การหาปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในซากไก่เพื่อประโยชน์ทางนิติวิทยาศาสตร์

โดย
นางสาวณัฐธิดา ช่วยเมือง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2560
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การหาปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในซากไก่เพื่อประโยชน์ทางนิติวิทยาศาสตร์

โดย
นางสาวณัฐธิดา ช่วยเมือง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2560
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

INVESTIGATION OF THE MALONDIALDEHYDE (MDA) LEVEL IN CHICKEN REMAINS FOR FORENSIC APPLICATION

By

MISS Nutthida CHUAYMUANG

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for Master of Science (FORENSIC SCIENCE)

Graduate School, Silpakorn University

Academic Year 2017

Copyright of Graduate School, Silpakorn University

หัวข้อ	การหาปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในซากไก่เพื่อประโยชน์ทางนิติวิทยาศาสตร์
โดย	ณัฐธิดา ช่วยเมือง
สาขาวิชา	นิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	อาจารย์ ดร. ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

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

พิจารณาเห็นชอบโดย

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

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

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

56312309 : นิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
คำสำคัญ : มาลอนไดอัลดีไฮด์, ลิปิดออกซิเดชั่น, นิติวิทยาศาสตร์

นางสาว ณัฐธิดา ช่วยเมือง: การหาปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในซากไก่เพื่อประโยชน์ทางนิติวิทยาศาสตร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : อาจารย์ ดร. ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ (MDA) ในตัวอย่างเนื้อไก่ โดยวิเคราะห์หาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร จากการทดลองโดยนำตัวอย่างไก่ทั้งตัวมาเก็บไว้ โดยการฝังดิน แช่น้ำ และแช่แข็ง จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างเพื่อหาปริมาณ MDA ที่ระยะเวลา 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ผลการศึกษาพบว่า ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่แช่แข็งเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากการเก็บตัวอย่างที่ช่วงเวลา 72 ชั่วโมง อย่างไรก็ตาม ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่ถูกฝังดินและแช่น้ำ มีค่าคงที่อยู่ประมาณ 1 - 6 นาโนโมลต่อมิลลิลิตร ในช่วงเวลา 72 ชั่วโมงที่ทำการศึกษา งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าอาจจะใช้การหาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในการประมาณเวลาหลังการตายในทางนิติวิทยาศาสตร์ได้

มหาวิทยาลัยศิลปากร

56312309 : Major (FORENSIC SCIENCE)
Keyword : Malondialdehype, Lipid oxidation, Forensic Science

MISS NUTTHIDA CHUAYMUANG : INVESTIGATION OF THE MALONDIALDEHYDE (MDA) LEVEL IN CHICKEN REMAINS FOR FORENSIC APPLICATION THESIS ADVISOR : DR. SUPACHAI SUPALAKNARI

The aim of this study was to investigate the malondialdehyde (MDA) level in chicken remains. The level of MDA was measured spectrophotometrically on UV-VIS spectrophotometer at 530 nm. In this study, the whole chickens were buried in the soil, submerged under tap water and frozen in the refrigerator and kept for 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48 and 72 hours before the determination. The results showed a significantly increasing of MDA level during the time span of 72 hours in the frozen chicken remains. However, the MDA levels in submerged and buried chicken body were remain constant from 1 to 6 nmol/ml during the 72 hours of storage. This study demonstrated the potential of using MDA level as the measure of time since death in forensic investigation.

มหาวิทยาลัยศิลปากร

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เพราะได้รับความกรุณาจากอาจารย์ ดร.ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อผู้วิจัย รวมทั้งผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยุภาพร สมีน้อย และอาจารย์ ดร.ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ และข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์แก่ผู้วิจัย ส่งผลให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณในความกรุณาของทุกท่านเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศุภวรรณ มโนสุนทร ที่กรุณาให้คำปรึกษาและคำแนะนำในการเลือกใช้สถิติเพื่อนำมาวิเคราะห์และแปลผลการวิจัย

ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ หลักสูตรนิติวิทยาศาสตร์ รุ่นที่ 9 มหาวิทยาลัยศิลปากร และน้องๆ ปี 4 คณะวิทยาศาสตร์ ที่ให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำและกำลังใจตลอดมา รวมทั้งผู้ที่ไม่ได้กล่าวนามทุกท่าน ซึ่งมีส่วนช่วยเหลือจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัวที่ให้กำลังใจและให้การสนับสนุนในทุกๆ ด้าน หากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีข้อผิดพลาดหรือข้อบกพร่องด้วยเหตุประการใด ผู้วิจัยขอน้อมรับไว้เพื่อนำไปปรับปรุงแก้ไขอันจะเป็นประโยชน์ในการศึกษาต่อไป คุณค่าหรือประโยชน์อันเกิดจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ผู้วิจัยขอน้อมบูชาแด่พระคุณบิดา มารดา ครูอาจารย์ที่อบรมสั่งสอน แนะนำ ให้การสนับสนุนและให้กำลังใจอย่างดียิ่งเสมอมา

ณัฐธิดา ช่วยเมือง

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญภาพ ..... ญ

บทที่ 1 บทนำ 12

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 12

วัตถุประสงค์ของการวิจัย 14

สมมติฐานของการวิจัย 14

ขอบเขตของการวิจัย 14

ข้อจำกัดของการวิจัย 15

กรอบแนวความคิดในการวิจัย 15

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 16

บทที่ 2 เอกสารและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 17

นิติวิทยาศาสตร์ 17

การชันสูตรพลิกศพ 19

การประมาณเวลาตายและการเปลี่ยนแปลงหลังการตาย 20

ปฏิกิริยาลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น 28

สารประกอบมาลอนไดอัลดีไฮด์ 29

Thiobarbituric Acid Reactive Substances Assay (TBARS assay) 31

รายงานการศึกษาและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 32
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 35
สารเคมี 35
วัสดุและอุปกรณ์ 35
เครื่องมือ 36
ตัวอย่าง 36
ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย 37
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 42
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล 44
บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ 55
ภาคผนวก 58
รายการอ้างอิง 72
ประวัติผู้เขียน 75

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 สารเคมี 36

ตารางที่ 2 วัสดุและอุปกรณ์ 36

ตารางที่ 3 เครื่องมือ 37

ตารางที่ 4 ค่า Absorbance ตามความเข้มข้นของ MDA (n = 5) 46

ตารางที่ 5 ค่า Absorbance ของสารละลายมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ 47

ตารางที่ 6 ปริมาณของ MDA ในศพไก่ที่ฝังดิน (n = 5) 48

ตารางที่ 7 ปริมาณของ MDA ในศพไก่ที่แช่น้ำ (n = 5) 50

ตารางที่ 8 ปริมาณของ MDA ในศพไก่ที่แช่แข็ง (n = 5) 52

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบปริมาณของ MDA ในศพไก่ที่ฝังดิน แช่น้ำ และแช่แข็งภายหลังการตายที่ ... ระยะเวลาต่างๆ 54

ตารางที่ 10 ผลเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่ฝังดินกับตัวอย่างไก่ที่แช่น้ำ 68

ตารางที่ 11 ผลเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่ฝังดินกับตัวอย่างไก่ที่แช่แข็ง 69

ตารางที่ 12 ผลเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่แช่น้ำกับตัวอย่างไก่ที่แช่แข็ง 70

ตารางที่ 13 ผลการทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาหลังการตายกับปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่ฝังดิน 71

ตารางที่ 14 ผลการทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาหลังการตายกับปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่แช่น้ำ 71

ตารางที่ 15 ผลการทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาหลังการตายกับปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่แช่แข็ง 72

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น 30

ภาพที่ 2 โครงสร้างของสารประกอบมาลอนไดอัลดีไฮด์ 31

ภาพที่ 3 สารประกอบมาลอนไดอัลดีไฮด์ในรูปอัลดีไฮด์และอีนอล 31

ภาพที่ 4 การเกิดปฏิกิริยาระหว่าง TABRS กับ MDA จนเกิดสารสีสมพูอมส้ม 32

ภาพที่ 5 เครื่อง UV-VIS Spectrophotometer รุ่น HP-8453 37

ภาพที่ 6 แผนผังการทดลอง 44

ภาพที่ 7 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ ที่ความเข้มข้น 10 nmol/ml 45

ภาพที่ 8 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย MDA-TBA กับ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm. (n = 5) 46

ภาพที่ 9 กราฟแสดงแนวโน้มปริมาณของ MDA ในศพไก่ที่ฝังดิน ภายหลังการตายที่ระยะเวลาต่างๆ (n = 5) 49

ภาพที่ 10 กราฟแสดงแนวโน้มปริมาณของ MDA ในศพไก่ที่แช่น้ำ ภายหลังการตายที่ระยะเวลาต่างๆ (n = 5) 51

ภาพที่ 11 กราฟแสดงแนวโน้มความเข้มข้นของ MDA ในศพไก่ที่แช่แข็ง ภายหลังการตายที่ระยะเวลาต่างๆ (n = 5) 53

ภาพที่ 12 กราฟเปรียบเทียบปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่ฝังดิน แช่น้ำ และแช่แข็ง ภายหลังการตายที่ระยะเวลาต่างๆ 55

ภาพที่ 13 สภาพศพไก่ที่ฝังดินตามระยะเวลาหลังการตาย 61

ภาพที่ 14 สภาพศพไก่ที่แช่น้ำตามระยะเวลาหลังการตาย 62

ภาพที่ 15 สภาพศพไก่ที่แช่แข็งตามระยะเวลาหลังการตาย 63

ภาพที่ 16 ตัวอย่างการปั่นเนื้อไก่ 64

ภาพที่ 17 ตัวอย่างเนื้อไก่ที่บดละเอียด 64

ภาพที่ 18 การให้ความร้อนสารละลายมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่อุณหภูมิ 80 ℃.....65

ภาพที่ 19 สารละลายอนุพันธ์ 66

ภาพที่ 20 สารละลายมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่ช่วงความเข้มข้นต่างๆ ทำปฏิกิริยากับ TBA.....66

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การระบุระยะเวลาที่เสียชีวิต มีความสำคัญมากในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ เพราะการให้ความเห็นว่าผู้ตายเสียชีวิตมานานเท่าไหร่แล้วหรือตายเมื่อไหร่นั้น มีประโยชน์ในทางกฎหมายทั้งในทางอาญาและทางแพ่งรวมทั้งกฎหมายอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องด้วย เช่น ในกรณีที่มีการตาย อันเนื่องมาจากการกระทำความผิดทางอาญา การรู้เวลาตายจะช่วยพนักงานสอบสวนในการสืบหาตัวผู้ต้องสงสัยภายในกรอบเวลาของการตายนั้น ทำให้จำกัดวงแคบเข้าและคัดแยกผู้ไม่เกี่ยวข้องกับเหตุการณ์นั้นออกได้ นอกจากนี้ยังช่วยให้แนวคิดเบื้องต้นเกี่ยวกับระยะเวลาของการบาดเจ็บด้วย ในกรณีที่ผู้ตายได้รับบาดเจ็บมาสักระยะหนึ่งก่อนเสียชีวิต และยังช่วยสนับสนุนหรือคัดค้านความน่าเชื่อถือของพยานบุคคลที่อ้างว่ารู้เห็นการปรากฏตัวของผู้ต้องสงสัยหรือผู้ต้องหาด้วย ในส่วนที่เกี่ยวกับคดีแพ่ง เช่น เรื่องของการรับมรดกตกทอด ถ้าสามารถทราบถึงระยะเวลาตายที่ใกล้เคียงกับความเป็นจริงมากที่สุดจะทำให้เกิดความเป็นธรรมต่อทายาทและผู้อื่นที่มีสิทธิที่จะได้รับมรดกของผู้ตาย เป็นต้น

แต่การระบุระยะเวลาที่เสียชีวิตนั้นก็ยังเป็นปัญหาสำคัญในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ ซึ่งยากมากที่จะระบุระยะเวลาการตายให้ได้แน่นอน เพราะภายหลังการตายร่างกายจะมีการเปลี่ยนแปลงทางฟิสิกส์และทางเคมีหลายอย่าง ตามระยะเวลาภายหลังตายจนกระทั่งศพเน่าเปื่อยย่อยสลายเหลือแต่โครงกระดูก การเปลี่ยนแปลงนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับระยะเวลาและอัตราการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว การเปลี่ยนแปลงภายหลังการตายเหล่านั้นอยู่ภายใต้อิทธิพลของปัจจัยภายใน ซึ่งอาจไม่สามารถคาดคะเนได้และปัจจัยภายนอกที่มีอุณหภูมิของสภาพแวดล้อมเป็นปัจจัยหลัก สำหรับวิธีการประมาณระยะเวลาการตายที่นิยมนำมาให้ในทางนิติวิทยาศาสตร์มีหลายวิธีด้วยกัน อาทิเช่น การตกของเลือดตามแรงโน้มถ่วง (livor mortis) การแข็งตัวของกล้ามเนื้อ (rigor mortis) การลดลงของอุณหภูมิร่างกาย (algor mortis) อัตราการเน่า (degree of decomposition) ปริมาณอาหารในกระเพาะ (stomach conten) การเปลี่ยนแปลงทางเคมีในร่างกาย (chemical change after death) เป็นต้น (เลี้ยง หุยประเสริฐ)

สำหรับการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในร่างกายนั้น มีผู้สนใจศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารต่างๆ ในร่างกายหลังการตายมากขึ้น อาทิเช่น การประมาณเวลาการเสียชีวิตของศพจากระดับโซเดียม โพแทสเซียม และคลอไรด์ในเลือด (สัญห์ลักษณ์ สำรวย, 2551) การประมาณเวลาเสียชีวิตของศพจากระดับอิเล็กโตรไลท์ บียูเอ็น และครีเอทินินในเลือด (ณภัทรนันท์ นิสสัยชล, 2556) การศึกษาการประมาณเวลาเสียชีวิตของศพจากระดับอิเล็กโตรไลท์ในน้ำวุ้นลูกตา ผลการศึกษาพบว่า ปริมาณของ

โพแทสเซียมมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเก็บจากศพที่เสียชีวิตนานขึ้น แต่ปริมาณของโซเดียมและคลอไรด์ไอออนกลับมีค่าลดลงตามเวลาที่เสียชีวิต เนื่องจากปัจจัยด้านอายุและเพศของผู้ตายมีผลต่อปริมาณของไอออน (ภัทรฤทัย สุนทร, 2557) จึงเห็นได้ว่า ไม่มีวิธีการใดที่สามารถใช้ประมาณระยะเวลาการตายได้เวลาที่อย่างแน่นอน ถูกต้อง และแม่นยำ เนื่องจากปัจจัยต่างๆ นั้นส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของร่างกายภายหลังตายจึงต้องใช้ความรู้เกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงต่างๆ หลังตายหลายๆ อย่างมาประกอบกัน เพื่อให้ได้เวลาที่ใกล้เคียงที่สุด

(พรพิมล ม่วงไทย, 2554) ได้ทำการศึกษาการเกิดปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชันในเนื้อไก่และผลิตภัณฑ์แปรรูปจากไก่ 3 วิธี คือ ต้ม นึ่ง และทอด ผลการศึกษาพบว่า แนวโน้มปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์จะมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณสูงขึ้นตามระยะเวลาเวลาและระดับอุณหภูมิที่ให้ความร้อน ไก่นึ่งจะพบปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์มากที่สุด และส่วนของไก่ที่พบปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์มากที่สุดคือ อกไก่ (Soyer, Özalp, Dalmıs, & Bilgin, 2010) ได้ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิแช่แข็งกับระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อการเกิดออกซิเดชั่นของไขมันและโปรตีนในเนื้อไก่ จากการศึกษาพบว่า ปริมาณ TBARS มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษาด้วยการแช่แข็งที่นานขึ้น โดยในช่วง 2 เดือนแรก มีอัตราการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและจะชะลอตัวลงในช่วงหลังของการเก็บรักษา เมื่อครบระยะเวลาการเก็บรักษา 6 เดือน พบว่า เนื้อขาไก่และเนื้ออกไก่มีปริมาณ TBARS มากที่สุดเมื่อเทียบกับเดือนอื่นๆ (เดช ดอกพวง & วรเชษฐ์ ขอบใจ, 2556) ได้ทำการศึกษาสภาวะเครียดออกซิเดชั่นของผู้ป่วยเบาหวานและภาวะแทรกซ้อนของเบาหวานในโรงพยาบาลพะเยา โดยการตรวจวัดระดับ MDA ของผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 และกลุ่มควบคุมที่ไม่เป็นโรคเบาหวาน ผลการศึกษาพบว่า ระดับ MDA ของผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 มีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) นอกจากนี้ พบว่าระดับ MDA ของผู้ป่วยที่มีโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดโรคแทรกซ้อนสูงกว่าผู้ป่วยที่ไม่มีโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดโรคแทรกซ้อน 50% ดังนั้น การตรวจวัดระดับ MDA ในโรคเบาหวานสามารถช่วยพยากรณ์โอกาสเสี่ยงต่อการเกิดโรคแทรกซ้อนในระดับหนึ่ง ซึ่งการเกิดภาวะ Oxidative stress ในโรคเบาหวานมีสาเหตุสำคัญคือ ระดับน้ำตาลในเลือดสูง (พิชญาภรณ์ ภาภิรมย์ & รัชนี อานทอง, 2553) ได้ทำการศึกษาระดับ MDA ในปัสสาวะของผู้อบซาวน่าจากอาสาสมัครเพศชายและเพศหญิงที่เข้าอบซาวน่าเป็นเวลา 30 นาที ทำการเก็บตัวอย่างปัสสาวะก่อนและหลังเข้าอบซาวน่า จากการศึกษาสามารถสรุปได้ว่า การอบซาวน่าตามระยะเวลาที่กำหนดไม่พบความแตกต่างของค่า MDA ก่อนและหลังการอบซาวน่าที่มีนัยสำคัญทางสถิติ

จากข้อมูลการศึกษาวิจัยดังกล่าวข้างต้น มาลอนไดอัลดีไฮด์นั้นเป็นสารที่เกิดจากกระบวนการย่อยสลายของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ซึ่งสามารถตรวจพบได้แม้ว่าสิ่งชีวิตนั้นจะยังมีชีวิตอยู่หรือตายไปแล้วก็ตาม อาจมีปัจจัยเรื่องอุณหภูมิหรือปัจจัยอื่นๆ ที่ส่งผลต่อการตรวจพบปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วยเหตุนี้ ผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในซากไก่ที่ช่วงระยะเวลาหลังการตาย

ต่างๆ และอยู่ในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน ถ้าหากปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่ตรวจพบในซากไก่นั้นเพิ่มขึ้นตามระยะเวลา แม้จะอยู่ในสภาพแวดล้อมที่อาจมีปัจจัยอื่นๆ มาเกี่ยวข้อง ก็สามารถนำผลการศึกษาครั้งนี้มาพัฒนา เพื่อตรวจหาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในศพของผู้ตาย สำหรับใช้ประมาณระยะเวลาการตายในงานนิติวิทยาศาสตร์ต่อไปได้

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์กับระยะเวลาหลังการตายและสภาพแวดล้อมของการเก็บศพไก่
2. เพื่อใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาวิธีการประมาณเวลาการตายของศพจากการตรวจหาปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์

สมมติฐานของการวิจัย

1. ระยะเวลามีผลต่อปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในศพไก่ โดยเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ก็จะเพิ่มขึ้นเช่นกัน
2. สภาพแวดล้อมของการเก็บศพไก่หลังตายที่แตกต่างกัน เป็นปัจจัยทำให้ปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่ตรวจพบมีความแตกต่างกัน

ขอบเขตของการวิจัย

ตัวอย่าง

1. ไก่เพศเมีย อายุประมาณ 30-45 วัน จำนวน 3 ตัว น้ำหนักเฉลี่ยตัวละ 2-2.5 กิโลกรัม
2. แหล่งที่มา คือ ซื้อจากโรงเชือดไก่ จังหวัดนครปฐม ซึ่งอยู่ใกล้กับสถานที่ที่ทำการทดลอง
3. เนื้อส่วนอกของไก่ เป็นส่วนที่จะนำมาทำการศึกษาหาปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ตามช่วงเวลาที่กำหนดไว้ สำหรับการศึกษาในครั้งนี้
4. การเก็บศพไก่หลังตายนั้นเป็นการจำลองสภาพแวดล้อมของการเก็บศพหลังตาย 3 แบบ

4.1 ฝังดิน โดยนำดินที่ซื้อมาจากร้านต้นไม้ ซึ่งเป็นดินบริสุทธิ์ ไม่ได้ผสมปุ๋ยคอกหรือซากพืชลงในตะกร้าที่มีขนาดความกว้างของฐาน 26 เซนติเมตร ความสูง 35.5 เซนติเมตร ความกว้างของปาก 32 เซนติเมตร แล้วนำศพไก่ไปวางลงในตะกร้าที่ความลึก 30 เซนติเมตร หลังจากนั้นเอาดินกลบศพไก่ แล้วกดหน้าดินให้แน่น

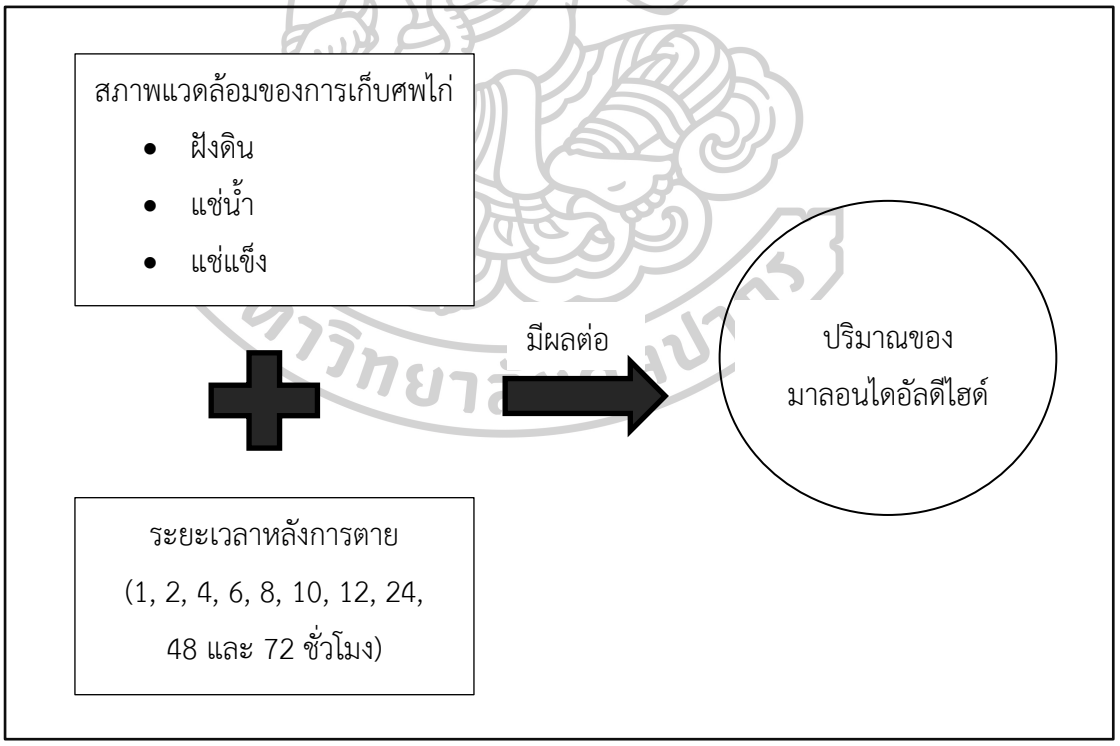
4.2 แช่น้ำ โดยนำน้ำมาจากสระแก้ว มหาวิทยาลัยศิลปากร ใส่ในถังน้ำพลาสติกที่มีขนาดความกว้างของฐาน 28 เซนติเมตร ความสูง 35 เซนติเมตร ความกว้างของปาก 32 เซนติเมตร ประมาณ 2 ใน 3 ของความสูงถังน้ำ แล้วนำไปศพไก่หย่อนลงไปในน้ำ

4.3 แช่แข็ง โดยนำศพไก่ไปแช่ในช่องแช่แข็งของตู้เย็น ที่อุณหภูมิประมาณ –18 องศาเซลเซียส

ข้อจำกัดของการวิจัย

การศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาเชิงทดลอง โดยการเก็บตัวอย่างเนื้อจากศพไก่มาทำการวิเคราะห์หาปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ตามระยะเวลาภายหลังการตาย และสภาพแวดล้อมของการเก็บศพหลังตายที่เป็นการจำลองขึ้นมา ไม่ได้เก็บตัวอย่างจากเนื้อเยื่อของผู้ตาย ผลการศึกษาวิจัยนี้จึงยังไม่สามารถนำไปใช้ในการประมาณระยะเวลาการตายของศพคนได้

กรอบแนวความคิดในการวิจัย



ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถทราบปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในศพไก่ตามช่วงระยะเวลาหลังการตาย
2. สามารถทราบถึงปัจจัยที่มีผลต่อการตรวจพบปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์
3. สามารถนำผลที่ได้จากการตรวจหาปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในศพไก่ไปพัฒนาและประยุกต์ใช้ในงานนิติวิทยาศาสตร์ เพื่อเป็นแนวทางในการประมาณระยะเวลาการตายได้

บทที่ 2
เอกสารและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาวิจัย เรื่องการหาปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในซากไก่เพื่อประโยชน์ทางนิติวิทยาศาสตร์ ผู้วิจัยได้ทำการค้นคว้า เอกสาร ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ตามหัวข้อดังต่อไปนี้

1. นิติวิทยาศาสตร์
2. การชันสูตรพลิกศพ
3. การประมาณเวลาตายและการเปลี่ยนแปลงหลังการตาย
4. ปฏิกิริยาลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น
5. สารประกอบมาลอนไดอัลดีไฮด์
6. Thiobarbituric Acid Reactive Substances Assay (TBARS assay)
7. รายงานการศึกษาและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

นิติวิทยาศาสตร์ (Forensic Science)

นิติวิทยาศาสตร์ (Forensic Science) มาจากคำว่า “นิติ” +“วิทยาศาสตร์” ฉะนั้นคำว่านิติวิทยาศาสตร์ จึงหมายถึง “การนำความรู้ทางวิทยาศาสตร์ทุกสาขามาประยุกต์ใช้ เพื่อประโยชน์แห่งกฎหมาย” ประโยชน์แห่งกฎหมายที่กล่าวถึงนี้ ได้แก่ ประโยชน์ทางนิติบัญญัติในเรื่องการออกกฎหมาย ประโยชน์ของการคลี่คลายปัญหาและการพิสูจน์ข้อเท็จจริงในคดีความ เพื่อผลในการบังคับใช้กฎหมายและการลงโทษ (อรรถพล แช่มสุวรรณ, 2552)

วิทยาศาสตร์จำแนกกว้างๆ ออกได้เป็น 2 ประเภท

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

2. วิทยาศาสตร์ประยุกต์ (Apply Sciences) เป็นสิ่งที่นักวิทยาศาสตร์นำมาประยุกต์พัฒนาเพื่อใช้ประโยชน์แก่มวลมนุษย์

ดังนั้น นิติวิทยาศาสตร์จึงอาจจำแนกออกได้เป็น 2 ประเภท ตามการจำแนกประเภทของวิทยาศาสตร์ กล่าวคือ

1. นิติวิทยาศาสตร์ที่เป็นวิทยาศาสตร์ธรรมชาติ ได้แก่ วิชาพิสูจน์หลักฐาน (Criminalities) รวมถึงการตรวจสถานที่เกิดและเก็บรวบรวมวัตถุพยานในสถานที่เกิดเหตุ

2. นิติวิทยาศาสตร์ที่เป็นวิทยาศาสตร์ประยุกต์ โดยการนำความรู้ทางวิทยาศาสตร์ในสาขาต่างๆ มาประยุกต์ใช้ให้เป็นประโยชน์ต่อกระบวนการยุติธรรม นิติวิทยาศาสตร์ในประเภทนี้จึงมีด้วยกันหลายสาขา ยกตัวอย่างเช่น

2.1 นิติเวชศาสตร์ (Legal Medicine หรือ Forensic Medicine) หมายถึง วิชา แพทย์ที่เกี่ยวข้องกับกฎหมายและยังรวมไปถึงวิชากฎหมายในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการแพทย์และประกอบวิชาชีพของแพทย์ด้วย ขอบเขตของวิชานิติเวชศาสตร์ในปัจจุบันกว้างขวางมากอาจแบ่งได้เป็นส่วนๆ ดังต่อไปนี้

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

2.1.2 นิติพยาธิวิทยา (Forensic Pathology) เป็นการตรวจศพคดี รวมถึงการตรวจพยานวัตถุที่เกี่ยวข้อง เพื่อหาสาเหตุและพฤติการณ์เกี่ยวกับการเสียชีวิต

2.1.3 นิติพิษวิทยา (Forensic Toxicology) เป็นการตรวจวิเคราะห์หายาพิษหรือสารพิษจากศพหรือส่วนของศพหรือจากพยานวัตถุอื่น

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

2.1.5 นิติจิตเวชศาสตร์ (Forensic Psychiatry) เป็นการตรวจวินิจฉัยผู้ป่วยโรคจิตที่เกี่ยวข้องกับคดีต่างๆ

2.1.6 เวชศาสตร์การจราจร (Traffic Medicine) เป็นการตรวจวิเคราะห์หาสาเหตุของอุบัติเหตุว่าเกิดจากปัจจัยของคนเจ็บ คนเมาหรือหลับใน ปัจจัยของรถ เช่น รถเบรคแตกหรือปัจจัยจากสภาพแวดล้อม มีการตรวจร่างกายผู้ขับขี่ยานพาหนะ การตรวจหาความเมา โดยการวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์ในเลือดในคดีจราจร เป็นต้น

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

2.2 นิติวิศวกรรมศาสตร์ (Forensic Engineering) คือ การนำความรู้และประสบการณ์ทางวิศวกรรมศาสตร์มาใช้เพื่อประโยชน์ทางกฎหมาย โดยการค้นหาข้อมูลทางกายภาพของความเสียหายความล้มเหลวในงานด้านวิศวกรรม การตรวจสอบวัสดุ ผลิตภัณฑ์ โครงสร้าง ชิ้นส่วนที่เกิดความเสียหายหรือไม่สามารถใช้งานได้ที่ก่อให้เกิดการเรียกร้องค่าเสียหายรวมถึงการฟ้องร้อง คำร้องส่วนใหญ่มักจะเป็นทางด้านการพิจารณาข้อพิพาททางแพ่งระหว่างคู่กรณีสองฝ่าย นานๆ ครั้งจึงจะมีความจำเป็นต้องใช้ความรู้ทางด้านนี้ เพื่อประโยชน์ในทางคดีอาญา

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

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

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

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

การชันสูตรพลิกศพ

การชันสูตรพลิกศพในประเทศไทย เป็นกระบวนการที่กำหนดขึ้นตามประมวลกฎหมายวิธีพิจารณาความอาญา มาตรา 148 ซึ่งบัญญัติไว้ว่า "เมื่อปรากฏแน่ชัดหรือมีเหตุอันควรสงสัยว่า บุคคลใดตายโดยผิดธรรมชาติหรือตายในระหว่างอยู่ในความควบคุมของเจ้าพนักงาน ให้มีการชันสูตรพลิกศพ เว้นแต่ตายโดยประหารชีวิตตามกฎหมาย" ซึ่งการตายโดยผิดธรรมชาติ คือ การตาย 5 ลักษณะดังต่อไปนี้

1. การฆ่าตัวตาย
2. การถูกผู้อื่นทำให้ตาย
3. การถูกสัตว์ทำร้ายตาย
4. การตายโดยอุบัติเหตุ
5. การตายโดยยังมิปรากฏเหตุ

ส่วนการตายในระหว่างอยู่ในความควบคุมของเจ้าพนักงาน ได้แก่ การตายที่อยู่ในระหว่างควบคุมหรือขัง หรือกักขัง หรือจำคุก หรือคุมตัวของเจ้าพนักงานตามกฎหมาย หรือคำพิพากษา หรือตามคำสั่งของศาลแล้วแต่กรณี ไม่ว่าการตายนั้นจะเป็นการตายโดยผิดธรรมชาติหรือไม่ก็ตาม ทั้งนี้โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อพิสูจน์ความบริสุทธิ์ของเจ้าพนักงานผู้ควบคุมว่าเกี่ยวข้องกับการตายหรือไม่เพียงใด (ประมวลกฎหมายวิธีพิจารณาความแพ่ง วิธีพิจารณาความอาญา, 2547)

การชันสูตรพลิกศพ เป็นกระบวนการทางกฎหมายที่สำคัญในการค้นหาสาเหตุของความตาย เพื่อพิสูจน์ว่า ผู้ตายเป็นใคร ตายที่ไหน ตายเมื่อใด สาเหตุ และพฤติการณ์แห่งความตาย โดยอาศัยความรู้ด้านนิติวิทยาศาสตร์ในการตรวจร่องรอยบาดแผลภายนอกและการผ่าตรวจโดยสมบูรณ์ทั้งร่างกาย การชันสูตรพลิกศพจึงเป็นการพิสูจน์ข้อเท็จจริงเกี่ยวกับการตาย จุดประสงค์ของการชันสูตรพลิกศพ คือ ระบุตัวบุคคลว่าผู้ตายเป็นใคร สาเหตุและพฤติการณ์แห่งความตาย เวลาที่ตาย และใครเป็นผู้ทำให้ตาย การชันสูตรพลิกศพจึงเป็นวิธีการพิเศษในเรื่องพยานวัตถุ และเป็นเรื่องสำคัญในกระบวนการไต่สวนการตายและการดำเนินคดีอาญา

การชันสูตรพลิกศพแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่

1. **การชันสูตรพลิกศพ (Postmortem Examination)** เป็นการตรวจศพภายนอก ซึ่งมีความมุ่งหมายให้กระทำในที่เกิดเหตุเพื่อดูลักษณะภายนอกของศพว่ามีบาดแผล ร่องรอยการถูกทำร้าย หรือการเก็บสารคัดหลั่งต่างๆ เพื่อนำไปตรวจในห้องปฏิบัติการซึ่งแพทย์ทั่วไปสามารถทำได้
2. **การผ่าตรวจ (Autopsy)** คือ การผ่าตรวจศพโดยสมบูรณ์ทั้งร่างกาย โดยมีการผ่าตรวจดูอวัยวะภายในในห้องปฏิบัติการที่ต้องมีเครื่องมือทางการแพทย์และแพทย์ที่ทำการผ่าตรวจ ได้แก่ พยาธิแพทย์ นิติพยาธิแพทย์ หรือแพทย์นิติเวช (จิตตร์วี สุนทรนันท์, 2559)

ดังนั้น การชันสูตรพลิกศพในที่เกิดเหตุจึงเป็นกระบวนการในการตรวจศพภายนอกและเก็บพยานหลักฐานในที่เกิดเหตุเท่านั้น ส่วนการผ่าตรวจนั้นจะดำเนินการภายหลังในห้องปฏิบัติการโดยแพทย์ทางนิติเวชศาสตร์ ซึ่งสามารถทราบสาเหตุของความตายที่แน่นอน

การประมาณเวลาตายและการเปลี่ยนแปลงหลังการตาย

เวลาตาย เป็นวัตถุประสงค์ข้อหนึ่งที่กฎหมายกำหนดให้ผู้ชันสูตรพลิกศพมีหน้าที่ให้ความเห็นและเป็นเรื่องที่มีความสำคัญมากขึ้น ในกรณีที่ต้องสอบสวนคดีที่มีพฤติการณ์เป็นฆาตกรรมหรือการถูกผู้อื่นทำให้ตาย การประมาณเวลาตายอาจจะต้องใช้หลักฐานหลายอย่างประกอบกันแต่หลักฐานที่ใช้แล้วแม่นยำและมีประโยชน์มากที่สุด คือ การเปลี่ยนแปลงหลังการตายของศพ

การเปลี่ยนแปลงหลังการตาย (Postmortem Change) เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นจากกระบวนการทางสรีรวิทยา กระบวนการทางชีวเคมีของร่างกาย กระบวนการทางฟิสิกส์ และกระบวน

การเน่า การตรวจและแปลผลต้องใช้หลักวิชาแพทย์ โดยที่แพทย์สามารถตรวจรูปแบบของการเปลี่ยนแปลงภายหลังตายได้หลายอย่าง แต่จะประมาณเวลาได้เป็นช่วง (Range) อย่างคร่าวๆ วิธีการที่ตรวจนั้นไม่ยาก หากต้องอาศัยความชำนาญและประสบการณ์ในการแปลผลพอสมควร (แสวง บุญเฉลิมวิภาส, 2557)

โดยทั่วไปต้องเข้าใจหลักที่สำคัญของการประมาณเวลาตายว่า

1. ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอันหนึ่งอันใดเพียงอย่างเดียวที่ตรวจพบแล้วสามารถกำหนดระยะเวลาตายได้ชัดเจน
2. การประมาณเวลาตาย ควรเป็นการกะประมาณในช่วงระยะเวลา ไม่ใช่ระบุเวลาชัดเจน
3. สภาพศพยิ่งเน่าเท่าใด ก็ยิ่งประมาณเวลาตายได้แม่นยำน้อยลง
4. การประมาณเวลาตายควรทำทันทีที่มีการพบศพ (พรทิพย์ โรจนสุนันท์, 2546)

สำหรับวิธีการประมาณเวลาตายนั้น ผู้วิจัยได้ค้นคว้าและศึกษาจากเอกสารหลายๆ แหล่งด้วยกัน สามารถแบ่งออกได้ดังนี้

การประมาณเวลาตายจากปฏิกิริยาเหนือชีวิต

ปฏิกิริยาเหนือชีวิต เริ่มนำมาใช้ประมาณเวลาตายครั้งแรกในประเทศทางแถบยุโรป แต่ไม่นิยมใช้ในประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งปฏิกิริยาเหนือชีวิตที่นำมาใช้ในการประมาณเวลาตายนี้อาศัยหลักการที่ว่า เมื่อมีการตายของร่างกาย เซลล์ของอวัยวะต่างๆ ทั้งหมดยังไม่ตาย และจะตายภายในระยะเวลาที่ต่างกัน เช่น เซลล์ตับยังคงมีชีวิตอยู่ประมาณ 40 นาทีภายหลังตาย เซลล์กล้ามเนื้อลายยังคงมีชีวิตอยู่ประมาณ 2 - 8 ชั่วโมงภายหลังตาย เป็นต้น ด้วยหลักการนี้จึงนำมาทดสอบปฏิกิริยาการทำงานของเซลล์กล้ามเนื้อลายต่อสิ่งกระตุ้นชนิดต่างๆ มาใช้ในการประมาณเวลาตาย ซึ่งมีประโยชน์มาก เนื่องจากเป็นการทดสอบที่ไม่ยากนัก สามารถทำการทดสอบในสถานที่พบศพหรือสถานที่เกิดเหตุได้ 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 กล้ามเนื้อทั้งมัดจะหดตัวอย่างรุนแรงในทันที ซึ่งตรวจ

พบได้ภายใน 2ชั่วโมงหลังตาย 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 เศรษฐบรรจง, 2559)

การประมาณเวลาตายจากการเปลี่ยนแปลงของศพ

หลังจากคนตายแล้ว ร่างกายจะมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นเป็นระยะๆ การเปลี่ยนแปลงต่างๆที่เกิดขึ้นจะเป็นเครื่องช่วยประมาณเวลาตายได้ ดังนี้

1. การเย็นตัวของศพ (Algor Mortis หรือ Postmortem Cooling)

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

ได้เท่ากับอุณหภูมิห้องก็สามารถสันนิษฐานได้ว่า คนตายจะต้องเสียชีวิตมาไม่ต่ำกว่า12 ชั่วโมงแล้ว (อรรถพล แช่มสุวรรณ, 2552)

ทั้งนี้ ยังมีผู้คิดสูตรคำนวณโดยอาศัยทฤษฎีทางฟิสิกส์อีกมาหมาย แต่ผลที่ได้ก็ยังไม่แน่นอนและไม่อาจนำมาใช้ได้ในประเทศไทย เพราะอุณหภูมิของอากาศในประเทศไทย โดยเฉลี่ยสูงกว่าต่างประเทศมาก และการที่อุณหภูมิสูงนี่เองเป็นเหตุหนึ่งที่ทำให้ศพเน่าเร็ว จึงไม่อาจใช้วิธีวัดอุณหภูมิของศพมาประมาณหาเวลาตายได้

สำหรับการประมาณเวลาตายจากการเย็นตัวของศพนี้ ในทางปฏิบัติอาจใช้วิธีอย่างหยาบๆ เท่านั้น คือ การใช้มือคลำตัวศพว่ายังอุ่นอยู่หรือเย็นแล้ว ถ้ายังอุ่นอยู่พอประมาณได้ว่าตายมาภายใน 1 ชั่วโมง เพราะอุณหภูมิของผิวหนังนั้นลดลงเร็วในระยะแรกๆ ผิดกับอุณหภูมิในร่างกาย ซึ่งระยะแรกจะลดลงช้า (วิฑูรย์ อึ้งประพันธ์, 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 แช่มสุวรรณ, 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 นิ้วมือ 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 แช่มสุวรรณ, 2552) พึงระวังว่า ภาวะการแข็งตัวของศพภายหลังการตายนี้ ต้องแยกออกภาวการณ์แข็งตัวของศพที่เกิดจากสาเหตุอื่น คือ การแข็งตัวของศพเนื่องจากถูกความร้อน (Heat Stiffening) การแข็งตัวของศพเนื่องจากถูกความเย็น (Cool Stiffening) การเกร็งของกล้ามเนื้อทันทีหลังตาย (Cardaveric Spasm) (วิฑูรย์ อึ้งประพันธ์, 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 ประกอบกับสำไส้ส่วน Caecum อยู่ตื้นและผนังหน้าท้องมักบาง

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 สำไส้ของคนเรามีเชื้อแบคทีเรียชนิดที่ไม่ต้องการออกซิเจน (Anaerobic Bacteria) อยู่จำนวนหนึ่ง ซึ่งจะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วหลังจากร่างกายคนเราตายแล้ว ทำให้เกิดก๊าซภายในลำไส้ และเลือดภายในแขนงหลอดเลือดขนาดเล็กและหลอดเลือดฝอยแตกตัว (Haemolysis) มีผลทำให้ลำไส้เน่าเร็วกว่าอวัยวะอื่น ส่วนมดลูกและต่อมลูกหมากจะเน่าช้า เนื่องจากอวัยวะทั้งสองประกอบด้วยกล้ามเนื้อและเนื้อเยื่อที่แข็ง จึงยังสามารถตรวจอวัยวะดังกล่าวได้ แม้จะตายมาหลายวัน (อรรถพล แช่มสุวรรณ, 2552)

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 ลูกอัณฑะโป่งพองขึ้น

4 วัน หนังกำพร้า (Epidermis) จะพองตัวและลอกหลุดออกไปจากลำตัวเป็นส่วนใหญ่และหมดในบางราย ทั้งนี้ ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของอากาศ

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

การประมาณเวลาตายจากจากวงจรชีวิตของแมลงที่ศพ

วงจรชีวิตของแมลงวันเริ่มตั้งแต่ไข่เป็นตัวหนอน เป็นดักแด้ เป็นตัวแมลงวัน จะใช้เวลาประมาณ 15 – 20 วัน ณ อุณหภูมิห้องปกติที่ประมาณ 30 - 31 องศาเซลเซียส ความชื้น 78 – 80 % ในช่วงแรกจากการวางไข่ถึงวันที่ 5 จะเป็นตัวหนอน ต่อจากนั้นจะหดตัวสั้นลง สร้างแคปซูลห่อหุ้มกลายเป็นดักแด้ สีของแคปซูลจะค่อยๆ เปลี่ยนจากสีน้ำตาลอ่อน – น้ำตาลแก่ – น้ำตาลดำ ในวันที่ 15 จะเป็นตัวแมลง 2 %ในวันที่ 20 จะเป็นตัวแมลงวัน 90 %

แมลงแต่ละชนิดจะมีช่วงชีวิตแตกต่างกัน ดังนั้นเพื่อความแน่นอนในการพิจารณาเวลาตาย ผู้ตรวจสถานที่เกิดเหตุจึงจำเป็นต้องเก็บตัวอย่างของแมลงวันที่พบในสถานที่เกิดเหตุ ซึ่งอาจจะอยู่ในสภาพที่เป็นไข่ ตัวหนอน ดักแด้ หรือตัวแมลงวัน เพื่อให้นักกีฏวิทยาตรวจสอบว่าเป็นแมลงชนิดใดและมีเวลาชองวงจรชีวิตเป็นอย่างไร ในการนำส่งแมลงวันดังกล่าว ผู้ตรวจสถานที่เกิดเหตุจะต้องระบุเวลาและอุณหภูมิในสถานที่เกิดเหตุขณะที่ทำการเก็บตัวอย่างมาด้วย (อรรถพล แช่มสุวรรณ, 2552)

การประมาณเวลาตายจากการทำงานของอวัยวะบางระบบ

1. ปริมาณอาหารในกระเพาะ (Stomach Content)

การตรวจดูปริมาณอาหารที่เหลืออยู่ในกระเพาะอาหาร สามารถบอกเวลาตายที่เกี่ยวข้องกับมื้ออาหารได้ ถึงแม้ว่าระยะเวลาของอาหารที่ผ่านกระเพาะจะมีความแตกต่างกันในแต่ละคนและต่างกันในอาหารแต่ละชนิดด้วย 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 หุยประเสริฐ)

2. ปริมาณน้ำปัสสาวะในกระเพาะปัสสาวะ

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

การประมาณเวลาการเสียชีวิตจากวิธีอื่น

1. การเปลี่ยนแปลงทางเคมีในร่างกาย (Chemical Changes After Death)

มีผู้พยายามศึกษาการตรวจหาปริมาณของธาตุโปแตสเซียมในน้ำในวิเตรียส (ลูกนัยตา) แต่ต่อมาพบว่าความเข้มข้นของโปแทสเซียมที่เพิ่มขึ้นก็ขึ้นอยู่กับอัตราการเน่าเช่นกัน สิ่งแวดล้อมที่ทำให้เน่าเร็ว ความเข้มข้นของโปแตสเซียมก็ขึ้นเร็วด้วย จากการทดลองพบว่าการตรวจหาความเข้มข้นนี้ในช่วง24 ชั่วโมงแรก จะมีความคลาดเคลื่อน 10 ชั่วโมง (คือระยะเวลาที่คำนวณได้ต้องบวกหรือลบ 10 ชั่วโมง) ในช่วง 48 ชั่วโมง มีความคลาดเคลื่อน 20 ชั่วโมง และถ้าทำในช่วง 72 ชั่วโมง จะมีความคลาดเคลื่อนถึง 30 ชั่วโมง การตรวจหาความเข้มข้นของโปแตสเซียมในน้ำในลูกนัยน์ตา เพื่อหาระยะเวลาการตายจึงเกือบไม่มีประโยชน์

นอกจากนี้ สารเคมีต่างๆ ในร่างกายมักมีการเปลี่ยนแปลงเป็นส่วนใหญ่ มีผู้พยายามที่จะใช้อัตราการเปลี่ยนแปลงของสารต่างๆ เหล่านี้เป็นเครื่องชี้เวลาของการตายแต่ไม่สำเร็จ เนื่องจากไม่สามารถทราบได้ว่าขณะตายผู้ตายมีสารนั้นในเลือดประมาณเท่าใด และอัตราการเพิ่มหรือลดของสารนั้นเป็นอย่างไร สารที่เคยทดลองใช้ เช่น กลูโคส สารประกอบไนโตรเจนโปรตีนต่างๆ ปิจุอิตารี่ฮอร์โมน 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 หุยประเสริฐ)

2. สิ่งแวดล้อมในสถานที่เกิดเหตุ

2.1 กิจวัตรประจำวันต่างๆ เช่น แปรงฟัน ทำอาหาร รับประทานอาหาร หนังสือพิมพ์ในตู้หน้าบ้าน ยกตัวอย่าง กรณีที่พบผู้เสียชีวิตอยู่ในบ้านตอนช่วงเวลา 22.00 น. ตรวจดูในห้องครัวพบว่าไก่ถูกหั่นทิ้งไว้บนเขียง สภาพไก่ยังสดอยู่ ดังนั้น สันนิษฐานได้ว่าคนตายน่าจะเสียชีวิตในช่วงเวลาที่กำลังทำอาหารเย็น หรือน่าหลังเวลา 17.00 น. เป็นต้นไป

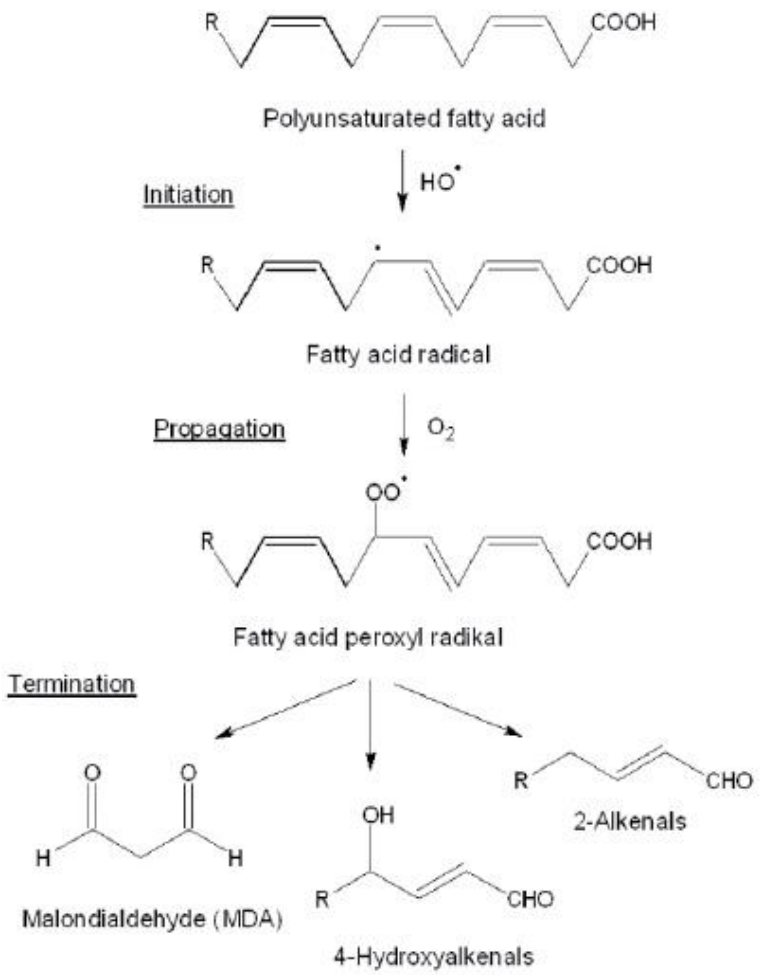
2.2 สภาพภูมิอากาศ เช่น ฝนตก การปิดประตูหน้าต่างกันสาดสภาพเปิดปิดผ้าม่านหรือมู่ลี่บังแดด การเปิดไฟ ยกตัวอย่าง กรณีพบผู้เสียชีวิตในบ้านตอนกลางวัน สภาพไฟในบ้านทุกดวงเปิดอยู่ ดังนั้นอาจสันนิษฐานได้ว่าคนตายน่าจะเสียชีวิตในเวลากลางคืน และเป็นช่วงหัวค่ำซึ่งยังคงทำกิจกรรมหลายอย่าในบ้านจึงเปิดไฟทุกดวง จากสภาพเช่นนี้จะเห็นว่าผู้ตรวจสถานที่เกิดเหตุจำเป็นต้องมีความละเอียดรอบคอบ บันทึกทุกสิ่งทุกอย่างที่พบเห็นหรือสังเกตได้ในสถานที่เกิดเหตุ โดยเฉพาะสิ่งที่เปลี่ยนแปลงได้ง่าย พยายามป้องกันรักษาสถานที่เกิดเหตุให้ดีที่สุดและจำกัดให้เข้าเฉพาะบุคคลที่เกี่ยวข้องเท่านั้น

2.3 พยานวัตถุในสถานที่เกิดเหตุ เช่น นาฬิกาที่หยุดเดิน เนื่องจากถูกลูกปืนในขณะที่เกิดเหตุ (อรรถพล แช่มสุวรรณ, 2552)

ปฏิกิริยาลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น (Lipid Peroxidation)

ปฏิกริยาออกซิเดชั่น (Oxidation) หมายถึง ปฏิกิริยาที่โมเลกุลหรืออะตอมมีการสูญเสียอิเล็กตรอนจากวงโคจรให้กับโมเลกุลที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอน เรียกสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนว่า ตัวรีดิวซ์ (Reducing Agent) และเรียกสารที่ทำหน้าที่รับอิเล็กตรอนนี้ว่า ตัวออกซิไดซ์ (Oxidizing Agent) โดยปฏิกิริยาออกซิเดชั่นมักจะเกี่ยวข้องกับออกซิเจน นอกจากนี้ออกซิเดชั่นยังหมายถึงการเสียไฮโดรเจนอะตอมออกจากโมเลกุลอีกด้วย ปฏิกิริยาออกซิเดชั่นและอนุมูลอิสระนั้นมีความเกี่ยวข้อง เนื่องจากปฏิกิริยานี้ทำให้เกิดอนุมูลอิสระของสารต่างๆ ได้มากมายหลายชนิด และอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นกับสารอื่นๆ เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไป

ปฏิกริยาออกซิเดชั่นของไขมัน (Lipid Peroxidation) เป็นปฏิกิริยาที่เกิดจากอนุมูลอิสระเข้าไปทำปฏิกิริยากับกรดไขมันชนิดที่ไม่อิ่มตัว (Polyunsaturated Fatty Acid, PUFA) จัดเป็น Oxidative Damage โดยในขั้นตอนอินนิทิเอชั่น จะเป็นการดึงไฮโดรเจนอะตอม (H) จากกรดไขมันชนิดที่ไม่อิ่มตัว ทำให้มีอนุมูลอิสระของไขมันเกิดขึ้น (Lipid Radical, L„) Lipid Radical ที่เกิดขึ้นจะสามารถทำปฏิกิริยากับกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวอื่นๆ อีก เกิดเป็น Lipid Radical จำนวนมาก ซึ่ง Lipid Radical เหล่านี้จะมีคุณสมบัติในการเข้าทำปฏิกิริยากับออกซิเจน (O_2) ได้เป็น Lipid Peroxyl Radical (LOO„) ปฏิกิริยาจะดำเนินไปแบบปฏิกิริยาลูกโซ่ (Chain Reaction) ได้อนุมูลอิสระจำนวนมาก และได้ผลผลิตสุดท้ายเป็น Malondialdehyde (MDA) และ 4-hydroxy-nonenol (4-HNE) (Frei, 1994)

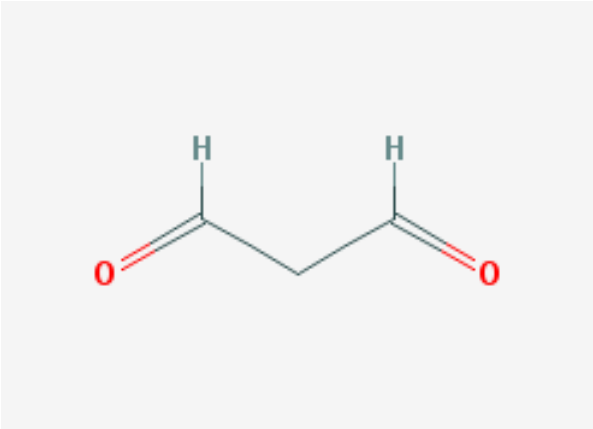


ภาพที่ 1 ขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น
ที่มา: (Mimica-Dukic et al., 2012)

สารประกอบมาลอนไดอัลดีไฮด์

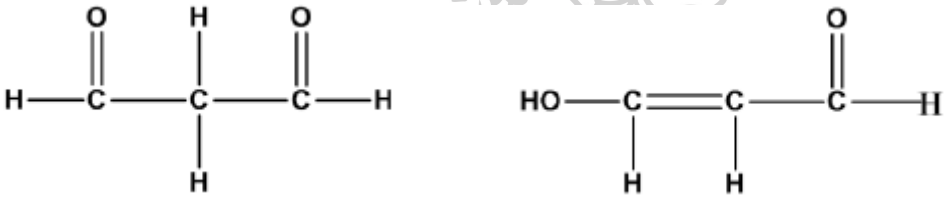
มาลอนไดอัลดีไฮด์ (Malonaldehype หรือ Malondialdehype; MDA) เป็นสารที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบสามตัวและอัลดีไฮด์สองหมู่ มีสูตรโมเลกุล $OCHCH_2CHO$ or $C_3H_4O_2$ น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 72.063 g/mol (PubChem, 2005) ดังโครงสร้างในภาพที่ 2

โครงสร้างโดยทั่วไปของมาลอนไดอัลดีไฮด์ ถ้าละลายในตัวทำละลายไม่มีขั้ว จะอยู่ในรูปของสารประกอบอัลดีไฮด์ (Aldehype) แต่ถ้าละลายในตัวทำละลายที่มีขั้ว จะอยู่ในรูปของสารประกอบอีนอล (Enol) (Trivella, Coussan, & Chiavassa, 2008) ดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 2 โครงสร้างของสารประกอบมาลอนไดอัลดีไฮด์

ที่มา: (PubChem, 2005)



Aldehype Form Enol Form

ภาพที่ 3 สารประกอบมาลอนไดอัลดีไฮด์ในรูปอัลดีไฮด์และอีนอล

ที่มา: (Trivella, Coussan, & Chiavassa, 2008)

ลักษณะทั่วไปของมาลอนไดอัลดีไฮด์เป็นสารที่มีรูปพรรณสัณฐานเป็นของแข็ง (แท่ง) มีจุดหลอมเหลวอยู่ที่อุณหภูมิ 72 - 74 องศาเซลเซียส (PubChem, 2005) หากอยู่ในรูปของผลึกเกลือโซเดียมจะมีจุดหลอมเหลวอยู่ที่อุณหภูมิ 245 องศาเซลเซียส มาลอนไดอัลดีไฮด์บริสุทธิ์จะละลายน้ำได้ดี มีค่า pKa เท่ากับ 4.46 นอกจากนี้ หากอยู่ในรูปของผลึกเกลือโซเดียมสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายมีขั้ว (EtOH, MeOH, H_2O) ในส่วนของตัวทำละลายอินทรีย์อย่าง CH_2Cl_2 จะละลายได้ปานกลาง แต่ในตัวทำละลาย Ether จะไม่ละลาย และสามารถดูดกลืนแสงได้เล็กน้อยที่ความยาวคลื่น 245 นาโนเมตร

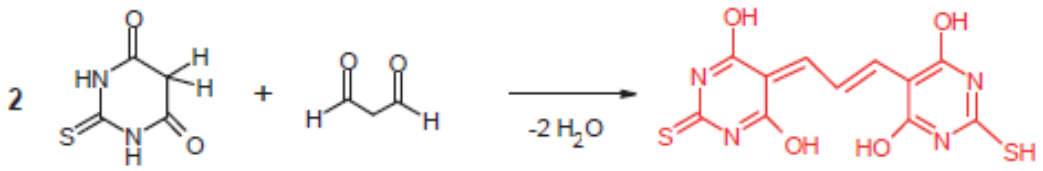
สารประกอบมาลอนไดอัลดีไฮด์ เป็นผลิตภัณฑ์ขั้นที่สองจากการเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชั่น (Lipid Peroxidation) ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว โดยปริมาณของสารประกอบมาลอนไดอัลดีไฮด์จะถูกใช้เป็นสารต้นแบบหรือตัวชี้บอกทางชีววิทยา สำหรับการศึกษากระบวนการลิพิดเปอร์

ออกซิเดชันในสิ่งมีชีวิต ถ้าสารนี้มีปริมาณเพิ่มขึ้นจะแสดงถึงความผิดปกติหรือเสี่ยงต่อการเป็นโรคต่างๆ เช่น โรคเบาหวาน โรคมะเร็ง และโรคพาร์กินสัน สำหรับอุตสาหกรรมอาหาร MDA จะเป็นตัวบ่งบอกถึงการเสื่อมของรสชาติ คุณค่าทางโภชนาการของอาหารในระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บรักษา

Thiobarbituric Acid Reactive Substances Assay (TBARS assay)

สำหรับการตรวจวัด MDA ทำได้หลายวิธีด้วยกัน ซึ่งโดยทั่วไปมักนิยมใช้วิธี Thiobarbituric Acid Reactive Substances Assay (TBARS assay) เนื่องจากขั้นตอนการตรวจวัดทำได้ง่ายไม่ยุ่งยาก และวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ซึ่งให้ความแม่นยำในการตรวจวัดสูง แต่เหมาะสำหรับห้องปฏิบัติการที่มีความพร้อมทางเครื่องมือ นอกจากนี้ยังมีวิธีที่ใช้ในการตรวจวัด MDA และกำลังเป็นที่นิยมมากขึ้น เช่น วิธี Isoluminolchemiluminescence Technique, Surfaceenhanced Raman Spectroscopy (SERS) และ วิธี MDA Immunoblot Kit ซึ่งใช้หลักการ ELISA

หลักการของ TBARS assay คือ MDA จะทำปฏิกิริยากับ TBA (Thiobarbituric Acid) โดยปฏิกิริยาจะเกิดได้ดีที่อุณหภูมิสูงภายใต้สภาวะที่เป็นกรด เกิดเป็นสารประกอบ MDA-TBA Complex ซึ่งมีสีชมพูอมส้ม วัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น535 nm โดยสารประกอบ MDA-TBA Complex ที่เกิดขึ้นนั้น เกิดจากการที่โมเลกุล MDA 1 โมเลกุลทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของ TBA 2 โมเลกุล ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณสารที่มีในตัวอย่าง สำหรับสารประกอบอัลดีไฮด์อื่นๆ เมื่อทำปฏิกิริยากับ TBA จะให้สีที่แตกต่างออกไป สารที่รบกวนการตรวจวัดด้วยวิธีนี้ที่พบนั้น ได้แก่ ไฮโดนเจนเปอร์ออกไซด์ (H2O2), สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) รวมทั้ง Sialic acid, Prostaglandins, Deoxyribose และอัลดีไฮดบ้างชนิดที่รบกวนการตรวจวัด MDA ด้วยวิธีการตรวจวัดสีและการวัดแสง Fluorescence (Gutteridge & Halliwell, 1990)



ภาพที่ 4 การเกิดปฏิกิริยาระหว่าง TABRS กับ MDA จนเกิดสารสีสมพูอมส้ม

ที่มา: (Ilie & Margina, 2012)

รายงานการศึกษาและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

(เดช ดอกพวง & วรเชษฐ์ ขอบใจ, 2556) ได้ทำการศึกษาสภาวะเครียดออกซิเดชั่นของผู้ป่วยเบาหวานและภาะวะแทรกซ้อนของเบาหวานในโรงพยาบาลพะเยา โดยการตรวจวัดระดับ MDA ของผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 และกลุ่มควบคุมที่ไม่เป็นโรคเบาหวาน ผลการศึกษาพบว่าระดับ MDA ของผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 มีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) นอกจากนี้ พบว่าระดับ MDA ของผู้ป่วยที่มีโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดโรคแทรกซ้อนสูงกว่าผู้ป่วยที่ไม่มีโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดโรคแทรกซ้อน 50% ดังนั้น การตรวจวัดระดับ MDA ในโรคเบาหวานสามารถช่วยพยากรณ์โอกาสเสี่ยงต่อการเกิดโรคแทรกซ้อนในระดับหนึ่ง ซึ่งการเกิดภาวะ Oxidative stress ในโรคเบาหวานมีสาเหตุสำคัญคือ ระดับน้ำตาลในเลือดสูง

(จารุวรรณ ไทยกลาง, วรรณนา สุริยาสภาพร, วสันต์ ตั้งโภคานนท์, อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ, & ธีระ ชีโวนรินทร์, 2548) ทำการศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของภาวะเครียดออกซิเดชั่นกับค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิกในสุนัขโตเต็มวัยและสุนัขสูงอายุ โดยใช้ระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในซีรั่มในการบ่งบอกภาวะเครียดออกซิเดชั่น ทำการเก็บเลือดจากสุนัขที่เข้ามารักษาในโรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 40 ตัว โดยเก็บตัวอย่างเลือดจากสุนัขโตเต็มวัยอายุ 3 - 6 ปีจำนวน 20 ตัว และสุนัขสูงอายุ 6 ปีขึ้นไป จำนวน 20 ตัว ตัวอย่างเลือดที่ได้ถูกนำมาวัดระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ ค่าทางโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิก โดยค่าที่ได้ถูกนำมาหาค่าความสัมพันธ์โดยใช้ Pearson.s correlation และทำการเปรียบเทียบค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิกของสุนัขทั้ง 2 กลุ่มโดยใช้ Student .s T test ผลการศึกษาพบว่า ระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์มีความสัมพันธ์กับค่าโลหิตวิทยาคือ จำนวนนิวโทรฟิลและจำนวนโมโนไซด์อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และพบว่าระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในสุนัขสูงอายุมีค่าสูงกว่าในสุนัขโตเต็มวัยอย่างมีนัยสำคัญ

(พิชญาภรณ์ ภาภิรมย์ & รัชนี อานทอง, 2553) ได้ทำการศึกษาระดับ MDA ในปัสสาวะของผู้อบซาวน่าจากอาสาสมัครเพศชายและเพศหญิง ที่เข้าอบซาวน่าเป็นเวลา 30 นาที ทำการเก็บตัวอย่างปัสสาวะก่อนและหลังเข้าอบซาวน่า จากการ ศึกษา สามารถสรุปได้ว่า การอบซาวน่าตามระยะเวลาที่กำหนดไม่พบความแตกต่างของค่า MDA ก่อนและหลัง การอบซาวน่าที่มีนัยสำคัญทางสถิติ

(พรพิมล ม่วงไทย, 2554) ทำการศึกษาเกี่ยวกับวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณของมาลอนไดอัล ดีไฮด์ 2 วิธี คือ วิธีที่ 1 เทคนิคอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี และวิธีที่ 2 เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง พบว่า วิธีที่ 1 เป็นวิธีที่ทดลองง่ายสะดวก รวดเร็ว ตลอดจนมีความถูกต้องสูง โดยมี ค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.24 นาโนโมล/มิลลิลิตร และ 0.81 นาโนโมล/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อนำเอาวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีไปหาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่

แปรรูป 3 วิธี คือ ต้ม นึ่ง และ ทอด พบว่า การทดลองด้วยวิธีดังกล่าวสามารถทดสอบหาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ได้ในระดับดีและมีความไวในการทดสอบสูง จากการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างเนื้อไก่ พบว่า ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์จะมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณขึ้นอยู่กับระยะเวลา ระดับอุณหภูมิที่ให้ความร้อน โดยเมื่อมีการให้ความร้อนในการแปรรูปเนื้อไก่ที่อุณหภูมิสูง ระยะเวลานานจะทำให้มาลอนไดอัลดีไฮด์มีปริมาณสูงขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าวิธีการแปรรูป ตลอดจนส่วนของเนื้อไก่ที่ได้รับการแปรรูปมีผลต่อปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ด้วย ซึ่งพบว่าการแปรรูปให้เนื้ออกไก่สุกด้วยการนึ่งนั้น ทำให้เนื้ออกไก่มีปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์มากที่สุด เนื้ออกไก่ที่ผ่านการย่างมีปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์น้อยที่สุด ผลจากการนำส่วนเนื้ออกไก่, สะโพกไก่ น่องไก่ และปีกไก่ นำไปแปรรูปให้สุก โดยการต้มนาน 5 นาที ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส พบว่า ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่ตรวจพบมีปริมาณแตกต่างกัน โดยปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์พบมากที่สุดในอกไก่ ผลการทดสอบหาปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์จากไก่ที่มีจำหน่ายทั่วไปตามแหล่งที่จำหน่ายต่างๆ กัน พบว่าสามารถตรวจพบปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ แตกต่างกันด้วย แต่อย่างไรก็ตามปริมาณที่พบต่ำมากไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค

(Manat Chaijan, Soottawat Benjakul, Wonnop Visessanguan, & Faustman, 2006) ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลง TBARS ของเนื้อปลาซาร์ดีนในระหว่างการเก็บรักษาด้วยน้ำแข็ง พบว่า ค่า TBARS ในเนื้อปลาซาร์ดีนเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาในการเก็บเพิ่มขึ้น ($P<0.05$) โดยค่าช่วงแรกๆ ของ TBARS จะอยู่ที่ 17.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตัวอย่าง แสดงให้เห็นว่าการเกิดออกซิเดชันของไขมันจะเกิดขึ้นระหว่างการจัดการภายหลังการตายในบางช่วง จากผลการทดลองพบว่า ค่า TBARS จะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยภายในช่วง 3 วันแรกของการเก็บรักษาด้วยน้ำแข็ง หลังจากนั้นจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วถึง 6 วันและค่อยๆ เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาเก็บรักษา ($P<0.05$) หลังจากเก็บรักษาด้วยน้ำแข็ง 15 วัน ค่า TBARS ในเนื้อปลาซาร์ดีนเพิ่มขึ้น 97% เมื่อเทียบกับที่พบในเนื้อปลาสด การเพิ่มขึ้นของ TBARS บ่งชี้ถึงการเกิดผลิตภัณฑ์ขั้นที่สองของการออกซิเดชันของไขมัน TBARS ถูกใช้เพื่อวัดความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาขั้นที่สอง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Aldehydes การเพิ่มขึ้นของ TBARS ในช่วง 9 - 15 วันนับของการเก็บรักษา ซึ่งเกิดขึ้นพร้อมกันกับการลดลงของ PV ที่ลดลง นี่อาจเป็นเพราะการทำลายของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นผลิตภัณฑ์ออกซิเดชันขั้นที่สอง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Aldehyes ในระยะสุดท้ายของการเกิดออกซิเดชันของไขมัน ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า อัตราการเกิดออกซิเดชันของไขมันที่สูงขึ้นอาจจะเกิดขึ้นเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการจัดเก็บรักษา (วันที่ 9 - 15) นี่อาจเป็นเพราะเกิดการปล่อยไอออนอิสระมากขึ้นและโปรออกซิแดนท์อื่นๆ จากกล้ามเนื้อ ซึ่งเสื่อมสภาพมากขึ้นเมื่อเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โปรตีนจากกล้ามเนื้อและโปรตีนฮีมอาจถูกย่อยสลายจากการเพิ่มขึ้นของระยะเวลาการเก็บรักษาในน้ำแข็ง ดังนั้นการเกิดออกซิเดชันของไขมันจึงเพิ่มมากขึ้นในเนื้อปลาซาร์ดีนเมื่อเวลาในการเก็บน้ำแข็งเพิ่มขึ้น

(Soyer et al., 2010) ทำการศึกษาเกี่ยวกับผลของอุณหภูมิแช่แข็งและระยะเวลาการเก็บรักษาด้วยการแช่แข็งต่อการเกิดออกซิเดชั่นของไขมันและโปรตีนในเนื้อไก่ โดยศึกษาในตัวอย่างเนื้อไก่ส่วนขาและส่วนอก เก็บไว้ในอุณหภูมิที่ต่างกัน คือ -7 -12 -18 องศาเซลเซียส และเก็บไว้ที่ -18 องศาเซลเซียสนาน 6 เดือน ผลการศึกษาพบว่า การเกิดออกซิเดชั่นของตัวอย่าง (วัดตามค่า TBARS) มีผลต่อระยะเวลาการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) ปริมาณ TBARS ในเนื้อขาไก่และเนื้ออกไก่เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด โดยเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและมีนัยสำคัญสถิติ ($P<0.01$) ในช่วง 2 เดือนแรกของการแช่แข็งในเนื้อขาไก่ หลังจากนั้นอัตราการเพิ่มขึ้นของ TBARS จะชะลอตัวลงในช่วงระยะเวลา 2 เดือนแรกกับ 6 เดือนซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 2a) ในเนื้ออกไก่พบว่าเพิ่มขึ้น อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.01$) ระหว่างวันที่ 0 เดือนที่ 3 และเดือนที่ 6 หลังจากเก็บรักษาแช่แข็งนาน 6 เดือน พบว่าเนื้อขาไก่และเนื้ออกไก่มีค่า TBARS มากที่สุด ซึ่งแสดงว่ามีการออกซิเดชันของไขมันมากที่สุด อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในเนื้อขาไก่และเนื้ออกไก่กับอุณหภูมิแช่แข็งที่แตกต่างกัน ($P>0.01$) ความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันโดยวัดจากความเข้มข้นของ Malondialdehyde (MDA) เพิ่มขึ้นจาก 0.33 เป็น 0.97 mg MDA/kg ในเนื้อขาไก่และ 0.30 ถึง 0.76 mg MDA/kg ในเนื้ออกไก่ หลังจากเก็บแช่แข็งไว้ 6 เดือน ในการศึกษาหลังจากแช่แข็ง 3 เดือน มีความเข้มข้นของ MDA เพิ่มขึ้น 41% และ 52% ในไขมันที่สกัดจากเนื้ออกไก่และขาไก่ตามลำดับ ในขณะที่หลังจากเก็บรักษา 6 เดือนความเข้มข้นของ MDA ในไขมันจะเพิ่มขึ้น 250% เมื่อเทียบกับระดับของ 2 วันหลังจากการแช่แข็ง จากการหาปริมาณของ mg MDA/kg meat มีค่าเท่ากับ 0.95 และ 0.80 ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการเก็บแช่แข็ง 6 เดือน การค้นพบนี้แสดงให้เห็นว่าการออกซิเดชันของไขมันจะเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บตัวอย่างนานถึง 6 เดือน

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาวิจัยครั้งนี้ เป็นการวิจัยเรื่องการหาปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในซากไก่เพื่อประโยชน์ทางนิติวิทยาศาสตร์ ซึ่งเป็นการดำเนินการศึกษาวิจัยในลักษณะการวิจัยเชิงทดลอง (Experimental Research) โดยมีขั้นตอนและรายละเอียดในการดำเนินการวิจัยดังนี้

สารเคมี

ตารางที่ 1 สารเคมี

สารเคมี	สูตรเคมี	แหล่งที่มา
1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP)	$C_{11}H_{24}O_4$	บริษัท TCI
2-thiobarbituric acid (TBA)	$C_1H_1N_7O_7S$	บริษัท TCI
7.5% trichloroacetic acid (TCA)	$C_2HCl_3O_2$	บริษัท Merck
Sulfuric acid	H_2SO_4	บริษัท RCI Labscan
Octyl gallate	$C_{15}H_{22}O_5$	บริษัท Sigma
EDTA	$C_{10}H_{16}N_2O$	บริษัท Fluka

วัสดุและอุปกรณ์

ตารางที่ 2 วัสดุและอุปกรณ์

วัสดุและอุปกรณ์	แหล่งที่มา
Volumetric flask ขนาด 100 ml	ยี่ห้อ Herka
Volumetric flask ขนาด 50 ml	ยี่ห้อ Stabil
Beaker ขนาด 50 ml	ยี่ห้อ Bomex
Cylinder ขนาด 10 ml	ยี่ห้อ Simax
Pipetteขนาด 1 ml, 2 ml	ยี่ห้อ Qualicolor
Micropipette ขนาด 100 µl	ยี่ห้อ Gilson
Test tube	ไม่ระบุ
กระดาษกรอง No.1	Whatman

เครื่องมือ

ตารางที่ 3 เครื่องมือ

วัสดุและอุปกรณ์	แหล่งที่มา
เครื่อง UV-VIS Spectrophotometer รุ่น HP-8453	ยี่ห้อ Hewlett Packard
เครื่องชั่ง ทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น CP224S	ยี่ห้อ Sartiours
เครื่องชั่ง ทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น SC-060	ยี่ห้อ CK
เครื่องบดเนื้อ	ยี่ห้อ Nation
เครื่องให้ความร้อน (Hot plate) รุ่น C-MAG HS 7	ยี่ห้อ IKA
เครื่องปั่นเหวี่ยง รุ่น Zentrifugen EBA 8	ยี่ห้อ Hettich

ภาพที่ 5 เครื่อง UV-VIS Spectrophotometer รุ่น HP-8453

ตัวอย่าง

ไก่เพศเมีย อายุประมาณ 30 - 45 วัน น้ำหนักเฉลี่ยตัวละ 2 - 2.5 กิโลกรัม จำนวน 3 ตัว ซื้อจากโรงเชือดไก่ จังหวัดนครปฐม

ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

ตอนที่ 1 การศึกษาการสร้างกราฟมาตรฐานของมาลอนไดอัลดีไฮด์ ด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี

การเตรียมสารละลายมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์

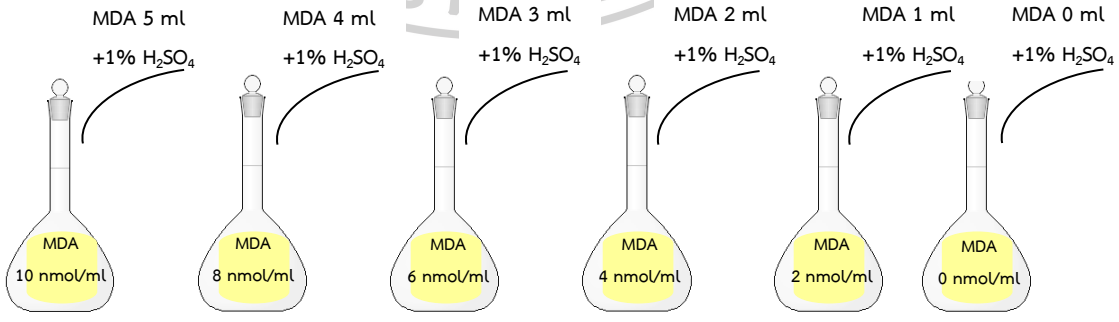
ปิเปต 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP) ปริมาตร 2.32 ml ใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 ml ปรับปริมาตรด้วย 1% H_2SO_4 จนครบ เขย่าให้เข้ากัน นำสารละลายที่เตรียมได้เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จะได้สารละลายสีเหลืองของมาลอนไดอัลดีไฮด์ ความเข้มข้น 100 µmol/ml แล้วปิเปตสารละลายมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่ได้ ปริมาตร 0.1 ml ใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 ml ปรับปริมาตรด้วย 1% H_2SO_4 จนครบ เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ ความเข้มข้น 100 nmol/ml

การเตรียมสารละลายกรด 2-ไทโอบาร์บิทูริก

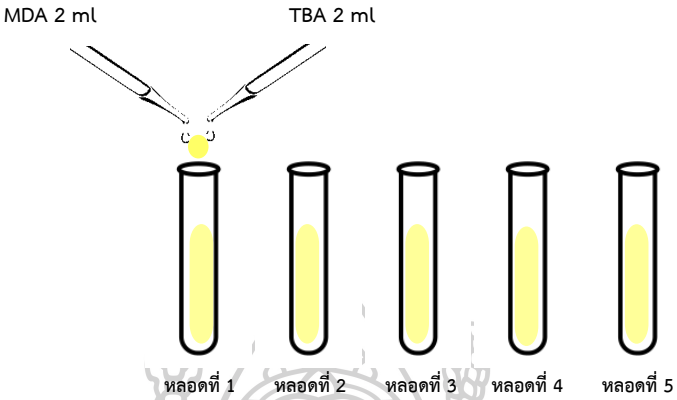
ชั่ง 2-thiobarbituric acid (TBA) 0.5884 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 ml แล้วเติมน้ำกลั่นปริมาตร 40 ml นำไปอุ่นที่อุณหภูมิประมาณ 80 °C คนจนกว่า กรด 2-ไทโอบาร์บิทูริก ละลายหมด ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วจึงถ่ายลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ จะได้สารละลาย กรด 2-ไทโอบาร์บิทูริก ความเข้มข้น 40 mM

ขั้นตอนการสร้างกราฟมาตรฐานของมาลอนไดอัลดีไฮด์

1.1 ปิเปตสารละลายมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ ความเข้มข้น 100 nmol/ml ปริมาตร 5, 4, 3, 2, 1 และ 0 ml ใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 50 ml แล้วปรับปริมาตรด้วย 1% H2SO4 จนครบ เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายมาตรฐานในช่วงความเข้มข้น 10, 8, 6, 4, 2, และ 0 nmol/ml ตามลำดับ

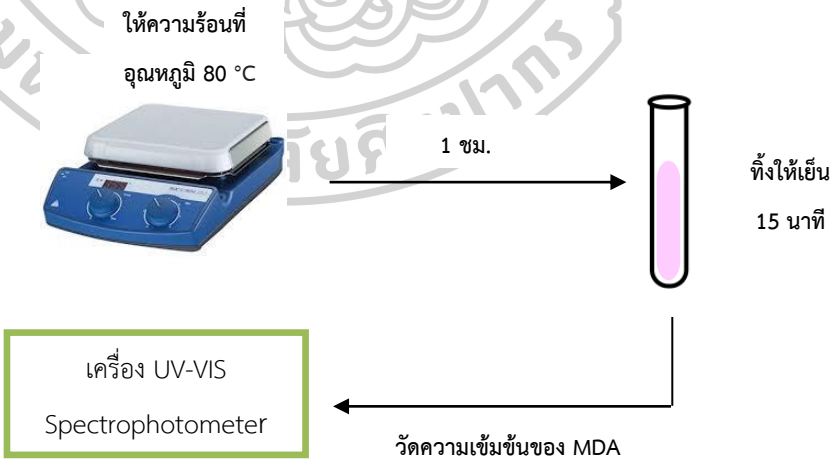


1.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานที่เตรียมได้ในแต่ละช่วงความเข้มข้น ปริมาตร 2 ml ใส่หลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลาย 2-thiobarbituric acid (TBA) ความเข้มข้น 40 mM ปริมาตร 2 ml เขย่าให้เข้ากัน โดยทำในทุกช่วงความเข้มข้นและทำซ้ำความเข้มข้นละ 5 หลอด



1.3 นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนด นำสารละลายอนุพันธ์ที่ได้ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาที

1.4 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปพลอตกราฟมาตรฐาน แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์



ตอนที่ 2 การศึกษาค่าของขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดและค่าของขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ MDA

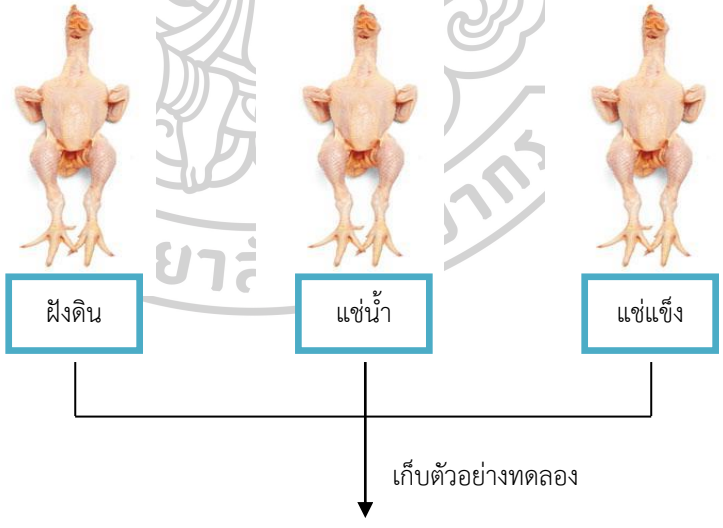
2.1 ปิเปตสารละลายมาลอนไดอัลดีไฮด์ ความเข้มข้น 0 nmol/ml (Blank) ปริมาตร 2 ml ใส่หลอดทดลอง 10 หลอด

2.2 เติมสารละลาย 2-thiobarbituric acid ความเข้มข้น 40 mM ปริมาตร 2 ml แล้วเขย่าให้เข้ากัน นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนด นำสารละลายอนุพันธ์ที่ได้ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาที

2.3 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปคำนวณหาค่า LOD และ ค่า LOQ

ตอนที่ 3 การวิเคราะห์หาปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในศพไก่ ตามวิธี MDA-TBA หรือ TBA Test (Vyncke, 1970) โดยจะศึกษาว่าระยะเวลาและการเก็บศพไก่ในสภาพแวดล้อมที่ต่างกันมีผลต่อปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์หรือไม่

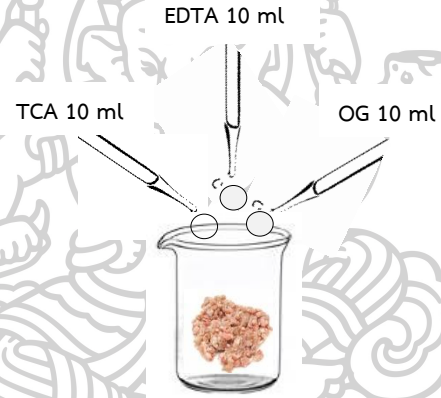
นำไก่ที่ซื้อจากโรงเชือดทั้ง 3 ตัว มาติดป้ายไว้ ดังนี้ ตัวที่ 1 ฝังดิน ตัว 2 แช่น้ำ ตัวที่ 3 แช่แข็ง โดยเริ่มเก็บตัวอย่างและทำการทดลองทันทีที่เวลา 1 ชั่วโมง พร้อมกันทุกขั้นตอนทั้ง 3 ตัว ตามระยะเวลาหลังการตายที่ 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมงตามลำดับมีขั้นตอนดังนี้



3.1 การเตรียมตัวอย่าง

3.1.1 หั่นเนื้อไก่บริเวณอกมาสับหรือบดให้ละเอียด ชั่งมา 15 g ใส่บีกเกอร์ ขนาด 50 ml

3.1.2 เติมสารละลาย TCA ความเข้มข้น 7.5% (w/v), 0.1% (w/v) EDTA, 0.1% (v/v) Octyl gallate อย่างละ 10 ml ปริมาตรรวมกัน 30 ml ผสมและคนให้เข้ากันนาน 1 นาที

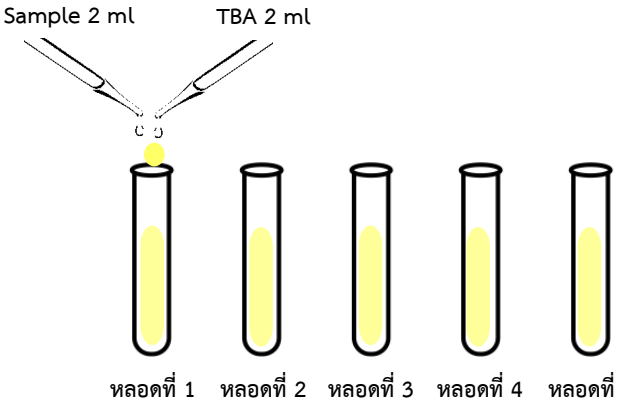


3.1.3 นำตัวอย่างไปกรองผ่านกระดาษกรอง whatman#1

3.1.4 นำสารลายละลายที่ได้ไปเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ 6000 rpm นาน 10 นาที แล้วกรองเอาแต่ส่วนใส

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ ด้วยเทคนิค Spectrophotometry

3.2.1 ปิเปตสารละลายส่วนใส ปริมาตร 2 ml ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลาย 2-thiobarbituric acid ความเข้มข้น 40 mM ปริมาตร 2 ml เขย่าให้เข้ากัน (ทำซ้ำ 5 หลอด)

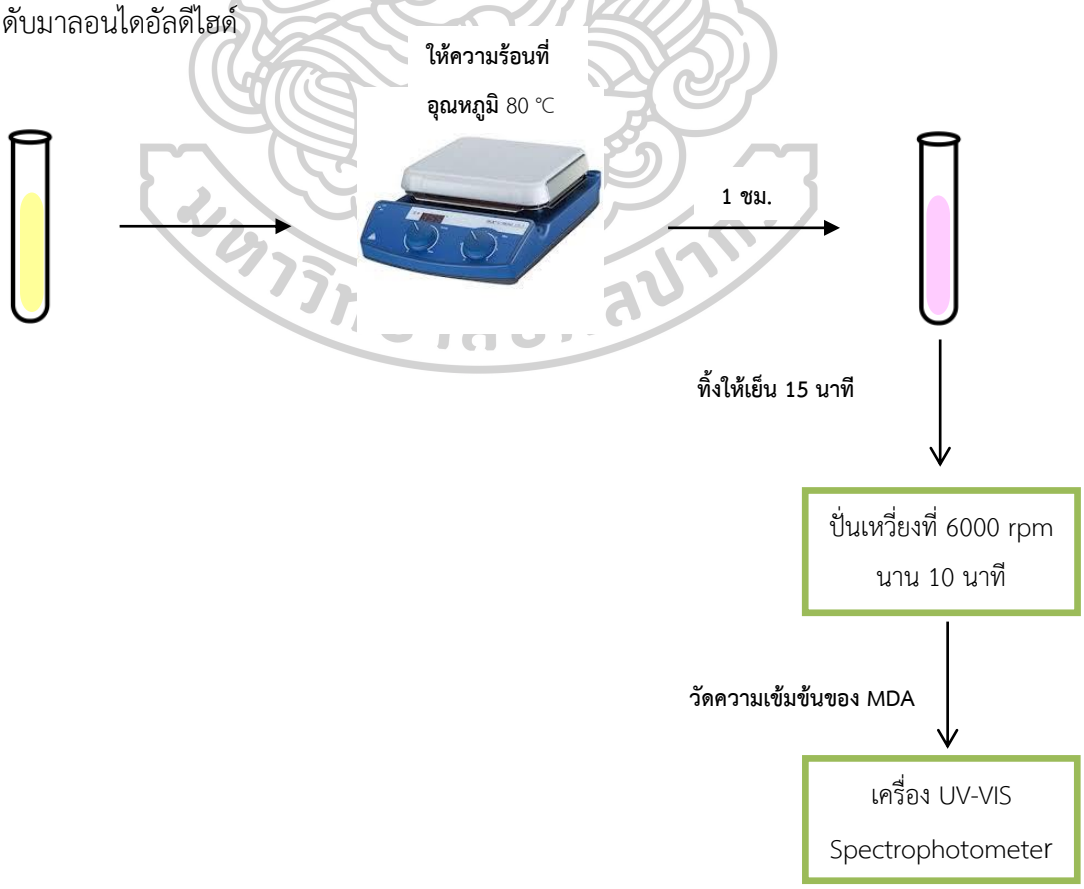


3.2.2 นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาที

3.2.3 นำสารละลายอนุพันธ์ที่ได้ไปเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ 6000 rpm นาน 10 นาที แล้วกรองเอาแต่ส่วนใส

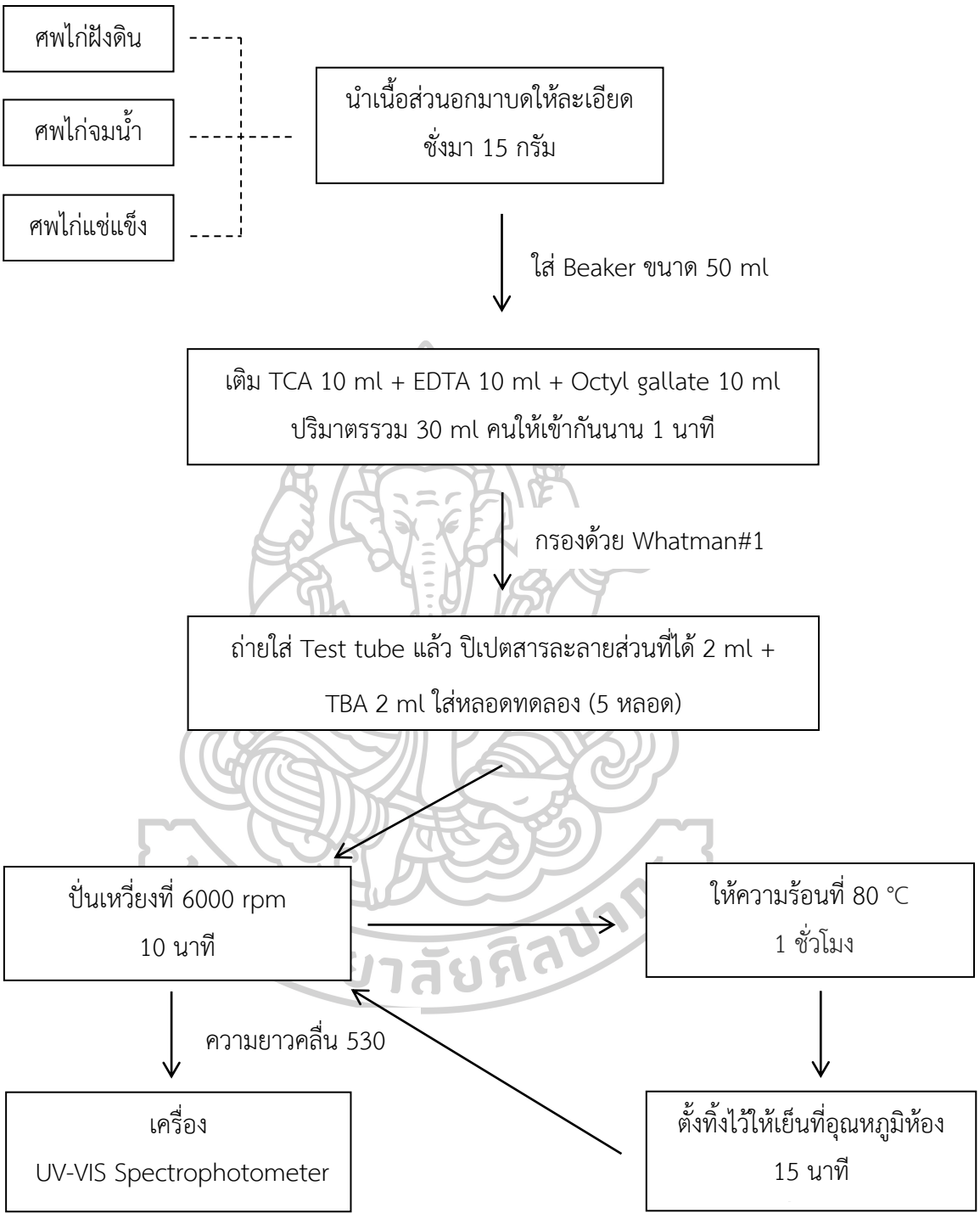
3.2.4 นำสารละลายส่วนใสที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย เครื่อง UV-VIS Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร

3.2.5 นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน แล้วคำนวณหาระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์



การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่ฝังดิน แช่น้ำ และแช่แข็ง โดยการทดสอบ independent sample t test และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยใช้สหสัมพันธ์ (Pearson.s correlation) โดยเป็นการศึกษาความสัมพันธ์ของระยะเวลาหลังการกับปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่ฝังดิน แช่น้ำ และแช่แข็ง



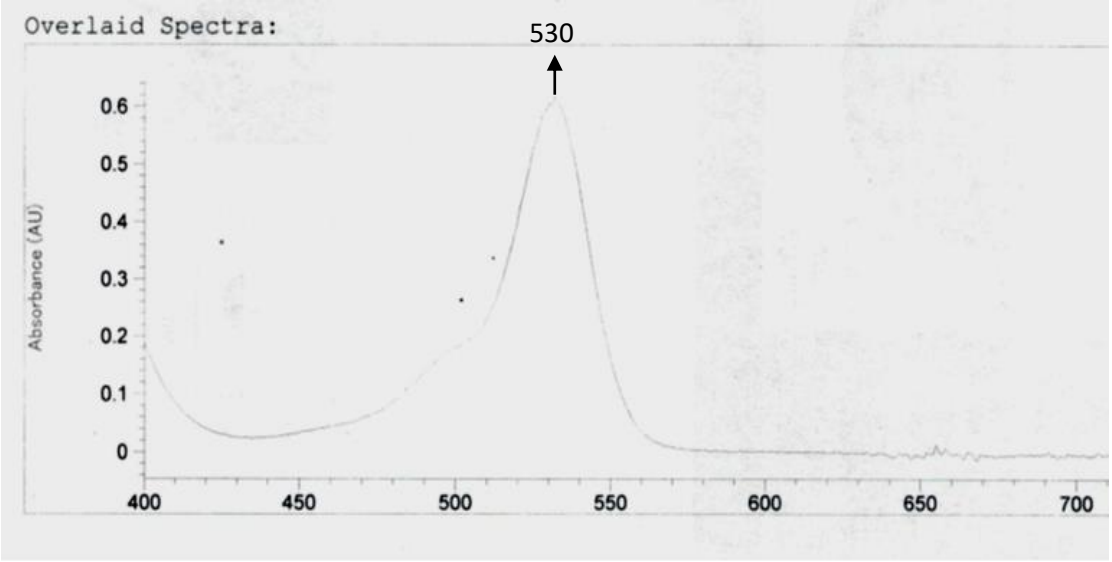
ภาพที่ 6 แผนผังการทดลอง

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

จากการดำเนินการวิจัย เพื่อหาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในศพไก่ที่ฝังดิน ศพไก่ที่แช่น้ำ และศพไก่ที่แช่แข็ง ที่ระยะเวลาภายหลังจากการตายไปแล้ว ตั้งแต่เวลา 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมงตามลำดับ ได้ผลการศึกษาดังนี้

ตอนที่ 1 ผลการศึกษาการสร้างกราฟมาตรฐานของมาลอนไดอัลดีไฮด์ ด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี

จากการทดลองวิเคราะห์หาปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ ด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี โดยทำการทดลองตามวิธี MDA-TBA หรือ TBA Test (Vyncke, 1970) หลังจากเตรียมกราฟมาตรฐานของสารละลายมาลอนไดอัลดีไฮด์ แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 400 - 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer ได้สเปกตรัมการดูดกลืนแสงตามแสดงในภาพที่ 7



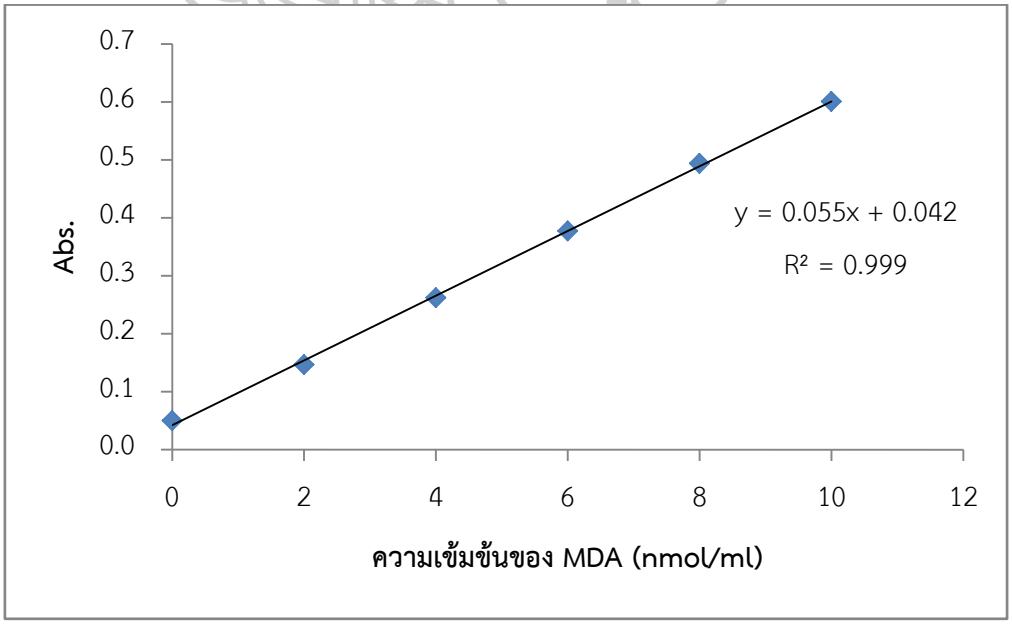
ภาพที่ 7 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์
ที่ความเข้มข้น 10 nmol/ml

บันทึกค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ ความเข้มข้น 10, 8, 6, 4, 2, และ 0 nmol/ml ตามข้อมูลในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ค่า Absorbance ตามความเข้มข้นของ MDA (n = 5)

ความเข้มข้น ของ MDA	**ค่าเฉลี่ย ของ Absorbance (ค่าเฉลี่ย ± SD.)**
0	0.05 ± 0.0094
2	0.15 ± 0.0026
4	0.26 ± 0.0039
6	0.38 ± 0.0026
8	0.49 ± 0.0069
10	0.60 ± 0.0037

จากข้อมูลในตารางที่ 4 พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงของสารแปรผันตามความเข้มข้นของสารมาตรฐาน เมื่อพลอตกราฟจะได้กราฟเส้นตรง มีสมการเส้นตรง Y = 0.0558x + 0.425 มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ R^2 = 0.9993 ตามแสดงในภาพที่ 8



ภาพที่ 8 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย MDA-TBA กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm. (n = 5)

ตอนที่ 2 ค่าของขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดและค่าของขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ MDA

เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย blank จำนวน 10 ครั้ง โดยเตรียมจากสารละลายมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ ความเข้มข้น 0 nmol/ml ปริมาตร 2 ml และ TBA ปริมาตร 2 ml ได้ค่า Absorbance ดังตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 5 ค่า Absorbance ของสารละลายมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์

ครั้งที่	Absorbance
1	0.0079126
2	0.0074291
3	0.0080166
4	0.0095830
5	0.0087075
6	0.0089655
7	0.0089178
8	0.0085454
9	0.0082254
10	0.0076737
ค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$)	0.0083977
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)	0.0006657

คำนวณหาค่า LOD และ LOQ โดย LOD = 3S.D./slope และ LOQ = 10S.D./slope

ผลการคำนวณพบว่า การทดลองด้วยสภาวะที่ใช้นี้มีค่า LOD เท่ากับ 0.03579 นาโนโมล/มิลลิลิตร และ ค่า LOQ เท่ากับ 0.11930 นาโนโมล/มิลลิลิตร

ตอนที่ 3 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในศพไก่ ตามวิธี MDA-TBA หรือ TBA Test (Vyncke, 1970) โดยจะศึกษาว่าระยะเวลาหลังการตายและการเก็บศพไก่ในสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน มีผลต่อระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์หรือไม่

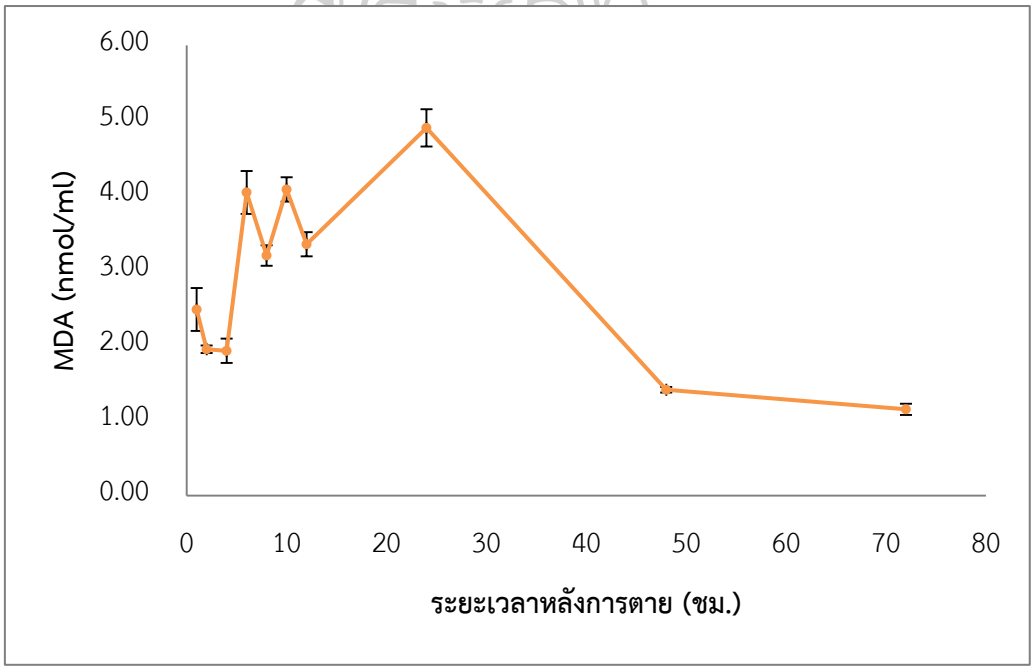
จากการนำเนื้อไก่บริเวณส่วนอกของศพไก่ที่ฝังดิน มาบดให้ละเอียด 15 กรัม แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ ด้วยวิธี TBA Test จากนั้นนำสารละลายส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer โดยทำการทดลองที่ระยะเวลาหลังจากไก่ตายไปแล้วดังนี้ 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ ทำการทดลอง 5 ซ้ำทุกช่วงเวลา แล้วนำค่า Absorbance ที่วัดได้ไปคำนวณหาปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน ได้ผลการทดลองดังนี้

ตารางที่ 6 ปริมาณของ MDA ในศพไก่ที่ฝังดิน (n = 5)

Time (Hours)	MDA (nmol/ml)					$\bar{X}$	S.D.	%RSD
	1	2	3	4	5			
1	2.16	2.76	2.64	2.46	2.40	2.48	0.23	9.14
2	1.89	1.97	1.98	1.96	1.98	1.95	0.04	1.92
4	2.11	1.80	1.86	1.84	2.02	1.93	0.13	6.80
6	3.80	4.27	3.90	3.93	4.30	4.04	0.23	5.73
8	3.23	3.07	3.10	3.32	3.29	3.20	0.11	3.56
10	4.11	4.04	4.25	3.89	4.10	4.08	0.13	3.18
12	3.41	3.16	3.31	3.35	3.50	3.35	0.13	3.83
24	4.55	5.04	4.89	5.00	5.03	4.90	0.20	4.18
48	1.36	1.40	1.45	1.43	1.41	1.41	0.03	2.45
72	1.18	1.06	1.12	1.23	1.17	1.15	0.06	5.55

จากตารางที่ 6 เมื่อพิจารณาผลการทดลองพบว่า ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่ฝังดินมีน้อย หลังจากตายไปแล้ว 1 - 4 ชั่วโมงแรก โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.12 นาโนโมล/มิลลิลิตร และมีแนวโน้มลดลง หลังจากนั้นปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์จะเพิ่มขึ้นหลังจากตายไปแล้ว 6 - 24 ชั่วโมง โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.91 นาโนโมล/มิลลิลิตร และปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์มีแนวโน้มลดลงอีกครั้งหลังจากตายไปแล้ว 24 ชั่วโมง ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่ฝังดินวัดได้มากที่สุดเท่ากับ 4.90 นาโนโมล/มิลลิลิตร ณ ระยะเวลาหลังการตายที่ 24 ชั่วโมง ทั้งนี้ ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่ฝังดินไม่มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาหลังการตาย ($p<0.05$)

เมื่อนำข้อมูลจากตารางที่ 6 ไปพลอตกราฟแสดงแนวโน้มปริมาณของ MDA ในศพไก่ที่ฝังดิน โดยให้แกน y เป็นระยะเวลาหลังการตาย (ชั่วโมง) และแกน x เป็นปริมาณของ MDA (nmol/ml) ในศพไก่ที่ฝังดิน ได้กราฟดังแสดงตามภาพที่ 9



ภาพที่ 9 กราฟแสดงแนวโน้มปริมาณของ MDA ในศพไก่ที่ฝังดิน
ภายหลังการตายที่ระยะเวลาต่างๆ (n = 5)

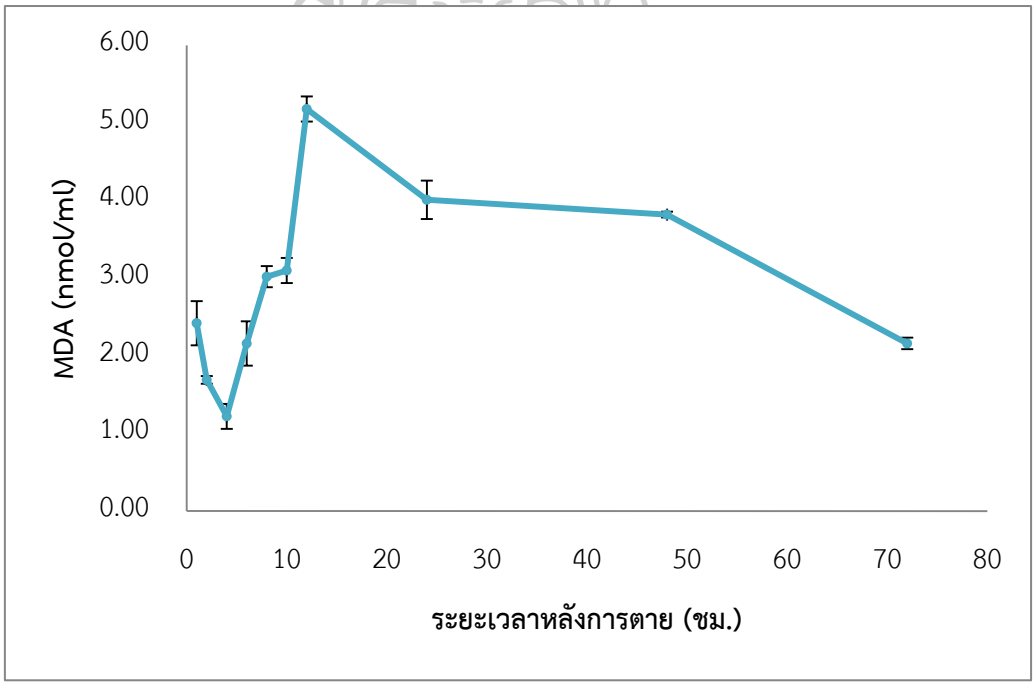
จากการนำเนื้อไก่บริเวณส่วนอกของศพไก่ที่แช่น้ำ มาบดให้ละเอียด 15 กรัม แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ ด้วยวิธี TBA Test จากนั้นนำสารละลายส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer โดยทำการทดลองที่ระยะเวลาหลังจากไก่ตายไปแล้วดังนี้ 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ ทำการทดลอง 5 ซ้ำทุกช่วงเวลา แล้วนำค่า Absorbance ที่วัดได้ไปคำนวณหาปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน ได้ผลการทดลองดังนี้

ตารางที่ 7 ปริมาณของ MDA ในศพไก่ที่แช่น้ำ (n = 5)

Time (Hours)	MDA (nmol/ml)					$\bar{X}$	S.D.	%RSD
	1	2	3	4	5			
1	2.64	2.29	2.15	2.38	2.65	2.42	0.22	9.16
2	1.81	1.59	1.68	1.68	1.67	1.69	0.08	4.63
4	1.17	1.21	1.14	1.24	1.34	1.22	0.08	6.25
6	2.28	2.24	2.01	1.96	2.30	2.16	0.16	7.64
8	3.28	2.83	3.22	2.84	2.92	3.02	0.22	7.21
10	3.17	3.32	2.91	3.02	3.07	3.10	0.16	5.02
12	5.11	4.66	5.64	5.48	5.03	5.18	0.39	7.44
24	4.24	3.90	4.05	3.99	3.89	4.01	0.14	3.52
48	3.82	3.65	4.14	3.88	3.61	3.82	0.21	5.58
72	2.11	2.45	1.98	1.97	2.31	2.16	0.21	9.76

จากตารางที่ 7 เมื่อพิจารณาผลการทดลองพบว่า ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่แช่น้ำมีน้อยเช่นกัน หลังจากตายไปแล้ว 1 - 4 ชั่วโมงแรก โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.78 นาโนโมล/มิลลิลิตร และมีแนวโน้มลดลง หลังจากนั้นปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์จะเพิ่มขึ้นหลังจากตายไปแล้ว 6 - 12 ชั่วโมง โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.37 นาโนโมล/มิลลิลิตร และปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์มีแนวโน้มลดลงอีกครั้งภายหลังจากการตายไปแล้ว 12 ชั่วโมง ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่แช่น้ำวัดได้มากที่สุด เท่ากับ 5.18 นาโนโมล/มิลลิลิตร ณ ระยะเวลาหลังการตายที่ 12 ชั่วโมง ทั้งนี้ ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่แช่น้ำไม่มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาหลังการตาย ($p<0.05$)

เมื่อนำข้อมูลจากตารางที่ 7 ไปพลอตกราฟแสดงแนวโน้มปริมาณของ MDA ในศพไก่ที่แช่น้ำ โดยให้แกน y เป็นระยะเวลาหลังการตาย (ชั่วโมง) และแกน x เป็นปริมาณของ MDA (nmol/ml) ในศพไก่ที่แช่น้ำ ได้กราฟดังแสดงตามภาพที่ 10



ภาพที่ 10 กราฟแสดงแนวโน้มปริมาณของ MDA ในศพไก่ที่แช่น้ำ
ภายหลังการตายที่ระยะเวลาต่างๆ (n = 5)

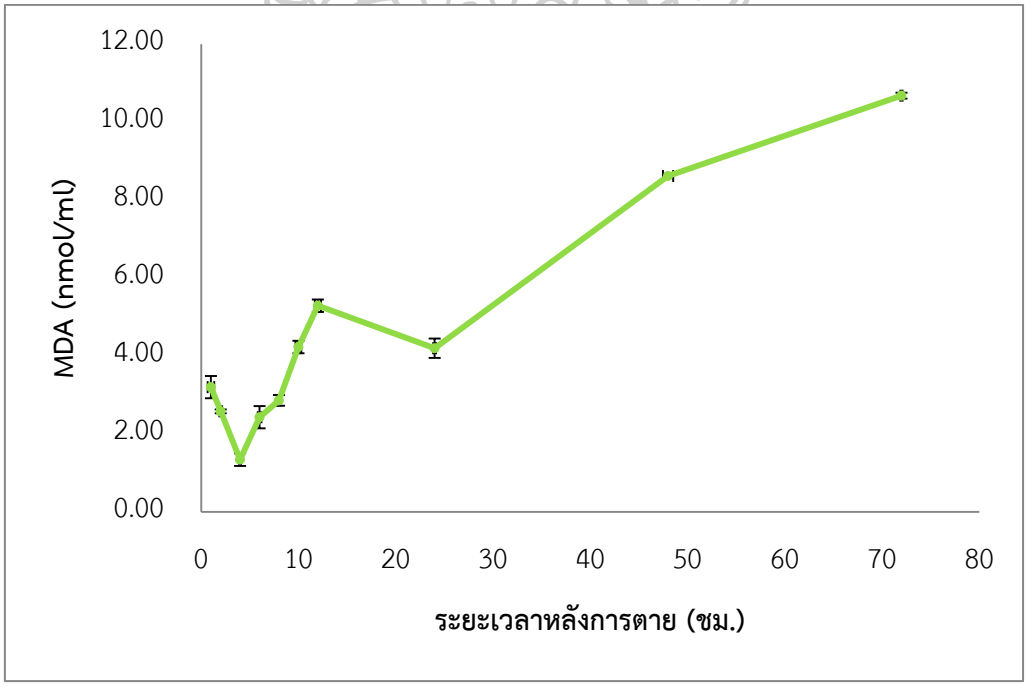
จากการนำเนื้อไก่บริเวณส่วนอกของศพไก่ที่แช่แข็ง มาบดให้ละเอียด 15 กรัม แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ ด้วยวิธี TBA Test จากนั้นนำสารละลายส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer โดยทำการทดลองที่ระยะเวลาหลังจากไก่ตายไปแล้วดังนี้ 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ ทำการทดลอง 5 ซ้ำทุกช่วงเวลา แล้วนำค่า Absorbance ที่วัดได้ไปคำนวณหาปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน ได้ผลการทดลองดังนี้

ตารางที่ 8 ปริมาณของ MDA ในศพไก่ที่แช่แข็ง (n = 5)

Time (Hours)	MDA (nmol/ml)					$\bar{X}$	S.D.	%RSD
	1	2	3	4	5			
1	3.05	2.87	3.12	3.51	3.43	3.20	0.27	8.42
2	2.75	2.49	2.49	2.61	2.53	2.58	0.11	4.26
4	1.27	1.41	1.35	1.27	1.40	1.34	0.07	5.02
6	2.35	2.22	2.44	2.60	2.55	2.43	0.15	6.27
8	2.77	2.80	2.86	2.85	3.02	2.86	0.10	3.40
10	4.26	4.40	3.94	4.04	4.51	4.23	0.24	5.69
12	5.71	5.10	5.27	5.31	5.08	5.29	0.25	4.78
24	4.38	4.11	4.10	4.14	4.24	4.20	0.12	2.81
48	8.63	9.25	8.73	8.23	8.26	8.62	0.42	4.83
72	10.72	10.79	10.68	10.64	10.55	10.68	0.09	0.84

จากตารางที่ 8 เมื่อพิจารณาผลการทดลองพบว่า ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่แช่แข็งมีน้อย หลังจากตายไปแล้ว 1 - 4 ชั่วโมงแรก โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.37 นาโนโมล/มิลลิลิตร และมีแนวโน้มลดลง หลังจากนั้นปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ภายหลังจากการตายไปแล้ว 6 - 72 ชั่วโมง โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.47 นาโนโมล/มิลลิลิตร ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่แช่แข็งวัดได้มากที่สุด เท่ากับ 10.68 นาโนโมล/มิลลิลิตร ณ ระยะเวลาหลังการตายที่ 72 ชั่วโมง ทั้งนี้ ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่แช่แข็งมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกับระยะเวลาหลังการตายอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่มากขึ้นจะสัมพันธ์กับระยะเวลาหลังการตายที่นานขึ้น

เมื่อนำข้อมูลจากตารางที่ 8 ไปพลอตกราฟแสดงแนวโน้มปริมาณของ MDA ในศพไก่ที่แช่แข็ง โดยให้แกน y เป็นระยะเวลาหลังการตาย (ชั่วโมง) และแกน x เป็นปริมาณของ MDA (nmol/ml) ในศพไก่ที่แช่แข็ง ได้กราฟดังแสดงตามภาพที่ 11



ภาพที่ 11 กราฟแสดงแนวโน้มความเข้มข้นของ MDA ในศพไก่ที่แช่แข็งภายหลังการตายที่ระยะเวลาต่างๆ (n = 5)

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบปริมาณของ MDA ในศพไก่ที่ฝังดิน แช่น้ำ และแช่แข็งภายหลังการตายที่ระยะเวลาต่างๆ

ระยะเวลา	ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ (nmol/ml) n = 5		
(ชม.)	ไก่ฝังดิน	ไก่แช่น้ำ	ไก่แช่แข็ง
1	2.48 ± 0.23^{c}	2.42 ± 0.22^{c}	$3.20 \pm 0.27^{a,b}$
2	$1.95 \pm 0.04^{b,c}$	$1.69 \pm 0.08^{a,c}$	$2.58 \pm 0.11^{a,b}$
4	$1.93 \pm 0.13^{b,c}$	$1.22 \pm 0.08^{a,c}$	$1.34 \pm 0.07^{a,b}$
6	$4.04 \pm 0.23^{b,c}$	$2.16 \pm 0.16^{a,c}$	$2.43 \pm 0.15^{a,b}$
8	3.20 ± 0.11^{c}	3.02 ± 0.22^{ns}	2.86 ± 0.10^{a}
10	4.08 ± 0.13^{b}	$3.10 \pm 0.16^{a,c}$	4.23 ± 0.24^{b}
12	$3.35 \pm 0.13^{b,c}$	5.18 ± 0.30^{a}	5.29 ± 0.25^{a}
24	$4.90 \pm 0.20^{b,c}$	4.01 ± 0.14^{a}	4.20 ± 0.12^{a}
48	$1.41 \pm 0.03^{b,c}$	$3.82 \pm 0.20^{a,c}$	$8.62 \pm 0.42^{a,b}$
72	$1.15 \pm 0.06^{b,c}$	$2.16 \pm 0.21^{a,c}$	$10.68 \pm 0.09^{a,b}$

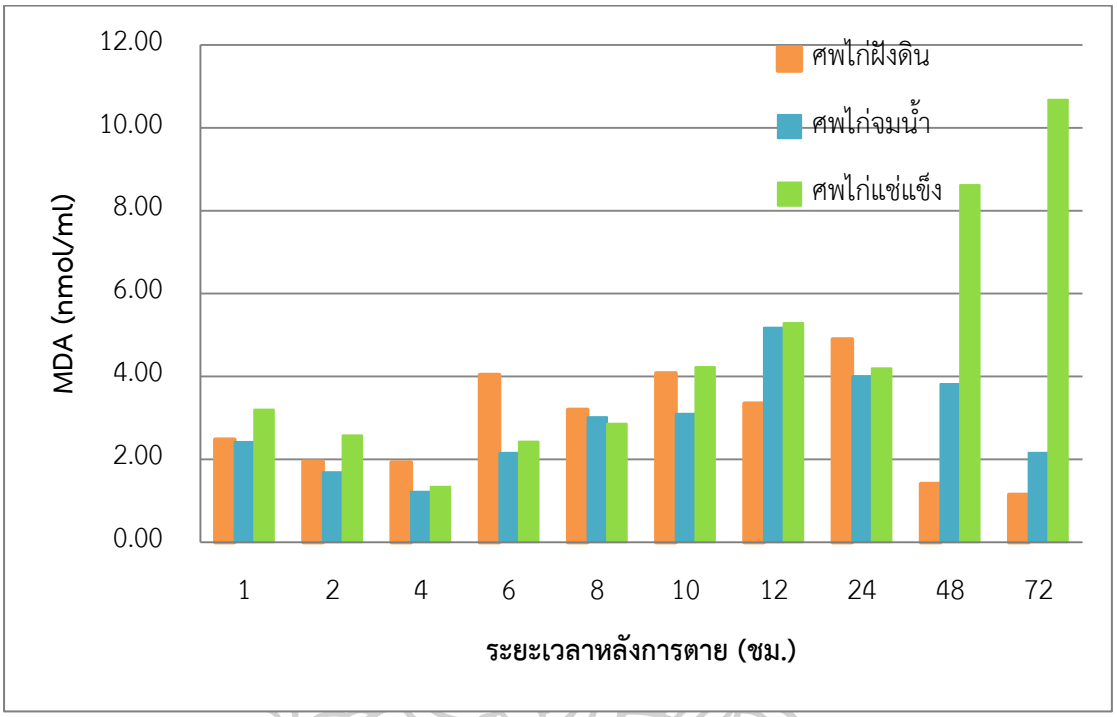
หมายเหตุ : ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย±SD.) ที่ยกกำลังตัวอักษรต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

a, b, c = ไก่ฝังดิน, ไก่แช่น้ำ, ไก่แช่แข็ง

ns = มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

จากตารางที่ 9 เมื่อเปรียบเทียบปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ทั้ง 3 กลุ่ม คือ ฝังดิน แช่น้ำ และแช่แข็ง ผลการศึกษาพบว่า ในช่วงระยะเวลาหลังการตาย 1 – 4 ชั่วโมง ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่แช่แข็งมีมากกว่าตัวอย่างไก่ที่ฝังดินและตัวอย่างไก่ที่แช่น้ำตามลำดับ ในช่วงระยะเวลาหลังการตาย 6 – 8 ชั่วโมง ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่ฝังดินจะมีมากกว่าตัวอย่างไก่ที่แช่แข็งและตัวอย่างไก่ที่แช่น้ำ ส่วนในช่วงระยะเวลาหลังการตาย 10 – 12 ชั่วโมง ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่แช่แข็งมีมากกว่าตัวอย่างไก่ที่แช่น้ำและตัวอย่างไก่ที่ฝังดิน หลังจากช่วงระยะเวลาหลังการตาย 48 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่า ตัวอย่างไก่ที่แช่แข็งมีปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์มากที่สุดเมื่อเทียบกับตัวอย่างไก่ที่ฝังดินและตัวอย่างไก่ที่แช่น้ำ และยังมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ตามระยะเวลาหลังการตาย ตรงกันข้ามกับตัวอย่างไก่ที่ฝังดินและตัวอย่างไก่ที่แช่น้ำ ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์มีแนวโน้มลดลงหลังจากตายไปแล้ว 48 ชั่วโมง ในแต่ละชั่วโมงหลังการตาย ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ของตัวอย่างไก่ทั้ง 3 กลุ่ม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ยกเว้น

ชั่วโมงที่ 8 ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่แช่น้ำมีความแตกต่างกับตัวอย่างไก่ที่แช่แข็งและตัวอย่างไก่ที่ฝังดินอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)



ภาพที่ 12 กราฟเปรียบเทียบปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่ฝังดิน แช่น้ำ และแช่แข็ง ภายหลังการตายที่ระยะเวลาต่างๆ

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 5
สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การหาปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในซากไก่เพื่อประโยชน์ทางนิติวิทยาศาสตร์ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์กับระยะเวลาหลังการตาย และสภาพแวดล้อมของการเก็บศพไก่ เพื่อเปรียบเทียบปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่อยู่ในสภาพแวดล้อมหลังการตายที่แตกต่างกัน และเพื่อใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาวิธีการประมาณเวลาการตายของศพจากการตรวจหาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ โดยทำการเก็บตัวอย่างจากเนื้อบริเวณส่วนอกของศพไก่ที่เก็บไว้ในสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน คือ ฝังดิน แช่น้ำ และแช่แข็ง มาทำการวิเคราะห์หาปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ ตามวิธี TBA Test จากนั้นนำสารละลายส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer นำค่า Absorbance ที่วัดได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน คำนวณหาปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน แล้วนำค่าปริมาณที่ได้ไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ซึ่งจะทำการเก็บตัวอย่างมาทดลองที่ระยะเวลาหลังจากไก่ตายไปแล้ว 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมงตามลำดับ

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษาวิจัย สามารถสรุปและอภิปรายผลการวิจัยได้ดังนี้

1. การศึกษาการสร้างกราฟมาตรฐานของมาลอนไดอัลดีไฮด์ ด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี พบว่า หลังจากเตรียมกราฟมาตรฐานของสารละลายมาลอนไดอัลดีไฮด์ แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 400 - 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer สารละลายมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ ดูดกลืนคลื่นแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร โดยมีค่าการดูดกลืนแสงของสารแปรผันตามความเข้มข้นของสารมาตรฐาน มีสมการเส้นตรง Y = 0.0558x + 0.425 มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ R^2 = 0.99

2. การศึกษาวิจัยนี้ มีการคำนวณหาค่า Limit of Detection (LOD) หมายถึง ค่าของขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด และ Limit of Quantitation (LOQ) หมายถึง ค่าของขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ จากผลการคำนวณหาค่า LOD และ LOQ พบว่า การทดลองด้วยสภาวะที่ใช้นี้มีค่า LOD เท่ากับ 0.04 นาโนโมล/มิลลิลิตร และ ค่า LOQ เท่ากับ 0.12 นาโนโมล/มิลลิลิตร

3. ผลของระยะเวลาหลังการตายที่มีต่อปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ การเปลี่ยนแปลงของปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมในการเก็บศพภายหลังการตาย โดยปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่แช่แข็งมีความสัมพันธ์กับระยะเวลาหลังการตาย เมื่อระยะเวลาในการแช่แข็งนานขึ้น ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ก็จะเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัย

การเปลี่ยนแปลงของไขมันในเนื้อปลาซาร์ดีนระหว่างการเก็บรักษาด้วยน้ำแข็ง พบว่า ค่า MDA ในเนื้อปลาซาร์ดีนเพิ่มขึ้น เมื่อเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น เนื่องจากมีปริมาณ phospholipid สูง ซึ่งอาจมาจากผิวหนังและชั้นไขมันใต้ผิวหนัง จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันได้อย่างรวดเร็ว (Manat Chaijan et al., 2006) ตรงกันข้ามกับปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่ฝังดินและตัวอย่างที่ไก่แช่น้ำซึ่งที่ไม่มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาหลังการตาย

4. ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่อยู่ในสภาพแวดล้อมหลังการตายที่แตกต่างกันปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่มีความแตกต่างกันเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน โดยปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่แช่แข็งมีมากที่สุด รองลงมา คือ ตัวอย่างไก่ที่แช่น้ำ และน้อยที่สุด คือ ตัวอย่างไก่ที่ฝังดิน ทั้งนี้ความแตกต่างดังกล่าวขึ้นอยู่กับปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่ส่งผลต่อกระบวนการเน่าสลายและการเกิดปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชั่น ได้แก่ อุณหภูมิ, ความชื้น, pH, และองค์ประกอบของดิน เป็นต้น (Ioan et al., 2017) หากตัวอย่างไก่มีการเน่าสลายเร็ว ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮล์ที่ตรวจพบก็จะมีน้อยลง จึงอาจสรุปได้ว่า การประมาณระยะเวลาภายหลังการตายจากการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ MDA สามารถใช้ได้ในเฉพาะศพแช่แข็งเท่านั้น และสันนิษฐานว่าสามารถใช้ประมาณระยะเวลาภายหลังการตายของศพได้แม้ว่าจะตายมามากกว่า 72 ชั่วโมงแล้วก็ตาม เพราะอุณหภูมิต่ำจะหน่วงให้เกิดกระบวนการเน่าสลายของศพช้าลง จึงทำให้ยังสามารถนำตัวอย่างเนื้อมาทำการวิเคราะห์หาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ได้ ในทางตรงกันข้าม ตัวอย่างไก่ที่ฝังดินและตัวอย่างไก่ที่แช่น้ำ อาจจะไม่สามารถนำตัวอย่างเนื้อมาทำการวิเคราะห์หาปริมาณมาลอนไดอังดีไฮด์ได้เลยหลังจากการตายมากกว่า 72 ชั่วโมง เพราะศพไก่เกิดกระบวน การเน่าสลาย จึงทำให้เนื้อเยื่อต่างๆ ถูกย่อยและสลายไป

ข้อเสนอแนะ

ข้อเสนอแนะจากการวิจัย

1. ควรชั่งน้ำหนักไก่และอายุที่แน่นอนของไก่แต่ละตัว เพื่อจะได้ทราบว่าปัจจัยด้านอายุและน้ำหนักมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์หรือไม่

2. ควรเพิ่มจำนวนกลุ่มตัวอย่างให้มากขึ้น เพื่อผลการวิจัยจะได้มีความแน่นอนและเป็นการยืนยันความถูกต้องมากยิ่งขึ้นไปอีก

3. ควรวัดอุณหภูมิในดิน น้ำ และช่องแช่แข็งในตู้เย็นตลอดการทำวิจัยแล้วจดบันทึกไว้เพื่อทราบอุณหภูมิที่แน่นอนหรือการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่เกิดขึ้นได้ขณะทำการวิจัยที่ระยะเวลาต่างๆ

4. การนำปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ไปประมาณระยะเวลาหลังการตาย ยังไม่ควรนำไปใช้ เนื่องจากการศึกษาวิจัยนี้เป็นการศึกษาวิจัยเชิงทดลองในศพไก่

ข้อเสนอแนะครั้งต่อไป

1. ควรทำการศึกษาวิจัยในไก่เพศผู้หรือไก่ที่มีอายุมากกว่า 45 วัน หรือไก่ที่มีน้ำหนักแตกต่างกัน เพื่อเปรียบเทียบปัจจัยด้านเพศ อายุ และน้ำหนักว่ามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์หรือไม่

2. ควรทำการศึกษาวิจัยในช่วงระยะเวลาหลังการตายที่นานขึ้น เพื่อศึกษาว่าในสภาพแวดล้อมต่างๆ ไม่สามารถหาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ได้ในช่วงระยะเวลาเท่าใด

3. เนื่องจากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ เป็นการจำลองสภาพแวดล้อมในการเก็บศพหลังจากการตายขึ้นมา ควรทำการศึกษาในสภาพแวดล้อมจริง เพื่อจะได้ทราบปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่ใกล้เคียงความเป็นจริงมากที่สุด

4. เนื่องจากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ เป็นการศึกษาหาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในเนื้อศพไก่ ควรทำการศึกษาในศพคน โดยอาจหาความเข้มข้นของมาลอนไดอัลดีไฮด์จากซีรั่ม พลาสมา หรือปัสสาวะ เพื่อจะได้นำผลไปประยุกต์ใช้ในการประมาณระยะเวลาหลังการตายได้จริงในอนาคต

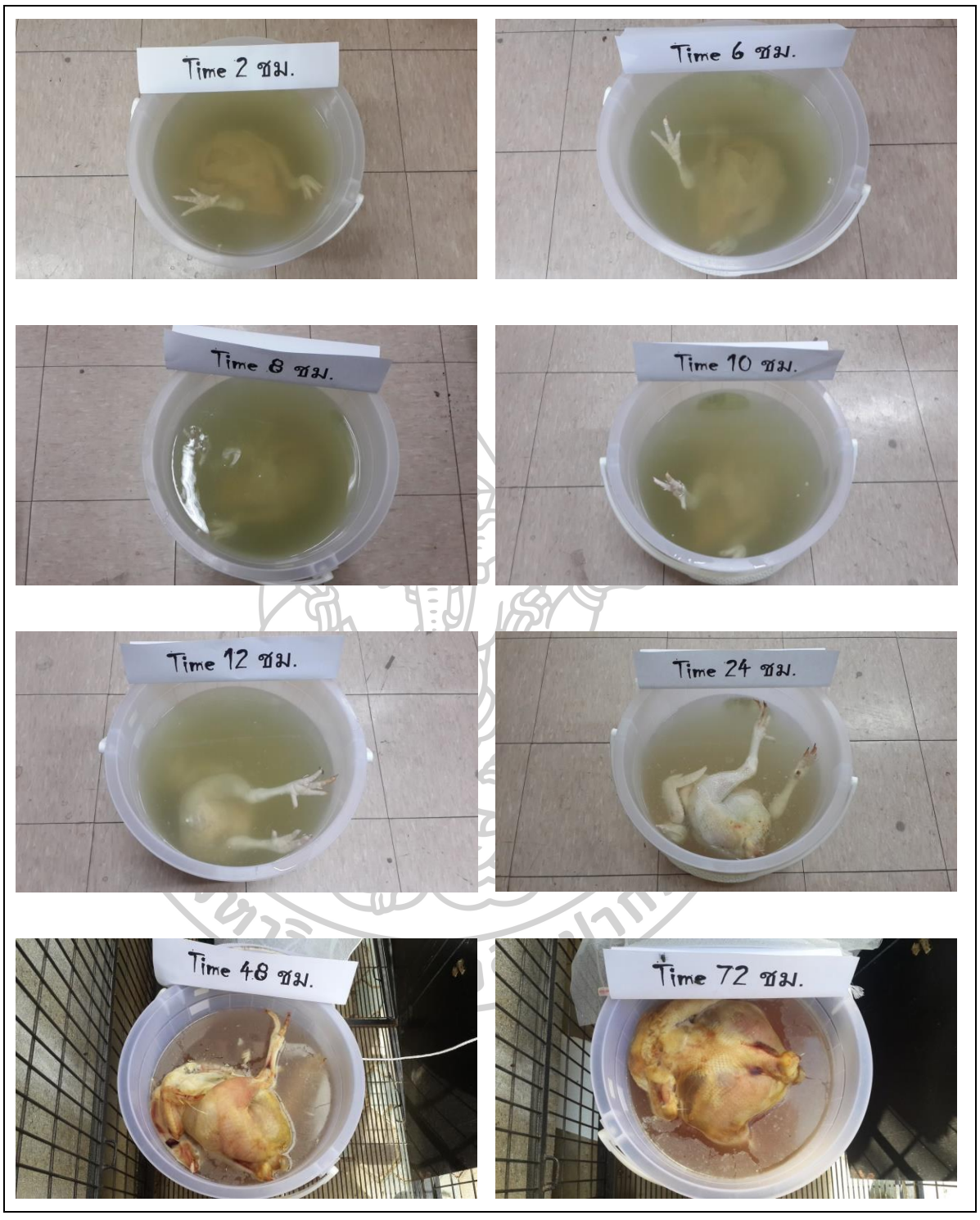
มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ภาพตัวอย่างสภาพศพไก่ภายหลังการตาย ขั้นตอนการทดลอง และสารละลายอนุพันธ์

ภาพที่ 13 สภาพศพไก่ที่ฝังดินตามระยะเวลาหลังการตาย



ภาพที่ 14 สภาพศพไก่ที่แช่น้ำตามระยะเวลาหลังการตาย

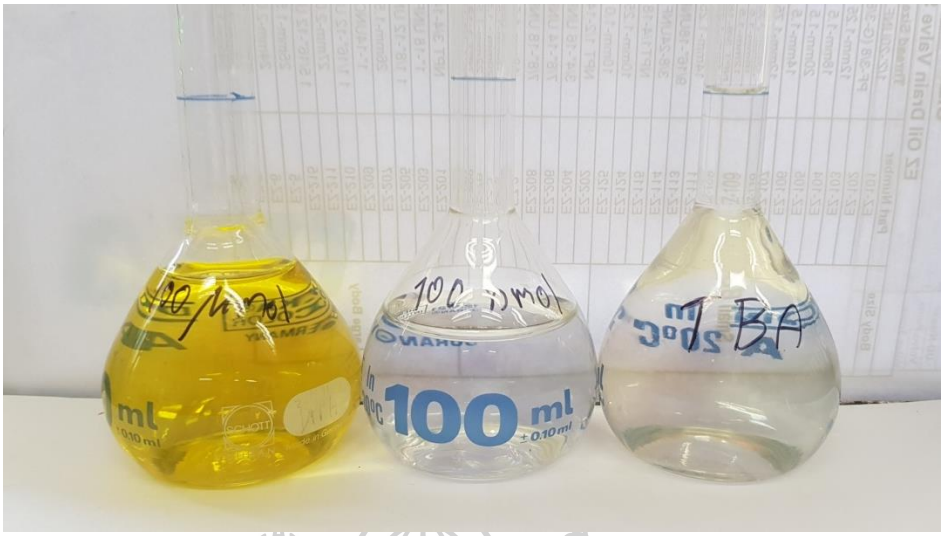
ภาพที่ 15 สภาพศพไก่ที่แช่แข็งตามระยะเวลาหลังการตาย

ภาพที่ 16 ตัวอย่างการปั่นเนื้อไก่

ภาพที่ 17 ตัวอย่างเนื้อไก่ที่บดละเอียด

ภาพที่ 18 การให้ความร้อนสารละลายมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่อุณหภูมิ 80 ℃

มหาวิทยาลัยศิลปากร

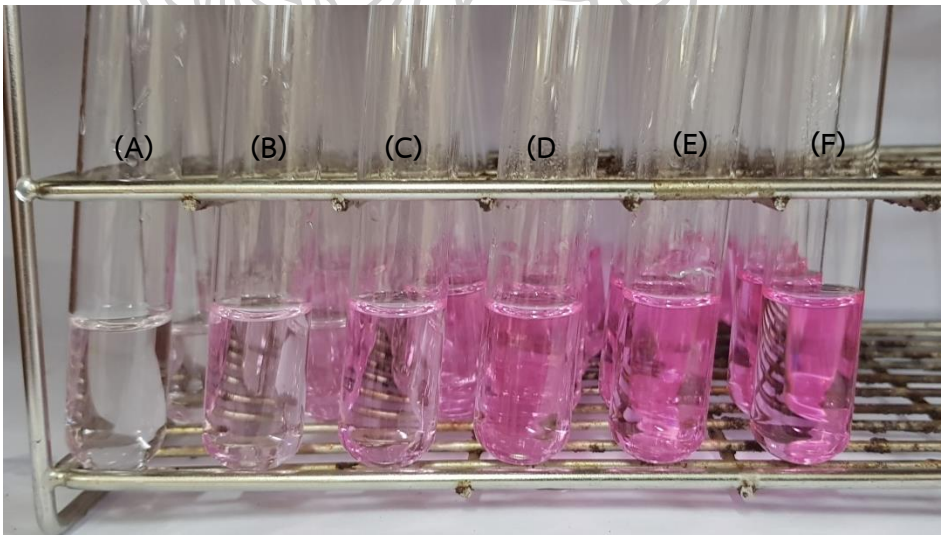


ภาพที่ 19 สารละลายอนุพันธ์

ก แทน สารละลายมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ ความเข้มข้น 100 µmol/ml

ข แทน สารละลายมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ ความเข้มข้น 100 nmol/ml

ค แทน สารละลาย กรด 2-ไทโอบาร์บิทูริก ความเข้มข้น 40 mM



ภาพที่ 20 สารละลายมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่ช่วงความเข้มข้นต่างๆ ทำปฏิกิริยากับ TBA

(A) แทน ความเข้มข้น 0 nmol/ml

(B) แทน ความเข้มข้น 2 nmol/ml

(C) แทน ความเข้มข้น 4 nmol/ml

(D) แทน ความเข้มข้น 6 nmol/ml

(E) แทน ความเข้มข้น 8 nmol/ml

(F) แทน ความเข้มข้น 10 nmol/ml

ภาคผนวก ข

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลจาก SPSS เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่ฝังดินกับตัวอย่างไก่ที่แช่น้ำ โดยการทดสอบ independent sample t test หาค่า *p*-value และค่า t จากตารางที่ 9

ตารางที่ 10 ผลเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่ฝังดินกับตัวอย่างไก่ที่แช่น้ำ

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
Time	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
1	.006	.938	.435	8	.675	.06200	.14244	.26647	.39047
2	.725	.419	6.898	8	.000	.27000	.03914	.17974	.36026
4	3.668	.092	10.292	8	.000	.70600	.06860	.54781	.86419
6	2.673	.141	15.052	8	.000	1.88200	.12504	1.59367	2.17033
8	8.331	.020	1.693	6.015	.141	.18400	.10871	-.08185	.44985
10	.271	.617	10.804	8	.000	.98000	.09071	.77083	1.18917
12	5.250	.051	-10.095	8	.000	-1.83800	.18208	-2.25787	-1.41813
24	.372	.559	7.936	8	.000	.88800	.11189	.62997	1.14603
48	5.026	.055	-25.153	8	.000	-2.41000	.09581	-2.63094	-2.18906
72	9.312	.016	-10.270	4.745	.000	-1.01200	.09854	-1.26945	-.75455

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลจาก SPSS เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่ฝังดินกับตัวอย่างไก่ที่แช่แข็ง โดยการทดสอบ independent sample t test หาค่า *p*-value และค่า t จากตารางที่ 9

ตารางที่ 11 ผลเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่ฝังดินกับตัวอย่างไก่ที่แช่แข็ง

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
Time	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
1	.390	.549	-4.504	8	.002	-.71200	.15809	-1.07655	-.34745
2	4.672	.063	-11.889	8	.000	-.61800	.05198	-.73787	-.49813
4	5.435	.048	8.798	5.959	.000	.58600	.06660	.42276	.74924
6	2.896	.127	13.049	8	.000	1.60800	.12322	1.32385	1.89215
8	.749	.412	5.165	8	.001	.34200	.06621	.18932	.49468
10	2.904	.127	-1.249	8	.247	-.15200	.12171	-.43267	.12867
12	1.067	.332	-15.375	8	.000	-1.94800	.12670	-2.24016	-1.65584
24	.738	.415	6.681	8	.000	.70800	.10597	.46363	.95237
48	6.282	.037	-38.666	4.053	.000	-7.21000	.18647	-7.72504	-6.69496
72	.298	.600	-192.808	8	.000	-9.52400	.04940	-9.63791	-9.41009

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลจาก SPSS เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่แช่น้ำกับตัวอย่างไก่ที่แช่แข็ง โดยการทดสอบ independent sample t test หาค่า *p*-value และค่า t จากตารางที่ 9

ตารางที่ 12 ผลเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่แช่น้ำกับตัวอย่างไก่ที่แช่แข็ง

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
Time	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
1	.416	.537	-4.999	8	.001	-.77400	.15482	-1.13102	-.41698
2	.992	.348	-14.674	8	.000	-.88800	.06051	-1.02755	-.74845
4	.000	1.000	-2.612	8	.031	-.12000	.04593	-.22593	-.01407
6	.272	.616	-2.762	8	.025	-.27400	.09919	-.50272	-.04528
8	9.613	.015	1.495	5.545	.190	.15800	.10571	-.10588	.42188
10	1.546	.249	-8.879	8	.000	-1.13200	.12749	-1.42600	-.83800
12	1.285	.290	-.532	8	.610	-.11000	.20696	-.58725	.36725
24	.074	.792	-2.176	8	.061	-.18000	.08272	-.37074	.01074
48	1.440	.265	-23.017	8	.000	-4.80000	.20854	-5.28090	-4.31910
72	5.929	.041	-83.140	5.402	.000	-8.51200	.10238	-8.76940	-8.25460

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลจาก SPSS เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาหลังการตายกับปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่ฝังดิน โดยการทดสอบสหสัมพันธ์ (Pearson.s correlation)

ตารางที่ 13 ผลการทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาหลังการตายกับปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่ฝังดิน

Correlations

		Time	MDA
Time	Pearson Correlation	1	-.452
	Sig. (2-tailed)		.190
	N	10	10
MDA	Pearson Correlation	-.452	1
	Sig. (2-tailed)	.190	
	N	10	10

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลจาก SPSS เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาหลังการตายกับปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่ฝังดิน โดยการทดสอบสหสัมพันธ์ (Pearson.s correlation)

ตารางที่ 14 ผลการทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาหลังการตายกับปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่แช่น้ำ

Correlations

		Time	MDA
Time	Pearson Correlation	1	.150
	Sig. (2-tailed)		.679
	N	10	10
MDA	Pearson Correlation	.150	1
	Sig. (2-tailed)	.679	
	N	10	10

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลจาก SPSS เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาหลังการตายกับปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่แช่แข็ง โดยการทดสอบสหสัมพันธ์ (Pearson.s correlation)

ตารางที่ 15 ผลการทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาหลังการตายกับปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในตัวอย่างไก่ที่แช่แข็ง

Correlations

		Time	MDA
Time	Pearson Correlation	1	.951**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	10	10
MDA	Pearson Correlation	.951**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	10	10

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

มหาวิทยาลัยศิลปากร

รายการอ้างอิง

Ilie, M., & Margina, D. (2012). Trends in the Evaluation of Lipid Peroxidation Processes. *InTech*, 111-130.

Ioan, B. G., Manea, C., Hanganu, B., Statescu, L., Solovastru, L. G., & Manoilescu, I. (2017). The Chemistry Decomposition in Human Corpses. *REV.CHIM.(Bucharest), 68*(6), 1352-1556.

Manat Chaijan, Soottawat Benjakul, Wonnop Visessanguan, & Faustman, C. (2006). Changes of lipids in sardine (Sardinella gibbosa) muscle during iced storage. *Food Chemistry*(99), 83–91.

Mimica-Dukic, N., Simin, N., Svircev, E., Orcic, D., Beara, I., Lesjak, M., & Bozin, B. (2012). The Effect of Plant Secondary Metabolites on lipid Peroxidation and Eicosanoid Pathway. *InTech*, 193-210.

PubChem. (2005, 4 August 2018). Malondialdehyde. Retrieved from https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Malondialdehyde#section=Top

Soyer, A., Özalp, B., Dalmıs, Ü., & Bilgin, V. (2010). Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat. *Food Chemistry, 120*, 1025–1030.

Trivella, A., Coussan, S., & Chiavassa, T. (2008). Malonaldehyde Synthesis. *Synthetic Communications, 38*, 3285-3290.

Vyncke, W. (1970). Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. *FetteSeifen anstrichm, 12 pp*, 1084 – 1087.

เดช ดอกพวง, & วรเชษฐ์ ขอบใจ. (2556, 10 พฤษภาคม 2556). สภาวะเครียดออกซิเดชันของผู้ป่วยเบาหวานและภาวะแทรกซ้อนของเบาหวานในโรงพยาบาลพะเยา. Paper presented at the การประชุมหาดใหญ่วิชาการ ครั้งที่ 4 เรื่อง “การวิจัยเพื่อพัฒนาสังคมไทย”, มหาวิทยาลัยหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา.

เลี้ยง หุยประเสริฐ. ระยะเวลาการตายและการเปลี่ยนแปลงหลังตาย. Retrieved from http://www.ifm.go.th/ifm-book/ifm-textbook/114-lesson3.html

แสวง บุญเฉลิมวิภาส. (2557). นิติเวชศาสตร์และกฎหมายการแพทย์. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์วิญญูชน.

จารุวรรณ ไทยกลาง, วรรณนา สุริยาสภาพร, วสันต์ ตั้งโภคานนท์, อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ, & ธีระ ชีโวนรินทร์.

(2548). ความสัมพันธ์ของภาวะเครียดออกซิเดชันกับค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิกในสุนัขโตเต็มวัยและสุนัขสูงอายุ. เชียงใหม่สัตวแพทยสาร(3), 15-20.

ณภัทรนันท์ นิสสัยชล. (2556). การประมาณเวลาเสียชีวิตของศพจากระดับอิเล็กโตรไลท์ บียูเอ็น และครีเอทินินในเลือด. (วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต), มหาวิทยาลัยศิลปากร นครปฐม.

พรทิพย์ โรจนสุนันท์. (2546). การชันสูตรศพ. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์วิญญูชน.

พรพิมล ม่วงไทย. (2554). การศึกษาการเกิดปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชั่นในเนื้อไก่และผลิตภัณฑ์แปรรูปจากไก่. มหาวิทยาลัยศรีนครินวิโรฒประสานมิตร.

พิชญาภรณ์ ภาภิรมย์, & รัชนี อานทอง. (2553). การตรวจวัดระดับมาโลนไดอัลดีไฮด์ในปัสสาวะของผู้อบชาวน่า. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ภัทรฤทัย สุนทร. (2557). การประมาณเวลาเสียชีวิตของศพจากระดับอิเล็กโตรไลท์จากน้ำวุ้นลูกตา. (วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต), มหาวิทยาลัยศิลปากร นครปฐม.

วิฑูรย์ อึ้งประพันธ์. (2524). คู่มือการชันสูตรพลิกศพ. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์พิฆเณศ.

สัญห์ลักษณ์ สำรวย. (2551). การประมาณเวลาการเสียชีวิตของศพจากระดับโซเดียม โพแทสเซียม และคลอไรด์ในเลือด. (วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต), มหาวิทยาลัยศิลปากร นครปฐม.

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

อรรถพล แช่มสุวรรณ. (2552). นิติวิทยาศาสตร์เพื่อการสืบสวนสอบสวน *Forensic science for crime investigation* กรุงเทพฯ: บริษัท จี.บี.พี. เซ็นเตอร์ จำกัด.

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	ณัฐธิดา ช่วยเมือง	
วัน เดือน ปี เกิด	13 ธันวาคม 2532	
สถานที่เกิด	จังหวัดชุมพร	
วุฒิการศึกษา	พ.ศ. 2555	สำเร็จการศึกษาสาธารณสุขศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาสาธารณสุขศาสตร์ สำนักวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย
	พ.ศ. 2556	ศึกษาต่อระดับปริญญามหาบัณฑิต สาขานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร จังหวัดนครปฐม
ที่อยู่ปัจจุบัน	20/2 ม.12 ต.วิสัยเหนือ อ.เมือง จ.ชุมพร 86100	

มหาวิทยาลัยศิลปากร