

การตรวจวัดปริมาณธาตุโลหะในน้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข่าด้วยเทคนิค
Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometry เพื่อประมาณระยะเวลาหลังการเสียชีวิต
Determination of metal concentration in vitreous humour and synovial fluid using
Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometry for estimation of the postmortem interval.

¹วินัสรินทร์ ชัยสาร, ²พัชรา สิ้นลอยมา, ³ปริญญ์ สีสานนท์

^{1,2,3} คณะนิติวิทยาศาสตร์ โรงเรียนนายร้อยตำรวจ

¹venus910120@hotmail.com, ²sinloyma@gmail.com

³parinyaseelanan@hotmail.com

Received : 14 May 2020

Revised : 28 July 2020

Accepted : 8 Sep 2020

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอัตราการเปลี่ยนแปลงของปริมาณธาตุโลหะในน้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข่าหลังการเสียชีวิตเทียบกับระยะเวลาที่เปลี่ยนแปลงไป ได้แก่ ธาตุโซเดียม โพแทสเซียม แคลเซียม เหล็ก และทองแดง เนื่องจากเป็นธาตุที่พบได้ในเซลล์ร่างกาย โดยเก็บตัวอย่างน้ำวุ้นลูกตาและตัวอย่างน้ำเลี้ยงข้อเข่าจากหมูจำนวน 10 ตัว เนื่องจากสามารถกำหนดระยะเวลาที่เสียชีวิตได้แน่นอน ทำการทดลองภายใต้สภาพอากาศของประเทศไทยช่วงเดือนพฤษภาคม โดยเก็บตัวอย่างในระยะเวลาที่แตกต่างกัน 8 ช่วงเวลา จนถึงเวลาสูงสุด 48 ชั่วโมง หลังจากหมูเสียชีวิต ตัวอย่างน้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข่า จะถูกนำมาวิเคราะห์หาปริมาณธาตุโลหะด้วยเทคนิค Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry (ICP-MS)

ผลการศึกษาพบว่า อัตราการเปลี่ยนแปลงของปริมาณธาตุโพแทสเซียม แคลเซียม และเหล็กในน้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข่าจะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น ยกเว้นธาตุโซเดียม ส่วนธาตุทองแดงจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นในตัวอย่างน้ำวุ้นลูกตาแต่มีค่าลดลงในตัวอย่างน้ำข้อเข่า จากการหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณธาตุในน้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข่า นั้น พบว่ามีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกัน จึงสามารถใช้ตัวอย่างน้ำข้อเข่าแทนตัวอย่างน้ำวุ้นลูกตาได้ การศึกษานี้สามารถนำไปประยุกต์ในงานนิติวิทยาศาสตร์สำหรับการประมาณระยะเวลาหลังการเสียชีวิต โดยการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของโลหะตามระยะเวลาที่เปลี่ยนแปลงในน้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข่ามีแนวโน้มที่สอดคล้องกัน สามารถเลือกใช้ประโยชน์จากตัวอย่างทั้งสองชนิดหรือใช้เป็นทางเลือกทดแทนกันได้

คำสำคัญ : น้ำวุ้นลูกตา, น้ำข้อเข่า, เทคนิค ICP-MS

ABSTRACT

The research objective is to study the change rate of metal concentration in vitreous humour and synovial fluid versus post-mortem interval. Sodium, Potassium, Calcium, Iron and Copper were the interested elements since there are naturally found in cell body. Samples were collected from ten carcasses of adult pigs weighted about 80 kg. The experiments were carried out in Thailand during May. The vitreous humour and synovial fluid were collected in different periods up to 48 hours after the pig died. The quantity of each metal was determined by the inductively coupled plasma-mass spectroscopy (ICP-MS) technique.

The results showed that the change rate of metal concentrations increased when the post-mortem intervals increased, excepts sodium concentration. On the other hand, vitreous humour's copper concentration increases while synovial fluid's copper concentration decreased with the increased of post-mortem interval. The correlation is not significantly different between vitreous humour and synovial fluid for all elements. Both biological samples can be representative and alternatively analysed. Relationships between metal concentrations in vitreous humour and synovial fluid were found to be consistent. Hence, the estimation of post-mortem interval can be examined from both biological samples.

KEYWORDS : Vitreous humour, Synovial fluid, Inductively coupled plasma-mass spectroscopy

1. บทนำ

เมื่อเวลาผ่านไปช่วงระยะเวลาหนึ่งหลังเกิดการเสียชีวิต จะเกิดกระบวนการของร่างกาย เช่น การเผาผลาญ การย่อยสลาย เป็นต้น การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ จะเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเรื่อย ๆ ในลักษณะเป็นขั้นตอนจนกว่าร่างกายจะสลายไปจนหมด มีความสำคัญสามารถใช้ในการประเมินเวลาหลังการเสียชีวิต โดยโอกาสที่เกิดข้อผิดพลาดจะมีเพิ่มขึ้นตามเวลาที่ผ่านไป [1] การประมาณเวลาหลังการเสียชีวิตนั้น สามารถประเมินจากการสังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงของร่างกายหลังเสียชีวิตหลาย ๆ วิธียกตัวอย่างเช่น การตกของเลือดตามแรงโน้มถ่วงการแข็งตัวของการลดยุทของร่างกาย และการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในร่างกาย เป็นต้น [2]

การวิเคราะห์ความเข้มข้นของโพแทสเซียมในน้ำวุ้นลูกตา มีการวิจัยมากกว่า 50 ปีก่อน และมีการศึกษาอย่างแพร่หลาย แต่วิธีการนี้ก็ยังไม่มีความเห็นและสมการที่แม่นยำที่สามารถอธิบายการเพิ่มขึ้นของระดับโพแทสเซียมเพื่อประมาณเวลาหลังการเสียชีวิตได้ จึงไม่เป็นที่นิยมในการนำมาใช้จริง เนื่องจากมีความยุ่งยาก ต้องใช้ความชำนาญในการตรวจ แพทย์นิติพยาธิวิทยา มักใช้เมื่อไม่สามารถใช้วิธีอื่นในช่วงเริ่มต้นของการชันสูตรได้ โดยโพแทสเซียมในน้ำวุ้นลูกตาพบได้ในร่างกายของมนุษย์ โดยร้อยละ 98 จะอยู่ในของเหลวในเซลล์ โดยมีความเข้มข้นอยู่ที่ 140 – 150 mEq/l ส่วนอีกร้อยละ 2 จะอยู่ในของเหลวนอกเซลล์ โดยมีความเข้มข้นอยู่ที่ 3.5 – 5 mEq/l บทบาทที่สำคัญของโพแทสเซียมคือช่วยรักษาสสมดุลของ

เซลล์ในร่างกายให้เป็นปกติเมื่อเกิดการเสียชีวิต [3] เยื่อหุ้มเซลล์จะแตกออกทำให้โพแทสเซียมในเซลล์รั่วออกมาปะปนกับในของเหลวนอกเซลล์ ในส่วนของการเพิ่มขึ้นของโพแทสเซียมในน้ำวุ้นลูกตานี้เกิดจากการรั่วของเซลล์ชั้น Retina และ Choroid ออกมาสู่น้ำวุ้นลูกตา [4]

ผลการวิจัยที่ผ่านมาได้มุ่งเน้นศึกษาปริมาณของโพแทสเซียม แต่ให้ผลที่แตกต่างกันไป อาจด้วยข้อจำกัดของเครื่องมือ เทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์ รวมถึงข้อจำกัดต่าง ๆ ทำให้ผลการศึกษาที่ได้มีผลต่างกัน ในการศึกษาจึงต้องการที่ทราบว่าในน้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข่า หลังการเสียชีวิตสามารถวัดหาปริมาณธาตุโลหะเพื่อใช้ในการประมาณระยะเวลาหลังการเสียชีวิตที่แม่นยำ โดยใช้เครื่องมือที่มีความไวและแม่นยำสูง ในการศึกษาครั้งนี้จึงใช้ตัวอย่างน้ำวุ้นลูกตาจากสัตว์ทดลอง ได้แก่ หมู เนื่องจากสามารถกำหนดระยะเวลาที่เสียชีวิตได้แน่นอน ซึ่งเป็นปัจจัยควบคุมต่างจากการศึกษาที่ผ่านมาที่มีระยะเวลาหลังการเสียชีวิตที่ไม่เท่ากันของตัวอย่างที่เป็นศพ นอกจากนี้การเลือกใช้น้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข่า มีการปนเปื้อนที่น้อยมากเนื่องจากเป็นของเหลวที่อยู่ในระบบปิดของร่างกายที่มีการป้องกัน และต้องใช้เวลาช่วงหนึ่งในการนำหลังจากเสียชีวิต งานวิจัยนี้จึงมุ่งหวังที่จะศึกษาตัวแปรและวิธีการที่นำมาใช้ในการประมาณเวลาหลังการเสียชีวิต โดยสนใจศึกษาการหาปริมาณของธาตุโลหะที่เกิดขึ้นในน้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข่าว่าสามารถใช้ประมาณระยะเวลาหลังการเสียชีวิตที่เพิ่มขึ้นแทนกันได้หรือไม่

โดยวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS)

2. วัตถุประสงค์

2.1 เพื่อศึกษาการตรวจวัดปริมาณธาตุโลหะในน้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข่า เพื่อใช้ประมาณระยะเวลาหลังการเสียชีวิต

2.2 เพื่อเปรียบเทียบระยะเวลาหลังการเสียชีวิตกับอัตราการเปลี่ยนแปลงของปริมาณธาตุโลหะที่ตรวจพบ

2.3 เพื่อหาความสัมพันธ์ของปริมาณธาตุโลหะที่เกิดขึ้นภายหลังการเสียชีวิตโดยเปรียบเทียบระหว่างน้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข่า

3. ขอบเขตการวิจัย

การศึกษานี้ทำการศึกษาปริมาณของธาตุโลหะในน้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข่า โดยใช้สัณฐานวิทยา คือ หมูโตเต็มวัย จำนวน 10 ตัว โดยถูกฆ่าด้วยวิธีการฆนฆฆฆ เพื่อเก็บตัวอย่างน้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข่าทันที และใช้เทคนิคการตรวจวัดปริมาณธาตุโลหะด้วยเครื่อง Inductively coupled plasma - mass spectrometry ภายใต้สิ่งแวดล้อมควบคุมในห้องปฏิบัติการ

4. ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

4.1 ทราบถึงปริมาณธาตุโลหะในน้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข่าและสามารถนำมาใช้ในการประเมินเวลาหลังการเสียชีวิตได้

4.2 ทราบถึงความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาหลังการเสียชีวิต กับอัตราการเปลี่ยนแปลงของปริมาณธาตุโลหะที่ตรวจพบภายหลังจากการการเสียชีวิต เพื่อใช้ในการประมาณเวลาหลังการเสียชีวิต

4.3 สามารถนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์ในการประมาณระยะเวลาหลังการเสียชีวิตที่ถูกต้องและมีความแม่นยำมากขึ้น หรือนำมาต่อยอดในการศึกษาในศพนมนุษย์ต่อไป

5. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Garg และคณะ [5] ศึกษาเรื่องการเพิ่มขึ้นของระดับโพแทสเซียมในน้ำวุ้นลูกตาจากการเพิ่มขึ้นของเวลาหลังการเสียชีวิตด้วยเทคนิค Flame Photometry จำนวน 200

ตัวอย่างจากการศึกษาพบว่า โพแทสเซียมในน้ำวุ้นลูกตาจะมีค่าเพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรงเมื่อระยะเวลาการเสียชีวิตนานขึ้นค่าโพแทสเซียมก็จะยิ่งสูงขึ้นตามไปด้วย โดยไม่สัมพันธ์กับปัจจัยอื่น ๆ เช่น อายุ เพศ ความชื้น และการเพิ่มขึ้นของระดับโพแทสเซียมในน้ำวุ้นลูกตาทั้งสองข้างไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ Jashnani Kale และ Rupani [6] ได้ทำการศึกษาเรื่องการเปลี่ยนแปลงของสารชีวเคมี ที่ใช้ประมาณเวลาหลังการเสียชีวิต จากตัวอย่างจำนวน 120 ราย โดยการวิเคราะห์โซเดียม โพแทสเซียม และคลอไรด์ ด้วยเทคนิค Flame Photometry พบว่า ระดับโพแทสเซียมในน้ำวุ้นลูกตากับระยะเวลา หลังการเสียชีวิตมีความสัมพันธ์กันในลักษณะแปรผกผันตรง ซึ่งตรงกันข้ามกับปริมาณของโซเดียมที่แปรผกผันกับระยะเวลาหลังการเสียชีวิต และยังพบว่าปัจจัยอื่นๆ เช่น เพศ อายุ สาเหตุของการเสียชีวิต อุณหภูมิ และภูมิอากาศ ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นโพแทสเซียม Tumram Bardale และ Dongre [7] ได้ทำการศึกษาโดยเปรียบเทียบระดับสารชีวเคมีของน้ำวุ้นลูกตากับน้ำข้อเข่าภายหลังการเสียชีวิตจากตัวอย่าง 154 ราย โดยเปรียบเทียบค่าโซเดียม โพแทสเซียม คลอไรด์ ด้วยวิธี Ion Selective Electrode และ แคลเซียม ครีเอตินิน น้ำตาลกลูโคสและยูเรียด้วยเครื่องมือวิเคราะห์สารกึ่งอัตโนมัติ ผลการศึกษาพบว่า โซเดียม แคลเซียม ครีเอตินิน และยูเรียไม่มีการเปลี่ยนแปลงและไม่มีความสัมพันธ์กับเวลาหลังการเสียชีวิตที่เพิ่มขึ้นทั้งในน้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข่าในส่วนของคลอไรด์และกลูโคสจะลดลงตามระยะเวลาหลังการเสียชีวิตที่เพิ่มขึ้น โดยที่ความเข้มข้นที่วัดจากน้ำข้อเข่าและน้ำวุ้นลูกตาไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และสุดท้ายคือระดับความเข้มข้นของโพแทสเซียม นั้น จะเพิ่มขึ้นแบบเส้นตรงตามระยะเวลาหลังการเสียชีวิต ทั้งในตัวอย่างข้อเข่าและน้ำวุ้นลูกตา โดยที่ความเข้มข้นที่วัดจากน้ำข้อเข่าและน้ำวุ้นลูกตานั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งการเพิ่มขึ้นของโพแทสเซียมในน้ำข้อเข่ามีความสัมพันธ์กับเวลาหลังการเสียชีวิต มากกว่าในน้ำวุ้นลูกตา โดย R^2 น้ำข้อเข่า = 0.546 และ R^2 น้ำวุ้นลูกตา = 0.277 แปลได้ว่า ค่าโพแทสเซียมที่วัดได้ในน้ำข้อเข่านั้นสามารถใช้อันได้มากกว่าค่าโพแทสเซียมที่วัดได้จาก

น้ำอุ่นลูกตา ในการใช้ประมาณช่วงเวลาหลังจากการเสียชีวิต ภัทรฤทัย สุนทร [8] ได้ทำการศึกษาระยะเวลาเสียชีวิตของศพจากระดับอิเล็กโทรไลต์ในน้ำอุ่นลูกตา เพื่อตรวจวัดปริมาณของโพแทสเซียม โซเดียม และคลอไรด์ ไอออนในน้ำอุ่นลูกตา ด้วย Ion Selective Electrode (ISE) เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไอออนกับระยะเวลาเสียชีวิตจากตัวอย่างจำนวน 50 ราย ที่ทราบเวลาเสียชีวิตที่แน่นอนจำนวนผลการศึกษาพบว่า ปริมาณโพแทสเซียม มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อระยะเวลาเสียชีวิตนานขึ้น ในขณะที่ปริมาณโซเดียมและคลอไรด์ จะมีค่าลดลงเมื่อเวลาเสียชีวิตเพิ่มขึ้น โดยที่ปัจจัยอายุ และเพศของผู้ตาย ไม่มีผลต่อปริมาณของไอออนที่ทำการศึกษา โดยความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไอออนในน้ำอุ่นลูกตาและเวลาตั้งแต่เสียชีวิตในการศึกษานี้สามารถนำมาใช้ในการประมาณเวลาภายหลังการตายได้ จีรภัทร์ ตามวงศ์ [9] ได้ศึกษาการหาปริมาณโซเดียม โพแทสเซียม แมกนีเซียม และแคลเซียมไอออนในน้ำอุ่นลูกตา เพื่อประมาณเวลาการเสียชีวิตมีจุดประสงค์เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโซเดียม โพแทสเซียม แมกนีเซียม และแคลเซียมไอออนในน้ำอุ่นลูกตาด้วยเทคนิค Ion Chromatography (IC) จำนวน 49 ตัวอย่าง จากการทดลองพบว่าปริมาณของโซเดียม แมกนีเซียม และแคลเซียม ไม่มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงค่าความเข้มข้นตามเวลาหลังการเสียชีวิตที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณโพแทสเซียมไอออนมีค่าเพิ่มขึ้นตามเวลาหลังการเสียชีวิตที่มากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ($r = 0.9645$) ที่ช่วงเวลา 3 ชั่วโมงหลังการเสียชีวิต มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมไอออนในช่วง 5.154 – 7.996 mM และที่ช่วงเวลาหลังการเสียชีวิต 12 ชั่วโมง มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมในช่วง 7.833 – 12.388 mM แสดงให้เห็นว่าการใช้เทคนิค Ion Chromatography เป็นอีกหนึ่งเทคนิคที่สามารถนำมาตรวจวิเคราะห์สารในน้ำอุ่นลูกตา เพื่อประมาณเวลาหลังการเสียชีวิต โดยการวัดปริมาณโพแทสเซียมที่เปลี่ยนแปลงไป Srettabunjong Thongphap และ Chittamma [10] ได้ศึกษาสารชีวเคมีในน้ำอุ่นลูกตาและน้ำข้อเข่า มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบ

และหาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำอุ่นลูกตาและน้ำข้อเข่า โดยเปรียบเทียบระหว่างลูกตาและข้อเข่าทั้งสองข้างและระหว่างของเหลวในลูกตาและข้อเข่า โดยเก็บตัวอย่างจำนวน 35 ราย และนำมาวิเคราะห์ด้วย Auto-Analyzer ได้แก่ ธาตุโซเดียม โพแทสเซียม คลอไรด์ แมกนีเซียม กลูโคส แลคเตท ยูเรีย กรดยูริก และครีเอตินิน ผลการศึกษาพบว่าไม่พบความแตกต่างกัน ระหว่างความเข้มข้นของข้างซ้ายและข้างขวา ($p > 0.05$) โดยที่ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของธาตุโซเดียม โพแทสเซียม คลอไรด์ และ แมกนีเซียม มีค่าสูงกว่าในน้ำอุ่นลูกตา ส่วนค่าความเข้มข้นเฉลี่ยของกลูโคส กรดยูริก และครีเอตินินมีค่าสูงกว่าในน้ำข้อเข่า ($p < 0.001$) และ ธาตุโซเดียม โพแทสเซียม กลูโคส ยูเรีย กรดยูริก และครีเอตินิน แสดงความสัมพันธ์กันของความเข้มข้นระหว่างน้ำอุ่นลูกตาและน้ำข้อเข่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

6. ระเบียบวิธีการวิจัย

6.1 กลุ่มตัวอย่างในการศึกษานี้คือ หมูโตเต็มวัย เนื่องจากมีขนาดตัวและสรีระวิทยาการทำงานร่างกายที่คล้ายคลึงกับมนุษย์ นอกจากนี้ยังสามารถกำหนดเวลาในการเสียชีวิตของหมูได้โดยใช้ตัวอย่างหมู 10 ตัว และทำการเก็บตัวอย่างน้ำอุ่นลูกตาและน้ำข้อเข่า ที่เวลา 0, 1, 3, 6, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง โดยหมู 1 ตัว ได้ทำการเก็บตัวอย่าง 8 ช่วงเวลา รวมทั้งหมดจะได้ตัวอย่างจำนวน 80 ตัวอย่าง จากนั้นนำมาวิเคราะห์ปริมาณด้วยเครื่อง ICP - MS ซึ่งทำการตรวจวัดเพียงรอบเดียวเนื่องจากตัวอย่างมีปริมาณไม่เพียงพอในการวัดซ้ำ ส่วนหมูจะถูกฆ่าโดยวิธีการมนุษยชาติ จากนั้นจะเคลื่อนย้ายมาที่สุสานสว่างอริยธรรมสถาน จังหวัดนครนายก เพื่อเก็บตัวอย่างน้ำอุ่นลูกตาและน้ำข้อเข่าทันที และทดลองทางห้องปฏิบัติการ กลุ่มพิสูจน์อาวุธปืนและวัตถุพยานทางฟิสิกส์ กองตรวจพิสูจน์ทางวิทยาศาสตร์ สถาบันนิติวิทยาศาสตร์

6.2 ทำการบันทึกอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมขณะทำการเก็บตัวอย่าง ด้วยเครื่องวัดอุณหภูมิ ซึ่งตัวเครื่องจะมีการวัดอุณหภูมิ 2 ส่วน ได้แก่ การวัดอุณหภูมิภายนอก และการวัดอุณหภูมิภายใน โดยทำการวัดอุณหภูมิภายในใต้ผิวหนัง

ซึ่งจะทำการเปิดผิวหนังบริเวณใต้ชายโครงขวาเพื่อสอดหัววัดอุณหภูมิเข้าไปวัดอุณหภูมิภายในที่บริเวณตับ

6.3 ขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง

(1) ใช้กระบอกฉีดยาคูดน้ำวุ้นลูกตา โดยเจาะผ่านลูกตาบริเวณซิดขอบตาด้านนอก (lateral canthus) หลีกเลียงไม่ให้โดนขอบของตาดำ (Limbus) ทำการคูดน้ำวุ้นลูกตาขึ้นมาช้า ๆ โดยคูดบริเวณตรงกลางลูกตา (Centre of the Eyeball) ประมาณ 100 ไมโครลิตร พร้อมกับบันทึกเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่างครั้งแรก เป็นเวลาที่ 0 ชั่วโมง

(2) นำน้ำวุ้นลูกตาที่ได้จากข้อที่ (1) ลงในหลอดไมโครเซนติฟิวและทำการแช่แข็งด้วยไนโตรเจนเหลวทันทีเพื่อนำไปวัดหาปริมาณสารโลหะต่อไป

(3) จากนั้นเก็บตัวอย่าง ณ เวลาที่ 1, 3, 6, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง

(4) ใช้กระบอกฉีดยาคูดน้ำข้อเข้า โดยเจาะเข้าไปที่บริเวณร่องด้านบนเหนือกระดูกสะบ้า (Suprapatellar pouch) โดยขณะคูดจะคูดเฉียงลงและเอียงไปทางด้านหลังต่ำกว่ากระดูกสะบ้า ทำการคูดประมาณ 100 ไมโครลิตร พร้อมกับบันทึกเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่างครั้งแรกเป็นเวลาที่ 0 ชั่วโมง จากนั้นทำเหมือนกับข้อที่ (2) และ (3)

6.4 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเพื่อนำไปตรวจวัดปริมาณธาตุด้วยเครื่อง ICP-MS

(1) ไมโครปิเปตคูดน้ำวุ้นลูกตามา 50 ไมโครลิตรใส่ในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร

(2) ปรับปริมาตรด้วย 5% กรดไนตริก (HNO_3) เป็น 3 มิลลิลิตร

(3) นำไปปั่นด้วยเครื่อง Vertex Mixture ที่ความเร็ว 10 เฮิร์ตซ์ เป็นเวลา 30 วินาที

(4) จากนั้นทิ้งไว้เป็นเวลา 120 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดการละลายที่ดีขึ้น โดยที่เวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ทำซ้ำข้อที่ (3)

(5) ทำการคูดเอาสารละลายส่วนผิวใส่ลงในหลอดไวอัล เพื่อนำมาเข้าเครื่อง ICP-MS เพื่อทำการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณธาตุ

(6) นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-MS โดยที่ตัวอย่างจะถูกนำเข้าเครื่องเป็นชุด ใน 1 ชุดประกอบด้วยน้ำ R.O. สารมาตรฐาน และสารตัวอย่าง

(7) ในตัวอย่างน้ำข้อเข้าทำเช่นเดียวกันกับน้ำวุ้นลูกตา

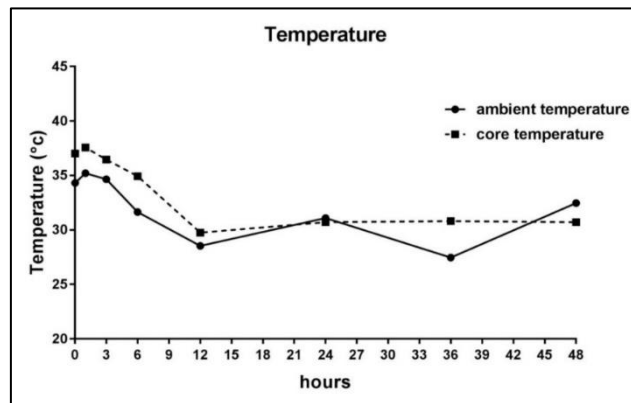
6.5 เครื่องมือทางสถิติที่ใช้ในการทดสอบ

ทำการวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรมการวิเคราะห์สถิติทางคอมพิวเตอร์ ซึ่งข้อมูลจะถูกนำมาคำนวณด้วยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-Way ANOVA) ระหว่างช่วงเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่าง และ วิธีการวิเคราะห์สหสัมพันธ์ (Correlation) ระหว่างน้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข้าเพื่อประเมินความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \text{ value} \leq 0.05$)

7. ผลการวิจัย

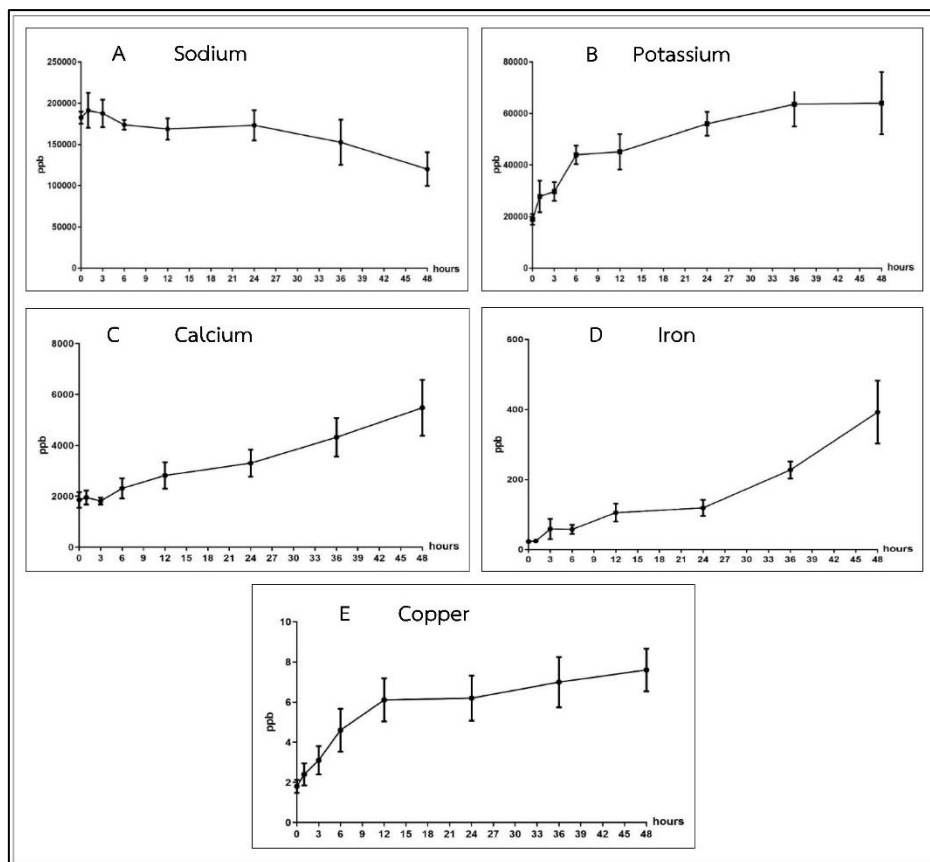
งานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองในสภาวะอากาศของประเทศไทยเดือนพฤษภาคมอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมเฉลี่ยอยู่ในช่วงระหว่าง 25.7 องศาเซลเซียส ถึง 36.9 องศาเซลเซียส ในส่วนอุณหภูมิร่างกายเฉลี่ยของหนูตัวอย่างอยู่ในช่วงระหว่าง 28.1 องศาเซลเซียส ถึง 39.4 องศาเซลเซียส ซึ่งค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมและอุณหภูมิภายในของหนู แสดงดังรูปที่ 1

การตรวจวัดความเข้มข้นของธาตุโลหะ ในชั่วโมงที่ 0 1 3 6 12 24 36 และ 48 ชั่วโมง และได้นำมาตรวจวัดหาธาตุโลหะ จำนวน 5 ธาตุ ได้แก่ โซเดียม (Sodium) โพแทสเซียม (Potassium) แคลเซียม (Calcium) เหล็ก (Iron) และ ทองแดง (Copper) ในตัวอย่างน้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข้าจากหนูพบดังนี้ ความเข้มข้นของธาตุโลหะในน้ำวุ้นลูกตาแสดงดังรูปที่ 2 พบว่า ธาตุโพแทสเซียม แคลเซียม เหล็ก และ ทองแดง นั้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ส่วนธาตุโซเดียมนั้นมีแนวโน้มลดลง เมื่อระยะเวลาเปลี่ยนไป



รูปที่ 1 อุณหภูมิสิ่งแวดล้อม (ambient temperature) และอุณหภูมิภายในของหนู (core temperature)
ตารางที่ 1 สรุปแนวโน้มความเข้มข้นของธาตุโลหะที่ตรวจวัดจากน้ำในลูกตาและน้ำข้อเข่า เมื่อระยะเวลาเปลี่ยนไป

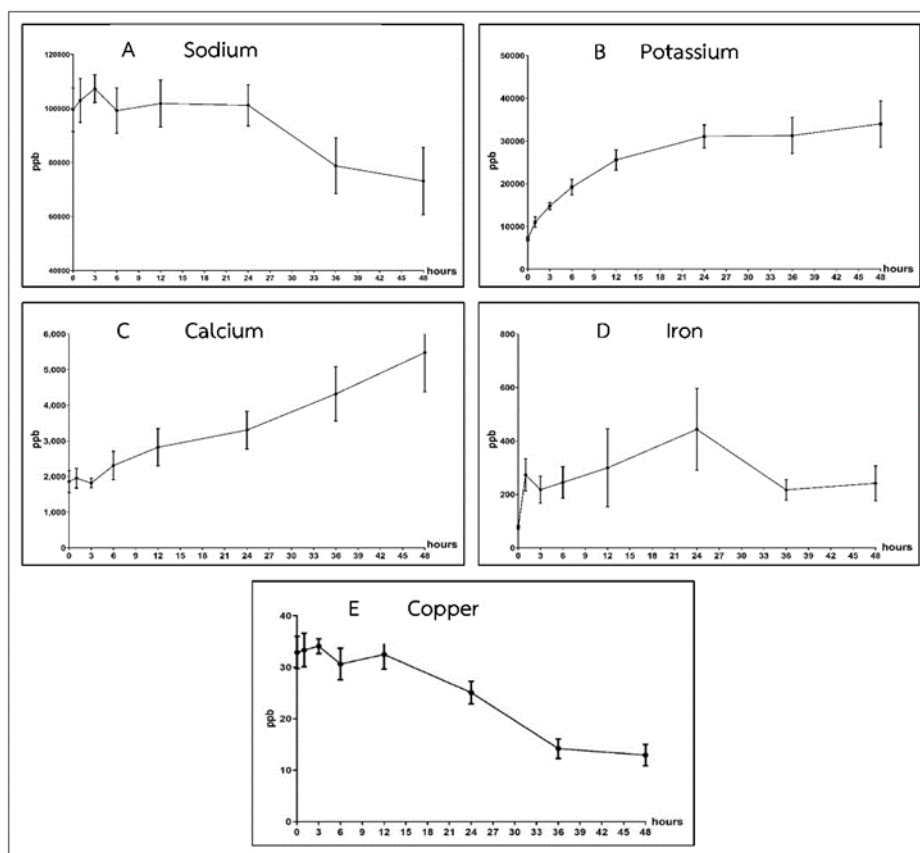
ธาตุ	น้ำในลูกตา	น้ำข้อเข่า
โซเดียม (Na)	ลดลง	ลดลง
โพแทสเซียม (K)	เพิ่มขึ้น	เพิ่มขึ้น
แคลเซียม (Ca)	เพิ่มขึ้น	เพิ่มขึ้น
เหล็ก (Fe)	เพิ่มขึ้น	เพิ่มขึ้น
ทองแดง (Cu)	เพิ่มขึ้น	ลดลง



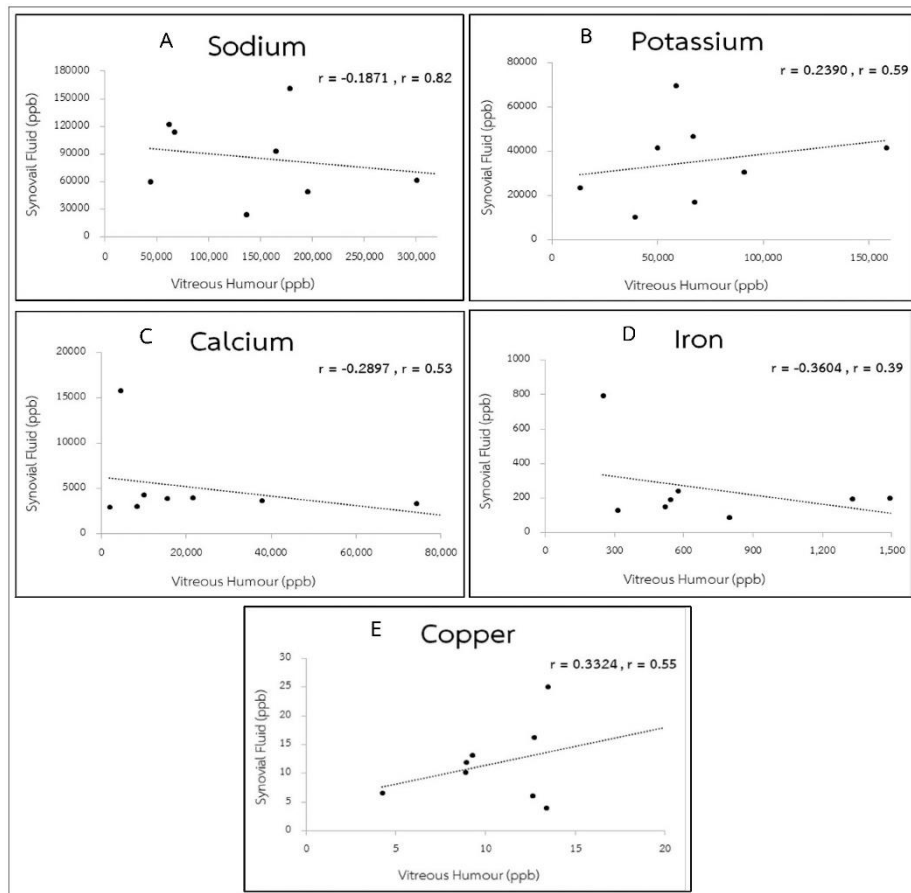
รูปที่ 2 แนวโน้มความเข้มข้นของธาตุโลหะที่ตรวจวัดจากน้ำในลูกตา A) โซเดียม B) โพแทสเซียม C) แคลเซียม
D) เหล็ก และ E) ทองแดง เมื่อระยะเวลาเปลี่ยนไป

ความเข้มข้นของธาตุโลหะในน้ำซ่อเข้า แสดงดังรูปที่ 3 พบว่า ธาตุโพแทสเซียม และแคลเซียมนั้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ส่วนธาตุโซเดียม และทองแดงมีแนวโน้มลดลง เมื่อระยะเวลาเปลี่ยนไป ส่วนธาตุเหล็ก มีแนวโน้มที่ไม่แน่นอน ไม่สามารถระบุความสัมพันธ์กับระยะเวลาที่เสียชีวิตได้ ซึ่งสามารถสรุปแนวโน้มความเข้มข้นของน้ำในลูกตาและน้ำซ่อเข้าเมื่อระยะเวลาเปลี่ยนไป ได้ดังตารางที่ 1 และในส่วนความสัมพันธ์ของปริมาณธาตุโลหะที่เกิดขึ้นภายหลังการเสียชีวิต ระหว่างน้ำในลูกตาและน้ำซ่อเข้าที่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมง แสดงในรูปที่ 4

จะเห็นได้ว่าในธาตุแต่ละตัวนั้น มีความสัมพันธ์กันในระดับต่ำถึงปานกลาง โดยที่ ธาตุโซเดียม($r=-0.1871$, $p=0.82$) แคลเซียม($r=0.2897$, $p=0.53$) และเหล็ก($r=-0.3604$, $p=0.39$) มีความสัมพันธ์ในทิศทางตรงข้ามกัน และไม่พบนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนธาตุโพแทสเซียม ($r=0.2390$, $p=0.59$) และทองแดง ($r=0.3324$, $p=0.55$) มีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกัน และไม่พบนัยสำคัญทางสถิติ



รูปที่ 3 แนวโน้มความเข้มข้นของธาตุโลหะที่ตรวจวัดจากน้ำซ่อเข้า A) โซเดียม B) โพแทสเซียม C) แคลเซียม D) เหล็ก และ E) ทองแดง เมื่อระยะเวลาเปลี่ยนไป



รูปที่ 4 กราฟสหสัมพันธ์ของธาตุโลหะระหว่างน้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข่า ที่เวลา 48 ชั่วโมง A) โซเดียม B) โพแทสเซียม C) แคลเซียม D) เหล็ก และ E) ทองแดง

8. สรุปและอภิปรายผล

จะเห็นได้ว่าอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมและอุณหภูมิร่างกายของหนู มีค่าใกล้เคียงกัน โดยที่อุณหภูมิร่างกายเฉลี่ยของหนูจะมีค่าสูงกว่าอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมเฉลี่ยเล็กน้อย และจะค่อย ๆ ลดลงจนอุณหภูมิเฉลี่ยร่างกายเท่ากับอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมจากนั้นจะคงที่ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปตามอุณหภูมิแวดล้อม เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นในช่วงแรกอาจเกิดจากเนื้อเยื่อบางส่วนยังคงทำงานได้ต่อไปสักพัก เพราะยังมีพลังงานสะสมอยู่ ร่วมกับปฏิกิริยาทางเคมีของแบคทีเรียต่าง ๆ ในลำไส้ ที่ส่งผลทำให้เกิดกระบวนการเผาของหนูและเมื่อเวลาผ่านไประยะหนึ่งอุณหภูมิภายในจะสมดุลกับอุณหภูมิสิ่งแวดล้อม และไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงอีก [4] นอกจากนี้อุณหภูมิของหนูที่เพิ่มขึ้น ไม่ส่งผลต่อความเข้มข้นของปริมาณธาตุโลหะ เปรียบเทียบจากอุณหภูมิที่มีการลดลงและ

เพิ่มขึ้น แต่ความเข้มข้นของธาตุโลหะมีการเปลี่ยนแปลงไปในทิศทางเดียว เช่นเดียวกับการศึกษาของ Jashnani Kale และ Rupani [6] ที่พบว่าปัจจัยภูมิอากาศไม่มีผลต่อความเข้มข้นของโพแทสเซียม

จากการใช้สถิติ One-way ANOVA ในการหาความแตกต่างกันของค่าความเข้มข้นเฉลี่ยที่ระยะเวลาต่างกัน เมื่อเทียบกับเวลาที่ 0 ชั่วโมง ในน้ำวุ้นลูกตา ธาตุโซเดียมจะมีแนวโน้มลดลง ในขณะที่ธาตุโพแทสเซียม แคลเซียม เหล็ก และทองแดง มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ส่วนในน้ำข้อเข่า ธาตุโซเดียม และทองแดงมีแนวโน้มลดลง ในขณะที่ธาตุโพแทสเซียม แคลเซียม และเหล็กมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น

การหาค่าสหสัมพันธ์ของปริมาณธาตุโลหะ ในเวลาที่ 48 ชั่วโมง ระหว่างน้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข่าพบว่าในธาตุโซเดียมพบความสัมพันธ์ในทางตรงข้ามกัน

ระดับต่ำ ($r=-0.1871$, $p=0.82$) ส่วนธาตุโพแทสเซียมพบความสัมพันธ์ในทางเดียวกันระดับปานกลาง ($r=0.2390$, $p=0.59$) ธาตุแคลเซียมพบความสัมพันธ์ในทางตรงข้ามกันระดับปานกลาง ($r=-0.2893$, $p=0.53$) ในธาตุเหล็กพบความสัมพันธ์ในทางตรงข้ามกันระดับปานกลาง ($r=-0.3604$, $p=0.39$) และธาตุทองแดงพบความสัมพันธ์ในทางเดียวกันระดับปานกลาง ($r=0.3324$, $p=0.55$) โดยเมื่อทดสอบสหสัมพันธ์ ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างน้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข่าในทุกธาตุ ซึ่งแนวโน้มของธาตุโพแทสเซียม และทองแดง ระหว่างน้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข่านั้น มีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน และมีความสัมพันธ์กันในระดับปานกลาง จึงอาจนำมาใช้แทนกันได้

การเพิ่มขึ้นของระดับโซเดียมและโพแทสเซียมในน้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข่านั้น อาจเกิดจาก ในปกติของเหลวภายนอกเซลล์จะมีโซเดียมไอออนสูงกว่าภายในเซลล์ ส่วนของเหลวภายในเซลล์จะมีโพแทสเซียมไอออนสูงกว่าภายนอกเซลล์ [3] ส่วนธาตุแคลเซียมนั้นจะสะสมในกระดูกเป็นส่วนใหญ่ และมีส่วนที่สะสมในเลือดและของเหลวในร่างกายด้วยเช่นกัน โดยที่แคลเซียมไอออนจะอยู่ที่ของเหลวภายนอกเซลล์มากกว่าของเหลวในเซลล์ ซึ่งการแลกเปลี่ยนไอออนระหว่างเซลล์นั้นจะถูกจำกัดด้วยเยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งมีหน้าที่เป็นเชื้อเลือกผ่าน เมื่อเสียชีวิตการทำงานต่าง ๆ ของเซลล์จะหยุดและสูญเสียหน้าที่ไป ทำให้ไม่สามารถคัดเลือกสารที่ผ่านเข้ามาได้ ไอออนต่าง ๆ จึงแพร่เข้าและออกระหว่างเซลล์ได้ [11] และในส่วน of ธาตุเหล็กและทองแดงเป็นส่วนประกอบในเซลล์เม็ดเลือดแดงเมื่อเสียชีวิตเซลล์เม็ดเลือดแดงจะแตกออก ทำให้สารประกอบในเม็ดเลือดไหลออกมาข้างนอกเซลล์ทั้งหมดนี้จึงส่งผลให้เกิดการลดหรือเพิ่มของธาตุข้างต้น [12]

ผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุโลหะหลายชนิดในน้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข่า เมื่อระยะเวลาหลังการเสียชีวิตที่เพิ่มขึ้นในน้ำวุ้นลูกตานี้ความเข้มข้นของธาตุโพแทสเซียม แคลเซียม เหล็ก และทองแดง มีอัตราการเพิ่มขึ้นตามเวลาที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนธาตุโซเดียมมีอัตราการลดลงตามเวลาที่เพิ่มขึ้นอย่างมี

นัยสำคัญทางสถิติ ส่วนในน้ำข้อเข่าพบว่าธาตุโพแทสเซียม แคลเซียม และเหล็ก มีอัตราการเพิ่มขึ้นตามเวลาที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนธาตุโซเดียม และทองแดง มีอัตราการลดลงตามเวลาที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Garg (2004) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับโพแทสเซียมด้วยเทคนิค Flame Photometry ซึ่งพบว่าระดับโพแทสเซียมในน้ำวุ้นลูกตาจะมีค่าเพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรง เมื่อระยะเวลาการเสียชีวิตนานขึ้นค่าโพแทสเซียมก็จะยิ่งสูงขึ้นตามไปด้วย [5] นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Ahi & Garg [8] และการศึกษาของ Jashnani Kale & Rupani [6] ที่ได้ศึกษาสารชีวเคมีที่ใช้ประมาณเวลาหลังการเสียชีวิตด้วยเทคนิค Flame Photometry พบว่าโพแทสเซียมในน้ำวุ้นลูกตากับระยะเวลาหลังการเสียชีวิตมีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันตรงสอดคล้องกับปริมาณของโซเดียมที่มีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาหลังการเสียชีวิตที่เพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับการศึกษาของภัทรฤทัย สุนทร [8] ที่ให้ผลเช่นเดียวกันในธาตุโซเดียมและโพแทสเซียม แต่ในการศึกษาของจิรภัทร์ ตามวงศ์ [9] ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโซเดียม โพแทสเซียม แมกนีเซียม และแคลเซียมไอออนในน้ำวุ้นลูกตาด้วยเทคนิค Ion Chromatography (IC) พบว่าปริมาณของโซเดียม และแคลเซียม ไม่มีความสัมพันธ์กับเวลาหลังการเสียชีวิตที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณโพแทสเซียมไอออนมีค่าเพิ่มขึ้นตามเวลาหลังการเสียชีวิตที่มากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกันกับการศึกษาของ Tumram Bardale & Dongre [7] ที่ได้ทำการศึกษาโดยเปรียบเทียบระดับสารชีวเคมีของน้ำวุ้นลูกตากับน้ำข้อเข่า ด้วยเทคนิค Ion Selective Electrode พบว่า โซเดียม แคลเซียม ไม่มีความสัมพันธ์กับเวลาหลังการเสียชีวิตที่เพิ่มขึ้นในทั้งน้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข่า แต่ในส่วน of โพแทสเซียม นั้น จะเพิ่มขึ้นแบบเส้นตรงตามระยะเวลาหลังการเสียชีวิตทั้งในตัวอย่างน้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข่า

นอกจากนี้ การศึกษานี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Srettabunjong Thongphap & Chittamma [10] ได้ศึกษาสารชีวเคมี ในน้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข่าด้วยเครื่อง Auto-Analyzer โดยพบว่า ค่าความเข้มข้นของธาตุโซเดียม

โพแทสเซียม ทั้งในน้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข่า นั้นมีความสัมพันธ์กับเวลาที่เปลี่ยนแปลงไป และระหว่างความเข้มข้นของน้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข่า นั้นมีความสัมพันธ์กันในระดับสูง

9. ข้อเสนอแนะ

9.1 ขั้นตอนในการเก็บตัวอย่างควรมีความแม่นยำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในตัวอย่างที่มีความเสื่อมตามระยะเวลาที่เปลี่ยนไป และไม่ทำให้ตัวอย่างที่เก็บได้เกิดการปนเปื้อนในระหว่างการเก็บตัวอย่างหรือการเคลื่อนย้ายตัวอย่างเพื่อนำไปเก็บรักษา ก่อนการนำมาตรวจวัด

9.2 น้ำวุ้นลูกตาและน้ำข้อเข่า มีแนวโน้มเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นตามระยะเวลาที่เปลี่ยนแปลงไปเป็นไปในทิศทางเดียวกัน ทำให้สามารถนำมาใช้ในการทำนายเวลาหลังการเสียชีวิตที่แทนกันได้

9.3 การศึกษานี้เป็นการศึกษาเบื้องต้น (Preliminary Study) ทำให้มีตัวอย่างในการศึกษาจำนวนน้อย และควรเพิ่มปัจจัยควบคุม เช่น สถานที่ที่ใช้วางตัวอย่าง การป้องกันสัตว์หรือแมลงมากัดแทะตัวอย่าง เป็นต้น เพื่อให้ได้ผลการทดลองที่แม่นยำมากขึ้น

9.4 ช่วงเวลาในการนำตัวอย่างมาศึกษา มีระยะห่างกันเป็นทวีคูณ ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่ห่างกันมากเกินไป จึงควรมีการเพิ่มชั่วโมงย่อยในการเก็บตัวอย่างและลดปริมาตรในการเก็บต่อครั้ง

9.5 ควรเพิ่มปริมาณตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง เพื่อให้ได้ผลการทดลองที่มีความถูกต้องแม่นยำมากขึ้น

10. กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ อาจารย์พัชรา สีนลอยมา และอาจารย์ปริญญา สิตานันท์ คณะนิติวิทยาศาสตร์ โรงเรียนนายร้อยตำรวจ ที่ให้คำแนะนำแนวทางในการดำเนินงานวิจัยที่เป็นประโยชน์ และ ขอขอบพระคุณ อาจารย์สรารักษ์ คำปวน คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

ที่ช่วยเหลือแนะนำในการใช้เครื่องมืออุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์เพื่อใช้เก็บตัวอย่าง และขอขอบพระคุณ อาจารย์ปานใจ โวหารดี และ คุณจุฑาพิตร พงครามพันธุ์ สถาบันนิติวิทยาศาสตร์ กระทรวงยุติธรรม ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้ห้องปฏิบัติการ รวมถึงการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง

11. เอกสารอ้างอิง

- [1] เลี้ยง หุขประเสริฐ. (2561). ระยะเวลาการตายและการเปลี่ยนแปลงหลังตาย. สืบค้น 10 มีนาคม 2561, <http://www.ifm.go.th/th/ifm-book/ifm-textbook/114-lesson3.html>
- [2] DiMaio D. and DiMaio V. J. (2001). **Time of Death: Forensic Pathology**. 2nd Edition. United States: CRC Press.
- [3] Baniak N., Baniak C.G., Mulla A.B. and Kalra J. (2015). Vitreous Humour: A Short Review on Post-mortem Applications. J Clin Exp Pathol, 4(6): 1-7.
- [4] ปานใจ โวหารดี. (2562). การตรวจวัดปริมาณโลหะหนักหลายชนิดในน้ำวุ้นลูกตาเพื่อใช้ในการประมาณระยะเวลาหลังการเสียชีวิต. สืบค้น 3 สิงหาคม 2562, http://www.thai-explore.net/search_detail/result/6714.
- [5] Garg V., Oberoi S., Gorea R. and Kaur K. (2004). Changes in the levels of vitreous potassium with increasing time since death. Journal of Indian Academy of Forensic Medicine, 26(4): 136-139.
- [6] Jashnani K.D., Kale S.A. and Rupani A.B. (2010). Vitreous humour: Biochemical constituents in estimation of postmortem interval. Journal of forensic sciences, 55(6): 1523-1527.
- [7] Tumram N.K., Bardale R.V. and Dongre, A.P. (2011). Postmortem analysis of synovial fluid and vitreous humour for determination of death interval: a comparative study. Forensic science international, 204(1): 186-190.

- [8] ภักฤทัย สุนทร. (2557). การประมาณเวลาเสียชีวิตของศพจากระดับอิเล็กโทรไลต์จากน้ำในลูกตา. สืบค้น 10 มีนาคม 2561, http://www.thapra.lib.su.ac.th/thesis/showthesis_th.asp?id=0000011980.
- [9] จีรภัทร์ ตามวงศ์. (2557). การหาปริมาณโซเดียมโพแทสเซียม แมกนีเซียม และแคลเซียมไอออน จากตัวอย่างน้ำในลูกตาเพื่อประมาณเวลาการตาย. สืบค้น 5 มกราคม 2561, http://www.thapra.lib.su.ac.th/thesis/showthesis_th.asp?id=0000012041.
- [10] Srettabunjong S., Thongphap W. and Chittamma A. (2020). Urea, Uric Acid, and Creatinine in Postmortem Blood, Vitreous Humour, and Synovial Fluid: A Comparative and Correlation Study. *Journal of Forensic Sciences*, 65: 779-785.
- [11] Schaafsma G. (1988). Calcium in Extracellular Fluid: Homeostasis: Calcium in Human Biology ILSI Human Nutrition Reviews. 7 volumes. London: Springer
- [12] Sharp P. (2004). The molecular basis of copper and iron interactions. *Progs of the Nutrition Society*, 63(4): 563-569.