานที่เก็บได้จากสถานที่เกิดเหตุ (Crime Scene) จากตัวผู้เสียหายหรือผู้ต้องหาซึ่งมีทั้งวัตถุพยานที่มาจากสิ่งมีชีวิต (Biological Evidence) เช่น คราบเลือด คราบอสุจิ เส้นผม ขน ลายพิมพ์ มือ และวัตถุพยานที่ไม่ได้มาจากสิ่งมีชีวิต (Nonbiological Evidence) เช่น ปลอกกระสุน หัวกระสุนปืน เศษสี เศษแก้ว

2) นิติวิศวกรรมศาสตร์ (Forensic Engineering) คือ การนำความรู้ และประสบการณ์ทางวิศวกรรมศาสตร์มาใช้เพื่อประโยชน์ทางกฎหมาย โดยการค้นหาข้อมูลทางกายภาพของความเสียหายความล้มเหลวในงานด้านวิศวกรรม การตรวจสอบวัสดุ ผลิตภัณฑ์ โครงสร้าง

ชิ้นส่วนที่เกิดความเสียหายหรือไม่สามารถใช้งานได้ที่ก่อให้เกิดการเรียกร้องค่าเสียหายรวมถึงการฟ้องร้อง คำร้องส่วนใหญ่มักจะเป็นทางด้านการพิจารณาข้อพิพาททางแพ่งระหว่างคู่กรณีสองฝ่ายนานๆ ครั้ง จึงจะมีความจำเป็นต้องใช้ความรู้ทางด้านนี้ เพื่อประโยชน์ในทางคดีอาญา

3) นิติทันตวิทยา (Forensic Odontology) คือ การนำความรู้ทางทันตวิทยามาใช้ในกระบวนการยุติธรรม เช่น การตรวจพิสูจน์ฟันที่พบในสถานที่เกิดเหตุเครื่องบินตก โดยนำมาเปรียบเทียบกับฟิล์มเอ็กซเรย์จากประวัติการทำฟัน เพื่อยืนยันว่าผู้เสียชีวิตเป็นใคร

4) นิติเภสัชวิทยา (Forensic Phamacology) คือ การนำความรู้เกี่ยวกับยามาใช้ในกระบวนการยุติธรรม เช่น ยาพิษ ยาที่มีผลต่อจิตและประสาท ยาที่เป็นอันตราย เป็นต้น

5) นิติมนุษยวิทยา (Forensic Anthropology) เป็นสาขาหนึ่งของมานุษยวิทยากายภาพ ทำการศึกษาเกี่ยวกับมนุษย์และวิวัฒนาการของมนุษย์ ในทางนิติวิทยาศาสตร์จะนำมาใช้ในการพิสูจน์อายุ เพศ ความสูง เชื้อชาติที่พบบนโครงกระดูกหรือชิ้นส่วนกระดูกมนุษย์

6) นิติกีฏวิทยา (Forensic Anthropology) คือ การศึกษาถึงแมลงและหนอนที่เกี่ยวข้องกับคดี เช่น การพิสูจน์ชนิดของแมลงในศพ ซึ่งจะนำไปสู่ระยะเวลาในวงจรชีพและทำให้ทราบเวลาตายโดยประมาณของศพได้ (อรรถพล, 2552)

2.2 นิติกีฏวิทยา (Forensic Entomology)

นิติกีฏวิทยา หมายถึงการนำความรู้ทางด้านชีววิทยาของแมลงซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตใน Phylum: Arthropoda มาประยุกต์ใช้อ้างอิงในกระบวนการทางกฎหมาย โดยสามารถแบ่งเป็นสาขาย่อยได้ดังนี้

2.2.1 Stored product entomology เป็นการนำความรู้เรื่องแมลงไปใช้ในกระบวนการพิจารณาทางกฎหมายในเรื่องเกี่ยวกับอาหาร หรือผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ที่ใช้เพื่อการบริโภค เช่น หนอนแมลงในผัก และตัวมอดในข้าวสาร เป็นต้น

2.2.2 Structural/urban entomology เป็นการนำความรู้เกี่ยวกับแมลงไปใช้ในกระบวนการพิจารณาทางกฎหมายในส่วนของสิ่งปลูกสร้าง หรืออาคารต่าง ๆ เช่น การพบปลวกในโครงสร้างอาคาร หรือการพบแมลงสาปภายในบ้าน เป็นต้น

2.2.3 Medicolegal entomology เป็นการนำความรู้เกี่ยวกับการแพทย์ และชีววิทยาของแมลง มาประยุกต์ใช้ในทางกฎหมาย (วิสุทธิ์, 2552)

2.3 การประมาณระยะเวลาการตาย (Post Mortem Interval)

การระบุระยะเวลาภายหลังตายเป็นวัตถุประสงค์ที่สำคัญอันหนึ่งของการชันสูตรพลิกศพ ซึ่งมีความสำคัญทั้งคดีอาญาและคดีเพ่ง การประมาณเวลาตายอาจจะต้องใช้หลักฐานหลายอย่างประกอบกันแต่หลักฐานที่ใช้แล้วแม่นยำและมีประโยชน์มากที่สุด คือ การเปลี่ยนแปลงหลังการตายของศพ

การเปลี่ยนแปลงหลังการตาย (Postmortem Change) เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นจากกระบวนการทางสรีรวิทยา กระบวนการทางชีวเคมีของร่างกาย กระบวนการทางฟิสิกส์ และกระบวนการเน่า การตรวจและแปลผลต้องใช้หลักวิชาแพทย์ โดยที่แพทย์สามารถตรวจรูปแบบของการเปลี่ยนแปลงภายหลังตายได้หลายอย่าง แต่จะประมาณเวลาได้เป็นช่วง (Range) อย่างคร่าวๆ วิธีการที่ตรวจนั้นไม่ยาก หากต้องอาศัยความชำนาญและประสบการณ์ในการแปลผลพอสมควร (แสวง, 2557)

โดยทั่วไปต้องเข้าใจหลักที่สำคัญของการประมาณเวลาตายว่า

1. ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอันหนึ่งอันใดเพียงอย่างเดียวที่ตรวจพบแล้วสามารถกำหนดระยะเวลาตายได้ชัดเจน

2. การประมาณเวลาตาย ควรเป็นการกะประมาณในช่วงระยะเวลา ไม่ใช่ระบุเวลาชัดเจน

3. สภาพศพยิ่งเน่าเท่าใด ก็ยิ่งประมาณเวลาตายได้แม่นยำน้อยลง

4. การประมาณเวลาตายควรทำทันทีที่มีการพบศพ (พรทิพย์, 2546)

สำหรับวิธีการประมาณเวลาตายนั้น ณัฐธิดา (2560) ได้ค้นคว้าและศึกษาจากเอกสารหลายๆ แหล่งด้วยกัน สามารถแบ่งออกได้ดังนี้

2.3.1 การประมาณเวลาตายจากปฏิกิริยาเหนือชีวิต

ปฏิกิริยาเหนือชีวิต เริ่มนำมาใช้ประมาณเวลาตายครั้งแรกในประเทศทางแถบยุโรป แต่ไม่นิยมใช้ในประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งปฏิกิริยาเหนือชีวิตที่นำมาใช้ในการประมาณเวลาตายนี้อาศัยหลักการที่ว่า เมื่อมีการตายของร่างกาย เซลล์ของอวัยวะต่างๆ ทั้งหมดยังไม่ตาย และจะตายภายในระยะเวลาที่ต่างกัน เช่น เซลล์ตับยังคงมีชีวิตอยู่ประมาณ 40 นาทีภายหลังตาย เซลล์กล้ามเนื้อลายยังคงมีชีวิตอยู่ประมาณ 2 - 8 ชั่วโมงภายหลังตาย เป็นต้น ด้วยหลักการนี้จึงนำมาทดสอบปฏิกิริยาการทำงานของเซลล์กล้ามเนื้อลายต่อสิ่งกระตุ้นชนิดต่างๆ มาใช้ในการประมาณเวลาตาย ซึ่งมีประโยชน์มาก เนื่องจากเป็นการทดสอบที่ไม่ยากนัก สามารถทำการทดสอบในสถานที่พบศพ หรือสถานที่เกิดเหตุได้ และให้ผลการทดสอบในทันทีหรือในระยะเวลาที่ไม่นานมาก

ปฏิกิริยาเหนือชีวิตที่นำมาใช้ในการประมาณเวลาตาย ได้แก่ ปฏิกิริยาของกล้ามเนื้อลายภายหลังตาย แบ่งออกเป็น 3 ชนิด ตามลักษณะของสิ่งที่กระตุ้น ดังนี้

1) การกระตุ้นด้วยแรงทางกลศาสตร์

โดยการใช้สันมีดหรือท่อนไม้ตีในแนวตั้งฉากกับต้นแขนอย่างแรง กล้ามเนื้อบริเวณนั้น (Biceps Brachiimuscle) ก็จะหดตัวและนูนเป็นสันอย่างเห็นได้ชัดเจน (Idiomuscular Contraction) เนื่องจากเซลล์กล้ามเนื้อที่ยังไม่ตายสามารถตอบสนองต่อแรงกระตุ้นดังกล่าวได้ จะตอบสนองได้มากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับระยะเวลาภายหลังตายว่าเสียชีวิตมานานเท่าใดแล้ว โดยแบ่งการตอบสนองของกล้ามเนื้อออกได้เป็น 3 ระยะ คือ ระยะแรก กล้ามเนื้อทั้งมัดจะหดตัวอย่างรุนแรง

ในทันที ซึ่งตรวจพบได้ภายใน 2 ชั่วโมงหลังตาย ระยะที่สอง กล้ามเนื้อจะหดตัวค่อนข้างแรงและยังกลับคืนได้ ตรวจพบภายหลังตาย 5 ชั่วโมง และระยะสุดท้าย กล้ามเนื้อจะหดตัวเพียงเล็กน้อย ซึ่งอาจตรวจพบภายหลังตายหลายชั่วโมงจนถึง 24 ชั่วโมง (โดยทั่วไป 8 - 12 ชั่วโมง) หากไม่ปรากฏการหดตัวของกล้ามเนื้ออย่างชัดเจน อาจใช้มือคลำดูหรือใช้ใช้มีดผ่าเปิดผิวหนัง เพื่อตรวจดูการหดตัวของกล้ามเนื้อที่อยู่ภายใน

2) การกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า

โดยการใช้ขั้วไฟฟ้าจี้ตามตำแหน่งต่างๆ ของใบหน้า โดยเฉพาะเปลือกตาบน (ตำแหน่ง 1.5 - 2.0 เซนติเมตร ห่างจากหางตาทั้งสองข้าง) แทงเข็มลึกลงไป 5 - 7 มิลลิเมตร จะตรวจพบการหดตัวของกล้ามเนื้อได้ ซึ่งใบหน้าของศพอาจแสดงท่ายิ้มหรือท่าขมวดคิ้วให้สังเกตความมากน้อยของการหดตัวของกล้ามเนื้อ การเคลื่อนไหวของเส้นใยกล้ามเนื้อที่แผ่กระจายออกไป และการเปลี่ยนแปลงของเส้นใยกล้ามเนื้อที่อยู่ไกลจากตำแหน่งที่แทงเข็ม ลักษณะดังกล่าวตรวจพบได้ภายใน 4 - 5 ชั่วโมงภายหลังตาย รายที่เสียชีวิตในสถานการณ์การตายที่มีระยะใกล้ตายที่ค่อนข้างยาว ระยะเวลาในการตรวจพบปฏิกิริยาของกล้ามเนื้อต่อการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าจะสั้นลง และการเคลื่อนไหวของเส้นใยกล้ามเนื้อจะไม่แผ่กระจายไปยังกล้ามเนื้อที่อยู่ไกลออกไป

3) การกระตุ้นด้วยสารเคมี

ในขณะที่ยังมีชีวิตอยู่ ขนาดของรูม่านตาจะเปลี่ยนแปลงได้อันเป็นผลจากการตอบสนองของกล้ามเนื้อม่านตาต่อแสงสว่างที่ส่องกระทบ เพื่อให้ได้ปริมาณแสงสว่างที่เหมาะสมต่อการมองเห็นได้ดี เมื่ออยู่ในที่มืดรูม่านตาจะขยาย แต่ในที่สว่างรูม่านตาจะหดเล็กลง นอกจากนี้ยาบางชนิดก็มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดของรูม่านตาด้วย คนที่เพิ่งเสียชีวิตไม่นาน หากได้รับการฉีดยาบางชนิดเข้าไปใต้เยื่อบุตาหรือในช่องหน้าของลูกตา รูม่านตาจะหดหรือขยายได้ เช่น ยา Norepinephrine, Tropicamide หรือ Atopine ทำให้รูม่านตาขยาย ยา Acetylcholine ทำให้รูม่านตาหดเล็กลง เป็นต้น (สุภาวรรณ, 2559)

2.3.2 การประมาณเวลาตายจากการเปลี่ยนแปลงของศพ

หลังจากคนตายแล้ว ร่างกายจะมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นเป็นระยะๆ การเปลี่ยนแปลงต่างๆ ที่เกิดขึ้นจะเป็นเครื่องช่วยประมาณเวลาตายได้ ดังนี้

1) การเย็นตัวของศพ (Algor Mortis หรือ Postmortem Cooling)

เป็นการเปลี่ยนแปลงหลังการตายตามธรรมชาติอย่างหนึ่งของร่างกายมนุษย์ โดยปกติอุณหภูมิของร่างกายคนเราอยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส หรือ 98.7 องศาฟาเรนไฮต์ ภายหลังการตายอุณหภูมิของร่างกายจะเท่ากับอุณหภูมิก่อนตายอยู่ระยะเวลาหนึ่ง ต่อจากนั้นจะค่อยๆ ลดลง ประมาณ 1 องศาเซลเซียส หรือ 1.5 องศาฟาเรนไฮต์ต่อชั่วโมง โดยเฉลี่ยแล้วจะใช้เวลาประมาณ 12 ชั่วโมง อุณหภูมิของร่างกายจึงลดลงมาเท่ากับอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อม ดังนั้นกรณีพบศพแล้ววัดอุณหภูมิศพได้เท่ากับ

อุณหภูมิห้องก็สามารถสันนิษฐานได้ว่า คนตายจะต้องเสียชีวิตมาไม่ต่ำกว่า12 ชั่วโมงแล้ว (อรรถพล, 2552)

ทั้งนี้ ยังมีผู้คิดสูตรคำนวณโดยอาศัยทฤษฎีทางฟิสิกส์อีกมาหมาย แต่ผลที่ได้ก็ยังไม่แน่นอน และไม่อาจนำมาใช้ได้ในประเทศไทย เพราะอุณหภูมิของอากาศในประเทศไทย โดยเฉลี่ยสูงกว่าต่างประเทศมาก และการที่อุณหภูมิสูงนี่เองเป็นเหตุหนึ่งที่ทำให้ศพเน่าเร็ว จึงไม่อาจใช้วิธีวัดอุณหภูมิของศพมาประมาณหาเวลาตายได้

สำหรับการประมาณเวลาตายจากการเย็นตัวของศพนี้ ในทางปฏิบัติอาจใช้วิธีอย่างหยาบๆ เท่านั้น คือ การใช้มือคลำตัวศพว่ายังอุ่นอยู่หรือเย็นแล้ว ถ้ายังอุ่นอยู่พอประมาณได้ว่าตายมาภายใน 1 ชั่วโมง เพราะอุณหภูมิของผิวหนังนั้นลดลงเร็วในระยะแรกๆ ผิดกับอุณหภูมิในร่างกาย ซึ่งระยะแรกจะลดลงช้า (วิฑูรย์, 2524)

2) การตกสู่ภายหลังตายเบื้องต่ำของเลือด (Lividity หรือ Livor Mortis)

เป็นรอยจ้ำสีแดงคล้ำที่เกิดจากการสลายตัวของเม็ดเลือดแดง ฮีโมโกบินของเม็ดเลือดที่อยู่ในหลอดเลือดแดงและดำขนาดเล็ก ซึ่งจะตกลงสู่เบื้องล่างเนื่องจากแรงดึงดูดของโลก การเกิด Livor Mortis นี้จะเริ่มตั้งแต่หลังตาย พอสังเกตเห็นได้ในเวลา 1 – 2 ชั่วโมง จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ชัดเจนใน 5 – 7 ชั่วโมงและจะเกิดเต็มที่ใน 12 ชั่วโมง สำหรับผู้ที่เป็นโรคขาดเลือดเวลาที่เกิดจะช้ากว่านี้ นอกจาก Livor Mortis จะมีประโยชน์ในการประมาณเวลาตายดังกล่าวแล้ว ยังทำให้ทราบว่าสภาพศพขณะตายนอนอยู่ในท่าอะไร เช่น นอนคว่ำตายจะพบเลือดที่หน้าอก (เลือดตกลงไปสู่ที่จุดต่ำสุดตามแรงโน้มถ่วงของโลก) นอนหงายตายจะพบเลือดที่ด้านหลัง ดังนั้น ถ้าผู้ตรวจสถานที่เกิดเหตุพบศพนอนคว่ำตายแต่เกิด Livor Mortis ที่หลังก็สันนิษฐานได้ว่าสภาพเดิมของศพน่าจะนอนหงาย แต่ได้ถูกพลิกขึ้นก่อนหน้าที่จะไปถึงไม่นาน ชาวบ้านธรรมดาอาจเข้าใจผิดว่า Livor Mortis เป็นบาดแผลฟกช้ำ ซึ่งตรงประเด็นนี้สามารถแยกได้ง่ายโดยเอาฝ่ามือกด ถ้าเป็น Livor Mortis ตรงบริเวณที่กดจะซีดตามฝ่ามือ (อรรถพล, 2552)

3) การแข็งตัวของศพ (Rigor mortis)

เกิดจากกล้ามเนื้อในร่างกายขาดพลังงาน ATP ถือเป็นแหล่งเบื้องต้นที่ก่อให้เกิดพลังงานแก่กล้ามเนื้อในการหดตัว ในกล้ามเนื้อจะมีเส้นใยอยู่ 2 ชนิด คือ Actin และ Myosin จะประสานกันเล็กน้อยในขณะที่หย่อนคลาย และจะประสานกันมากขึ้นในขณะที่หดตัว ทั้งนี้จะต้องอาศัยพลังงานจาก ATP ซึ่งพบอยู่เป็นจำนวนมากในกล้ามเนื้อขณะมีชีวิตและหลังตายใหม่ๆ แต่เมื่อตายระยะเวลาหนึ่งแล้วร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ ATP ระดับของ ATP ในกล้ามเนื้อจะค่อยๆ ลดลงจนกระทั่งไม่เหลืออยู่เลย เส้นใยของกล้ามเนื้อทั้งสองจะอยู่ในสภาพ Actomyosin เป็นลักษณะเหนียวยืดหดอีกไม่ได้

หลังจากการตายประมาณ 2 – 4 ชั่วโมง ศพจะเริ่มแข็งตัว โดยเริ่มจากบริเวณกล้ามเนื้อที่มีขนาดเล็กและค่อนข้างสั้นก่อน ดังนี้

(1) ขากรรไกร

(2) คอและนิ้วมือ

(3) ข้อมือ

(4) ข้อศอก

(5) หัวไหล่และหัวเข่า

(6) สะโพก

(7) ลำตัวและแขนขา

ศพจะแข็งตัวเต็มที่เมื่อ 7 – 12 ชั่วโมง และจะแข็งต่อไปอีก 12 ชั่วโมง จึงจะเข้าสู่ภาวะการอ่อนตัวครั้งที่สอง การอ่อนตัวของศพนั้นจะเริ่มต้นที่ตำแหน่งที่แข็งตัวก่อนคือ ขากรรไกร คอ นิ้ว มือ และตำแหน่งอื่นตามลำดับ โดยมีหลักว่าตรงไหนแข็งก่อนก็จะอ่อนก่อนเช่นกัน

อนึ่งการเปลี่ยนแปลงข้อที่ (1) – (7) ดังกล่าวแล้วจะไม่เป็นเช่นนี้เหมือนกันทุกราย ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับดินฟ้าอากาศ อาชีพ การเจริญเติบโตของร่างกายผู้ตาย ตลอดจนอาหารการกินและยาที่รับประทานด้วย ดังนั้นจึงใช้หลักกว้างๆ ว่าศพจะเริ่มแข็งตัวที่ใบหน้าก่อน ต่อจากนั้นอีกประมาณ 2–3 ชั่วโมง จะแข็งตัวที่หัวไหล่ แขน และด้านล่างตามลำดับ จนกระทั่งแข็งทั่วตัว อย่างไรก็ตาม Rigor Mortis อาจเกิดขึ้นได้เร็วกว่านี้ เช่น ในคนที่ออกกำลังกายหรือต่อสู้ ภาวะอากาศร้อน ในภาวะที่ร่างกายมีอุณหภูมิสูงกว่าปกติ ในสภาพมีไข้ การชัก หรือถูกรัดคอ (อรรถพล, 2552) พึงระวังว่าภาวะการแข็งตัวของศพภายหลังการตายนี้ ต้องแยกออกภาวการณ์แข็งตัวของศพที่เกิดจากสาเหตุอื่น คือ การแข็งตัวของศพเนื่องจากถูกความร้อน (Heat Stiffening) การแข็งตัวของศพ เนื่องจากถูกความเย็น (Cool Stiffening) การเกร็งของกล้ามเนื้อทันทีหลังตาย (Cardaveric Spasm) (วิฑูรย์, 2524)

4) การเน่าเปื่อยของศพ (Postmortem decomposition)

คือ การเน่าที่เกิดต่อจาก Rigor Mortis (ครั้งที่ 2) หรือตายหลังการตาย 24 ชั่วโมง แต่อาจเกิดการเน่าก่อนเวลานี้ได้บ้าง ถ้าอากาศร้อนจัดจะสังเกตได้ชัดเจนที่บริเวณท้องก่อนที่อื่น โดยเห็นเป็นสีแดงและเขียวคล้ำ ทั้งนี้เพราะลำไส้มีเชื้อแบคทีเรียชนิดที่ไม่ต้องการออกซิเจน (Anaerobic Bacteria) อยู่ภายในที่ทำให้เกิดก๊าซจำนวนมาก การเกิดก๊าซของแบคทีเรียดังกล่าวจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จากสำไส้เข้าสู่เส้นเลือดดำของตับ Portal System จากระบบหลอดเลือดดำของตับ การเน่าจะเข้าไปถึงระบบเส้นเลือดดำใหญ่ทั่วร่างกาย ทำให้เลือดสลายตัว Haemolysis ผนังหลอดเลือดแข็งตัว ก๊าซและแบคทีเรียจะเข้าไปอยู่ตามเนื้อเยื่อ ตอนแรกจะเป็นสีแดงจากแก๊สไข่เน่า H_2S ต่อไปจะเปลี่ยนเป็น

สีเขียวจากการเกิด Sulfer Methaegloblin ประกอบกับลำไส้ส่วน Caecum อยู่ตื้น และผนังหน้าท้องมักบาง

การเน่าของอวัยวะต่างๆ ในร่างกายคน เรียงลำดับการเน่าดังต่อไปนี้

(1) ลำไส้ กระเพาะอาหาร เลือดในตับ เลือดในหัวใจ กล้ามเนื้อหัวใจ

(2) ทางเดินหายใจ ได้แก่ ปอด ตับ

(3) สมอง และประสาทบริเวณสันหลัง

(4) ไต กระเพาะปัสสาวะ ลูกอัณฑะ

(5) กล้ามเนื้อของร่างกายทั่วไป

(6) มดลูก ต่อมลูกหมาก

จะเห็นได้ว่า ลำไส้ของคนเรามีเชื้อแบคทีเรียชนิดที่ไม่ต้องการออกซิเจน (Anaerobic Bacteria) อยู่จำนวนหนึ่ง ซึ่งจะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วหลังจากร่างกายคนเราตายแล้ว ทำให้เกิดก๊าซภายในลำไส้ และเลือดภายในแขนงหลอดเลือดขนาดเล็กและหลอดเลือดฝอยแตกตัว (Haemolysis) มีผลทำให้ลำไส้เน่าเร็วกว่าอวัยวะอื่น ส่วนมดลูกและต่อมลูกหมากจะเน่าช้า เนื่องจากอวัยวะทั้งสองประกอบด้วยกล้ามเนื้อและเนื้อเยื่อที่แข็ง จึงยังสามารถตรวจอวัยวะดังกล่าวได้ แม้จะตายมาหลายวัน

ลำดับการเน่าของร่างกาย มีลำดับดังนี้

22 – 24 ชั่วโมง หลังจากตายจะพบเส้นเลือดดำที่อยู่ด้านนอกของผิวหนังพองคล้ำ ผิวหนังของศพเริ่มพอง ก๊าซซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียภายในกระเพาะลำไส้จะดันออกมา ทำให้ร่างกายพองขึ้น

36 ชั่วโมง ร่างกายพองโตขึ้น ผิวหนังบริเวณหน้าอกพองและหลุดออกไปเป็นบางส่วน ประมาณ 5 – 6 แห่ง แห่งละขนาดยาวประมาณ 5 เซนติเมตร กว้าง 3 เซนติเมตร

48 ชั่วโมง ร่างกายพองโตมากขึ้นกว่า 36 ชั่วโมง ผิวหนังพองโตและหลุดออกจากร่างกายมากขึ้น

72 ชั่วโมง ร่างกายพองโตมากขึ้น ลิ้นจุกปาก ดวงตาถลน อวัยวะเพศ เช่น ลูกอัณฑะ โป่งพองขึ้น

4 วัน หนังกำพร้า (Epidermis) จะพองตัวและลอกหลุดออกไปจากลำตัวเป็นส่วนใหญ่ และหมดในบางราย ทั้งนี้ ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของอากาศ

7 วัน ผิวหนัง เนื้อเยื่อ กล้ามเนื้อบริเวณใบหน้าสลายตัวหายไป เผยให้เห็นกระดูกบริเวณใบหน้าและกะโหลกศีรษะ ถ้าศพอยู่ในน้ำ อวัยวะในช่องอก เช่น ช่องท้องสลายตัวเพิ่มมากขึ้น อาจจำอวัยวะภายในช่องท้องไม่ได้ (อรรถพล, 2552)

2.3.3 การประมาณเวลาตายจากการทำงานของอวัยวะบางระบบ

1) ปริมาณอาหารในกระเพาะ (Stomach Content)

การตรวจดูปริมาณอาหารที่เหลืออยู่ในกระเพาะอาหาร สามารถบอกเวลาตายที่เกี่ยวข้องกับมื้ออาหารได้ ถึงแม้ว่าระยะเวลาของอาหารที่ผ่านกระเพาะจะมีความแตกต่างกันในแต่ละคน และต่างกันในอาหารแต่ละชนิดด้วย อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาพบว่าอาหารที่เป็นน้ำจะผ่านกระเพาะครึ่งหนึ่งในเวลาประมาณ 30 นาที อาหารจำนวนน้อย เช่น ก๋วยเตี๋ยวหนึ่งชามอาจจะใช้เวลา 2 ชั่วโมง ในการผ่านกระเพาะอาหาร แต่ถ้าเป็นอาหารมื้อใหญ่ คือ กินอิ่มเต็มที่อาจจะผ่านกระเพาะภายไปภายใน 3 - 5 ชั่วโมง หรือในบางรายงานอาจถึง 6 ชั่วโมง (ไม่พบอาหารในกระเพาะกินมาแล้ว 3 - 6 ชั่วโมง พบครึ่งกระเพาะกินมาประมาณครึ่งชั่วโมง ถึง 2 ชั่วโมงเศษ พบเต็มกระเพาะกินมาไม่เกินครึ่งชั่วโมง) (เลี้ยง, 2550)

2) ปริมาณน้ำปัสสาวะในกระเพาะปัสสาวะ

การตรวจดูปริมาณของน้ำปัสสาวะในกระเพาะปัสสาวะ โดยปกติอันตราการขับน้ำปัสสาวะของไตประมาณ 24 - 1,200 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง ขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำที่ร่างกายรับเข้าไปในช่วงกลางวันนั้นจะขับปัสสาวะจะขับมากกว่าช่วงกลางคืนประมาณ 2 - 4 เท่า ปริมาณปัสสาวะในกระเพาะปัสสาวะอาจช่วยในการประมาณเวลาตาย เช่น ถ้าผู้ตายนอนเสียชีวิตอยู่ในห้องนอนในช่วงเวลากลางคืน และตรวจไม่พบน้ำปัสสาวะในประเพาะปัสสาวะเลยหรือมีเพียงเล็กน้อย แสดงว่าผู้ตายน่าจะเสียชีวิตภายหลังจากเข้านอนแล้วไม่นาน เนื่องจากคนส่วนใหญ่มักถ่ายปัสสาวะก่อนเข้านอน ดังนั้น ถ้าทราบเวลาที่ผู้ตายเข้านอนก็จะสามารถระบุเวลาตายได้ (สุภาวรรณ, 2559)

2.3.4 การประมาณเวลาการเสียชีวิตจากวิธีอื่น

1) การเปลี่ยนแปลงทางเคมีในร่างกาย (Chemical Changes After Death)

มีผู้พยายามศึกษาการตรวจหาปริมาณของธาตุโปแทสเซียมในน้ำในวิเตรียส (ลูกนัยน์ตา) แต่ต่อมา พบว่าความเข้มข้นของโปแทสเซียมที่เพิ่มขึ้นก็ขึ้นอยู่กับอัตราการเน่าเช่นกัน สิ่งแวดล้อมที่ทำให้เน่าเร็ว ความเข้มข้นของโปแทสเซียมก็ขึ้นเร็วด้วย จากการทดลองพบว่าการตรวจหาความเข้มข้นนี้ในช่วง24 ชั่วโมงแรก จะมีความคลาดเคลื่อน 10 ชั่วโมง (คือระยะเวลาที่คำนวณได้ต้องบวกหรือลบ 10 ชั่วโมง) ในช่วง 48 ชั่วโมง มีความคลาดเคลื่อน 20 ชั่วโมง และถ้าทำในช่วง 72 ชั่วโมง จะมีความคลาดเคลื่อนถึง 30 ชั่วโมง การตรวจหาความเข้มข้นของโปแทสเซียมในน้ำในลูกนัยน์ตา เพื่อหาระยะเวลาการตายจึงเกือบไม่มีประโยชน์

นอกจากนี้ สารเคมีต่างๆ ในร่างกายมักมีการเปลี่ยนแปลงเป็นส่วนใหญ่ มีผู้พยายามที่จะใช้อัตราการเปลี่ยนแปลงของสารต่างๆ เหล่านี้เป็นเครื่องชี้เวลาของการตายแต่ไม่สำเร็จ เนื่องจากไม่สามารถทราบได้ว่าขณะตายผู้ตายมีสารนั้นในเลือดประมาณเท่าใด และอัตราการเพิ่มหรือลดของสาร

นั้นเป็นอย่างไร สารที่เคยทดลองใช้ เช่น กลูโคส สารประกอบไนโตรเจนโปรตีนต่างๆ ปิจุอิตารี่ ฮอร์โมน และฮอร์โมนจากต่อมเหนือไต เป็นต้น

จากการศึกษากลับพบว่า มีสารประกอบบางอย่างไม่เปลี่ยนแปลงหรือเปลี่ยนแปลงน้อยมากหลังตาย และอาจจะใช้ค่าที่ตรวจพบหลังตายเป็นเครื่องชี้เหตุตายได้ เช่น สารประกอบไนโตรเจนพวกเครตินีนโซเดียมกับคลอไรด์ในวิเตรียสอิมมูโนโกลบูลินต่างๆ (เคยมีผู้ตรวจภูมิคุ้มกันในเลือดของผู้ตายจากการแพ้เหล็กในผึ้งและเพ็นนิซิลินในศพ) เอ็นไซม์บางชนิดก็ไม่เปลี่ยนแปลง เช่น เคยมีผู้ใช้การตรวจหาเอ็นไซม์แกมมาไกลตามีลทรานสเฟอร์เรส (Gamma glytamyltransferase) ยืนยันว่าผู้ตายเป็นโรคติดเหล้าเรื้อรังก่อนตายและตรวจพบเอ็นไซม์อไมเลส (Amylase) สามารถบอกได้ว่าผู้ตายอยู่ในสภาพอุณหภูมิร่างกายต่ำก่อนตาย แต่สารต่างๆ เหล่านี้ใช้เป็นเครื่องช่วยบอกเวลาตายไม่ได้ เอ็นไซม์โคลีนเอสเตอร์เรสก็ไม่เปลี่ยนแปลงหลังตาย ฉะนั้นจึงสามารถใช้ตรวจผู้ที่ตายจากการใช้สารพิษจำพวกยาฆ่าแมลงได้ นอกจากนี้ ฮอร์โมนอีกหลายชนิดก็ไม่เปลี่ยนแปลง เช่น คอร์ติโซน ไธรอยด์ พาราไธรอยด์ และไพเนียลฮอร์โมน ก็สามารถใช้ค่าที่ได้หลังตายชี้บ่งการเป็นโรคได้ (เลี้ยง, 2550)

2) สิ่งแวดล้อมในสถานที่เกิดเหตุ

(1) กิจวัตรประจำวันต่างๆ เช่น แปรงฟัน ทำอาหาร รับประทานอาหาร หนังสือพิมพ์ในตู้หน้าบ้าน ยกตัวอย่าง กรณีที่พบผู้เสียชีวิตอยู่ในบ้านตอนช่วงเวลา 22.00 น. ตรวจดูในห้องครัว พบว่าไก่ถูกหั่นทิ้งไว้บนเขียง สภาพไก่ยังสดอยู่ ดังนั้น สันนิษฐานได้ว่าคนตายน่าจะเสียชีวิตในช่วงเวลาที่กำลังทำอาหารเย็น หรือน่าหลังเวลา 17.00 น. เป็นต้นไป

(2) สภาพภูมิอากาศ เช่น ฝนตก การปิดประตูหน้าต่างกันสาดสภาพเปิดปิดผ้าม่าน หรือมู่ลี่บังแดด การเปิดไฟ ยกตัวอย่าง กรณีพบผู้เสียชีวิตในบ้านตอนกลางวัน สภาพไฟในบ้านทุกดวงเปิดอยู่ ดังนั้นอาจสันนิษฐานได้ว่าคนตายน่าจะเสียชีวิตในเวลากลางคืน และเป็นช่วงหัวค่ำซึ่งยังคงทำกิจกรรมหลายอย่าในบ้านจึงเปิดไฟทุกดวง จากสภาพเช่นนี้จะเห็นว่าผู้ตรวจสถานที่เกิดเหตุจำเป็นต้องมีความละเอียดรอบคอบ บันทึกทุกสิ่งทุกอย่างที่พบเห็นหรือสังเกตได้ในสถานที่เกิดเหตุ โดยเฉพาะสิ่งที่เปลี่ยนแปลงได้ง่าย พยายามป้องกันรักษาสถานที่เกิดเหตุให้ดีที่สุดและจำกัดให้เข้าเฉพาะบุคคลที่เกี่ยวข้องเท่านั้น

(3) พยานวัตถุในสถานที่เกิดเหตุ เช่น นาฬิกาที่หยุดเดิน เนื่องจากถูกลูกปืนในขณะที่เกิดเหตุ (อรรถพล, 2552)

2.4 กระบวนการสลายตัว และความสัมพันธ์ของแมลงตามการย่อยสลายของร่างกาย (Decomposition processes and relationships of insects to decomposed body)

กระบวนการสลายตัวของสิ่งมีชีวิตเป็นการเปลี่ยนแปลงของร่างกายหลังการตายซึ่งอาจมีการเปลี่ยนแปลงได้ขึ้นอยู่กับ ช่วงเวลาและสภาวะแวดล้อม เช่น แสงแดด อุณหภูมิ ความชื้น เป็นต้น แมลงแต่ละชนิดจะเข้ามาตามการย่อยสลายแต่ละระยะแตกต่างกันไป ซึ่งถ้าหากมีการเก็บข้อมูลสายพันธุ์ของแมลงที่พบได้บริเวณศพในช่วงระยะเวลาต่างๆ ก็สามารถนำมาอ้างอิงในการประมาณระยะเวลาหลังการตายได้ นอกจากนี้สามารถใช้ข้อมูลระยะเวลาการเปลี่ยนแปลงในช่วงของวงจรชีวิตของแมลงที่พบบริเวณศพ ซึ่งวิธีนี้เหมาะสำหรับการประเมินระยะเวลาในช่วงไม่กี่สัปดาห์หลังการเสียชีวิต

การเปลี่ยนแปลงของร่างกายหลังการตาย แบ่งออกเป็น 5 ระยะ ได้แก่

2.4.1 ระยะสด (fresh) เริ่มตั้งแต่ช่วงเวลาที่ศพเริ่มมีการเสียชีวิตจนถึงก่อนระยะที่ศพมีการพอง บวม ระยะนี้ศพยังไม่มีกลิ่นและอุณหภูมิจะเริ่มลดต่ำลง แต่เริ่มมีแมลงวันหัวเขียวเข้ามาที่ศพและวางไข่ ระยะนี้ใช้เวลา 0-3 วัน หรืออาจนานถึง 6 วัน ถ้าศพอยู่ในบริเวณที่มีอุณหภูมิต่ำ เริ่มมีการวางไข่ของแมลงวันหัวเขียว และเริ่มพบตัวหนอนวันที่ 1

2.4.2 ระยะพองบวม (bloat) บริเวณส่วนท้องของศพจะบวมพองขึ้นเกิดจากการสะสมของแก๊สภายใน สีของผิวหนังเริ่มเปลี่ยนเป็นสีคล้ำเริ่มมีการส่งกลิ่นเหม็นอุณหภูมิของศพจะเพิ่มขึ้นและทวารหนักเริ่มโผล่ยื่นออกมา ระยะนี้ใช้เวลา 4-6 วัน พบตัวหนอนเพิ่มมากขึ้น และเริ่มพบดักแด้

2.4.3 ระยะการเสื่อมสลายอย่างรุนแรง (active decay) ระยะนี้จะเริ่มมีการยุบตัวของหน้าอก เนื่องจากการกินของตัวอ่อนแมลงวัน บริเวณลาตัวของศพจะลื่นเหมือนมีน้ำมัน (greasy) และส่งกลิ่นเหม็นมาก ระยะนี้ใช้เวลาอยู่ระหว่าง 7 ถึง 30 วัน ยังคงพบตัวหนอนและดักแด้ของแมลงวัน แต่จำนวนเริ่มลดลง

2.4.4 ระยะหลังของการเสื่อมสลาย (advanced decay) ระยะนี้จะพบตัวหนอนของแมลงวันเริ่มหายไป ผิวหนังของศพเริ่มแห้งและน้ำหนักของศพจะลดลงอย่างมาก ระยะนี้ใช้เวลาอยู่ระหว่าง31-51 วัน เริ่มมีการเข้ามาของด้วง

2.4.5 ระยะศพแห้ง (dry remain) ศพจะเหลือแต่โครงกระดูก ผิวหนังแห้งไม่ส่งกลิ่นจะเริ่มไม่เห็นตัวอ่อนของแมลงวัน ระยะนี้จะเริ่มหลังจาก 52 วัน (เผด็จ & นันทนา, 2548)

2.5 การเจริญเติบโตของหนอนแมลงวัน (Insect Activity)

อีกสิ่งหนึ่งที่อาจจะช่วยบอกระยะเวลาการตายได้คือ การเติบโตของตัวหนอนที่อยู่บนตัวศพ การทราบว่าชนิดของตัวหนอนเป็นแมลงชนิดใด จะทำให้ทราบว่าแมลงชนิดนั้นเติบโตมานานเท่าใดใช้เวลากี่วันก็ช่วยในทางอ้อมได้ แมลงวันเป็นแมลงที่พบบ่อยที่สุดในการเป็นตัวหนอนบนศพในคนไทย

เคยมีผู้ศึกษาว่าหนอนแมลงวันจะโตถึงตัวยาว 1–1.5 เซนติเมตรในเวลา 4 วัน และจะคลานยั้วเยี้ย แต่ถ้า 5 วันหนอนอาจจะยาวขึ้นได้อีกเพียงเล็กน้อย และไม่ค่อยคลานเพราะกำลังจะเปลี่ยนเป็นดักแด้ เริ่มเปลี่ยนเป็นดักแด้ในวันที่ 6 แต่ถ้าพบซากของดักแด้จำนวนมากแล้วอาจจะผ่านมา 20 วัน การสังเกตตัวแก่ที่สุดเป็นชนิดใดอาจจะช่วยบอกเวลาตายได้

2.5.1 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของแมลงวัน

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของแมลงวันประกอบไปด้วย อาหาร น้ำ และอุณหภูมิของอากาศเมื่ออุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศสูงขึ้น ส่งผลให้ระยะเวลาของช่วงชีวิตจากไข่ถึงตัวเต็มวัยสั้นลงอาหารพวกแป้ง และน้ำตาลช่วยให้อายุของแมลงวันยืนยาวขึ้น ส่วนอาหารพวกโปรตีนช่วยในการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของหนอนแมลงวันประมาณ 35-45 องศาเซลเซียส โดยแมลงวันแต่ละตัวสามารถวางไข่ได้ประมาณ 1,000 ฟอง

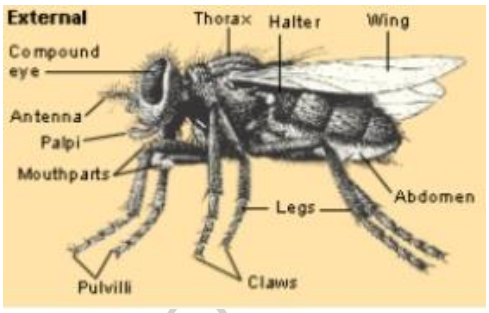
2.5.2 วงจรชีวิตของแมลงวัน

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร (ม.ป.ป.) ระบุว่าแมลงวันหัวเขียว (Blow fly) เป็นแมลงวันขนาดใหญ่ชนิดหนึ่งที่พบได้ทั่วไปตามชุมชนที่มีสิ่งปฏิกูลต่างๆ พบได้มากในประเทศไทย มีลำตัวใหญ่กว่าแมลงวันบ้าน แต่พบน้อยกว่าแมลงวันบ้านหลายเท่าตัว ชนิดที่พบมากที่สุดในประเทศไทย คือ *Chrysomya megacephala (C. megacephala)*

2.2.3 รูปร่างลักษณะภายนอก

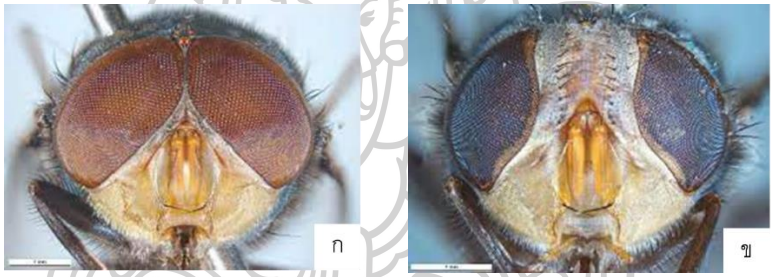
ตัวเต็มวัยของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ประกอบด้วยส่วนสำคัญ 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนหัว ส่วนอก และส่วนท้อง แมลงวันชนิดนี้ถือได้ว่าเป็นแมลงวันขนาดใหญ่ โดยมี ความยาวตั้งแต่ส่วนหัวถึงปลายส่วนท้องประมาณ 8-11 มิลลิเมตร มีลักษณะที่เด่นชัดคือ ลำตัวส่วนอกและท้องมีความมันวาวสะท้อนแสงสีเขียว ตาประกอบของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* เป็นสีแดงเข้ม มีขนาดใหญ่มาก มีสองตา คือข้างซ้าย และข้างขวา โดยตาประกอบทั้งสองข้างของเพศผู้อยู่เกือบชิดกัน ส่วนของเพศเมียอยู่ห่างกัน ชนิดของปากเป็นแบบซับดูด มีฟันแหลม (Prestomal teeth) ที่ปลายแยกเป็นสองแฉก ลักษณะไม่แตกต่างกันมากนักระหว่างฟันของตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย ปีกมี 1 คู่ ลักษณะบางใส ที่โคนปีกมีสีเข้มเล็กน้อย การจัดเรียงตัว ของเส้นปีกมีลักษณะเฉพาะ ขาประกอบด้วย 6 ปล้อง ด้านล่างของ pulvillus ปกคลุมด้วยขนยาว ลักษณะเป็นพุ่ม ปลายขนแผ่แบนและโค้งเป็นแอ่งเล็กน้อย ปลายสุดของบริเวณขนมีสารเหนียวๆ ติดอยู่ด้วย ซึ่งทำให้เชื้อโรคต่างๆเกาะติดปลายขาแมลงวันได้ดี อวัยวะสืบพันธุ์ภายในของตัวเต็มวัยเพศเมียประกอบด้วยรังไข่ 1 คู่ ซึ่งในเพศเมียที่เจริญเต็มที่ และเมื่อได้รับการผสมพันธุ์จะมีรังไข่ขนาดใหญ่ ภายในประกอบด้วยไข่จำนวนมาก ผนังรังไข่ถูกหุ้มด้วยเยื่อบางๆที่บริเวณส่วนต้นของรังไข่ อวัยวะสืบพันธุ์ภายในของตัวเต็มวัยเพศผู้เริ่มจากมีอัณฑะ 1 คู่ มีลักษณะคล้ายถุงสำหรับทำหน้าที่สร้างอสุจิ ต่อมาเป็นท่อนำอสุจิตอนปลายและ ต่อม

Accessory ส่วนของอวัยวะสืบพันธุ์ภายนอกประกอบด้วย Aedeagus และ Hypandrium ซึ่งเชื่อมต่อกับ Epiphallus อยู่บริเวณตรงกลาง Pregonite และ Postgonite ลักษณะเป็นคู่



ภาพที่ 1 องค์ประกอบโครงสร้างสรีระภายนอก (External) ของแมลงวัน

(ที่มา https://env.anamai.moph.go.th/)

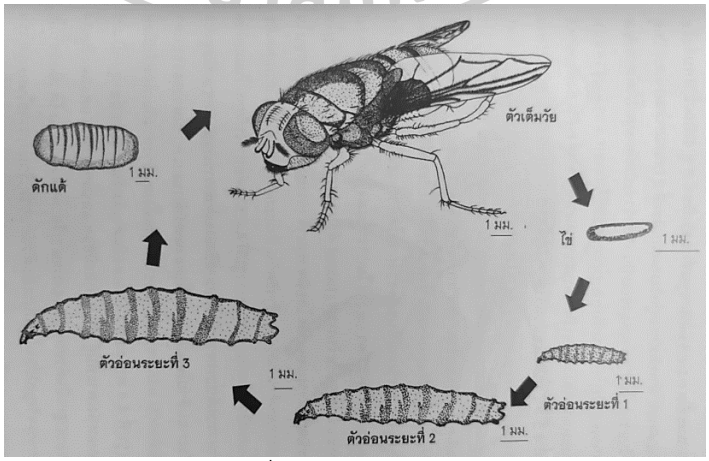


ภาพที่ 2 ลักษณะตาประกอบของแมลงวันหัวเขียว ก) ตัวเต็มวัยเพศผู้ ข) ตัวเต็มวัยเพศเมีย

(ที่มา https://webs.rmutl.ac.th/)

2.5.4 วงจรชีวิตของแมลงวันหัวเขียว

วงจรชีวิตของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* มีทั้งหมด 4 ระยะ



ภาพที่ 3 วงจรชีวิตแมลงวัน

(ที่มา https://www.nupress.grad.nu.ac.th/)

ระยะไข่ (Egg)

แมลงวันหัวเขียวจะวางไข่เป็นลักษณะกระจุกหรือกลุ่มบนซากสัตว์ มูลสัตว์ หรือบางครั้งอาจพบในเนื้อสด รูปร่างไข่มีลักษณะเรียวยาว สีขาวครีม มีความยาวเฉลี่ย 1.40±0.05 มิลลิเมตร ความกว้างเฉลี่ย 0.40±0.06 มิลลิเมตร ส่วนกลางตามยาวของไข่ เรียกว่า plastron ซึ่งยาวเกือบตลอดความยาวของไข่ โดยมีค่าเฉลี่ย 1.33±0.05 มิลลิเมตร ความกว้างของ plastron มีค่าเฉลี่ย 0.008±0.002 มิลลิเมตร (คม และกาบแก้ว, 2548) ภายในระยะเวลา 8 ชั่วโมง ถึง 3 วัน จะฟักออกมาเป็นตัวหนอน

ระยะหนอน (larva)

หนอนแมลงวันหัวเขียวมีลักษณะเป็นแบบ vermiform คือ ส่วนหัวแหลมท้ายป้าน ไม่มีขา ปากมีตะขอสีดำ หนอนมี 3 ระยะ ได้แก่

หนอนระยะที่ 1 (1st instar larval stage) มีลักษณะขนาดเล็ก สีครีม ลำตัวเรียวยาว โดยมีความยาวลำตัวประมาณ 1.7±3.5 มิลลิเมตร ประกอบด้วยปล้องทั้งหมด 12 ปล้อง คือส่วนหัว 1 ปล้อง ส่วนอก 3 ปล้องและ ส่วนท้อง 8 ปล้อง รอยต่อระหว่างปล้องของตัวอ่อนมีหนามที่อยู่ระหว่างปล้อง (intersegmental spines) มีรูหายใจหน้าที่ยังเจริญไม่เต็มที่ดี อาจไม่เห็นหรือเห็นเพียงรูเปิดขนาดเล็ก ส่วนท้ายสุดของลำตัว (ปล้องที่ 12) มีรูหายใจ 1 คู่ ทำหน้าที่หายใจ รูหายใจหลัง (slit) 2 อันซึ่งปลายชิดกันด้านล่างของรูหายใจหลังมีแอ่งใหญ่ 1 (Sukontason et al., 2003)

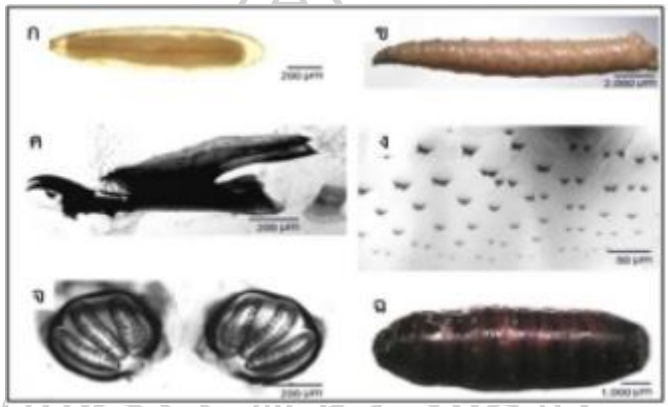
หนอนระยะที่ 2 (2nd instar larval stage) มีลำตัวยาวประมาณ 8 มิลลิเมตร โดยที่อวัยวะบางส่วนยังคงเหมือนกับหนอนระยะที่ 1 แต่พบมีอวัยวะบางส่วนที่มีการพัฒนาขึ้น ซึ่งส่วนที่เหมือนกับหนอนระยะที่ 1 คือ บริเวณส่วนหัว ได้แก่ attenna, maxillary palp, ventral organ, oral groove ส่วนอกได้แก่ trichoid sensilla, sensilla รูปร่างโดม แต่ส่วนที่เปลี่ยนแปลงอย่างเห็นได้เด่นชัดคือ บริเวณส่วนฟันที่โค้งงอ และแหลมคม รูหายใจหน้าที่บริเวณปลายอกปล้องแรกมีรูปร่างที่คล้ายนิ้วมือประกอบด้วย Papillae 8-12 อัน ส่วนมากจะพบ 10 หรือ 11 อัน ส่วนรูหายใจหลังมีการเจริญดี แต่ละอันมีร่อง 2 อันที่แยกจากกัน มี Posterior Spiracular Hair แตกแขนงอยู่เป็น 4 กลุ่ม (Sukontason et al., 2003)

หนอนระยะที่ 3 (3rd instar larval stage) ระยะนี้หนอนมีขนาดที่ใหญ่ขึ้น ซึ่งเมื่อเจริญเติบโตเต็มที่หนอนจะมีขนาดความยาวของลำตัวประมาณ 1.5 เซนติเมตร โดยบริเวณส่วนหัวและส่วนอกมีอวัยวะที่เหมือนกับหนอนระยะที่2 คือมี attenna 1 คู่ ลักษณะเป็นปุ่มยื่นออกมา ด่านล่างลงมาคือ maxillary palp ประกอบด้วยปุ่ม (papillae) รวมอยู่เป็นกลุ่มและ 2 อันแยกอยู่เยื้องไปเล็กน้อย ลงมาด้านล่างคือ ventral organ ส่วน oral groove เป็นร่องหยักตามขวางจำนวนมาก บริเวณส่วนต้นของร่องปากมี Mouthhook ประกอบด้วยฟันยาว 1 คู่ รูหายใจหน้ามีจำนวน Papillae เหมือนกับหนอนระยะที่ 2 หนามระหว่างอกปล้องแรกและปล้องที่สองมีหลายแถวเรียงตัว

ชิดกัน ปลายหนามแต่ละอันมีรอยหยักที่ด้านปลาย 1-3 อัน ปล้องสุดท้ายของลำตัวมีรูหายใจหลังอยู่ 1 คู่ ขอบของปล้องมีตุ่มใหญ่ยื่นออกมา 6 คู่ รูหายใจหลังซึ่งประกอบด้วย Slit ยาว 3 อัน ล้อมรอบด้วย Peritreme สีเกือบดำ

ระยะดักแด้ (pupae)

ดักแด้มีลักษณะแบบ coarctate คือ มีรยางค์ส่วนขา และปีกอยู่ภายในลำตัว มีเปลือกแข็งหุ้มลักษณะคล้ายข้าวเม่าทอด ยาวประมาณ 10 มิลลิเมตร กว้างประมาณ 0.2–0.3 มิลลิเมตร เมื่อเข้าดักแด้ใหม่จะมีสีน้ำตาลแดง แล้วค่อยๆเปลี่ยนเป็นสีดำ ปล้องหัวหดตัว และเว้าเข้าไปข้างใน รูหายใจหน้าเห็นชัดบริเวณด้านข้างของอกปล้องแรก



ภาพที่ 4 สัณฐานวิทยาของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala*
ก) ไข่, ข) หนอนวันที่ 3, ค) cephaloparyngeal skeleton, ง) ลักษณะหนามระหว่างอกปล้องที่ 1 และ อกปล้องที่ 2, จ) รูหายใจส่วนหลัง และ ฉ) ระยะดักแด้
(ที่มา คม สุคนธสรรพ์, 2548)

ระยะตัวเต็มวัย (adult)

หลังจากเข้าสู่ระยะดักแด้ประมาณ 5-7 วัน ดักแด้ก็จะฟักตัวเป็นตัวเต็มวัย มีลักษณะทุกอย่างเหมือนพ่อแม่พันธุ์ ทั้งนี้ ระยะเวลาการฟักตัวจะขึ้นกับความชื้น และอุณหภูมิเป็นสำคัญ ขณะที่แมลงวันหัวเขียวออกจากดักแด้ใหม่ๆ ยังบินไม่ได้ในทันที จึงต้องใช้วิธีการเดิน กระโดด เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 15 นาที ลำตัวและปีกจะเริ่มแข็งแรงขึ้นจึงสามารถบินได้

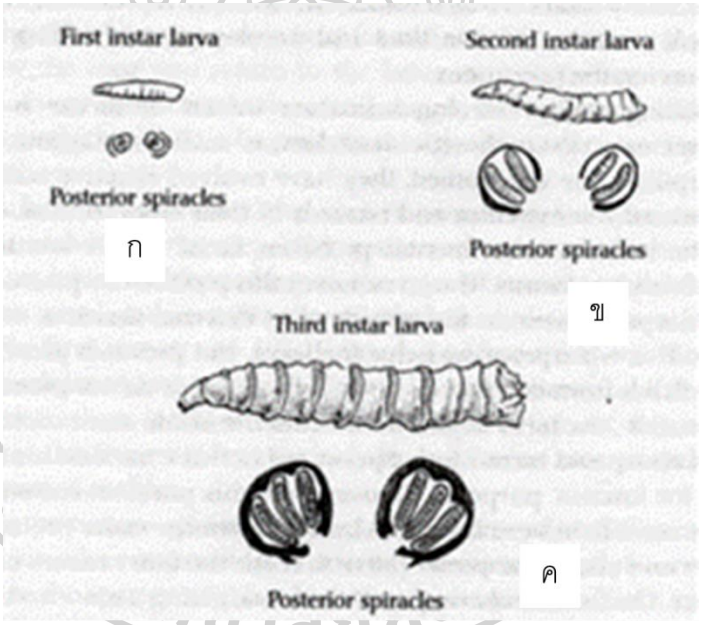
2.6 วิธีการจำแนกอายุหนอนแมลงวันหัวเขียว

การประมาณระยะเวลาหลังการตาย (PMI) สิ่งสำคัญที่ใช้ตรวจสอบ คือ อายุของหนอนแมลงวันหัวเขียวซึ่งเป็นข้อมูลที่รวดเร็ว ได้มีการพยายามศึกษาวิธีการจำแนกอายุหนอนแมลงวันหัวเขียวด้วยวิธีการต่าง ๆ ได้แก่

2.6.1 การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา (Morphology) การจำแนกอายุของหนอนแมลงวันหัวเขียวตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาของส่วนต่างๆดังนี้

1) ความยาวลำตัว หนอนระยะที่ 1 มีความยาว 1.7 ถึง 3.5 มิลลิเมตร, หนอนระยะที่ 2 มี ความยาว 6-9 มิลลิเมตร และ หนอนระยะที่ 3 มีความยาว 1 ถึง 2 เซนติเมตร

2) รูหายใจส่วนท้าย (posterior spiracle) หนอนระยะที่ 1 รูหายใจส่วนท้ายยังเจริญไม่เต็มที่, หนอนระยะที่ 2 รูหายใจส่วนท้ายยังไม่เจริญเต็มที่มี spiracular slit จำนวน 2 อัน และ หนอนระยะที่ 3 รูหายใจหลังเจริญดีมี spiracular slit จานวน 3 อัน แยกออกจากกันบางชนิดมีส่วน ที่เรียกว่า ecdysial scar (botton) รูปร่างกลมอยู่เกือบตรงกลางระหว่าง spiracular slit ที่ล้อมรอบ ด้วยวง peritreme สีเข้ม



ภาพที่ 5 ลักษณะรูปร่าง และลักษณะรูหายใจส่วนท้ายของหนอนแมลงวัน

ก) หนอน และรูหายใจส่วนท้ายหนอนระยะที่ 1 ข) หนอน และรูหายใจส่วนท้ายหนอนระยะที่ 2 และ ค) หนอน และรูหายใจส่วนท้ายหนอนระยะที่ 3

(ที่มา http://ktennant.weebly.com/uploads/3/8/2/4/38248527/aging_insects.pdf)

3) โครงกระดูกเซฟาโลฟาริงซ์ (cephalopharyngeal skeleton) คือ ส่วนโครงร่างแข็งที่อยู่บริเวณภายในส่วนปาก ซึ่งมีลักษณะจำเพาะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันในหนอนระยะที่ 1 หนอนระยะที่ 2 และ หนอนระยะที่ 3

ก ข ก

ภาพที่ 6 โครงกระดูกเซฟาโลฟาริงซ์ (cephalopharyngeal skeleton)
ก) หนอนระยะที่ 1, ข) หนอนระยะที่ 2 และ ค) หนอนระยะที่ 3
(ที่มา นวพร เฉลิมชวลิต, 2562)

2.6.2 การแสดงออกของยีน (Gene expression analysis)

Preativatanyu, Eakachaiworrawut, Chutivongse, Sirisup, & Siriyasatien (2010) ประยุกต์ใช้ยีน cytochrome oxidase (COI) ในการระบุสปีชีส์ ของหนอนแมลงวันโดยเทคนิคทางอณูชีววิทยา ผลการศึกษาระบุลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้แสดงให้เห็นว่าดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิค PCR ให้ผลผลิตที่มีขนาด 351 คู่เบสเท่ากันในทุกตัวอย่าง เมื่อวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์พบว่า 5 ตัวอย่าง สามารถระบุว่าเป็นสปีชีส์ Sarcophaga ruficornis และ 1 ตัวอย่างที่เหลือเป็น สปีชีส์ *Chrysomya rufifacies* แสดงให้เห็นชัดว่าสามารถประยุกต์ใช้เทคนิคทาง อณูชีววิทยาในการระบุสปีชีส์ของหนอนแมลงวันที่เก็บได้จากศพและ ให้ผลที่น่าเชื่อถือ

Tarone, Jennings, & Foran (2007) ศึกษาการแสดงออกของยีน bicoid (bcd), slalom (sll), chitin synthase (cs) ในระยะไข่ของแมลงวันหัวเขียว Lucilia sericata พบว่ามีการ แสดงออกของยีนทั้ง 3 ชนิดแตกต่างกันโดยพบการแสดงออกของยีน bcd และ sll เพิ่มขึ้นตามอายุของไข่ในขณะที่การแสดงออกของยีน cs ลดลงแต่คงที่ในระยะท้ายของไข่ก่อนพักเป็นตัว

2.6.3 การวิเคราะห์สารประกอบไฮโดรคาร์บอน (Cuticular hydrocarbon analysis)

Zhu, Ye, Hu, Xu, & Li (2006) ในหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya rufifacies* พบ Cuticular hydrocarbon ที่เป็นชนิดอัลเคน (alkanes) ที่มีความยาวโซ่ของคาร์บอนอยู่ที่ 21-31 และ อัลคีน (alkenes) 6 ชนิด โดยปริมาณของอัลคีนส่วนใหญ่จะมีโมเลกุลต่ำลงในทางตรงกันข้ามปริมาณของอัลเคนจะมีโมเลกุลสูงขึ้นและมีความยาวโซ่เพิ่มมากกว่า C25 และจะค่อยๆเพิ่มขึ้นตามอายุของตัวหนอน (นวพร, 2562)

2.7 เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี - แมสสเปกโตรเมทรี (Gas Chromatography-Mass Spectrometry; GC-MS)

2.7.1 เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

เป็นเทคนิคหนึ่งที่ใช้ในการวิเคราะห์เพื่อหาชนิดและปริมาณของสารที่สนใจในตัวอย่างได้ โดยลักษณะของสารหรือตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้ จะต้องมีคุณสมบัติในการระเหยกลายเป็นไอได้ง่าย เนื่องจากเป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารผสมออกจากกันในสถานะแก๊ส โดยอาศัยความแตกต่างกันของคุณสมบัติในการละลายและความสามารถในการดูดซับของสารแต่ละชนิด บนเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) และเฟสอยู่กับที่ (Stationary phase)

1) ส่วนประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ

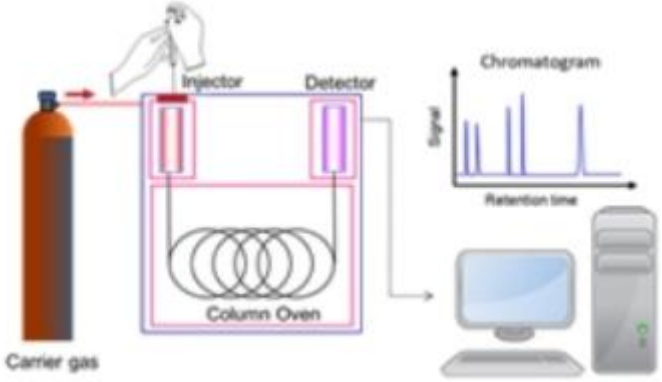
(1) แก๊สพา (Carrier gas) ทำหน้าที่ในการพาไอระเหยของสารตัวอย่างเข้าสู่คอลัมน์เพื่อให้เกิดการแยกและออก สู่ตัวตรวจวัดเพื่อบันทึกสัญญาณ ดังนั้นแก๊สพาจึงควรเป็นแก๊สเฉื่อย

(2) ส่วนฉีดสาร (Injector) ทำหน้าที่ในการระเหยตัวอย่างให้กลายเป็นไอ ฉีดตัวอย่างเข้าเครื่องตรงบริเวณนี้ การตั้งค่าความร้อนควรเหมาะสมกับตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ ไม่มากหรือไม่น้อยเกินไป

(3) คอลัมน์ (Column) และ ตู้อบคอลัมน์ (Column Oven) ทำหน้าที่ในการแยกสาร เนื่องจากตัวอย่างอยู่ในสถานะแก๊ส ดังนั้นคอลัมน์จึงต้องอยู่ในตู้ที่สามารถควบคุมความร้อนได้ป้องกันการควบแน่นของตัวอย่าง และการควบคุมอุณหภูมิที่เหมาะสมจะทำให้การแยกเกิดได้ดียิ่งขึ้น

(4) ตัวตรวจวัด (Detector) ทำหน้าที่ในการตรวจวัดตัวอย่างที่ถูกแยกเรียบร้อยแล้ว

(5) ซอฟแวร์ และคอมพิวเตอร์สำหรับการประมวลผล ทำหน้าที่ในการบันทึกข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์และประมวลผลการวิเคราะห์พร้อมทั้งรายงานผลการวิเคราะห์ได้ตามที่ต้องการ



ภาพที่ 7 ส่วนประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ

(ที่มา https://www.scispec.co.th/learning)

2) หลักการทำงานของเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

เมื่อสารผสมถูกนำเข้าสู่ส่วนฉีดสาร สารผสมจะเกิดการระเหยกลายเป็นไอและถูกพาเข้าสู่คอลัมน์ด้วยแก๊สพา ซึ่งทำหน้าที่เป็นเฟสเคลื่อนที่ สารผสมแต่ละชนิดจะถูกแยกออกจากกันโดยอาศัยคุณสมบัติในการละลายและความสามารถในการดูดซับในคอลัมน์ ซึ่งทำหน้าที่เป็นเฟสอยู่กับที่ หลังจากนั้นสารที่ถูกพาออกจากคอลัมน์ตามลำดับเวลาจะถูกตรวจวัดด้วยตัวตรวจวัดที่เหมาะสมเพื่อบันทึก เวลา (Retention Time) และขนาดสัญญาณ (Signal) ของสารแต่ละชนิดออกมาในรูปแบบโครมาโทแกรม (Chromatogram)

การแยกสารผสมด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีจะเกิดขึ้นได้ดีโดยขึ้นกับพารามิเตอร์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ ดังนี้

(1) คุณสมบัติของคอลัมน์

พิจารณความสามารถในการละลายและดูดซับของสารที่สนใจบนคอลัมน์ โดยทั่วไปสารประกอบอินทรีย์จะพิจารณาจากความมีขั้ว (Polar) หรือ ไม่มีขั้ว (Non-polar) เช่น คอลัมน์ที่เคลือบด้วยโพลีเอทิลีนไกลคอล (Polyethylene glycol) เป็นคอลัมน์ที่มีขั้ว จะสามารถแยกสารผสมกลุ่มแอลกอฮอล์ ซึ่งเป็นสารกลุ่มมีขั้วได้ดี หรือ คอลัมน์ที่เคลือบด้วยเมทิลโพลีไซลอกเซนร้อยเปอร์เซ็นต์ (100% Methylpolysiloxane) เป็นคอลัมน์ที่ไม่มีขั้วจะสามารถแยกสารผสมโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (Polycyclic aromatic hydrocarbons; PAHs) ได้ดี เป็นต้น

พิจารณาความกว้างภายใน (Internal Diameter) ความหนาของฟิล์ม (Film Thickness) และความยาวของคอลัมน์ (Column Length) โดยคอลัมน์ที่มีความกว้างภายในน้อย ความหนาของฟิล์มมาก และความยาวของคอลัมน์มาก จะให้ผลการแยก (Resolution) ที่ดีกว่า

(2) พารามิเตอร์ของเครื่องมือที่ส่งผลต่อการแยกสาร

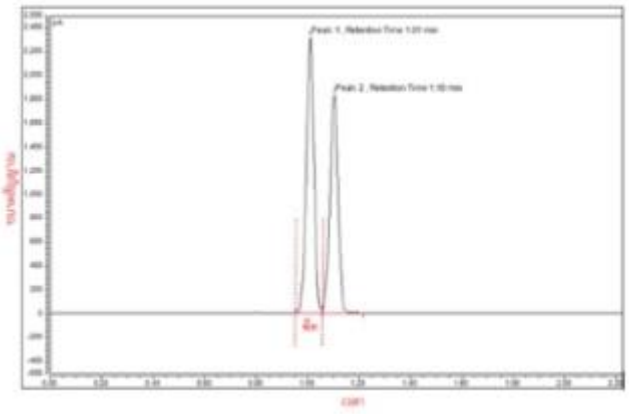
ขนาดตัวอย่าง (Sample size) หากขนาดของตัวอย่างมากเกินพอจะทำให้การล้นของตัวอย่างภายในคอลัมน์ (Overload) ทำให้ไม่สามารถแยกสารผสมออกจากกันได้

อุณหภูมิของตู้อบคอลัมน์ (Column Oven Temperature) โดยอาศัยหลักการอุณหภูมิต่ำสารออกช้าและอุณภูมิสูงสารออกเร็ว แต่ในบางครั้งหากใช้อุณหภูมิต่ำตลอดช่วงการวิเคราะห์ในกรณีที่มีสารผสมหลากหลายจะทำให้สารที่มีมวลโมเลกุลสูงถูกชะออกจากคอลัมน์แบบช้าๆ ทำให้ยากต่อการประมวลผล ดังนั้นการปรับอุณหภูมิของตู้อบคอลัมน์จึงส่งผลต่อการแยกสารผสมอย่างเห็นได้ชัด ดังตัวอย่าง

(3) อัตราเร็วหรือความดันของแก๊สพา (Carrier gas flow rate or pressure) แก๊สพาทำหน้าที่ในการพาไอระเหยของสารผสมผ่านเข้าสู่คอลัมน์เพื่อให้เกิดการแยกซึ่งหากความเร็วหรือความดันที่ใช้สูงมากเกินพอก็จะทำให้การแยกเกิดขึ้นได้ไม่ดีเช่นเดียวกัน

3) การวิเคราะห์ผลด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

การบันทึกผลของการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีจะบันทึกในรูปแบบของ โครมาโทแกรม ซึ่งประกอบด้วยเวลาและขนาดสัญญาณ เรียกขนาดสัญญาณที่พบ ณ เวลาช่วงหนึ่งๆว่า พีค (Peak)



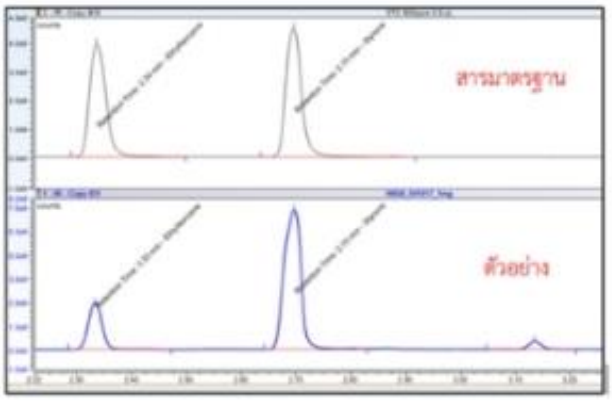
ภาพที่ 8 ตัวอย่างโครมาโทแกรม

(ที่มา https://www.scispec.co.th/)

สามารถวิเคราะห์ผลเชิงคุณภาพ (Qualitative analysis) และเชิงปริมาณ (Quantitative analysis) ได้ดังนี้

<u>การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ</u>

โดยใช้เวลาที่สารถูกชะออกจากคอลัมน์สู่ตัวตรวจวัด (Retention Time, RT) เทียบกับเวลาของสารมาตรฐานเพื่อระบุชนิดของสาร



ภาพที่ 9 รูปแสดงโครมาโทแกรมเปรียบเทียบของสารมาตรฐาน และสารผสมในตัวอย่าง

(ที่มา https://www.scispec.co.th/)

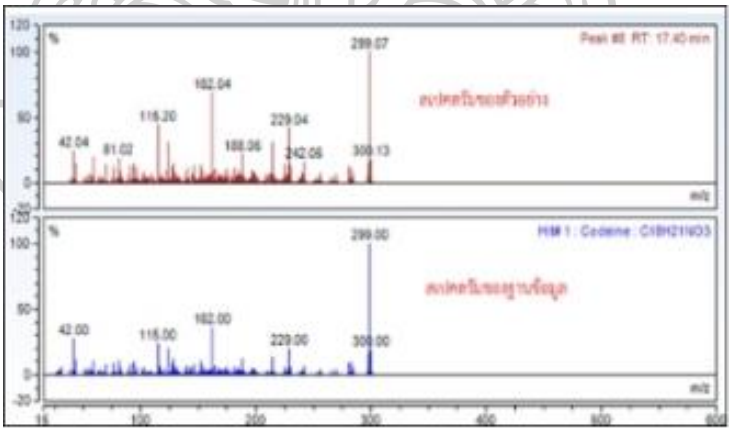
การวิเคราะห์เชิงปริมาณ

โดยขนาดสัญญาณ (พื้นที่ใต้พีค (Peak area) หรือ ความสูงของพีค (Peak height) ของสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ มาสร้างความสัมพันธ์เชิงเส้นเพื่อหาความเข้มข้นของสารในตัวอย่าง

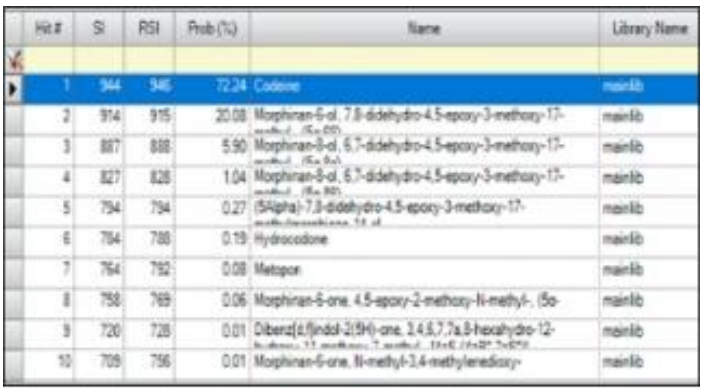
จะเห็นได้ว่าการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีจำเป็นจะต้องใช้สารมาตรฐานมาเปรียบเทียบเวลา (Retention Time) ในการระบุชนิดของสาร หรือการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ หากไม่มีสารมาตรฐานก็จะไม่สามารถทำการวิเคราะห์ได้ ดังนั้นการเลือกใช้ตัวตรวจวัดชนิด แมสสเปคโตรมิเตอร์ (Mass Spectrometer) จึงได้รับความนิยมมากยิ่งขึ้นเนื่องจากไม่จำเป็นจะต้องมีสารมาตรฐานในขั้นแรกของการเริ่มวิเคราะห์เนื่องจากมีฐานข้อมูลของสารให้สามารถเปรียบเทียบได้นั่นเอง

2.7.2 เทคนิคแมสสเปคโตรมิเตอร์

เป็นเทคนิคที่ใช้ในการวัด มวลต่อประจุ (m/z) ของสารประกอบ บันทึกในรูปแบบ สเปคตรัม (Spectrum) ซึ่งเทคนิคแมสสเปคโตรมิเตอร์ที่ใช้งานร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีสามารถใช้สเปคตรัมของสารประกอบที่วิเคราะห์ได้มาเปรียบเทียบความเหมือน (Match) กับสเปคตรัมที่มีอยู่ในฐานข้อมูลเพื่อทำนายชนิดและความน่าจะเป็นของสารได้ จึงทำให้สามารถวิเคราะห์เชิงคุณภาพได้โดยไม่ต้องใช้สารมาตรฐานในการเปรียบเทียบ



ภาพที่ 10 รูปแสดงการเปรียบเทียบสเปคตรัมของตัวอย่างกับฐานข้อมูล
(ที่มา https://www.scispec.co.th/)



Hit #	SI	RSI	Prob (%)	Name	Library Name
1	944	946	72.24	Codeine	mainlib
2	914	915	20.08	Morphinan-6-ol, 7,8-didehydro-4,5-epoxy-3-methoxy-17-	mainlib
3	887	888	5.90	Morphinan-6-ol, 6,7-didehydro-4,5-epoxy-3-methoxy-17-	mainlib
4	827	828	1.04	Morphinan-6-ol, 6,7-didehydro-4,5-epoxy-3-methoxy-17-	mainlib
5	794	794	0.27	(5Alpha)-7,8-didehydro-4,5-epoxy-3-methoxy-17-	mainlib
6	784	788	0.19	Hydrocodone	mainlib
7	764	792	0.08	Metopon	mainlib
8	758	769	0.06	Morphinan-6-one, 4,5-epoxy-2-methoxy-N-methyl-, (5α-	mainlib
9	720	728	0.01	Dibenz[a,f]indol-2(9H)-one, 3,4,6,7,7a,8-hexahydro-12-	mainlib
10	709	756	0.01	Morphinan-6-one, N-methyl-3,4-methylenedioxy-	mainlib

ภาพที่ 11 รูปแสดงผลการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลและความน่าจะเป็น

(ที่มา https://www.scispec.co.th/)

ส่วนประกอบของเครื่องแมสสเปคโตรมิเตอร์

1) ส่วนที่ทำให้สารเกิดเป็นไอออน (Ion source)

สำหรับ GC-MS จะมี ion source 2 ชนิดคือ Electron Impact (EI) และ Chemical Impact (CI) โดยชนิด EI จะได้รับความนิยมมากเนื่องจากเป็นวิธีเดียวกันกับการสร้างฐานข้อมูล ดังนั้นหากต้องการใช้ผลการวิเคราะห์เพื่อเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลจึงจำเป็นต้องเลือกใช้ EI ในการทำให้สารแตกตัวเป็นไอออน และในส่วน CI เป็นเป็นทำให้สารแตกตัวเป็นไอออนด้วยพลังงานที่ต่ำ (Soft ionization) เพื่อให้ได้สเปคตรัมที่ใช้ในการยืนยันมวลโมเลกุลของสารที่สนใจ นิยมใช้ร่วมกับเทคนิคการวิเคราะห์อื่นๆ เพื่อยืนยันโครงสร้างของสารที่เกิดจากการสังเคราะห์ เป็นต้น

2) ส่วนคัดแยกมวลต่อประจุ (Mass analyzer)

ทั่วไปจะมี 2 ชนิดคือ ชนิดแยกชัดต่ำ (Low resolution mass spectrometer; LRMS) และ ชนิดแยกชัดสูง (High resolution mass spectrometer; HRMS) ซึ่งแตกต่างกันที่ความละเอียดในการแยกค่ามวลต่อประจุ โดยชนิด LRMS จะแยกค่ามวลต่อประจุได้เป็นจำนวนเต็ม ซึ่งเป็นน้ำหนักที่ใกล้เคียงกับน้ำหนักเชิงอะตอมของธาตุ ดังนั้นการใช้ LRMS ในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพจึงต้องใช้การเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล ส่วนชนิด HRMS จะสามารถแยกค่ามวลต่อประจุได้ละเอียดถึงทศนิยมซึ่งเป็นน้ำหนักเชิงอะตอมของธาตุ ทำให้ HRMS สามารถยืนยันโครงสร้างได้ถูกต้องโดยไม่จำเป็นต้องเทียบกับฐานข้อมูล

(1) ส่วนคัดแยกมวลต่อประจุ (Mass analyzer) ชนิดแยกชัดต่ำ (Low resolution mass spectrometer; LRMS) ได้แก่

Single Quadrupole ส่วนในการแยกมวล (Mass Analyzer) เป็นแท่งโลหะสี่แท่งวางตามแนวเส้นทแยงมุม (Quadrupole) จำนวน 1 ชุด ทำหน้าที่คัดมวลที่ต้องการวิเคราะห์ให้สามารถผ่าน

ไปได้จนถึงตัวตรวจวัดเพื่อขยายสัญญาณและบันทึกผล โหมดในการวิเคราะห์สามารถเลือกได้ทั้งแบบตลอดช่วงมวล (Full scan) และแบบเลือกจำเพาะเจาะจง (Selected Ion Monitoring, SIM)

Triple Quadrupole ส่วนในการแยกมวล (Mass Analyzer) เป็นแท่งโลหะสี่แท่งวางตามแนวเส้นทแยงมุม (Quadrupole) จำนวน 3 ชุด โดย Quadrupole ชุดที่ 1 และ ชุดที่ 3 ทำหน้าที่แยกประจุ ส่วน Quadrupole ชุดที่ 2 ทำหน้าที่ในการแตก fragment สารตัวอย่างอีกครั้ง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ โหมดในการวิเคราะห์สามารถเลือกได้ทั้งแบบตลอดช่วงมวล (Full scan) แบบเลือกจำเพาะเจาะจง (Selected Ion Monitoring, SIM) และ MS/MS เพื่อเพิ่มความจำเพาะเจาะจงได้ (Selected Reaction Monitoring, SRM)

(2) ส่วนคัดแยกมวลต่อประจุ (Mass analyzer) ชนิดแยกชัดสูง (High resolution mass spectrometer; HRMS) ได้แก่

Orbitrap ส่วนในการแยกมวล (Mass Analyzer) เป็นชนิด Orbitrap ซึ่งเป็นเทคโนโลยีใหม่ล่าสุด ทำงานโดยให้ไอออนของสารตัวอย่างวิ่งรอบอิเล็กโทรดของ Orbitrap ที่มีการจ่ายกระแสไฟฟ้าและสนามแม่เหล็ก ไอออนที่มีขนาดมวลหรือประจุที่ต่างกัน จะเคลื่อนที่ด้วยความเร็วและโมเมนตัมเชิงมุมที่ต่างกัน จากนั้นจะถูกบันทึกผลในรูปแบบของ Induction Decay แล้วแก้สมการด้วย Fourier Transform เพื่อบันทึกออกมาเป็นค่ามวลต่อประจุ สามารถเข้าถึงความละเอียดขนาด 120,000 FWHM (ซึ่งสามารถทำให้สูงขึ้นได้อีก ด้วยการเพิ่มของสนามแม่เหล็กและระยะเวลาของไซโคลตรอน) ทำให้สามารถแก้ไขปัญหางานวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีตัวรบกวน โดยสามารถแยกแยะไอออนที่มีขนาดมวลแตกต่างกัน แม้ในทศนิยมตำแหน่งที่ห้าได้

Magnetic Sector ส่วนในการแยกมวล (Mass Analyzer) ทำหน้าที่แยกมวลโดยการเร่งให้ประจุผ่านสนามไฟฟ้าและสนามแม่เหล็ก ไอออนที่มีขนาดมวลหรือประจุที่ต่างกันเมื่อผ่านสนามแม่เหล็กแล้วจะเกิดการหักเหที่แตกต่างกันทำให้สามารถแยกมวลต่อประจุได้แบบความละเอียดสูง

Time-of-Flight ส่วนในการแยกมวล (Mass Analyzer) สามารถแยกมวลได้โดยเร่งให้ประจุเคลื่อนที่ไปตามระยะทางด้วยความต่างศักย์ไฟฟ้า ประจุที่มีมวลมาจะใช้เวลาในการเดินทางสู่ตัวตรวจวัดได้ช้ากว่า ยิ่งระยะทางจากจุดเริ่มต้นจนจึงตัวตรวจวัดยาวมากขึ้นก็จะทำให้การแยกมวลเกิดขึ้นได้ดีขึ้นเช่นเดียวกัน

3) ส่วนตรวจวัดสัญญาณ (Detector) (Scispec, 2564)

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในส่วนนี้ผู้วิจัยขอนำเสนองานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ทั้งที่ตีพิมพ์ในประเทศไทย และงานวิจัยต่างประเทศ โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

กาบแก้ว สุคนธสรรพ์ และคณะ (Sukontason et al., 2003) ได้ทำการศึกษาเรื่อง Larval morphology of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) using scanning electron microscopy โดยศึกษาสัณฐานวิทยาของตัวอ่อนของ *Chrysomya megacephala* (Fabricius) แสดงโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) พบว่ามีความคล้ายคลึงกันอย่างมากกับ *Chrysomya rufifacies* (Macquart) ซึ่งเป็นสปีชีส์ที่มักพบพร้อมๆ กันบริเวณศพในประเทศไทย โดยตัวอ่อนระยะที่ 1 แยกได้ยาก แต่ลักษณะที่มีขนบริเวณลำตัวของ *C. rufifacies* ช่วยให้แยกตัวอ่อนระยะที่ 2 และ 3ได้ง่าย ผลการศึกษานี้น่าจะช่วยในการแยก *C. megacephala* จากตัวอ่อนอื่นๆ ที่พบบริเวณซากศพมนุษย์ที่เน่าในประเทศไทย

คม สุคนธสรรพ์ และคณะ (Sukontason et al., 2008) ได้ทำการศึกษาเรื่อง Morphology and developmental rate of blowflies *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya rufifacies* in Thailand: Application in forensic entomology โดยศึกษาสัณฐานวิทยาของตัวอ่อน และการพัฒนาของ *Chrysomya megacephala* (F.) และ *Chrysomya rufifacies* (Macquart) ซึ่งเป็นแมลงหัวเขียวที่มีความสำคัญทางนิติวิทยาศาสตร์ที่สุดสองชนิดในประเทศไทย ซึ่งเปรียบเทียบสัณฐานวิทยาในระยะตัวอ่อนทั้ง 3 ระยะ ของทั้งสองสปีชีส์ โดยวิเคราะห์ข้อมูลในจังหวัดเชียงใหม่ ภาคเหนือของประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2543-2544 ที่อุณหภูมิ และช่วงแสงตามธรรมชาติ ผลการวิจัยระบุว่าตัวอ่อนของ *C. megacephala* มีการพัฒนาเร็วขึ้นในเดือนเมษายน ระยะตัวอ่อนไปถึงระยะดักแด้ใช้เวลา 84 ชั่วโมงที่อุณหภูมิเฉลี่ย 31.4 องศาเซลเซียส และตัวอ่อนเติบโตช้าลงในฤดูฝนและฤดูหนาว ในทำนองเดียวกัน ตัวอ่อน *C. rufifacies* มีการพัฒนาอย่างรวดเร็วในฤดูร้อน โดยมีระยะตัวอ่อนไปถึงระยะดักแด้ 96 ชั่วโมงในเดือนมิถุนายน (อุณหภูมิเฉลี่ย 27.4 องศาเซลเซียส) การวิเคราะห์ความยาวลำตัวเฉลี่ยของตัวอ่อน *C. megacephala* และ *C. rufifacies* ในฤดูกาลต่างๆ พบว่าทั้งสองชนิดพัฒนาอย่างรวดเร็วในฤดูร้อน ข้อมูลนี้อาจเป็นประโยชน์สำหรับการประมาณช่วงเวลาหลังการตายในการสืบสวนทางนิติวิทยาศาสตร์

ธีรกมล เพ็งสกุล (ธีรกมล, 2551) ได้ทำการศึกษาเรื่อง การจำแนกหนอนแมลงวันที่พบบนศพโดยอาศัยข้อมูลทางชีววิทยาและอณูวิทยา ระบุว่าหนอนแมลงวันบนศพเป็นข้อมูลที่สำคัญทางนิติเวชศาสตร์ในการประมาณเวลาตาย และบางกรณียังสามารถใช้เป็นหลักฐานเมื่อศพถูกเคลื่อนย้ายจากพื้นที่ซึ่งมีแมลงวันบางชนิดอาศัยอยู่ไปยังแหล่งอื่น ด้วยเหตุนี้จึงมีความจำเป็นที่ต้องจำแนกชนิดของหนอนแมลงวันให้ได้ การศึกษานี้ได้ทำการเก็บหนอนแมลงจากศพ โดยเป็นศพที่ส่งมาจากจังหวัดต่างๆ การศึกษาทางสัณฐานวิทยาของหนอนแมลงวัน แมลงวันตัวเต็มวัย และการศึกษาทางอณูวิทยาสามารถจำแนกหนอนแมลงวันได้ 6 ชนิด ผลการศึกษาพบว่ากราฟการเจริญเติบโตมีความแตกต่างกันระหว่างการเจริญเติบโตของหนอนแมลงวันหัวเขียว และหนอนแมลงวันบ้าน การเปรียบเทียบลำดับนิ

วคลีโอไทด์ของยีน cytochrome oxidase ของแมลงวันกับข้อมูลในฐานข้อมูล GenBank พบว่ามีความแตกต่างประมาณ 1%

นพวรรณ บุญชู (Bunchu et al., 2012) ได้ทำการศึกษาเรื่อง Morphology and Developmental Rate of the Blow Fly, *Hemipyrellia ligurriens* (Diptera: Calliphoridae): Forensic Entomology Applications ในการศึกษานี้พิจารณาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการพัฒนาของ *H. ligurriens* ที่เลี้ยงภายใต้สภาพแวดล้อมตามธรรมชาติในจังหวัดพิษณุโลก ภาคเหนือของประเทศไทย ลักษณะทางสัณฐานวิทยาสังเกตด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง เพื่อระบุระยะ และเวลาในการพัฒนาของ *H. ligurriens* โดยสมบูรณ์; จากไข่ ตัวอ่อน ดักแด้ จนถึงตัวเต็มวัย ใช้เวลา 270.71 ชั่วโมง ต่อ 1 รอบการพัฒนา ผลจากการศึกษานี้อาจเป็นประโยชน์ไม่เพียงแต่สำหรับการประยุกต์ในการสืบสวนทางนิติวิทยาศาสตร์ แต่ยังรวมถึงการศึกษาทางชีววิทยาในอนาคต

ศริญญา จารย์ลี (ศริญญา, 2551) ได้ทำการศึกษาเรื่อง การประมาณระยะเวลาหลังการตายจากตัวอ่อนของแมลงที่มีการตรวจพบจากศพ มีจุดประสงค์เพื่อความสัมพันธ์ของการประมาณระยะเวลาหลังการตายของศพจากหลักฐานทางแมลงที่ตรวจพบกับการประมาณระยะเวลาหลังการตายของศพตามความเห็นของแพทย์ทางนิติเวชศาสตร์ ซึ่งการวิจัยนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างแมลงจากศพที่ถูกส่งมาชันสูตรพลิกศพ ณ สถาบันนิติเวชวิทยา โรงพยาบาลตำรวจ โดยนำแมลงมาเลี้ยงและสังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงทุกวัน เพื่อศึกษาระยะเวลาการเจริญเติบโตของแมลง ทำการเก็บรักษาตัวอย่างแมลงที่ตรวจพบจากศพเพื่อนำมาศึกษาจำแนกชนิดของแมลง ผลการวิจัยพบว่า ระยะเวลาการเจริญเติบโตของแมลงวันที่ตรวจพบจากศพสามารถนำมาใช้ประมาณระยะเวลาหลังการตายได้ และข้อมูลนี้มีความสัมพันธ์กับการประมาณระยะเวลาหลังการตายตามความเห็นของแพทย์นิติเวช โดยมีความสัมพันธ์กันในระดับสูงที่ r=0.902 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01

Anika Sharma และคณะ (Anika Sharma, 2020) ได้ทำการศึกษาเรื่อง Cuticular hydrocarbons as a tool for determining the age of *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae) larvae โดยศึกษาตัวอ่อนระยะที่ 1, 2, 3ที่ยังกินอาหาร รวมทั้งตัวอ่อนระยะที่ 3 ที่หยุดกินอาหาร การวิเคราะห์ไฮโดรคาร์บอนสกัดโดยใช้แก๊สโครมาโตกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี โดยมีจุดประสงค์เพื่อตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงรายละเอียดทางเคมีของตัวอ่อนแต่ละระยะ มีการระบุสารประกอบทั้งหมด 23 ชนิด โดยส่วนใหญ่เป็นแอลเคน (65%) ที่มีความยาวโซ่คาร์บอน 9–33, แอลคีน (18%) และแอลเคนโซ่กิ่ง (17%) ไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดยกเว้นเพนทาดีเคน (C15), เฮกซาเดเคน (C16) และโนนาโคเซน (C29) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในการแสดงออกของพวกมันตลอดการพัฒนาตัวอ่อน สำหรับตัวอ่อนระยะที่ 1 โนเนน (nonane) เป็นสารประกอบที่มีมากที่สุด (17% ของปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมด) ไฮโดรคาร์บอนที่โดดเด่นในตัวอ่อนระยะที่ 2 ได้แก่ ไตรโคเซน (tricosane) 11% และเพนทาโคเซน (pentacosane) 10% โดยเฉลี่ยแล้ว มีการเปลี่ยนแปลง

จากไฮโดรคาร์บอนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำไปสูง เมื่อตัวอ่อนมีอายุมากขึ้น ผลลัพธ์เหล่านี้บ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงของรายละเอียดไฮโดรคาร์บอนตามอายุของตัวอ่อน

Hannah E. Moore และคณะ (Moore et al., 2014) ได้ทำการศึกษาเรื่อง Identifying 1st instar larvae for three forensically important blowfly species using “fingerprint” cuticular hydrocarbon analysis โดยทำการวิเคราะห์ไฮโดรคาร์บอนบนผนังลำตัวของตัวอ่อนระยะที่ 1 ในแมลงวันที่มีความสำคัญทางนิติวิทยาศาสตร์ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Lucilia sericata, Calliphora vicina* และ *Calliphora vomitoria* โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทรกราฟี-แมสสเปคโทรมิเตอร์ (GC–MS) และใช้การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA) พบว่าแต่ละสายพันธุ์มีรายละเอียดของไฮโดรคาร์บอนเสมือนลายนิ้วมือที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน ทำให้สามารถระบุตัวอ่อนอายุ 1 วันได้อย่างแม่นยำ ซึ่งเป็นเรื่องยากที่จะระบุโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ด้วยเหตุนี้ เทคนิค GC–MS สามารถลดเวลาในกระบวนการระบุสายพันธุ์ได้ ไม่เพียงแต่สายพันธุ์ที่มีความสำคัญทางนิติวิทยาศาสตร์เท่านั้น แต่ยังรวมถึงตัวอย่างทางกีฏวิทยาอื่นๆ ที่ยากต่อการระบุโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

Hannah E. Moore และคณะ (Moore et al., 2016) ได้ทำการศึกษาเรื่อง Age estimation of Calliphora (Diptera: Calliphoridae) larvae using cuticular hydrocarbon analysis and Artifificial Neural Networks โดยศึกษาในแมลงวัน *Calliphora vicina* และ *Calliphora vomitoria* วิเคราะห์ไฮโดรคาร์บอนโดยใช้แก๊สโครมาโตกราฟี–แมสสเปกโตรเมทรี (GC–MS) โดยมีจุดประสงค์เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงรายละเอียดทางเคมีเพื่อกำหนดอายุตัวอ่อน ซึ่งระบุไฮโดรคาร์บอนแต่ละชนิดทุกวันตั้งแต่ตัวอ่อนอายุ 1 วันจนถึงระยะดักแด้ ผลลัพธ์แสดงให้เห็นการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่สำคัญที่เกิดขึ้นตั้งแต่ตัวอ่อนระยะที่ 1ไปจนถึงตัวอ่อนระยะที่ 3 หลังหยุดกินอาหาร ซึ่งการวิเคราะห์องค์ประกอบหลักและโครงข่ายประสาทเทียม ตัวอย่างถูกจัดกลุ่มและจำแนกประเภท เพื่อให้สามารถกำหนดอายุตัวอ่อนได้ ผลจากการศึกษานี้ความแม่นยำที่แย่ที่สุด 87% ซึ่งบ่งชี้ว่าไฮโดรคาร์บอนบนผิวหนังมีศักยภาพสูงสำหรับใช้บ่งชี้อายุ

Victoria Bernhardt และคณะ (Bernhardt et al., 2017) ได้ทำการศึกษาเรื่อง Estimating the age of the adult stages of the blow flies *Lucilia sericata* and *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae) by means of the cuticular hydrocarbon n-pentacosane โดยตรวจสอบ CHC n-pentacosane (nC25) ที่ขาของแมลงวันตัวเต็มวัย *Lucilia sericata* และ *Calliphora vicina* ด้วยแก๊สโครมาโตกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี โดยแมลงวันเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (17 °C ± 2 °C) และวัฏจักรแสง 12:12 ชั่วโมง ตั้งแต่วันที่ 1 ถึงวันที่ 20 พบว่าปริมาณของ nC25 ใน *C. vicina* เพิ่มขึ้นเชิงเส้น (R^2 = 0.949) ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างเพศ ในขณะที่ *L. sericata* เพิ่มขึ้นเชิงเส้นเหมือนกัน แต่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) ใน nC25

ระหว่างตัวผู้และตัวเมีย แม้ว่าปริมาณของ nC25 จะเพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรงสำหรับทั้งสองเพศ (เพศผู้: R^2 = 0.948; เพศเมีย: R^2 = 0.920) แต่ *L. sericata* เพศเมียพบ nC25 มากกว่าเพศผู้ การทดสอบ nC25 ดูเหมือนจะเป็นเครื่องมือที่ดีสำหรับการประมาณอายุของแมลงวันตัวเต็มวัย

Xiangyan Zhang และคณะ (Zhang et al., 2022) ได้ทำการศึกษาเรื่อง A Study of Cuticular Hydrocarbons of All Life Stages in *Sarcophaga peregrina* (Diptera: Sarcophagidae) โดยศึกษาจาก *Sarcophaga peregrina* ซึ่งมีความสำคัญทางการแพทย์และนิติวิทยาศาสตร์ วิธีดั้งเดิมในการอนุมานอายุขึ้นอยู่กับวงจรชีวิตของแมลงและการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา อย่างไรก็ตาม เมื่อตัวอ่อนเข้าสู่ระยะดักแด้และตัวเต็มวัยแล้ว การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาจะแทบไม่ปรากฏให้เห็น ดังนั้นจึงศึกษารายละเอียดไฮโดรคาร์บอนบนผนังลำตัวของ *S. peregrina* ในวงจรชีวิตทั้งหมดตั้งแต่ระยะตัวอ่อนถึงระยะตัวเต็มวัยโดย GC-MS พบสารประกอบหกสิบสามชนิดที่มีความยาวสายโซ่คาร์บอนตั้งแต่ 8 ถึง 36 ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็นสี่ประเภท ได้แก่ n-alkanes, branched alkanes, alkenes และที่ไม่รู้จัก เมื่อการพัฒนาเพิ่มขึ้น แอลเคนโซ่กิ่งก้านมีความโดดเด่น และไฮโดรคาร์บอนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงจะแปรผัน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง 2-methyl C19, DiMethyl C21, docosane (C22), and tricosane (C23) จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าองค์ประกอบของ CHC สามารถใช้กำหนดอายุของ *S. peregrina* และช่วยในการประเมินช่วงเวลาหลังการชันสูตรในทางนิติวิทยาศาสตร์

ZHU G. H. และคณะ (ZHU et al., 2006) ได้ทำการศึกษาเรื่อง Development changes of cuticular hydrocarbons in *Chrysomya rufifacies* larvae: potential for determining larval age โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลง Cuticular Hydrocarbons ในการพัฒนาตัวอ่อน *Chrysomya rufifacies* (Macquart) โดยใช้ Gas chromatography Flame-ionization Detector (GC-FID) และ Gas chromatography-Mass Spectrometry จากการศึกษาพบว่า ไฮโดรคาร์บอนส่วนใหญ่ที่ระบุได้ คือแอลเคนที่มีความยาวโซ่คาร์บอน 21–31 และแอลคีนอีกหกชนิด องค์ประกอบไฮโดรคาร์บอนของตัวอ่อนมีความสัมพันธ์กับอายุ ผลทางสถิติแสดงให้เห็นว่าอัตราส่วนพีคของ n-C29 หารด้วยพีคที่เลือกอีกแปดพีคเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญตามอายุ ความสัมพันธ์อายุสามารถจำลองได้โดยใช้ฟังก์ชันเอกซ์โปเนนเชียล หรือฟังก์ชันยกกำลัง โดยมีค่า R^2 ใกล้เคียงหรือ > 0.80 ผลลัพธ์เหล่านี้ชี้ให้เห็นว่าองค์ประกอบของไฮโดรคาร์บอนบนผนังลำตัวเป็นตัวบ่งชี้ที่มีประโยชน์สำหรับการกำหนดอายุของตัวอ่อน *C. rufifacies* โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับตัวอ่อนระยะที่ 3 หลังหยุดกินอาหาร ซึ่งยากที่จะแยกความแตกต่างทางสัณฐานวิทยา

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา และจำแนกอายุของหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* ด้วยวิธีวิเคราะห์สัณฐานวิทยาเทียบกับวิธีวิเคราะห์ไฮโดรคาร์บอนบนผนังลำตัว (cuticular hydrocarbon) โดยมีขั้นตอน และรายละเอียดในการดำเนินการวิจัยดังนี้

3.1 วัสดุที่ใช้ในการวิจัย

1. กรงเลี้ยงแมลงวันตัวเต็มวัย ขนาด 45x45x45 cm
2. กล่องพลาสติกสำหรับเลี้ยงตัวอ่อน ขนาด 22x35x20 cm
3. ภาชนะพลาสติกสำหรับเลี้ยงตัวอ่อน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 11 cm
4. โปรตีนผงเลี้ยงตัวเต็มวัย
5. น้ำตาลสำหรับเลี้ยงตัวเต็มวัย
6. ถ้วยใส่น้ำสำหรับตัวเต็มวัย
7. ตับหมู ใช้เป็นสื่อในการวางไข่ และเลี้ยงตัวอ่อน
8. ขี้เลื่อยเลี้ยงหนอน
9. กระดาษชำระ เพื่อเช็ดทำความสะอาด และวางรองตับหมู
10. เฮกเซน
11. ปากคีบ (forceps)
12. นาฬิกาจับเวลา
13. ถุงมือยาง
14. ขวดแก้วใส่สารตัวอย่าง
15. เวอร์เนียร์คาลิเปอร์ (Vernier Caliper)
16. ถุงซิปล็อคใส
17. สมุดบันทึก

3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1. เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี - แมสสเปกโตรมิเตอร์
2. คอมพิวเตอร์
3. ตู้เย็น
4. เครื่องชั่งสาร

3.3 ประชากรศึกษา

แมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* เลี้ยงในโรงเรือน

3.4 เก็บรวบรวมข้อมูลในการวิจัย

ในการศึกษาครั้งนี้ ผู้วิจัยดำเนินการทดลองจำนวน 10 ซ้ำ (n=10)

3.4.1 เลี้ยงแมลงวันหัวเขียวระยะตัวเต็มวัย คละเพศ วางจานแก้วซึ่งบรรจุน้ำ โปรตีนผงผสมกับน้ำตาล เพื่อเป็นอาหารของตัวเต็มวัย และตับหมูขนาด 50 g เพื่อให้แมลงวันหัวเขียววางไข่ โดยตับหมูวางไว้ในภาชนะพลาสติกที่วางด้วยกระดาษชำระชุบน้ำหมาดๆ เพื่อป้องกันไม่ให้ตับหมูแห้ง

3.4.2 เมื่อตัวเต็มวัยวางไข่แล้ว ไข่จะถูกแยกออกจำนวน 300-500 ฟองจากกรง และนำถ้วยตับซึ่งมีไข่ใส่ในกล่องพลาสติกซึ่งมีชั้นของขี้เลื่อย เพื่อทำการฟักไข่ออกเป็นหนอนวันที่ 1 บันทึกผล

3.4.3 สุ่มเก็บหนอนวันที่ 1, หนอนวันที่ 2 และหนอนวันที่ 3 โดยการใช้ปากคีบ จำนวน 50 ตัว/วัน บันทึกผล ส่วนหนอนที่เหลืออยู่ เลี้ยงให้เข้าสู่ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัยตามลำดับ บันทึกผล

3.4.4 แช่หนอนที่สุ่มเก็บในช่องแข็ง และวัดขนาดความยาวและความกว้างของหนอนแต่ละตัวโดยการใช้เวอร์เนียร์คาลิเปอร์ ครั้งละ 10 ตัว

3.4.5 นำหนอนใส่ในขวดใส่สารตัวอย่าง (GC vial) ขนาด 2 ml ที่มีเฮกเซน 2 cm ทิ้งไว้ 30 min. ในอุณหภูมิห้อง จากนั้นนำตัวอ่อนออกจากเฮกเซน และดึงเฮกเซนที่ใช้แช่ตัวหนอนไปยังคอลัมน์ซิลิกาเจล ในตอนท้ายคอลัมน์ถูกชะด้วยเฮกเซนอีกครั้ง สารสกัดที่ถูกชะรวบรวมในขวดใส่ตัวอย่างขนาด 2 ml ที่สะอาด และทำให้แห้งสนิทโดยการพ่นแก๊สไนโตรเจน ตัวอย่างทั้งหมดถูกเก็บไว้ที่ 4°C จนกว่าจะนำว่าวิเคราะห์

3.4.6 นำสารสกัดที่แห้งมาละลายใหม่ในเฮกเซน 30 µl โดยการวิเคราะห์ทางเคมีใช้ GC คู่กับ MS มีสภาวะของการทดลองดังนี้ ตั้งอัตราการไหลของฮีเลียมเข้าคอลัมน์ที่ 1 ml/min. ด้วยอุณหภูมิฉีดเข้าที่ 280°C ตั้งโปรแกรมอุณหภูมิเริ่มต้นที่ 50°C เป็นเวลา 2 min. จากนั้นเพิ่มเป็น 200°C ที่ 25°C/min. จากนั้นจาก 200°C ถึง 260°C ที่ 3°C/min. และสุดท้ายจาก 260°C เป็น 320°C ที่ 20°C/min. ซึ่งแต่ละครั้งใช้เวลา 2 min. ส่วนแมสสเปกโตรมิเตอร์มีแหล่งกำเนิดไอออนแบบอิเล็กตรอนไอออไนซ์ที่ 70 eV สแกนจาก 40 ถึง 500 amu ที่ 1.5 scans/s.

3.4.7 วิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นของกลุ่มตัวอย่าง ด้วยสถิติบรรยาย ได้แก่ ค่าเฉลี่ย ค่าต่ำสุด และค่าสูงสุด และวิเคราะห์ข้อมูล โดยทำการประมวลผลข้อมูลด้วยโปรแกรม SPSS

ภาพที่ 12 การเลี้ยง *C. megacephala* ตัวเต็มวัยในกรง ซึ่งบรรจุถ้วยใส่ตับหมูสด

ภาพที่ 13 ตับซึ่งมีไข่ *C. megacephala*

ภาพที่ 14 ถ้วยตับที่มีไข่ในกล่องพลาสติกซึ่งมีชั้นของขี้เลื่อย

ภาพที่ 15 วัดขนาดความกว้างของหนอนแต่ละตัวโดยการใช้เวอร์เนียร์คาลิเปอร์

ภาพที่ 16 วัดขนาดความยาวของหนอนแต่ละตัวโดยการใช้เวอร์เนียร์คาลิเปอร์

บทที่ 4

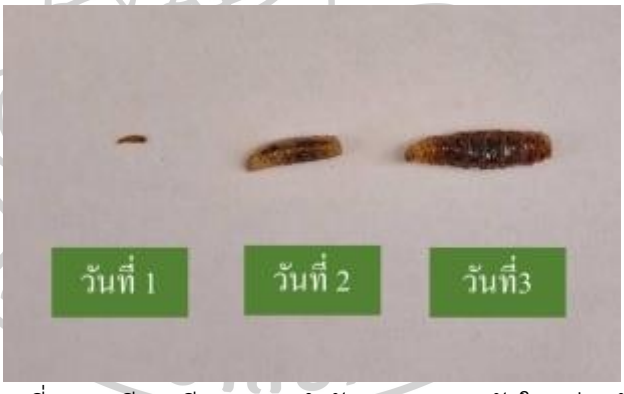
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

การศึกษาการประมาณอายุหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* จากสัณฐานวิทยา และการวิเคราะห์สารประกอบไฮโดรคาร์บอนบนผนังลำตัว ได้ผลการศึกษาดังนี้

4.1 การวิเคราะห์ข้อมูลการเจริญเติบโตของ *Chrysomya megacephala* โดยวัดจากวิธีทางสัณฐานวิทยา

เลี้ยง *C. megacephala* ระยะตัวเต็มวัย ที่อุณหภูมิ 30 ± 2 °C, ความชื้นสัมพัทธ์ ~70% เพื่อศึกษาช่วงเวลาพัฒนาการของแมลงวันหัวเขียวแต่ละระยะ ผู้วิจัยเก็บระยะไข่, หนอนวันที่ 1, หนอนวันที่ 2 และหนอนวันที่ 3 จำนวน 50 ตัวต่อวัน แบบ 10 ซ้ำ บันทึกช่วงเวลาพัฒนาการทุกวันที่เวลา 09.00 น.

เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของหนอนแมลงวันหัวเขียว ผู้วิจัยสุ่มเก็บและจำแนกหนอนออกเป็น 3 วันดังนี้ หนอนวันที่ 1, หนอนวันที่ 2 และหนอนวันที่ 3 ตามลำดับ แช่หนอนในช่องแข็งเพื่อหยุดชีวิต วัดความยาวและความกว้างของหนอน 10 ตัว/วัน บันทึกผล



ภาพที่ 17 เปรียบเทียบขนาดลำตัวหนอนแมลงวันในแต่ละวัน

การทดลอง เมื่อนำหนอนแมลงวันในแต่ละวันมาเปรียบเทียบ ในภาพที่ 17 พบว่า หนอนแมลงวันในวันที่ 1 วันที่ 2 และวันที่ 3 มีขนาดใหญ่ขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยประเมินจากความกว้าง และความยาวของลำตัวในหน่วยเป็นเซนติเมตร ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การเจริญเติบโตของหนอน *C. megacephala* แสดงค่าเฉลี่ย ค่าต่ำสุด (min) และค่าสูงสุด (max)

อายุหนอนแมลงวัน	ขนาดลำตัว (เซนติเมตร)							
	ความกว้าง				ความยาว			
	ค่าเฉลี่ย	S.D.	Min	Max	ค่าเฉลี่ย	S.D.	Min	Max
วันที่1	0.10	0.01	0.07	0.14	0.29	0.04	0.15	0.35
วันที่2	0.23	0.04	0.17	0.30	0.83	0.09	0.60	0.95
วันที่3	0.34	0.03	0.28	0.40	1.08	0.14	0.80	1.30

จากตารางที่ 1 พบว่า ในอายุของหนอนแมลงวันวันที่ 1 มีความกว้างเฉลี่ย เท่ากับ 0.10 cm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 0.01 โดยความกว้างที่ต่ำสุดเท่ากับ 0.07 cm และความกว้างที่สูงสุดเท่ากับ 0.14 cm และความยาวเฉลี่ย เท่ากับ 0.29 cm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 0.04 โดยความยาวที่ต่ำสุดเท่ากับ 0.15 cm และความยาวที่สูงสุดเท่ากับ 0.35 cm

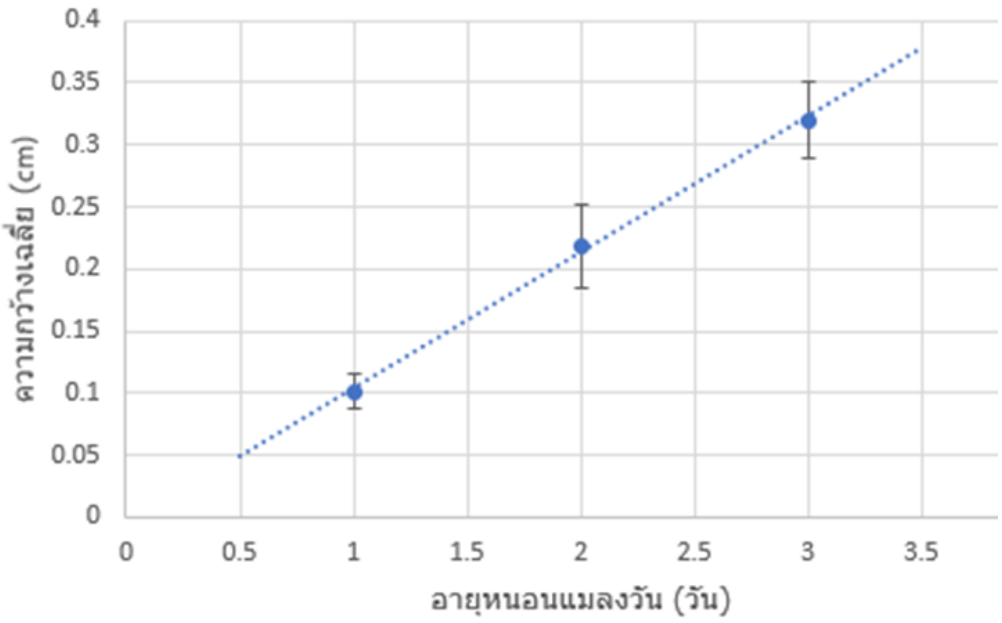
อายุของหนอนแมลงวันวันที่ 2 มีความกว้างเฉลี่ย เท่ากับ 0.23 cm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 0.04 โดยความกว้างที่ต่ำสุดเท่ากับ 0.17 cm และความกว้างที่สูงสุดเท่ากับ 0.30 cm และความยาวเฉลี่ย เท่ากับ 0.83 cm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 0.09 โดยความยาวที่ต่ำสุดเท่ากับ 0.60 cm และความยาวที่สูงสุดเท่ากับ 0.95 cm

อายุของหนอนแมลงวันวันที่ 3 มีความกว้างเฉลี่ย เท่ากับ 0.34 cm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 0.03 โดยความกว้างที่ต่ำสุดเท่ากับ 0.28 cm และความกว้างที่สูงสุดเท่ากับ 0.40 cm และความยาวเฉลี่ย เท่ากับ 1.08 cm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 0.14 โดยความยาวที่ต่ำสุดเท่ากับ 0.80 cm และความยาวที่สูงสุดเท่ากับ 1.30 cm

แสดงให้เห็นว่าความกว้าง และความยาวเฉลี่ยของหนอนแมลงวันแปรตามการเจริญเติบโตของหนอนแต่ละวัน

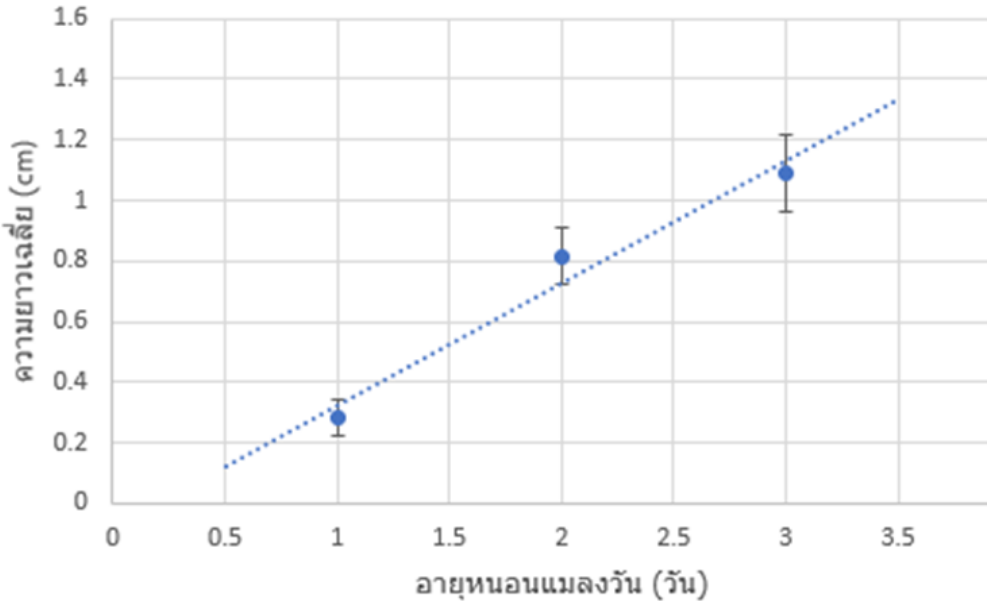
4.2 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างอายุของหนอนแมลงวัน และขนาดความกว้างและขนาดความยาวลำตัว โดยการหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพียร์สัน และสร้างสมการพยากรณ์อายุหนอนแมลงวันจากขนาดลำตัว โดยใช้การวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นพหุคูณ (Multiple Linear Regression)

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างอายุของหนอนแมลงวัน และขนาดความกว้างลำตัวเฉลี่ย (n=10) เมื่อสร้างกราฟ ดังภาพที่ 18 พบว่า อายุมีความสัมพันธ์กับขนาดความกว้างของหนอนแมลงวันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 (r = 0.991, P-value <0.001) ซึ่งมีความสัมพันธ์กันมาก และในทิศทางเดียวกัน กล่าวคืออายุที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ขนาดความกว้างของหนอนแมลงวันเพิ่มขึ้นเช่นกัน



ภาพที่ 18 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอายุของหนอนแมลงวัน (วัน) และขนาดความกว้างลำตัวเฉลี่ย (cm) ± ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างอายุของหนอนแมลงวัน และขนาดความยาวลำตัวเฉลี่ย (n=10) เมื่อสร้างกราฟ แสดงดังภาพที่ 19 พบว่า อายุมีความสัมพันธ์กับขนาดความยาวของหนอนแมลงวันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 (r = 0.975, P-value <0.001) ซึ่งมีความสัมพันธ์กันมาก และในทิศทางเดียวกัน กล่าวคืออายุที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ขนาดความยาวของหนอนแมลงวันเพิ่มขึ้นเช่นกัน



ภาพที่ 19 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอายุของหนอนแมลงวัน (วัน)
และขนาดความยาวลำตัวเฉลี่ย (cm) ± ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

การศึกษาปัจจัยที่สามารถร่วมกันทำนายอายุของหนอนแมลงวันหัวเขียว ดังตารางที่ 2 พบว่า ตัวแปรความกว้าง และความยาวขนาดลำตัว ร่วมกันทำนายอายุของหนอนแมลงวันหัวเขียวได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p value < 0.001) ซึ่งตัวแปรทั้งสองสามารถอธิบายการผันแปรอายุได้ร้อยละ 93.9 (R^2 = 0.939)

สามารถเขียนสมการพยากรณ์ได้ดังต่อไปนี้

(อายุ) = 0.279 + 4.328 (ความกว้าง) + 1.043 (ความยาว)

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณ ในการพยากรณ์อายุของหนอน *C. megacephala*

ปัจจัย	b	Beta	t-value	p value
ความกว้าง	4.328	0.557	7.286	<0.001
ความยาว	1.043	0.436	5.709	<0.001
ค่าคงที่ (Constant)	0.279		4.354	<0.001
R = 0.969	R^2 = 0.939	F = 435.809	p value <0.001	

ตัวอย่างการพยากรณ์ค่าที่ได้จากหนอน *C. megacephala* วันที่ 1, 2 และ3 ตามลำดับ

1. เมื่อหนอนมีความยาวเท่ากับ 0.3 cm. ความกว้างเท่ากับ 0.1 cm. อายุโดยประมาณ จะเป็น

จากสมการพยากรณ์ อายุ = 0.279 + 4.328 (ความกว้าง) + 1.043 (ความยาว)

= 0.279 + 4.328 (0.1) + 1.043 (0.3)

= 1.025

ดังนั้น อายุโดยประมาณของหนอน มีค่าเท่ากับ 1 วัน

2. เมื่อหนอนมีความยาวเท่ากับ 0.85 cm. ความกว้างเท่ากับ 0.2 cm. อายุโดยประมาณ จะเป็น

จากสมการพยากรณ์ อายุ = 0.279 + 4.328 (ความกว้าง) + 1.043 (ความยาว)

= 0.279 + 4.328 (0.2) + 1.043 (0.85)

= 2.097

ดังนั้น อายุโดยประมาณของหนอน มีค่าเท่ากับ 2 วัน

3. เมื่อหนอนมีความยาวเท่ากับ 1.1 cm. ความกว้างเท่ากับ 0.4 cm. อายุโดยประมาณ จะเป็น

จากสมการพยากรณ์ อายุ = 0.279 + 4.328 (ความกว้าง) + 1.043 (ความยาว)

= 0.279 + 4.328 (0.4) + 1.043 (1.1)

= 3.157

ดังนั้น อายุโดยประมาณของหนอน มีค่าเท่ากับ 3 วัน

ตารางที่ 3 ผลการพยากรณ์อายุ *C. megacephala* โดยคำนวณจากสมการพยากรณ์

ตัวที่	**ความกว้าง (cm)**	**ความยาว (cm)**	**อายุ (วัน)**
1	0.10	0.40	1.12 = ~ 1
2	0.10	0.35	1.08 = ~ 1
3	0.10	0.20	0.92 = ~ 1
4	0.10	0.40	1.12 = ~ 1
5	0.10	0.30	1.02 = ~ 1
6	0.08	0.50	1.15 = ~ 1
7	0.10	0.30	1.02 = ~ 1
8	0.10	0.35	1.08 = ~ 1
9	0.09	0.30	0.98 = ~ 1
10	0.11	0.45	1.22 = ~ 1
11	0.10	0.30	1.02 = ~ 1

12	0.10	0.30	1.02 = ~ 1
13	0.10	0.35	1.08 = ~ 1
14	0.08	0.25	0.88 = ~ 1
15	0.10	0.35	1.08 = ~ 1
16	0.08	0.35	0.99 = ~ 1
17	0.10	0.35	1.08 = ~ 1
18	0.12	0.30	1.11 = ~ 1
19	0.10	0.28	1.00 = 1
20	0.12	0.40	1.21 = ~ 1
21	0.25	1.00	2.40 = ~ 2
22	0.20	0.80	1.98 = ~ 2
23	0.25	0.80	2.20 = ~ 2
24	0.20	0.65	1.82 = ~ 2
25	0.20	0.95	2.14 = ~ 2
26	0.20	0.75	1.93 = ~ 2
27	0.22	0.75	2.01 = ~ 2
28	0.25	1.00	2.40 = ~ 2
29	0.20	0.85	2.03 = ~ 2
30	0.20	0.95	2.14 = ~ 2
31	0.25	0.90	2.30 = ~ 2
32	0.22	1.00	2.27 = ~ 2
33	0.20	0.90	2.08 = ~ 2
34	0.20	0.95	2.14 = ~ 2
35	0.20	1.00	2.19 = ~ 2
36	0.20	0.85	2.03 = ~ 2
37	0.20	0.90	2.08 = ~ 2
38	0.18	0.70	1.78 = ~ 2
39	0.20	0.80	1.98 = ~ 2
40	0.25	0.85	2.25 = ~ 2
41	0.45	1.10	3.37 = ~ 3

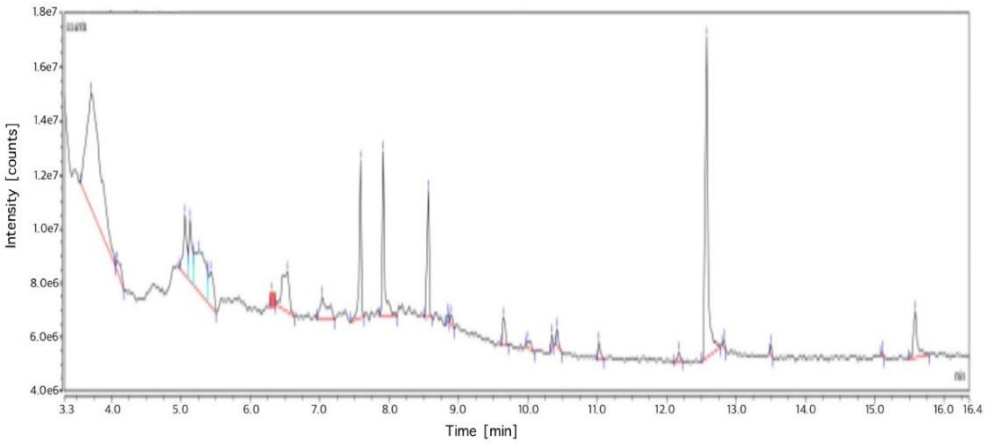
42	0.40	1.00	3.05 = ~ 3
43	0.35	1.20	3.05 = ~ 3
44	0.35	1.00	2.84 = ~ 3
45	0.40	1.25	3.31 = ~ 3
46	0.38	1.15	3.12 = ~ 3
47	0.30	1.15	2.78 = ~ 3
48	0.30	1.15	2.78 = ~ 3
49	0.35	1.05	2.89 = ~ 3
50	0.35	1.20	3.05 = ~ 3
51	0.35	1.20	3.05 = ~ 3
52	0.40	1.30	3.37 = ~ 3
53	0.35	1.20	3.05 = ~ 3
54	0.30	1.20	2.83 = ~ 3
55	0.35	1.30	3.15 = ~ 3
56	0.30	1.05	2.67 = ~ 3
57	0.35	1.25	3.10 = ~ 3
58	0.40	1.20	3.26 = ~ 3
59	0.40	1.25	3.31 = ~ 3
60	0.32	1.30	3.02 = ~ 3

จากตารางที่ 3 แสดงให้เห็นว่า เมื่อสุ่มหนอน *C. megacephala* โดยวัดความกว้าง และความยาวของหนอนแต่ละตัว คำนวณจากสมการพยากรณ์ (อายุ) = 0.279 + 4.328 (ความกว้าง) + 1.043 (ความยาว) กล่าวได้ว่าสมการพยากรณ์ดังกล่าวสามารถนำมาใช้พยากรณ์อายุ *C. megacephala* ได้ โดยความกว้าง และความยาวของหนอนแมลงวันแปรตามการเจริญเติบโตของหนอนแต่ละวัน

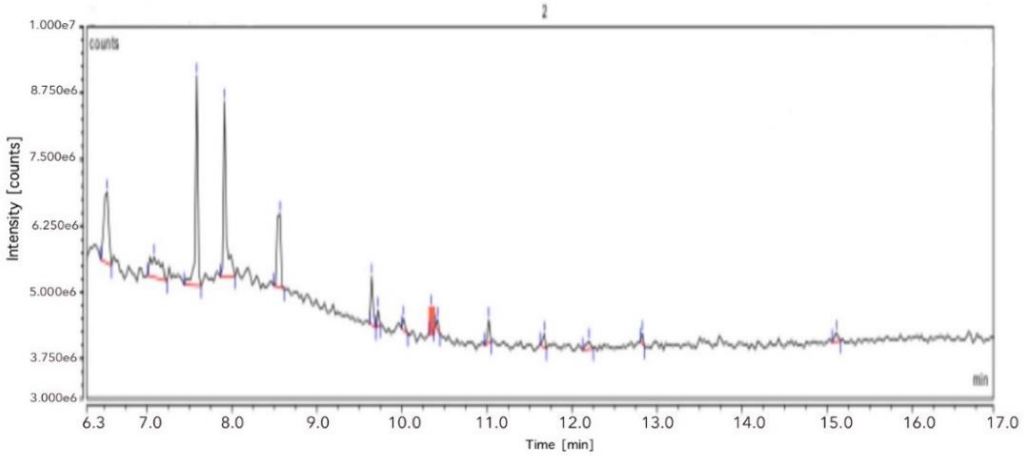
4.3 การจำแนกอายุของหนอน *Chrysomya megacephala* ด้วยวิธีวิเคราะห์ ไฮโดรคาร์บอนบนผนังลำตัว (cuticular hydrocarbon) โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทรกราฟี - แมสสเปคโทรมิเตอร์ (GC–MS)

เมื่อนำหนอนประมาณ 30 ตัว (วันที่ 1, วันที่ 2 และวันที่ 3) มาวิเคราะห์ชนิดของไฮโดรคาร์บอน โดยนำหนอนใส่ในขวดใส่สารตัวอย่าง (GC vial) ขนาด 2 ml ที่มีเฮกเซน 2 cm ทิ้งไว้

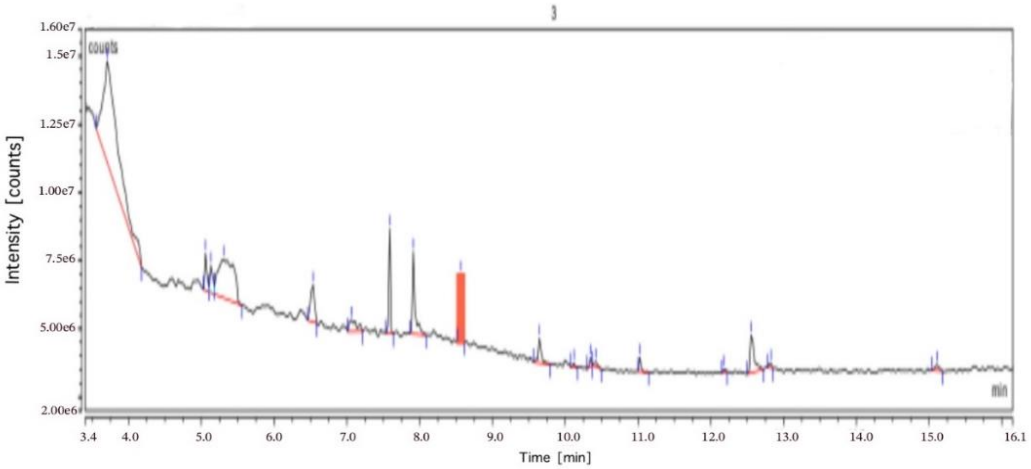
30 min. ในอุณหภูมิห้อง จากนั้นนำตัวอ่อนออกจากเฮกเซน และดึงเฮกเซนที่ใช้แช่หนอนไปยังคอลัมน์ซิลิกาเจล ในตอนท้ายคอลัมน์ถูกชะด้วยเฮกเซนอีกครั้ง สารสกัดที่ถูกชะรวบรวมในขวดใส่ตัวอย่างขนาด 2 ml ที่สะอาด และทำให้แห้งสนิทโดยการพ่นแก๊สไนโตรเจน นำสารสกัดที่แห้งมาละลายใหม่ในเฮกเซนปริมาตร 30 µl ก่อนการวิเคราะห์ GC-MS ในการทดลองตั้งค่าสภาวะในการวิเคราะห์แก๊สโครมาโทรกราฟี โดยตั้งอัตราการไหลของฮีเลียมเข้าคอลัมน์ที่ 1 ml/min. ด้วยอุณหภูมิฉีดเข้าที่ 280°C ตั้งโปรแกรมอุณหภูมิเริ่มต้นที่ 50°C เป็นเวลา 2 min. จากนั้นเพิ่มเป็น 200°C ที่ 25°C/min. จากนั้นจาก 200°C ถึง 260°C ที่ 3°C/min. และสุดท้ายจาก 260°C เป็น 320°C ที่ 20°C/min. ซึ่งแต่ละครั้งใช้เวลา 2 min. ส่วนแมสสเปกโตรมิเตอร์มีแหล่งกำเนิดไอออนแบบอิเล็กตรอนไอออไนซ์ที่ 70 eV สแกนจาก 40 ถึง 500 amu ที่ 1.5 scans/s. ผลของการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีจะบันทึกในรูปแบบของโครมาโทแกรม (Chromatogram) ดังภาพที่ 20, 21 และ 22 จากนั้นเปรียบเทียบเวลา (Retention Time, RT) ของชนิดไฮโดรคาร์บอนจากตัวอ่อนวันต่างๆ ร่วมกับแมสสเปคโตรมิเตอร์ กับ library (NIST และMain) มาตรฐาน ดังตารางที่ 4



ภาพที่ 20 ตัวอย่างโครมาโทแกรมที่พบในหนอนวันที่ 1



ภาพที่ 21 ตัวอย่างโครมาโทแกรมที่พบในหนอนวันที่ 2



ภาพที่ 22 ตัวอย่างโครมาโทแกรมที่พบในหนอนวันที่ 3

ตารางที่ 4 แสดงชนิดของไฮโดรคาร์บอนจากหนอนวันต่างๆของ *C. megacephala*

			Relative Abundance		
Peak No.	**RT (min)**	**Hydrocarbon**	**วันที่ 1**	**วันที่ 2**	**วันที่ 3**
1	5.857	10-Octadecenal	4.37	N.D	3.10
2	6.252	Octadecane	5.78	0.53	4.20
3	7.014	Octadecane	N.D	N.D	0.64
4	7.126	1-(3-Methylbutyl)-2,3,6-trimethylbenzene	N.D	N.D	2.10

5	7.320	1,5,5-Trimethyl-6-methylene-cyclohexene	N.D	0.63	N.D
6	7.799	Cyclopropane	N.D	0.38	N.D
7	8.612	Heptadecene	N.D	0.16	N.D
8	8.720	1H-3a,7-methanoazulene,octahydro-1,4,9,9-tetramethyl-	N.D	34.62	N.D
9	8.740	1H-Indene,2,3,3a,4,7,7a-hexahydro-2,2,4,4,7,7-hexamethyl-,trans	5.02	N.D	N.D
10	9.986	1,3-di-iso-propylnaphthalene	N.D	N.D	0.80
11	10.034	1,7-di-iso-propylnaphthalene	1.14	N.D	0.80
12	10.422	1,4-di-iso-propylnaphthalene	N.D	N.D	1.49
13	16.140	1-Eicosene	N.D	1.75	N.D
14	19.410	Dodecane	N.D	1.85	N.D
15	19.910	Dodecane	N.D	1.15	N.D
16	20.300	Z,Z,Z-4,6,9-Nonadecatriene	N.D	0.43	N.D
17	21.310	Z,Z,Z-4,6,9-Nonadecatriene	N.D	0.93	N.D

N.D = Not Detected

การวิเคราะห์ไฮโดรคาร์บอนบนผนังลำตัว เมื่อนำหนอนแมลงวันในแต่ละวันมามาวิเคราะห์ด้วย CG-MS ดังตารางที่ 4 พบว่า หนอนแมลงวันในวันที่ 1 วันที่ 2 และวันที่ 3 มีไฮโดรคาร์บอนที่พบ 17 พีค โดยพบ Octadecenal, Octadecane, Heptadecene, Eicosene และDodecane เช่นเดียวกันกับงานวิจัยของคุณMoore และคณะ (Moore et al., 2013; Moore et al., 2016) และคุณAnika (Anika Sharma, 2020) นอกจากนั้นพบว่ามีไฮโดรคาร์บอนที่จำเพาะในแต่ละวัน ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงไฮโดรคาร์บอนที่พบเฉพาะวันต่างๆของหนอน *C. megacephala*

วันที่	**Hydrocarbon**
1	1H-Indene,2,3,3a,4,7,7a-hexahydro-2,2,4,4,7,7-hexamethyl-,trans
2	1,5,5-Trimethyl-6-methylene-cyclohexene
	Cyclopropane
	Heptadecene

	1H-3a,7-methanoazulene,octahydro-1,4,9,9-tetramethyl-
	1-Eicosene
	Dodecane
	Z,Z,Z-4,6,9-Nonadecatriene
3	Octadecane
	1-(3-Methylbutyl)-2,3,6-trimethylbenzene
	1,3-di-iso-propylnaphthalene
	1,4-di-iso-propylnaphthalene

จากตารางที่ 5 แสดงให้เห็นว่า พบไฮโดรคาร์บอนที่จำเพาะในแต่ละวัน โดยไฮโดรคาร์บอนที่พบเฉพาะในวันที่ 1 ได้แก่ 1H-Indene,2,3,3a,4,7,7a-hexahydro-2,2,4,4,7,7-hexamethyl-,trans

ไฮโดรคาร์บอนที่พบเฉพาะในวันที่ 2 ได้แก่ 1,5,5-Trimethyl-6-methylene-cyclohexene, Cyclopropane, Heptadecene, 1H-3a,7-methanoazulene,octahydro-1,4,9,9-tetramethyl-, 1-Eicosene, Dodecane และZ,Z,Z-4,6,9-Nonadecatriene

ไฮโดรคาร์บอนที่พบเฉพาะในวันที่ 3 ได้แก่ Octadecane (RT:7.014), 1-(3-Methylbutyl)-2,3,6-trimethylbenzene, 1,3-di-iso-propylnaphthalene และ1,4-di-iso-propylnaphthalene

จากผลการวิเคราะห์อาจกล่าวได้ว่า หนอนแมลงวัน *C. megacephala* มีไฮโดรคาร์บอนที่จำเพาะในแต่ละวัน และเปลี่ยนไปตามระยะเวลาการเจริญเติบโต ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยอื่นๆ ดังตารางที่ 6

บทที่ 5
สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุป และอภิปรายผล

จากการวิเคราะห์ข้อมูลการเจริญเติบโตของ *C. megacephala* โดยวัดจากสัณฐานวิทยา การวิเคราะห์ประกอบไปด้วยตัวแปร 2 ตัวแปร โดยตัวแปรตาม คือ อายุของหนอนแมลงวัน ตัวแปรพยากรณ์ คือ ขนาดลำตัว โดยจำแนกขนาดลำตัวออกเป็น 2 ประเภท คือ 1) ความกว้างของลำตัว 2) ความยาวของลำตัว ซึ่งการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างอายุของหนอนแมลงวัน และขนาดความกว้าง พบว่า อายุมีความสัมพันธ์กับขนาดความกว้างของหนอนแมลงวันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 (r = 0.991, P-value <0.001) ซึ่งมีความสัมพันธ์กันในทิศทางเดียวกัน และการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างอายุของหนอนแมลงวัน และขนาดความยาวลำตัว พบว่า อายุมีความสัมพันธ์กับขนาดความยาวของหนอนแมลงวันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 (r = 0.975, P-value <0.001) ซึ่งมีความสัมพันธ์กันในทิศทางเดียวกัน โดยตัวแปรความกว้าง และความยาวขนาดลำตัว ทั้งสองตัวแปรสามารถอธิบายการผันแปรอายุได้ร้อยละ 93.9 สามารถนำมาใช้ทำนายอายุของหนอนแมลงวันหัวเขียว แปลได้ว่าขนาดลำตัวเพิ่มขึ้นตามการเจริญเติบโต ซึ่งผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยการจำแนกหนอนแมลงวันที่พบบนศพ (ธีรกมล เพ็งสกุล, 2551) และงานวิจัยในส่วนการวิเคราะห์ความยาวขนาดลำตัว *C. megacephala* (Badenhorst, 2018; Li et al., 2014) ดังนั้นจากผลการวิจัยที่ได้พบว่าเป็นวิธีที่เหมาะแก่การนำไปใช้ เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย และสะดวกในการประมาณค่า PMI

ในส่วนของวิเคราะห์ไฮโดรคาร์บอนบนผนังลำตัว โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทรกราฟี - แมสสเปคโทรมิเตอร์ ผลการวิจัยที่ได้พบว่า ชนิดของไฮโดรคาร์บอนมีความจำเพาะในแต่ละวัน โดยไฮโดรคาร์บอนที่พบเฉพาะในวันที่ 1 ได้แก่ 1H-Indene,2,3,3a,4,7,7a-hexahydro-2,2,4,4,7,7-hexamethyl-,trans ไฮโดรคาร์บอนที่พบเฉพาะในวันที่ 2 ได้แก่ 1,5,5-Trimethyl-6-methylene-cyclohexene, Cyclopropane, Heptadecene, 1H-3a,7-methanoazulene,octahydro-1,4,9,9-tetramethyl-, 1-Eicosene, Dodecane และZ,Z,Z-4,6,9-Nonadecatriene ไฮโดรคาร์บอนที่พบเฉพาะในวันที่ 3 ได้แก่ Octadecane (RT:7.014), 1-(3-Methylbutyl)-2,3,6-trimethylbenzene, 1,3-di-iso-propylnaphthalene และ1,4-di-iso-propylnaphthalene ซึ่งเป็นไปตามสมมติฐานที่ว่าชนิดไฮโดรคาร์บอนบนผนังลำตัวมีความสัมพันธ์กับอายุของหนอนอย่างมีนัยสำคัญ อาจไม่ได้พบชนิดของไฮโดรคาร์บอนตัวเดียวกัน แต่มีความสอดคล้องในทิศทางเดียวกันกับงานวิจัยการวิเคราะห์ไฮโดรคาร์บอนบนผนังลำตัวตัวอ่อน *Chrysomya rufifacies, Calliphora vicina* และ *Calliphora vomitoria* และ*Lucilia sericata* ของ (Anika Sharma, 2020), (Moore

et al., 2016) และ(Moore et al., 2013) ตามลำดับ และการวิเคราะห์ไฮโดรคาร์บอนบนผนังลำตัวทั้งวงจรชีวิต *Chrysomya megacephala* (Paula et al., 2016) และ *Sarcophaga peregrina* (Zhang et al., 2022) ซึ่งงานวิจัยนี้ใช้เปรียบเทียบเฉพาะระยะหนอน ดังตารางที่ 6 แต่ไม่สอดคล้องกับงานวิจัยทั้งหมดที่กล่าวมาข้างต้นในส่วนของไฮดดรคาร์บอนบางชนิดที่มีการเพิ่มขึ้น หรือลดลงในแต่ละวัน ซึ่งอาจเป็นเพราะเกิดจากความผิดพลาดขั้นตอนการเตรียมหนอนแมลงวันก่อนการวิเคราะห์ แต่อย่างไรก็ตามในแต่ละสายพันธุ์จะมีชนิดของไฮโดรคาร์บอนบางตัวที่เฉพาะกับวันในแต่ละวันที่หนอนแมลงเจริญเติบโต ดังนั้นวิเคราะห์ไฮโดรคาร์บอนบนผนังลำตัว ถือเป็นอีกหนึ่งวิธีที่สามารถจำแนกอายุของหนอนแมลงได้

ตารางที่ 6 แสดงไฮโดรคาร์บอนที่พบเฉพาะแต่ละวันในงานวิจัยอื่นๆ

งานวิจัย	**ชื่อแมลงวัน**	**ไฮโดรคาร์บอนที่พบเฉพาะแต่ละวัน**		
		วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
Moore et al.	*Calliphora vicina*	Heptacosene		1. 7-Methyltricosane 2. 5-Methyltricosane 3. 3-Methyltricosane
	Calliphora vomitoria			1. 3-Methylheneicosan 2. 9 + 11-Methylheptacosane 3. 11 + 15-Methylhentriacontane
Anika Sharma	*Chrysomya rufifacies*		Pentacosene	1. Tritriacontane 2. Tridecane
Paula et al.	*Chrysomya megacephala*	1. Heneicosadiene 2. Heptadecan-4-olide 3. 9-C25:1	1. 3-MeC29 2. n-C30	
Moore et al.	*Lucilia sericata*	2-Methyloctacosane		
Zhang et al.	*Sarcophaga peregrina*	1. 2-Methyl C25 2. C27:1 3. 7-Methyl C27		

		4. C28 5. C30 6. 5-Methyl C33 7. C36		

5.2 ข้อเสนอแนะในการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาเฉพาะ *C. megacephala* เพียงอย่างเดียว ดังนั้น การศึกษาในครั้งต่อไปอาจทำการศึกษาเปรียบเทียบกับ แมลงวันหัวเขียว แมลงวันหลังลาย และแมลงชนิด/สายพันธุ์อื่นๆ รวมถึงอุณหภูมิที่แตกต่าง โดยใช้วิธีอื่นๆร่วมกันในการจำแนก หรืออาจหาตัวอย่างจริงจากสถานที่เกิดเหตุ และให้ได้ผลงานวิจัยที่สมจริงมากยิ่งขึ้น เพื่อใช้เป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์เพิ่มเติมในการประมาณระยะเวลาหลังการตาย

มหาวิทยาลัยศิลปากร

รายการอ้างอิง

Anika Sharma, F. P. D., Jeffery K. Tomberlin & Madhu Bala. (2020). Cuticular hydrocarbons as a tool for determining the age of Chrysomya rufifacies (Diptera: Calliphoridae) larvae. *Journal of Forensic Science*, *00*, 1-10. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1556-4029.14572

Badenhorst, R., & Villet, M. H. (2018). The uses of *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae) in forensic entomology. *Forensic sciences research*, *3*(1), 2-15. https://doi.org/https://doi.org/10.1080%2F20961790.2018.1426136

Bernhardt, V., Pogoda, W., Verhoff, M. A., Toennes, S. W., & Amendt, J. (2017). Estimating the age of the adult stages of the blow flies Lucilia sericata and Calliphora vicina (Diptera: Calliphoridae) by means of the cuticular hydrocarbon n-pentacosane. *Science & Justice*, *57*(5), 361-365. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scijus.2017.04.007

Bunchu, N., Thaipakdee, C., Vitta, A., Sanit, S., Sukontason, K., & Sukontason, K. L. (2012). Morphology and Developmental Rate of the Blow Fly, Hemipyrellia ligurriens (Diptera: Calliphoridae): Forensic Entomology Applications. *Journal of Parasitology Research*, *2012*, 371243. https://doi.org/10.1155/2012/371243

Byrd, J. H., & Castner, J. L. (2001). *Forensic entomology: The utility of arthropods in legal investigations* (Second ed.). CRC Press.

Gibbs, A. G., & Elizabeth, L. C. (1998). The Biology of Lipids: Integrative and Comparative Perspectives. *American Zoologist*, *38*(2), 265-267. http://www.jstor.org/stable/4620142

Greenberg, B., & Kunich, J. C. (2002). *Entomology and the law: flies as forensic indicators*. Cambridge University Press.

Li, X., Yang, Y., Li, G., Li, H., Wang, Q., & Wan, L. (2014). The effect of dietary fat levels on the size and development of Chrysomya megacephala (Diptera: Calliphoridae). *J Insect Sci*, *14*. https://doi.org/10.1093/jisesa/ieu036

Moore, H. E., Adam, C. D., & Drijfhout, F. P. (2013). Potential use of hydrocarbons for

aging Lucilia sericata blowfly larvae to establish the postmortem interval. *J Forensic Sci*, *58*(2), 404-412. https://doi.org/10.1111/1556-4029.12016

Moore, H. E., Adam, C. D., & Drijfhout, F. P. (2014). Identifying 1st instar larvae for three forensically important blowfly species using "fingerprint" cuticular hydrocarbon analysis. *Forensic Sci Int*, *240*, 48-53. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2014.04.002

Moore, H. E., Butcher, J. B., Adam, C. D., Day, C. R., & Drijfhout, F. P. (2016). Age estimation of Calliphora (Diptera: Calliphoridae) larvae using cuticular hydrocarbon analysis and Artificial Neural Networks. *Forensic Science International*, *268*, 81-91. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.09.012

Moore, H. E., Butcher, J. B., Day, C. R., & Drijfhout, F. P. (2017). Adult fly age estimations using cuticular hydrocarbons and Artificial Neural Networks in forensically important Calliphoridae species. *Forensic Science International*, *280*, 233-244. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2017.10.001

Moore, H. E., Pechal, J. L., Benbow, M. E., & Drijfhout, F. P. (2017). The potential use of cuticular hydrocarbons and multivariate analysis to age empty puparial cases of Calliphora vicina and Lucilia sericata. *Scientific Reports*, *7*(1), 1933. https://doi.org/10.1038/s41598-017-01667-7

Paula, M. C., Antonialli-Junior, W. F., Mendonça, A., Michelutti, K. B., Eulalio, A. D. M. M., Cardoso, C. A. L., de Lima, T., & Von Zuben, C. J. (2016). Chemotaxonomic Profile and Intraspecific Variation in the Blow Fly of Forensic Interest Chrysomya megacephala (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Medical Entomology*, *54*(1), 14-23. https://doi.org/10.1093/jme/tjw142

Pechal, J. L., Moore, H., Drijfhout, F., & Benbow, M. E. (2014). Hydrocarbon profiles throughout adult Calliphoridae aging: A promising tool for forensic entomology. *Forensic Sci Int*, *245*, 65-71. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2014.10.019

Roux, O., Gers, C., & Legal, L. (2006). When, during ontogeny, waxes in the blowfly (Calliphoridae) cuticle can act as phylogenetic markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, *34*(5), 406-416. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bse.2005.10.013

Scispec. (2564). เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry; GC-MS*). https://www.scispec.co.th/learning/index.php/blog/chromatography/gas-chromatography-mass-spectrometry-gc-ms

Smith, K. G. V. (1986). *A manual of forensic entomology*. British Museum of Natural History and Cornell University Press.

Sukontason, K., Piangjai, S., Siriwattanarungsee, S., & Sukontason, K. L. (2008). Morphology and developmental rate of blowflies Chrysomya megacephala and Chrysomya rufifacies in Thailand: application in forensic entomology. *Parasitology research*, *102*(6), 1207-1216. https://doi.org/10.1007/s00436-008-0895-6

Sukontason, K. L., Sukontason, K., Piangjai, S., Boonchu, N., Chaiwong, T., Vogtsberger, R. C., Kuntalue, B., Thijuk, N., & Olson, J. K. (2003). Larval morphology of Chrysomya megacephala (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) using scanning electron microscopy. *J Vector Ecol*, *28*(1), 47-52.

Wicker-Thomas, C., Guenachi, I., & Keita, Y. F. (2009). Contribution of oenocytes and pheromones to courtship behaviour in Drosophila. *BMC Biochem*, *10*, 21. https://doi.org/10.1186/1471-2091-10-21

Zhang, X., Shang, Y., Ren, L., Qu, H., Zhu, G., & Guo, Y. (2022). A Study of Cuticular Hydrocarbons of All Life Stages in Sarcophaga peregrina (Diptera: Sarcophagidae). *J Med Entomol*, *59*(1), 108-119. https://doi.org/10.1093/jme/tjab172

ZHU, G. H., YE, G. Y., C. HU, XU, X. H., & LI, K. (2006). Development changes of cuticular hydrocarbons in Chrysomya rufifacies larvae: potential for determining larval age. *Medical and Veterinary Entomology*, *20*(4), 438-444.

ณัฐธิดา, ช. (2560). การหาปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในซากไก่เพื่อประโยชน์ทางนิติวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร]. DSpace at Silpakorn University. http://ithesis-ir.su.ac.th/dspace/handle/123456789/1542

ธีรกมล, เ. (2551). การจำแนกหนอนแมลงวันที่พบบนศพ โดยอาศัยข้อมูลทางชีววิทยา และอณูวิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย]. CUIR. http://cuir.car.chula.ac.th/handle/123456789/58713

นพวรรณ, บ. (2562). บทบาทแมลงวันในงานนิติเวชกีฏวิทยา (1 ed.). สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยนเรศวร.

นวพร, เ. (2562). การตรวจระบุอายุหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* จากโครง

กระดูกเซฟาโลฟาริงซ์ โดยวิธีจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์ มหาวิทยาลัยศิลปากร]. DSpace at Silpakorn University. http://ithesis-ir.su.ac.th/dspace/bitstream/123456789/2765/1/58312307.pdf

เผด็จ, ส., & นันทนา, ศ. (2548). การประมาณเวลาการตายโดยอาศัยข้อมูลวงจรชีวิตของแมลงวันบนศพ. *Chula Med J.*, *49*(4), 195-200.

พรทิพย์, โ. (2546). การชันสูตรศพ. สำนักพิมพ์วิญญูชน.

เลี้ยง, ห. (2550). นิติเวชศาสตร์ สำหรับพนักงานสืบสวนสอบสวน. สูตรไพศาล.

วิฑูรย์, อ. (2524). คู่มือการชันสูตรพลิกศพ. โรงพิมพ์พิฆเณศ.

วิสุทธิ์, ช. (2552). นิติกีฏวิทยา. *2*(3), 39-50. http://www.forensicchula.net/FMJ/journal/topic/0506.pdf

ศริญญา, จ. (2551). การประมาณระยะเวลาหลังการตายจากตัวอ่อนของแมลงที่มีการตรวจพบจากศพ มหาวิทยาลัยศิลปากร]. Silpakorn University Repository. http://www.sure.su.ac.th/xmlui/handle/123456789/11806

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร. (ม.ป.ป.). แมลงวันหัวเขียว (*Blow fly*). https://webs.rmutl.ac.th/assets/upload/files/2020/10/20201021141735_33905.pdf

สุภาวรรณ, เ. (2559). การประมาณเวลาตายในเวชปฏิบัติ. รามาธิบดีเวชสาร, *39*(4), 225-233.

แสวง, บ. (2557). นิติเวชศาสตร์และกฎหมายการแพทย์. สำนักพิมพ์วิญญูชน.

อรรถพล, แ. (2552). นิติวิทยาศาสตร์เพื่อการสืบสวนสอบสวน (พิมพ์ครั้งที่ 6 ed.). บริษัท จี.บี.พี. เซ็นเตอร์ จำกัด.

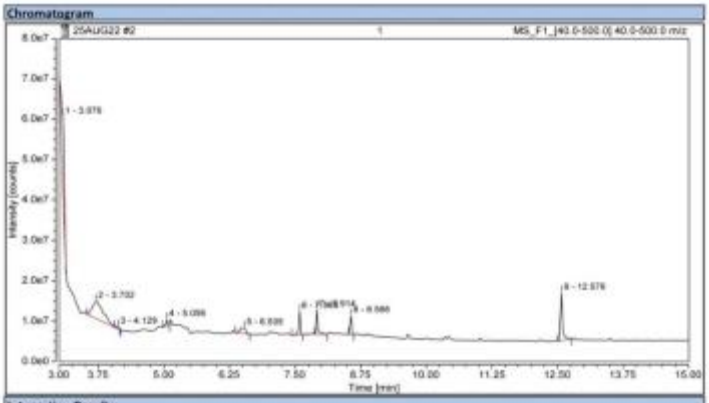
ภาคผนวก

Chromatogram and Results

Injection Details

Injection Name:	1	*Run Time (min):*	31.98
Vial Number:	204	*Injection Volume:*	1.00
Injection Type:	Unknown	*Channel:*	MS_F1_[40.0-500.0]
Calibration Level:		*Wavelength:*	n.a.
Instrument Method:	Sharma-2020 - For Sample	*Bandwidth:*	n.a.
Processing Method:	HC-Lavar	*Dilution Factor:*	1.0000
Injection Date/Time:	25/Aug/22 10:58	*Sample Weight:*	1.0000

Chromatogram



Integration Results

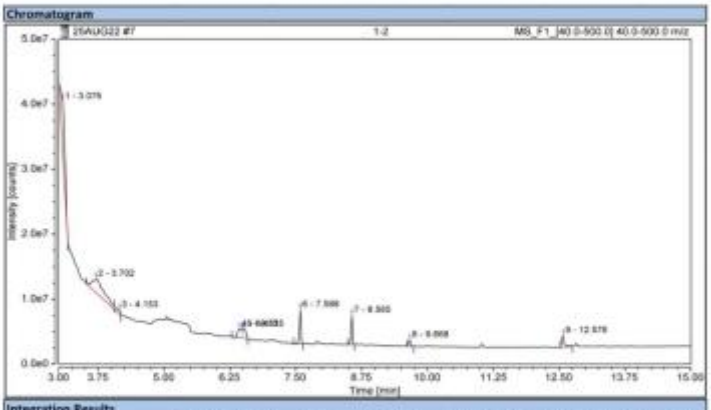
No.	Peak Name	Retention Time min	Area counts*min	Height counts	Relative Area %	Relative Height %	Amount n.a.
1		3.076	1272445.802	18520378.226	32.36	32.67	n.a.
2		3.702	1098144.421	4383645.967	27.92	7.73	n.a.
3		4.129	23048.340	368091.257	0.59	0.65	n.a.
4		5.056	71884.838	1707294.248	1.83	3.01	n.a.
5		6.535	174889.133	1504289.618	4.45	2.65	n.a.
6		7.568	200198.158	5813594.490	5.09	10.25	n.a.
7		7.914	227733.073	6103819.632	5.79	10.77	n.a.
8		8.566	167803.266	4707688.526	4.27	8.30	n.a.
9		12.576	576079.073	11861962.478	14.70	20.92	n.a.
10		15.585	119096.222	1725781.959	3.03	3.04	n.a.
Total:			**3933312.326**	**56696526.399**	**100.00**	**100.00**	

Chromatogram and Results

Injection Details

Injection Name:	1-2	*Run Time (min):*	31.98
Vial Number:	203	*Injection Volume:*	1.00
Injection Type:	Unknown	*Channel:*	MS_F1_[40.0-500.0]
Calibration Level:		*Wavelength:*	n.a.
Instrument Method:	Sharma-2020 - For Sample	*Bandwidth:*	n.a.
Processing Method:	HC-Lavar	*Dilution Factor:*	1.0000
Injection Date/Time:	31/Aug/22 12:45	*Sample Weight:*	1.0000

Chromatogram



Integration Results

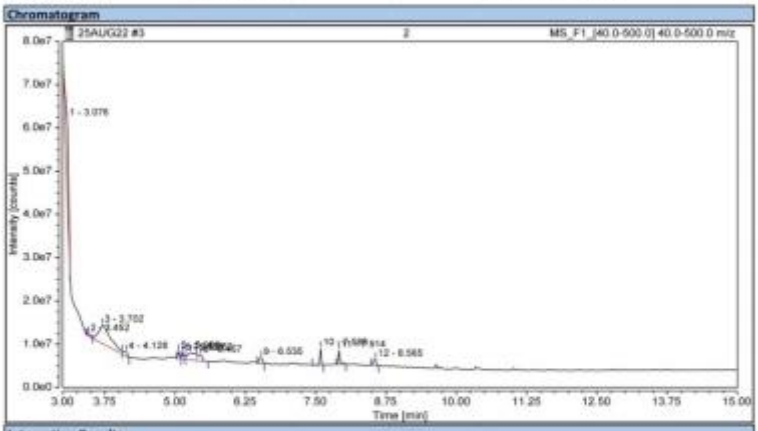
No.	Peak Name	Retention Time min	Area counts*min	Height counts	Relative Area %	Relative Height %	Amount n.a.
1		3.076	704706.022	7566940.910	34.22	29.99	n.a.
2		3.702	579518.259	2019368.258	28.14	7.97	n.a.
3		4.153	51354.155	582714.882	2.49	2.30	n.a.
4		6.435	131449.692	1335798.794	6.38	5.27	n.a.
5		6.535	106598.154	1397068.010	5.18	5.51	n.a.
6		7.568	194395.132	5207248.678	9.44	20.55	n.a.
7		8.565	134023.773	4477979.734	6.51	17.67	n.a.
8		9.668	43659.709	961005.245	2.12	3.79	n.a.
9		12.576	113923.089	1780962.545	5.53	6.95	n.a.
Total:			**2059629.983**	**25341087.037**	**100.00**	**100.00**	

Chromatogram and Results

Injection Details

Injection Name:	**2**	*Run Time (min):*	**31.96**
Vial Number:	**195**	*Injection Volume:*	**1.00**
Injection Type:	**Unknown**	*Channel:*	**MS_F1_[40.0-500.0]**
Calibration Level:		*Wavelength:*	**n.a.**
Instrument Method:	**Sharma-2020 - For Sample**	*Bandwidth:*	**n.a.**
Processing Method:	**HC-Lavar**	*Dilution Factor:*	**1.0000**
Injection Date/Time:	**25/Aug/22 11:32**	*Sample Weight:*	**1.0000**

Chromatogram



Integration Results

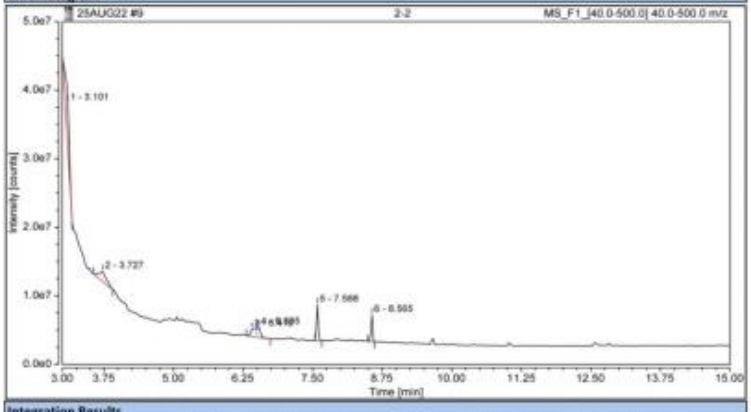
No.	Peak Name	Retention Time min	Area counts*min	Height counts	Relative Area %	Relative Height %	Amount n.a.
1		3.076	1126304.219	16382408.677	34.47	43.31	n.a.
2		3.452	26308.686	374856.873	0.81	0.99	n.a.
3		3.702	1096224.027	4229198.573	33.55	11.18	n.a.
4		4.128	88070.599	998659.151	2.70	2.64	n.a.
5		5.056	58071.450	1654673.017	1.78	4.37	n.a.
6		5.131	57953.155	1341915.879	1.77	3.55	n.a.
7		5.282	264346.369	1619002.655	8.09	4.28	n.a.
8		6.457	136388.852	1256570.646	4.17	3.32	n.a.
9		6.535	89619.527	1336403.318	2.74	3.53	n.a.
10		7.588	129542.643	3948434.805	3.96	10.44	n.a.
11		7.914	128202.753	3297735.695	3.86	8.72	n.a.
12		8.565	68886.166	1382191.356	2.11	3.65	n.a.
Total:			**3267818.446**	**37822050.644**	**100.00**	**100.00**	

Chromatogram and Results

Injection Details

Injection Name:	**2-2**	*Run Time (min):*	**31.96**
Vial Number:	**194**	*Injection Volume:*	**1.00**
Injection Type:	**Unknown**	*Channel:*	**MS_F1_[40.0-500.0]**
Calibration Level:		*Wavelength:*	**n.a.**
Instrument Method:	**Sharma-2020 - For Sample**	*Bandwidth:*	**n.a.**
Processing Method:	**HC-Lavar**	*Dilution Factor:*	**1.0000**
Injection Date/Time:	**31/Aug/22 15:23**	*Sample Weight:*	**1.0000**

Chromatogram



Integration Results

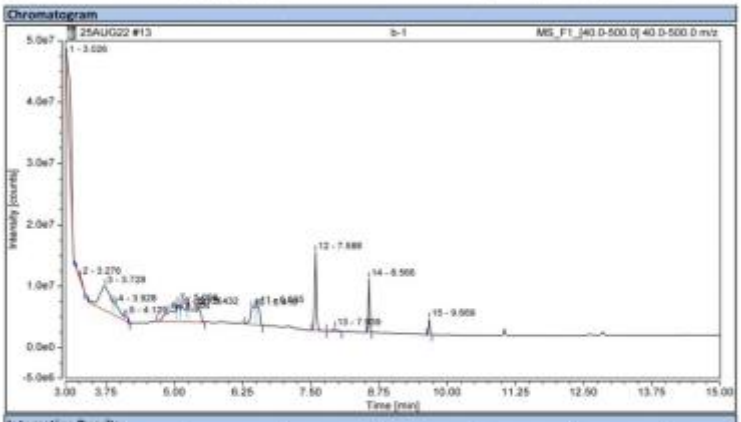
No.	Peak Name	Retention Time min	Area counts*min	Height counts	Relative Area %	Relative Height %	Amount n.a.
1		3.101	613721.240	7016400.367	44.19	34.76	n.a.
2		3.727	221845.688	1490768.624	15.97	7.39	n.a.
3		6.410	118179.173	1070474.200	8.51	5.30	n.a.
4		6.535	116200.718	1492950.593	8.37	7.40	n.a.
5		7.588	191861.471	5238308.442	13.81	25.95	n.a.
6		8.565	127172.260	3875486.719	9.16	19.20	n.a.
Total:			**1388980.550**	**20184388.945**	**100.00**	**100.00**	

Chromatogram and Results

Injection Details

Injection Name:	**b-1**	*Run Time (min):*	**31.96**
Vial Number:	**202**	*Injection Volume:*	**1.00**
Injection Type:	**Unknown**	*Channel:*	**MS_F1_[40.0-500.0]**
Calibration Level:		*Wavelength:*	**n.a.**
Instrument Method:	**Sharma-2020 - For Sample**	*Bandwidth:*	**n.a.**
Processing Method:	**HC-Lavar**	*Dilution Factor:*	**1.0000**
Injection Date/Time:	**05/Sep/22 08:53**	*Sample Weight:*	**1.0000**

Chromatogram



Integration Results

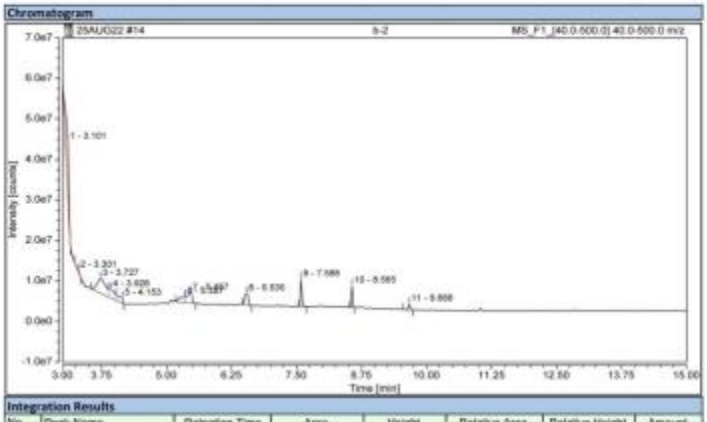
No.	Peak Name	Retention Time min	Area counts*min	Height counts	Relative Area %	Relative Height %	Amount n.a.
1		3.026	1007449.321	5556390.054	20.36	10.73	n.a.
2		3.276	47799.477	563238.558	0.97	1.09	n.a.
3		3.728	888299.955	4007227.863	17.95	7.74	n.a.
4		3.928	324586.313	1893687.566	6.56	3.66	n.a.
5		4.129	6586.995	178383.135	0.13	0.34	n.a.
6		4.906	364266.861	1564630.280	7.36	3.02	n.a.
7		5.056	174295.608	2915725.826	3.52	5.63	n.a.
8		5.131	263140.845	2334631.891	5.32	4.51	n.a.
9		5.432	504605.105	2417904.899	10.20	4.67	n.a.
10		6.410	282228.794	2610333.086	5.70	5.04	n.a.
11		6.535	251467.575	3165787.531	5.08	6.12	n.a.
12		7.588	472289.312	12760858.091	9.54	24.65	n.a.
13		7.939	51047.114	517531.304	1.03	1.00	n.a.
14		8.566	235828.844	8732932.947	4.77	16.87	n.a.
15		9.669	74443.784	2544283.880	1.50	4.92	n.a.
Total:			**4948335.904**	**51763546.910**	**100.00**	**100.00**	

Chromatogram and Results

Injection Details

Injection Name:	**b-2**	*Run Time (min):*	**31.96**
Vial Number:	**193**	*Injection Volume:*	**1.00**
Injection Type:	**Unknown**	*Channel:*	**MS_F1_[40.0-500.0]**
Calibration Level:		*Wavelength:*	**n.a.**
Instrument Method:	**Sharma-2020 - For Sample**	*Bandwidth:*	**n.a.**
Processing Method:	**HC-Lavar**	*Dilution Factor:*	**1.0000**
Injection Date/Time:	**05/Sep/22 09:35**	*Sample Weight:*	**1.0000**

Chromatogram



Integration Results

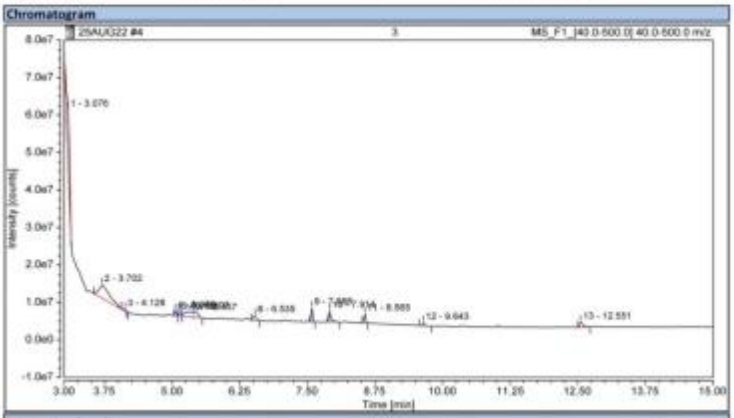
No.	Peak Name	Retention Time min	Area counts*min	Height counts	Relative Area %	Relative Height %	Amount n.a.
1		3.101	995314.680	12872665.045	30.54	31.63	n.a.
2		3.301	30463.176	380905.912	0.93	0.94	n.a.
3		3.727	690639.668	3842493.268	21.19	8.95	n.a.
4		3.928	281984.876	2144804.832	8.65	5.27	n.a.
5		4.153	176547.199	1314995.343	5.42	3.23	n.a.
6		5.357	156105.999	1388154.032	4.79	3.41	n.a.
7		5.457	278943.089	2498073.729	8.56	6.14	n.a.
8		6.535	217318.319	2853436.428	6.67	7.01	n.a.
9		7.588	224471.822	6770999.852	6.89	16.64	n.a.
10		8.565	145431.418	5351802.848	4.46	13.15	n.a.
11		9.668	52043.486	1480371.707	1.60	3.64	n.a.
Total:			**3259263.741**	**40698702.995**	**100.00**	**100.00**	

Chromatogram and Results

Injection Details

Injection Name:	**3**	*Run Time (min):*	**31.96**
Vial Number:	**186**	*Injection Volume:*	**1.00**
Injection Type:	**Unknown**	*Channel:*	**MS_F1_[40.0-500.0]**
Calibration Level:		*Wavelength:*	**n.a.**
Instrument Method:	**Sharma-2020 - For Sample**	*Bandwidth:*	**n.a.**
Processing Method:	**HC-Lavar**	*Dilution Factor:*	**1.0000**
Injection Date/Time:	**25/Aug/22 12:14**	*Sample Weight:*	**1.0000**

Chromatogram



Integration Results

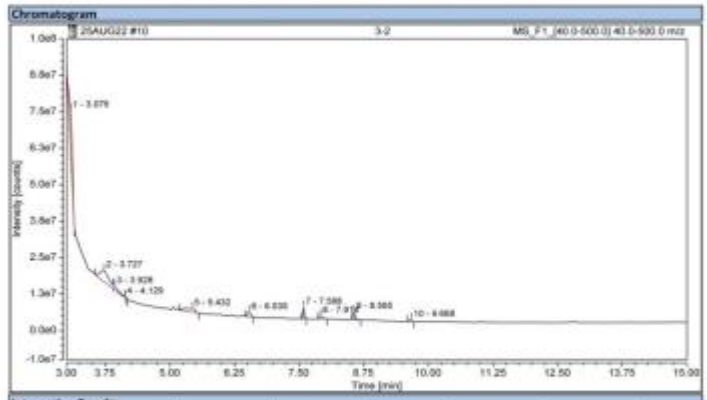
No.	Peak Name	Retention Time min	Area counts*min	Height counts	Relative Area %	Relative Height %	Amount n.a.
1		3.076	1081892.841	15514202.821	36.36	41.53	n.a.
2		3.702	871770.322	3674955.567	29.30	9.84	n.a.
3		4.128	10022.733	203880.504	0.34	0.55	n.a.
4		5.056	48607.235	1353716.201	1.63	3.62	n.a.
5		5.131	45741.390	984488.784	1.54	2.64	n.a.
6		5.307	229500.753	1419781.909	7.71	3.80	n.a.
7		5.457	137095.499	1206288.237	4.61	3.23	n.a.
8		6.535	90166.580	1377078.637	3.03	3.69	n.a.
9		7.588	105280.696	3836621.641	3.54	10.27	n.a.
10		7.914	126157.641	3011714.406	4.24	8.06	n.a.
11		8.565	93184.460	2480007.429	3.13	6.64	n.a.
12		9.643	45189.252	901895.296	1.52	2.41	n.a.
13		12.551	91073.008	1387353.668	3.06	3.71	n.a.
Total:			**2975682.402**	**37353885.100**	**100.00**	**100.00**	

Chromatogram and Results

Injection Details

Injection Name:	**3-2**	*Run Time (min):*	**31.96**
Vial Number:	**185**	*Injection Volume:*	**1.00**
Injection Type:	**Unknown**	*Channel:*	**MS_F1_[40.0-500.0]**
Calibration Level:		*Wavelength:*	**n.a.**
Instrument Method:	**Sharma-2020 - For Sample**	*Bandwidth:*	**n.a.**
Processing Method:	**HC-Lavar**	*Dilution Factor:*	**1.0000**
Injection Date/Time:	**31/Aug/22 16:04**	*Sample Weight:*	**1.0000**

Chromatogram



Integration Results

No.	Peak Name	Retention Time min	Area counts*min	Height counts	Relative Area %	Relative Height %	Amount n.a.
1		3.076	1073725.657	14000861.619	38.79	44.87	n.a.
2		3.727	762349.335	3982361.256	27.54	12.76	n.a.
3		3.928	189926.005	1365000.726	6.86	4.37	n.a.
4		4.129	0.000	0.000	0.00	0.00	n.a.
5		5.432	296812.966	1419402.575	10.72	4.55	n.a.
6		6.535	113542.383	1642143.157	4.10	5.26	n.a.
7		7.588	112882.325	4025163.280	4.08	12.90	n.a.
8		7.914	66366.147	1145076.879	2.40	3.67	n.a.
9		8.565	114702.790	2893171.930	4.14	9.27	n.a.
10		9.668	37466.849	726161.898	1.35	2.33	n.a.
Total:			**2767903.438**	**31201343.319**	**100.00**	**100.00**	

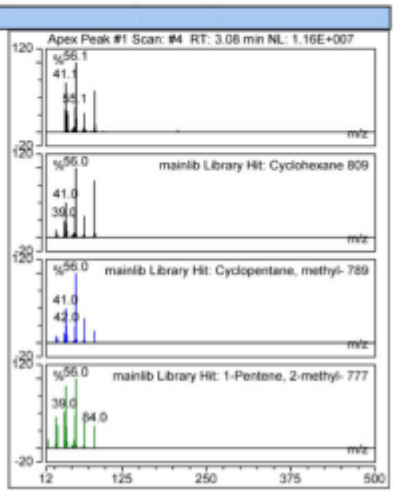
Library Search Summary

Injection Details

Injection Name:	**1**	*Run Time (min):*	**31.96**
Vial Number:	**204**	*Injection Volume:*	**1.00**
Injection Type:	**Unknown**		
Calibration Level:			
Instrument Method:	**Sharma-2020 - For Sample**		
Processing Method:	**HC-Lavar**	*Dilution Factor:*	**1.0000**
Injection Date/Time:	**25/Aug/22 10:50**	*Sample Weight:*	**1.0000**

Library Search Results

Ret.Time: 3.076

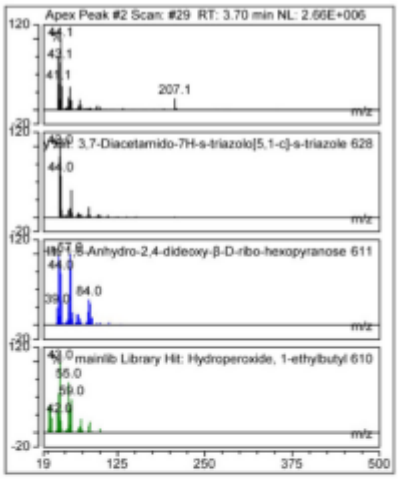


Hit# 1
Component: Cyclohexane
SI: 809
RSI: 841
Library: mainlib

Hit# 2
Component: Cyclopentane, methyl-
SI: 789
RSI: 821
Library: mainlib

Hit# 3
Component: 1-Pentene, 2-methyl-
SI: 777
RSI: 813
Library: mainlib

Ret.Time: 3.702

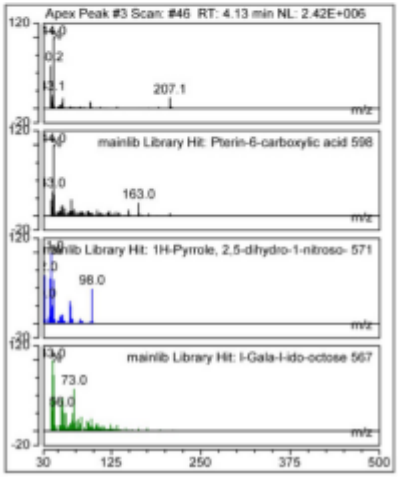


Hit# 1
Component: 3,7-Diacetamido-7H-s-triazolo[5,1-c]-s-triazole
SI: 628
RSI: 661
Library: mainlib

Hit# 2
Component: 1,6-Anhydro-2,4-dideoxy-ß-D-ribo-hexopyranose
SI: 611
RSI: 702
Library: mainlib

Hit# 3
Component: Hydroperoxide, 1-ethylbutyl
SI: 610
RSI: 727
Library: mainlib

Ret.Time: 4.129



Hit# 1
Component: Pterin-6-carboxylic acid
SI: 598
RSI: 615
Library: mainlib

Hit# 2
Component: 1H-Pyrrole, 2,5-dihydro-1-nitroso-
SI: 571
RSI: 674
Library: mainlib

Hit# 3
Component: l-Gala-l-ido-octose
SI: 567
RSI: 671
Library: mainlib

Library Search Summary

Injection Details

Injection Name:	**2**	*Run Time (min):*	**31.96**
Vial Number:	**195**	*Injection Volume:*	**1.00**
Injection Type:	**Unknown**		
Calibration Level:			
Instrument Method:	**Sharma-2020 - For Sample**		
Processing Method:	**HC-Lavar**	*Dilution Factor:*	**1.0000**
Injection Date/Time:	**25/Aug/22 11:32**	*Sample Weight:*	**1.0000**

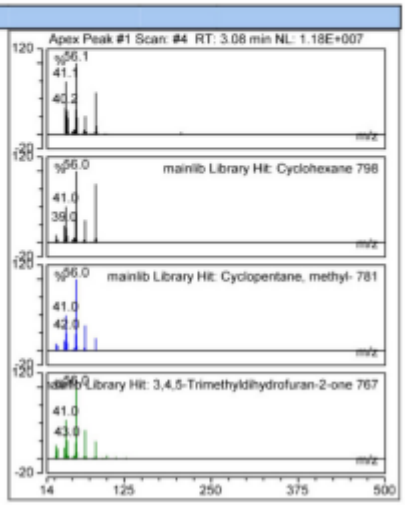
Library Search Results

Ret.Time: 3.076

Hit# 1
Component: Cyclohexane
SI: 798
RSI: 827
Library: mainlib

Hit# 2
Component: Cyclopentane, methyl-
SI: 781
RSI: 810
Library: mainlib

Hit# 3
Component: 3,4,5-Trimethyldihydrofuran-2-one
SI: 767
RSI: 802
Library: mainlib

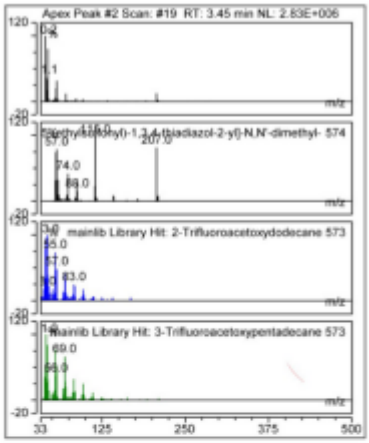


Ret.Time: 3.452

Hit# 1
Component: Urea, N-[5-(ethylsulfonyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl]-N,N'-dimethyl-
SI: 574
RSI: 581
Library: mainlib

Hit# 2
Component: 2-Trifluoroacetoxydodecane
SI: 573
RSI: 659
Library: mainlib

Hit# 3
Component: 3-Trifluoroacetoxypentadecane
SI: 573
RSI: 629
Library: mainlib

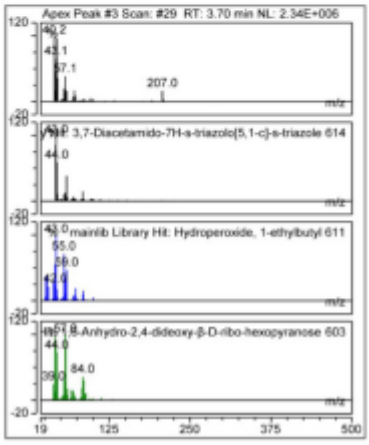


Ret.Time: 3.702

Hit# 1
Component: 3,7-Diacetamido-7H-s-triazolo[5,1-c]-s-triazole
SI: 614
RSI: 649
Library: mainlib

Hit# 2
Component: Hydroperoxide, 1-ethylbutyl
SI: 611
RSI: 723
Library: mainlib

Hit# 3
Component: 1,6-Anhydro-2,4-dideoxy-ß-D-ribo-hexopyranose
SI: 603
RSI: 694
Library: mainlib



Library Search Summary

Injection Details

Injection Name:	**3**	*Run Time (min):*	**31.96**
Vial Number:	**186**	*Injection Volume:*	**1.00**
Injection Type:	**Unknown**		
Calibration Level:			
Instrument Method:	**Sharma-2020 - For Sample**		
Processing Method:	**HC-Lavar**	*Dilution Factor:*	**1.0000**
Injection Date/Time:	**25/Aug/22 12:14**	*Sample Weight:*	**1.0000**

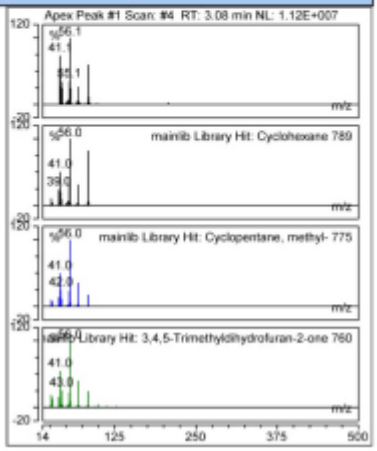
Library Search Results

Ret.Time: 3.076

Hit# 1
Component: Cyclohexane
SI: 789
RSI: 820
Library: mainlib

Hit# 2
Component: Cyclopentane, methyl-
SI: 775
RSI: 804
Library: mainlib

Hit# 3
Component: 3,4,5-Trimethyldihydrofuran-2-one
SI: 760
RSI: 795
Library: mainlib

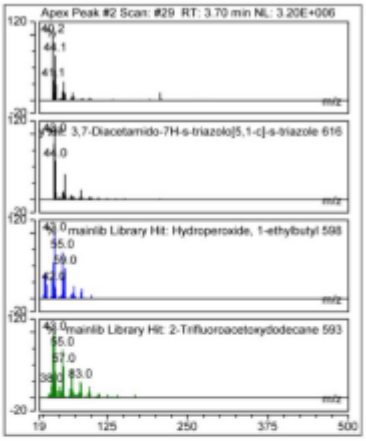


Ret.Time: 3.702

Hit# 1
Component: 3,7-Diacetamido-7H-s-triazolo[5,1-c]-s-triazole
SI: 616
RSI: 646
Library: mainlib

Hit# 2
Component: Hydroperoxide, 1-ethylbutyl
SI: 598
RSI: 695
Library: mainlib

Hit# 3
Component: 2-Trifluoroacetoxydodecane
SI: 593
RSI: 673
Library: mainlib

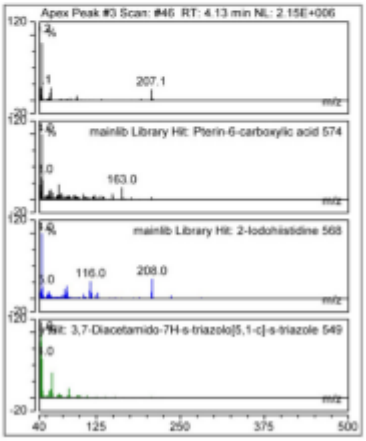


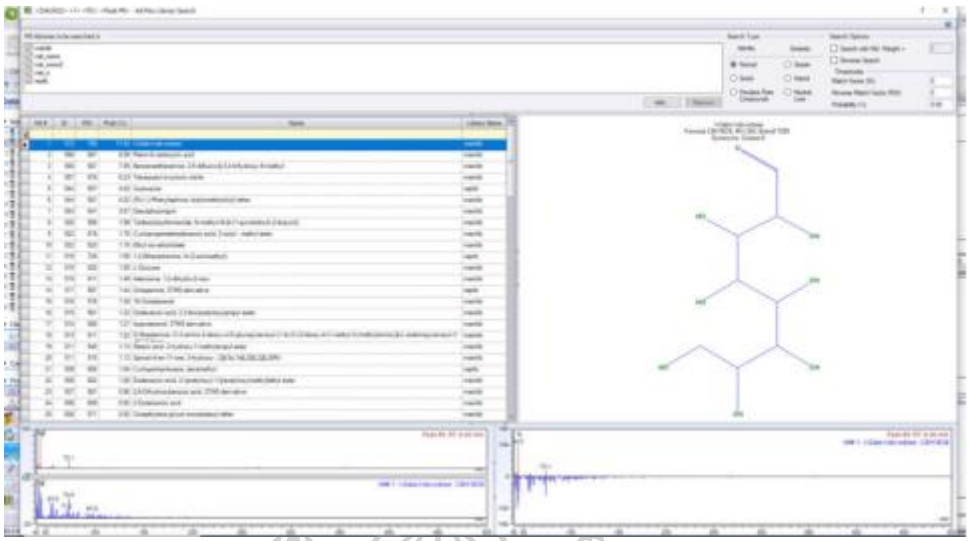
Ret.Time: 4.128

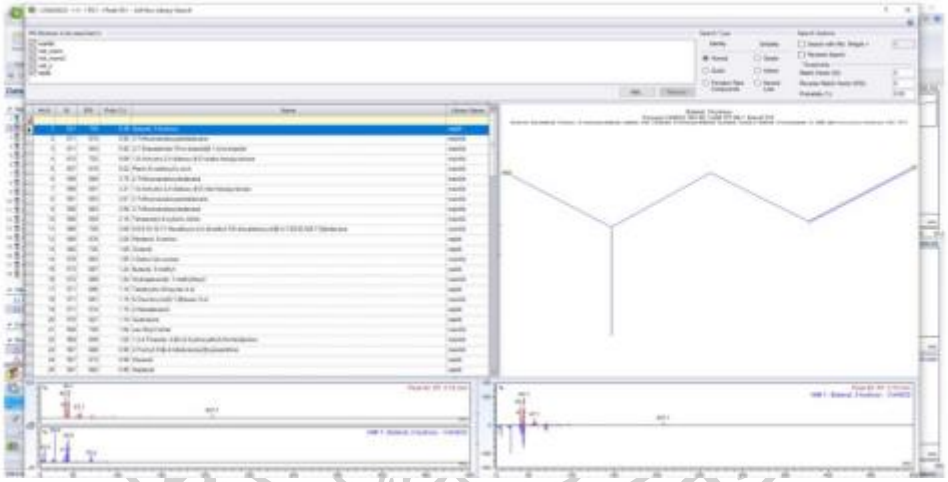
Hit# 1
Component: Pterin-6-carboxylic acid
SI: 574
RSI: 592
Library: mainlib

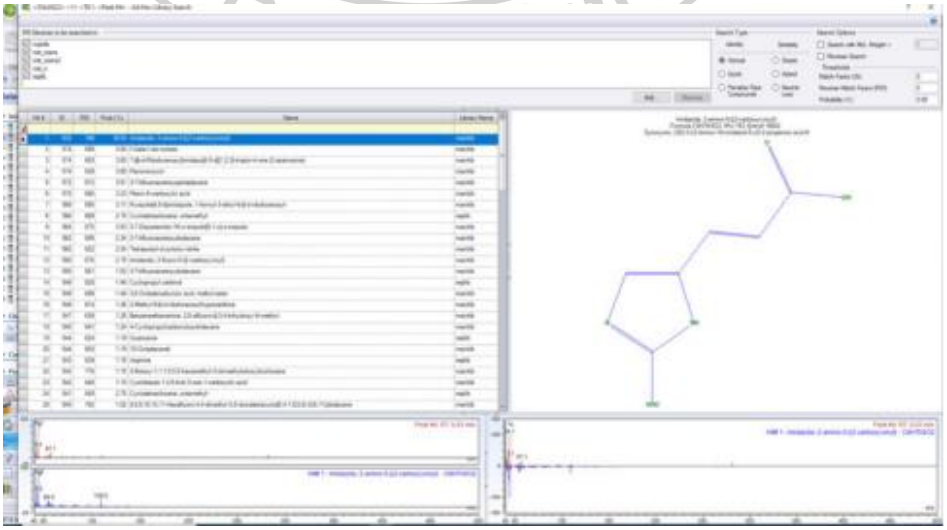
Hit# 2
Component: 2-Iodohistidine
SI: 568
RSI: 590
Library: mainlib

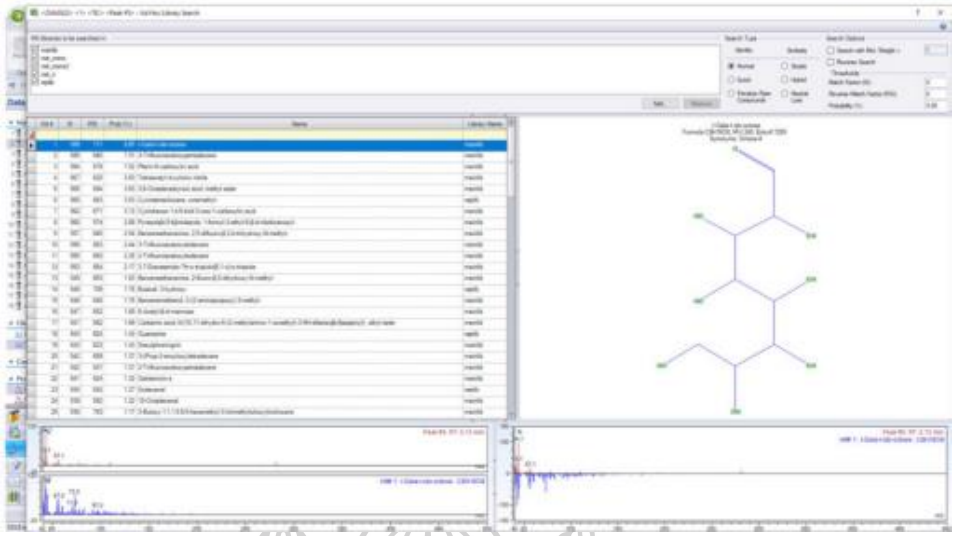
Hit# 3
Component: 3,7-Diacetamido-7H-s-triazolo[5,1-c]-s-triazole
SI: 549
RSI: 573
Library: mainlib

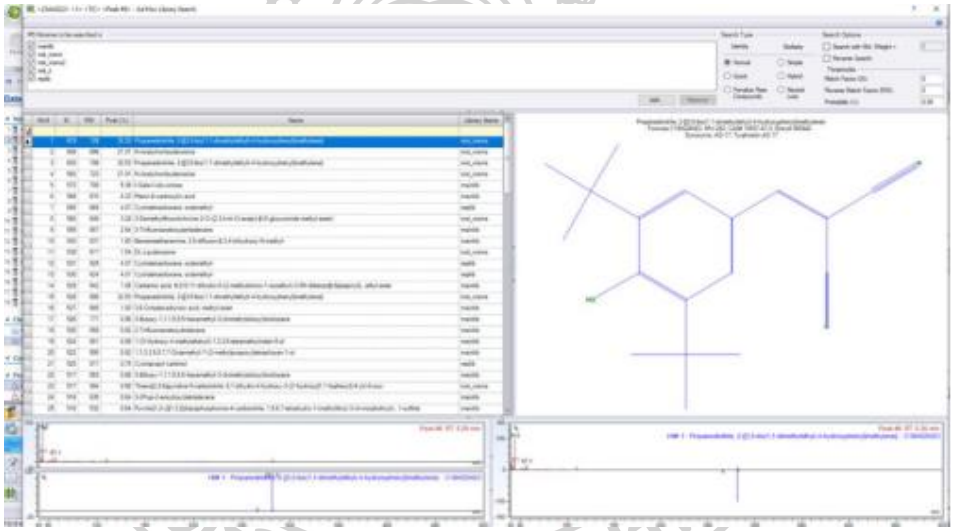


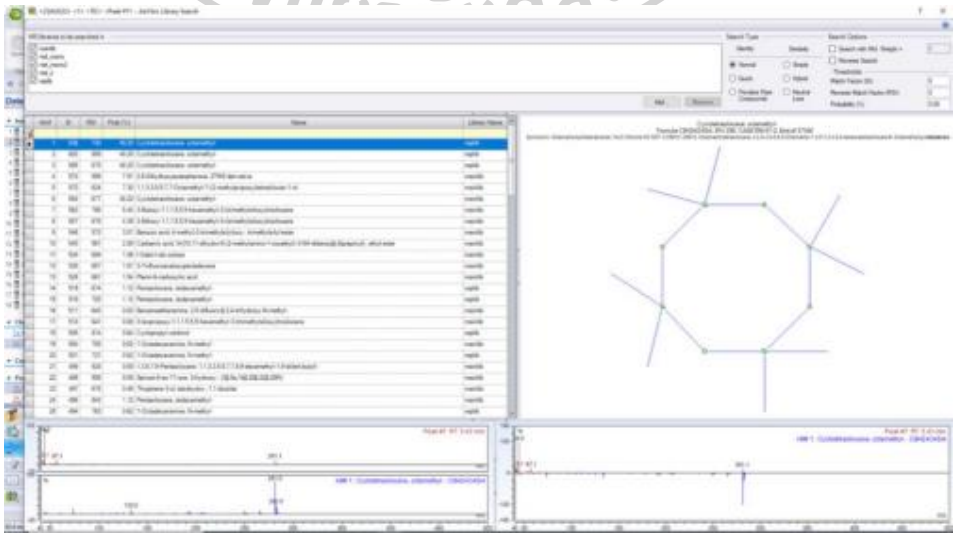


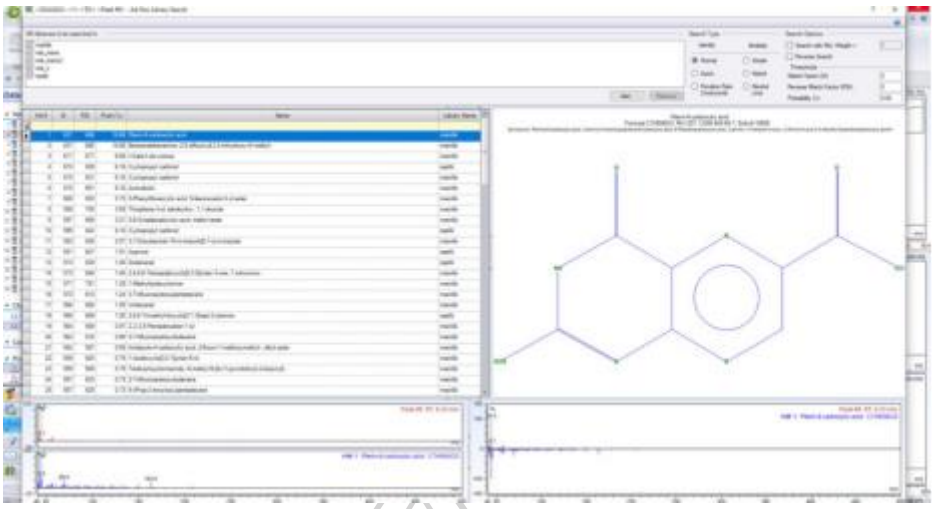


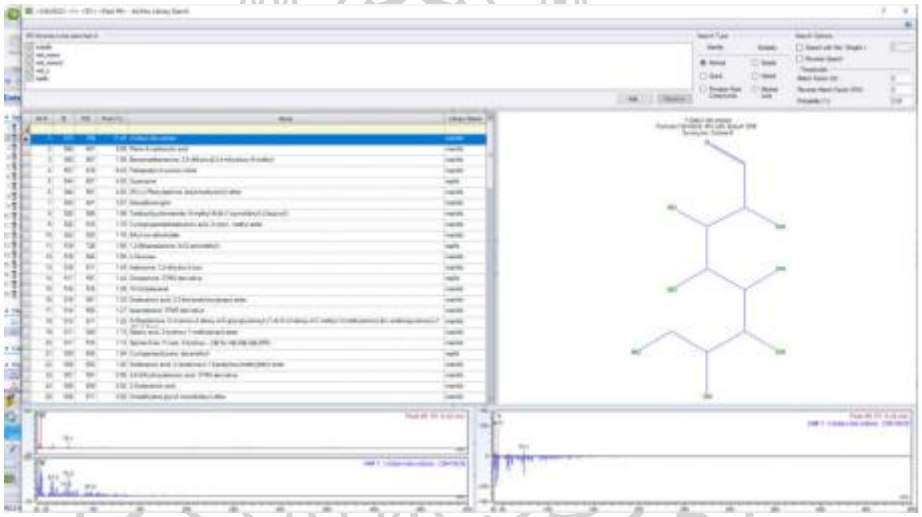


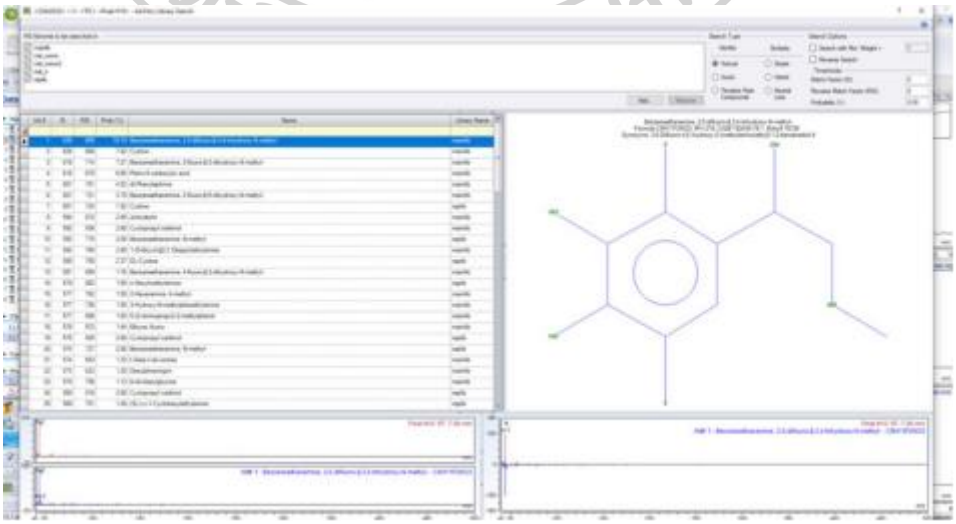


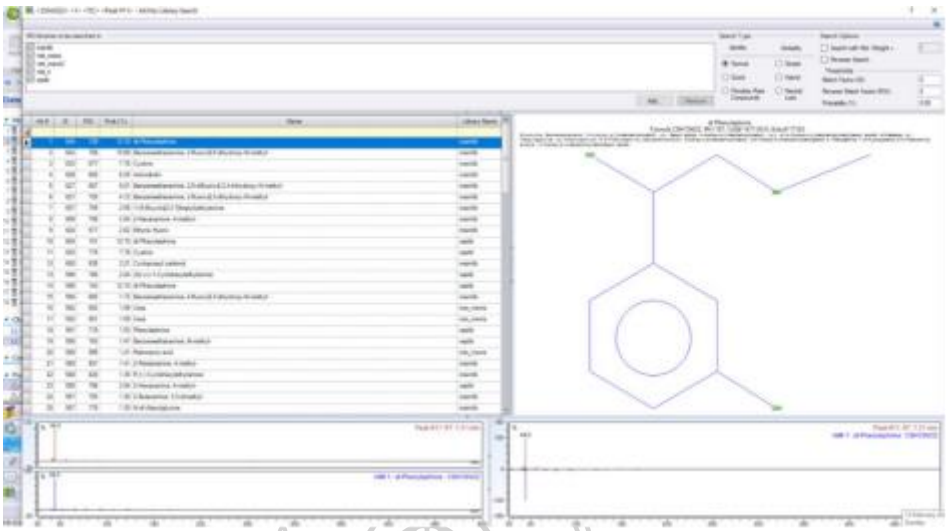


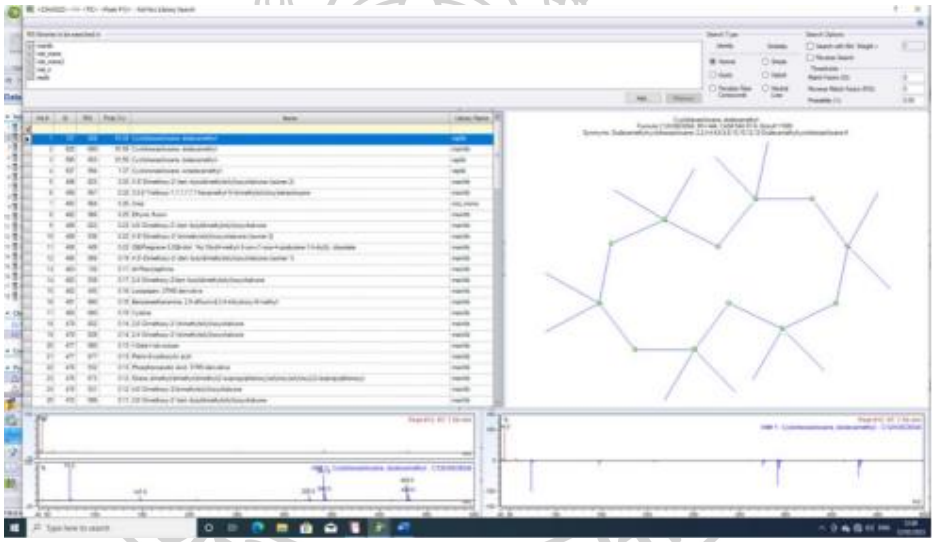


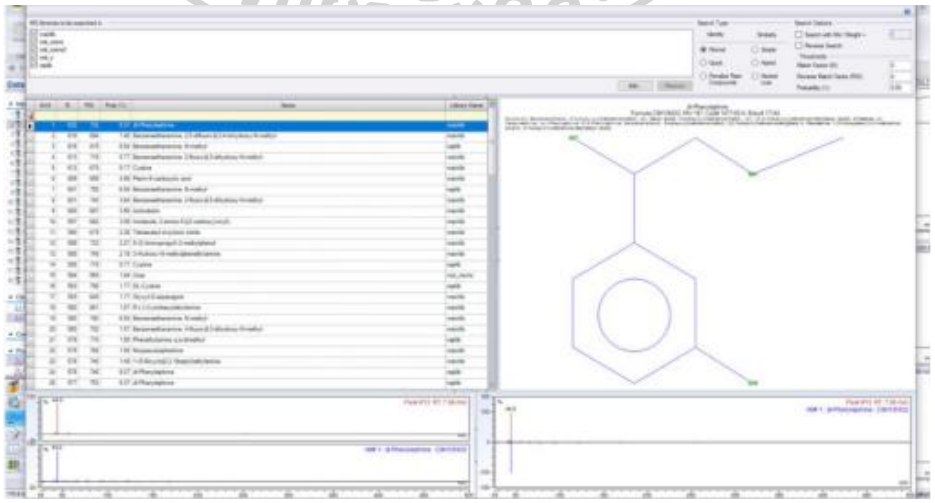


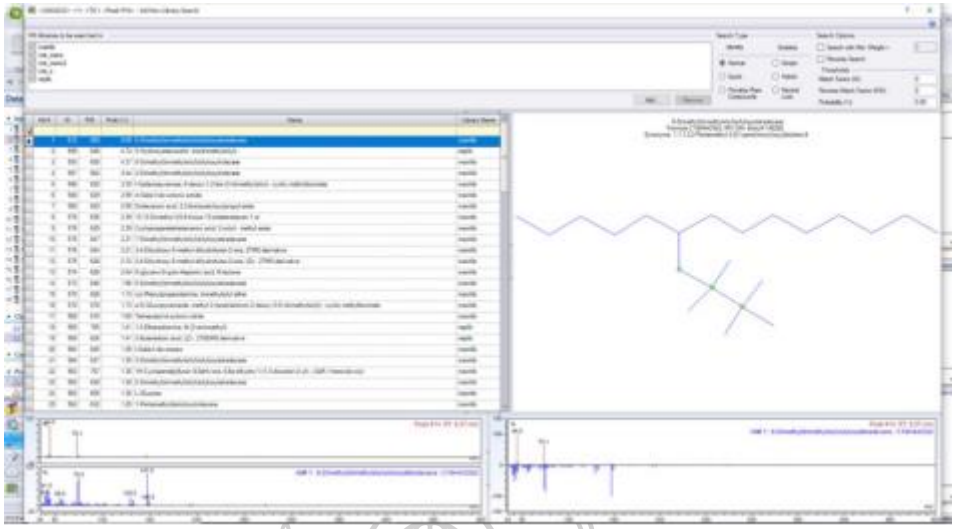


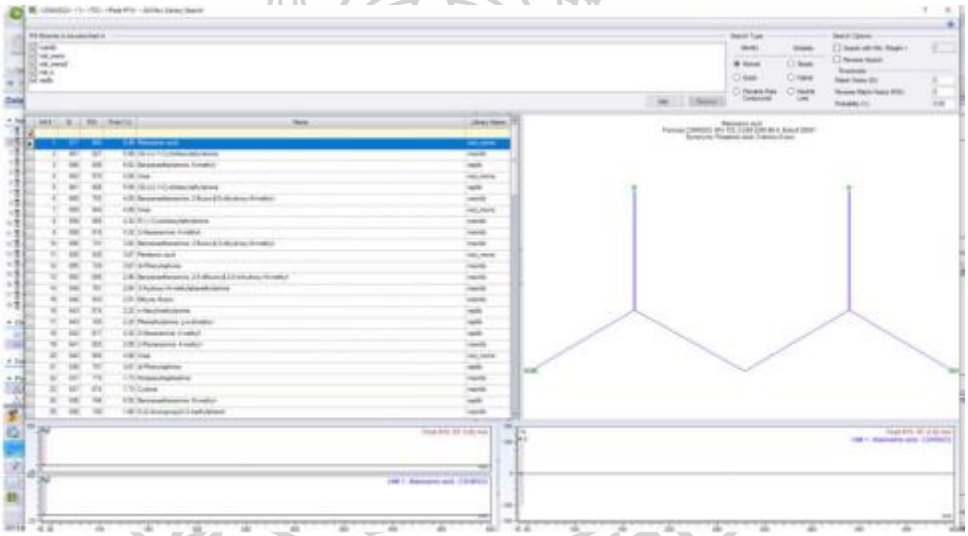


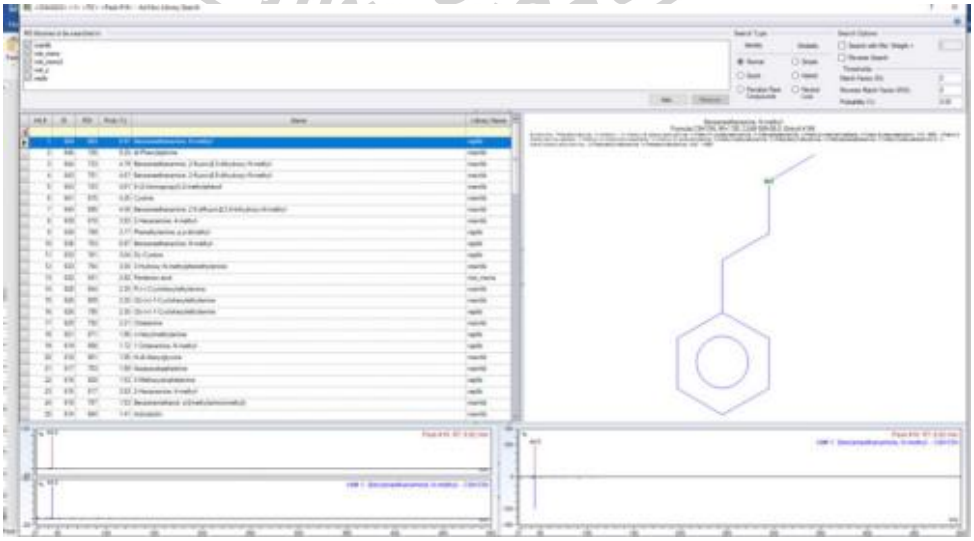












ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	ปาลิฏา ศิริเสถียร
วัน เดือน ปี เกิด	3 กรกฎาคม 2540
สถานที่เกิด	ยะลา
วุฒิการศึกษา	ปริญญาตรี วท.บ.(การพยาบาลสัตว์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์