



การตรวจเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในพลาสมาโดยเทคนิค
แก๊สโครมาโทกราฟีชนิดเฟลมไอออไนเซชัน
**Determination of Methamphetamine and Amphetamine in Plasma by
Gas Chromatography Technique with Flame Ionization Detector**

เกษศิรินทร์พร กุลเกื้อ
Kesirinporn Kulkue

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Forensic Science
Prince of Songkla University**

2553

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์	การตรวจเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในพลาสมาโดยใช้แก๊สโครมาโทกราฟีชนิดเฟลมไอออไนเซชัน
ผู้เขียน	นางสาวเกษศิริรินทร์พร กุลเกื้อ
สาขาวิชา	นิติวิทยาศาสตร์
ปีการศึกษา	2553

บทคัดย่อ

การตรวจเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในพลาสมาโดยใช้แก๊สโครมาโทกราฟีชนิดเฟลมไอออไนเซชัน (GC-FID) เตรียมตัวอย่างพลาสมาโดยวิธีตกตะกอนโปรตีนด้วยเมทานอล ผลการทดลองพบว่า เมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนแสดงพีคที่เวลาประมาณ 3.62 และ 3.34 นาทีตามลำดับ กราฟมาตรฐานมีความเป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้น 0.10 - 50.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของเมทแอมเฟตามีนและ 0.10 - 2.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของแอมเฟตามีน ให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่ดี ($r^2 = 0.9999$) ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) เมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนมีค่า 0.0123 และ 0.0264 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ขีดจำกัดต่ำสุดของการหาปริมาณ (LOQ) เมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนมีค่า 0.0409 และ 0.0882 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ค่าร้อยละของการคืนกลับ (%recovery) ของเมทแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 0.10, 0.50, 2.50, 10.00 และ 50.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 0.10, 0.25, 0.50, 1.00 และ 2.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าอยู่ในช่วง 81 - 109% และ 93 - 104% ตามลำดับ ค่าความเที่ยงของการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (intraday) และระหว่างวัน (interday) แสดงในรูปค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) มีค่าอยู่ในช่วง 1.66 - 8.95% และ 3.91 - 8.68% สำหรับเมทแอมเฟตามีน 0.82 - 4.34% และ 3.44 - 8.11% สำหรับแอมเฟตามีน ได้ประยุกต์การตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในตัวอย่างพลาสมาคนที่ได้จากกรณีเสียชีวิต 6 ตัวอย่าง ซึ่งพบว่า มีปริมาณเมทแอมเฟตามีนอยู่ในช่วง 0.24 - 1.31 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและแอมเฟตามีนอยู่ในช่วง 0.23 - 0.32 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

สรุปได้ว่า เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีตัวตรวจวัดชนิดเฟลมไอออไนเซชันที่ได้พัฒนาขึ้น สามารถนำไปประยุกต์ใช้ตรวจวัดสารเสพติดกลุ่มแอมเฟตามีนในเลือด และตรวจวัดระดับเมทแอมเฟตามีนในผู้เสพยาหรือผู้เสียชีวิตจากการเสพยาเกินขนาด (overdose) อีกทั้งเป็นเทคนิคที่มีต้นทุนในการวิเคราะห์ต่ำ มีประสิทธิภาพความไว มีความถูกต้องในการวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนในพลาสมาที่ระดับความเข้มข้นต่ำได้ และยังเป็นทางเลือกสำหรับการประยุกต์ใช้ในงานด้านนิติพิษวิทยา

Thesis title Determination of Methamphetamine and Amphetamine in Plasma by Gas Chromatography Technique with Flame Ionization Detector

Author Miss Kesirinporn Kulkue

Major Program Forensic Science

Academic Year 2010

Abstract

Determination of methamphetamine and amphetamine in plasma was performed by gas chromatography with flame ionization detector (GC-FID). Plasma sample was prepared by protein precipitation with methanol. The results showed the retention time of methamphetamine and amphetamine peak were at 3.62 and 3.34 min, respectively. The calibration curves were all linear in the concentration range of 0.10 - 50.00 µg/mL for methamphetamine and 0.10 - 2.00 µg/mL for amphetamine with good correlation coefficient ($r^2 = 0.9999$). The limit of detection (LOD) of methamphetamine and amphetamine were 0.0123 and 0.0264 µg/mL, respectively, and limit of quantification (LOQ) of methamphetamine and amphetamine were 0.0409 and 0.0882 µg/mL, respectively. The percentage recoveries in plasma were 81 - 109% for methamphetamine at concentrations of 0.10, 0.50, 2.50, 10.00 and 50.00 µg/mL and 93 - 104% for amphetamine at concentrations of 0.10, 0.25, 0.50, 1.00 and 2.00 µg/mL. The intra and inter day precisions of the developed method were 1.66 - 8.95% and 3.91 - 8.68% for methamphetamine, 0.82 - 4.34% and 3.44 - 8.11% for amphetamine. The application of determination of methamphetamine and amphetamine in human plasma of 6 cases of dead bodies revealed variable concentrations of methamphetamine and amphetamine, ranging from 0.24 to 1.31 µg/mL and 0.23 to 0.32 µg/mL, respectively.

Overall, this gas chromatography with flame ionization detector technique developed can be applied for the determination of methamphetamine and amphetamine in blood from drug addicts and dead bodies as a consequence of drug overdose. Furthermore, it is low cost and provides effective, sensitive and accurate detection of low concentrations of methamphetamine in human plasma, and thus, is the good option for forensic toxicological application.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ ด้วยความช่วยเหลือและอนุเคราะห์จากคณาจารย์ และบุคคลหลายฝ่าย ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณนายแพทย์วิระชัย สมัย อาจารย์ที่ปรึกษา วิทยานิพนธ์หลัก ที่ให้การช่วยเหลือในทุกๆด้านอย่างดีที่สุดและให้ข้อเสนอแนะต่างๆ ตลอด ระยะเวลาของการทำวิทยานิพนธ์ ขอขอบพระคุณ ดร.ฐิติมา รุจิราลัย อาจารย์ที่ปรึกษา วิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำปรึกษาและตรวจทานวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.นายแพทย์พงษ์รักษ์ ศรีบัณฑิตมงคล ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.วีระวรรณ เรืองยุทธิกการณ และ รองศาสตราจารย์มาลินี วงศ์นาวา กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้ข้อเสนอแนะในการแก้ไข วิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์สุวิทย์ เรืองกิตติสกุล ที่ให้ความ อนุเคราะห์สถานที่ในการทำวิทยานิพนธ์ ณ หน่วยนิติเวชศาสตร์และพิษวิทยา ภาควิชาพยาธิ วิทยา คณะแพทยศาสตร์ ขอขอบคุณอาจารย์และเจ้าหน้าที่หน่วยนิติเวชศาสตร์และพิษวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ ที่ให้คำแนะนำต่างๆ ระหว่างทำการทดลอง

ขอขอบคุณ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่สนับสนุนทุนวิจัย ขอขอบคุณหลักสูตรนิติวิทยาศาสตร์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์ ภาควิชาเคมี ภาควิชาเภสัช วิทยาและคุณผู้สดี มะหะหมัด หัวหน้าหน่วยเครื่องมือกลางคณะวิทยาศาสตร์ ตลอดจนเพื่อนๆ นักศึกษา ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกตลอดระยะเวลาของการทำวิทยานิพนธ์

สุดท้ายข้าพเจ้าขอขอบพระคุณแม่และครอบครัวของข้าพเจ้า ที่คอยห่วงใยและ เป็นกำลังใจที่ดีที่สุดตลอดมา รวมทั้งสนับสนุนค่าใช้จ่ายในระหว่างการศึกษา คุณความดีแห่ง วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่านที่ทำให้ข้าพเจ้าประสบความสำเร็จ

เกษศิริรินทร์พร กุลเกื้อ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(4)
กิตติกรรมประกาศ	(5)
สารบัญ	(6)
รายการตาราง	(8)
รายการภาพ	(10)
รายการแผนภูมิ	(12)
บทที่	
1. บทนำ	1
1.1 บทนำตั้งเรื่อง	1
1.2 บทตรวจเอกสาร	4
1.2.1 สถานการณ์เมทแอมเฟตามีนในประเทศไทย	4
1.2.2 เมทแอมเฟตามีน/แอมเฟตามีน	9
1.2.3 แก๊สโครมาโทกราฟี	17
1.2.4 การเตรียมตัวอย่าง (Sample preparation)	24
1.2.5 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	33
1.3 วัตถุประสงค์	36
2. วิธีการวิจัย	37
2.1 สารเคมี	37
2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์	38
2.3 วิธีดำเนินการ	38
2.3.1 การเตรียมสารละลาย	38
2.3.2 ศึกษาหาตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมตัวอย่าง ด้วยวิธีการตกตะกอนโปรตีน	38
2.3.3 ศึกษาความจำเพาะเจาะจงและความสามารถในการเลือก (specificity/selectivity)	39
2.3.4 วิธีเตรียมตัวอย่าง	39
2.4 การศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation)	39
2.5 การตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในพลาสมา	43
2.6 การตั้งค่าเครื่องมือ	44
	(6)

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	44
3. ผลและบทวิจารณ์	45
3.1 ศึกษาหาตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมตัวอย่าง เมทแอมเฟตามีนในพลาสมาด้วยวิธีการตกตะกอนโปรตีน	45
3.2 ศึกษาความจำเพาะเจาะจงและความสามารถในการเลือก (specificity/selectivity)	47
3.3 ศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation)	53
3.3.1 ศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีน	53
3.3.2 ศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์แอมเฟตามีน	62
3.4 การตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนในพลาสมา	70
4. บทสรุปและข้อเสนอแนะ	77
บรรณานุกรม	80
ภาคผนวก	87
ประวัติผู้เขียน	97

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1.1 แสดงสมบัติทางกายภาพของเมทแอมเฟตามีน	9
1.2 แสดงสมบัติทางกายภาพของแอมเฟตามีน	10
1.3 แสดงลักษณะที่สำคัญของคอลัมน์ในเครื่อง GC	20
1.4 แสดงปฏิกิริยาอนุพันธ์กับหมู่ฟังก์ชันนัล	32
2.1 แสดงร้อยละการคืนกลับที่ยอมรับได้ในช่วงความเข้มข้นต่าง ๆ	41
2.2 แสดงร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ที่ยอมรับได้ในช่วงความเข้มข้นต่าง ๆ	42
2.3 แสดงสภาวะของเครื่อง GC-FID ในการวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีน	44
3.1 แสดงความเป็นซ้ำของตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด	45
3.2 แสดงพื้นที่พีคของเมทแอมเฟตามีนหลังจากตกตะกอนโปรตีนด้วยตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด	45
3.3 แสดงเวลาที่เกิดพีคของสารแต่ละชนิด	47
3.4 แสดงค่าเฉลี่ยพื้นที่พีคและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของเมทแอมเฟตามีนใน blank พลาสมา	55
3.5 แสดงค่าร้อยละการคืนกลับของเมทแอมเฟตามีน	57
3.6 แสดงค่าความเที่ยงของการวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนในพลาสมาภายในวันเดียวกันและระหว่างวัน	57
3.7 แสดงร้อยละความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ Freeze-thaw stability	58
3.8 แสดงร้อยละความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ Long-term stability	59
3.9 แสดงร้อยละความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ Short-term stability	60
3.10 แสดงร้อยละความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ Post-preparative stability	61
3.11 แสดงค่าเฉลี่ยพื้นที่พีคและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของแอมเฟตามีนใน blank พลาสมา	64
3.12 แสดงค่าร้อยละการคืนกลับของแอมเฟตามีน	66

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
3.13	แสดงค่าความเที่ยงของการวิเคราะห์แอมเฟตามีนในพลาสติกภายในวันเดียวกันและระหว่างวัน	66
3.14	แสดงร้อยละความเข้มข้นของแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ Freeze-thaw stability	67
3.15	แสดงร้อยละความเข้มข้นของแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ Long-term stability	68
3.16	แสดงร้อยละความเข้มข้นของแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ Short-term stability	69
3.17	แสดงร้อยละความเข้มข้นของแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ Post-preparative stability	70
3.18	แสดงปริมาณเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในพลาสติกที่เก็บจากผู้เสียชีวิต	71

ภาคผนวก 2

1	แสดงข้อมูลของกราฟมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนในพลาสติก	91
2	แสดงข้อมูลของกราฟมาตรฐานแอมเฟตามีนในพลาสติก	92

รายการภาพ

ภาพที่		หน้า
1.1	แสดงพื้นที่นำเข้าเมทแอมเฟตามีนในปี พ.ศ. 2550 - 2553	6
1.2	แสดงโครงสร้างของแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีน	9
1.3	แสดงลักษณะของเม็ดยาเมทแอมเฟตามีน	10
1.4	แสดงลักษณะของไอซ์	12
1.5	แสดงกระบวนการเมแทบอลิซึม (Metabolism) ของเมทแอมเฟตามีน	14
1.6	แสดงส่วนประกอบพื้นฐานของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี	18
1.7	แสดงภาพตัดขวางส่วนฉีดสารแบบ Split / Splitless	19
1.8	แสดงลักษณะตัวตรวจวัดแบบเฟลมไอออไนเซชัน	22
1.9	แสดงการสกัดด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย	26
1.10	แสดงขั้นตอนการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง	27
1.11	แสดงขั้นตอนของเทคนิคเฮดสเปซ	29
1.12	แสดงขั้นตอนของเทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งปริมาณน้อย	30
3.1	แสดงโครมาโทแกรมของ blank เมทานอล	47
3.2	แสดงโครมาโทแกรมของ blank พลาสมา	48
3.3	แสดงโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานแอมเฟตามีนในเมทานอล ที่ความเข้มข้น 20.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	48
3.4	แสดงโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนในเมทานอล ที่ความเข้มข้น 20.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	49
3.5	แสดงโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานเฟนเทอร์มีนในเมทานอล ที่ความเข้มข้น 20.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	49
3.6	แสดงโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานเฟนฟลูรามีนในเมทานอล ที่ความเข้มข้น 20.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	50
3.7	แสดงโครมาโทแกรมแบบ overlay ของสารมาตรฐาน; (A) ชูโดอีฟีดรีนและ (B) อีฟีดรีนในเมทานอลที่ความเข้มข้น 20.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	50
3.8	แสดงโครมาโทแกรมของสารมาตรฐาน 3,4-methylenedioxymethamphetamine ในเมทานอลที่ความเข้มข้น 20.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	51
3.9	แสดงโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานชนิดต่างๆ ในเมทานอล ที่ความเข้มข้น 1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	52
3.10	แสดงช่วงความเป็นเส้นตรงของเมทแอมเฟตามีนในพลาสมา	53
3.11	แสดงโครมาโทแกรมของ blank พลาสมาเมทแอมเฟตามีน	54

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
3.12	แสดงโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนในเมทานอล ที่ความเข้มข้น 0.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	54
3.13	แสดงโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนในพลาสติก ที่ความเข้มข้น 0.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	55
3.14	แสดงช่วงความเป็นเส้นตรงของแอมเฟตามีนในพลาสติก	62
3.15	แสดงโครมาโทแกรมของ blank พลาสติกแอมเฟตามีน	63
3.16	แสดงโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานแอมเฟตามีนในเมทานอล ที่ความเข้มข้น 1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	63
3.17	แสดงโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานแอมเฟตามีนในพลาสติก ที่ความเข้มข้น 1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	64
3.18	แสดงพีคของ case A1	72
3.19	แสดงพีคของ case A2	72
3.20	แสดงพีคของ case A3	73
3.21	แสดงพีคของ case A4	73
3.22	แสดงพีคของ case A5	74
3.23	แสดงพีคของ case A6	74

รายการแผนภูมิ

แผนภูมิแห่งที่	หน้า	
1.1	แสดงสถิติรูปแบบการลักลอบนำเข้าเมทแอมเฟตามีนในปีต่าง ๆ	7
1.2	แสดงสถิติจำนวนเมทแอมเฟตามีนที่จับกุมได้ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2548 - มิถุนายน พ.ศ. 2553	8
3.1	แสดงการเปรียบเทียบพื้นที่พืชของเมทแอมเฟตามีนในตัวทำลายทั้ง 4 ชนิดที่ใช้ในการตกตะกอนโปรตีน	46

ภาคผนวก 3

1	แสดงร้อยละความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ Freeze-thaw stability	93
2	แสดงร้อยละความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ Long-term stability	93
3	แสดงร้อยละความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ Short-term stability	94
4	แสดงร้อยละความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ Post-preparative stability	94

ภาคผนวก 4

1	แสดงร้อยละความเข้มข้นของแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ Freeze-thaw stability	95
2	แสดงร้อยละความเข้มข้นของแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ Long-term stability	95
3	แสดงร้อยละความเข้มข้นของแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ Short-term stability	96
4	แสดงร้อยละความเข้มข้นของแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ Post-preparative stability	96

บทที่ 1

บทนำ

1.1 บทนำต้นเรื่อง

เมทแอมเฟตามีน (methamphetamine, MA) จัดอยู่ในกลุ่มอนุพันธ์ของสารกลุ่มแอมเฟตามีน (amphetamine, AM) และเป็นส่วนประกอบหลักของยาบ้าในประเทศไทย สารกลุ่มนี้แพร่ระบาดอยู่ 3 รูปแบบ คือ แอมเฟตามีนซัลเฟต (amphetamine sulfate) เมทแอมเฟตามีน (methamphetamine) และเมทแอมเฟตามีนไฮโดรคลอไรด์ (methamphetamine hydrochloride) ซึ่งจากการตรวจพิสูจน์เม็ดยาในประเทศไทย พบว่า เกือบทั้งหมดมีเมทแอมเฟตามีนไฮโดรคลอไรด์ผสมอยู่ (สำนักงาน ป.ป.ส., 2545) ในอดีตแอมเฟตามีนใช้เป็นยารักษาโรคที่นิยมคือเป็นยาแก้หวัด เนื่องจากมีฤทธิ์ในการกระตุ้นระบบประสาทส่วนกลาง ทำให้เกิดความรู้สึกตื่นตัว กระปรี้กระเปร่า ระยะเวลาจึงมีผู้นำมาใช้เป็นสารเสพติดเพื่อเพิ่มความสามารถในการทำงาน โดยเฉพาะกลุ่มผู้ทำงานหนัก เช่น กรรมกร คนขับรถบรรทุก นักศึกษาในช่วงอ่านหนังสือสอบ โดยการรับประทาน ปัจจุบันเมทแอมเฟตามีนเป็นสารที่แพร่ระบาดเข้าไปสู่ทุกกลุ่มอาชีพ โดยเฉพาะกลุ่มเยาวชน นักเรียน นักศึกษาและนักเที่ยวกลางคืน มักเสพเพื่อความบันเทิง ความสนุกสนาน ทำให้มันใจ และเปลี่ยนวิธีใช้เป็นแบบสูบเอาควัน ทำให้รู้สึกเคลิ้มสุข (euphoria) ได้รวดเร็วกว่าการรับประทาน ทำให้มีการลักลอบผลิตและจำหน่ายอย่างผิดกฎหมายเพิ่มขึ้นจนก่อให้เกิดปัญหาต่อสังคม เนื่องจากพฤติกรรมของผู้เสพที่ต้องเพิ่มขนาดยาขึ้นเรื่อยๆ จนทำให้เกิดอาการของประสาทหลอน วิดตกำงวล หวาดระแวงเหมือนคนบ้าจนต้องเปลี่ยนชื่อเรียกเป็นยาบ้า (สมศรี ไชยภารมณ, 2549) เมทแอมเฟตามีนมีลักษณะเป็นเม็ดกลมแบนขนาดเล็ก เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 6 - 8 มิลลิเมตร ความหนาประมาณ 3 มิลลิเมตร น้ำหนักเม็ดยาประมาณ 80 - 100 มิลลิกรัม ส่วนใหญ่มีสัญลักษณ์ WY หรือ Wy พบเป็นสัญลักษณ์ R หรือ SY ได้บ้าง ในถุงบรรจุขนาด 200 เม็ด จะพบเม็ดยาสีส้ม สีแดง สีม่วงและจะมีเม็ดสีเขียวจำนวน 2 เม็ด ในเมทแอมเฟตามีน 1 เม็ดจะประกอบด้วยเมทแอมเฟตามีนไฮโดรคลอไรด์ (20 - 30 เปอร์เซ็นต์) คาเฟอีน (60 - 70 เปอร์เซ็นต์) และสารอื่นๆ พวกแป้งและสีจากปริมาณของสารบริสุทธิ์เมทแอมเฟตามีนไฮโดรคลอไรด์ที่มีปริมาณน้อยมากหรือบางเม็ดอาจไม่มีเลย ในกลุ่มผู้เสพจึงเรียกว่า ยาบ้าเทียม (Puthaviriyakorn *et al.*, 2002)

การแพร่ระบาดอย่างรุนแรงของเมทแอมเฟตามีน ทำให้กระทรวงสาธารณสุขได้ประกาศให้สารกลุ่มแอมเฟตามีนรวมทั้งอนุพันธ์ของแอมเฟตามีนเป็นสารเสพติดให้โทษร้ายแรงประเภทที่ 1 ตามพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษปี พ.ศ. 2522 (วิโรจน์ สุ่มใหญ่, 2543) และมี

การกำหนดโทษผู้ค้าสารเสพติดกลุ่มแอมเฟตามีนตามพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษปี พ.ศ. 2522 แก้ไขเพิ่มเติม (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2545 เกี่ยวกับบทลงโทษตามมาตรา 15 วรรค 3 สรุปได้ คือ การผลิต นำเข้า ส่งออก หรือมีไว้ในครอบครองซึ่งแอมเฟตามีนหรืออนุพันธ์ของแอมเฟตามีน มีปริมาณคำนวณเป็นสารบริสุทธิ์ตั้งแต่ 375 มิลลิกรัมขึ้นไปหรือมียาเสพติดที่มีสารดังกล่าว น้ำหนักสุทธิ 1.5 กรัมขึ้นไปให้ถือว่าเป็นการผลิต นำเข้า ส่งออก หรือมีไว้ในครอบครองเพื่อจำหน่าย มีบทลงโทษตามปริมาณที่มีอยู่ แต่ถ้ามีปริมาณคำนวณเป็นสารบริสุทธิ์ตั้งแต่ 375 มิลลิกรัมถึง 20 กรัมหรือมากกว่าต้องระวางโทษสูงสุดถึงประหารชีวิต (สมศรี ไชยภรณ์, 2549) แต่เมทแอมเฟตามีนยังคงแพร่ระบาดอย่างต่อเนื่อง หลังจากรัฐบาลสามารถประกาศชัยชนะต่อปัญหาเสพติดได้ เมื่อวันที่ 3 ธันวาคม พ.ศ. 2547 ทำให้ปัญหาเสพติดลดความรุนแรงลง (เพิ่มพงษ์ ชาวลิต, 2550) แต่ก็ไม่สามารถกำจัดเมทแอมเฟตามีนให้หมดไปได้ หลังจากที่มีการเปลี่ยนแปลงทางการเมืองก็มีการแพร่ระบาดของเมทแอมเฟตามีนอย่างต่อเนื่องเพิ่มมากขึ้นในปัจจุบัน

เมทแอมเฟตามีนเมื่อเข้าสู่ร่างกายจะถูกดูดซึมได้ดีในทางเดินอาหารและเข้าสู่กระแสเลือด ออกฤทธิ์ที่สมองและขับออกจากร่างกายได้ทางลมหายใจ เหงื่อและปัสสาวะ การตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนมีความสำคัญในการยืนยันว่า ผู้ต้องสงสัยหรือผู้เสียชีวิตมีการเสพยาเมทแอมเฟตามีนหรือไม่ ซึ่งเมทแอมเฟตามีนสามารถตรวจพบได้ในตัวอย่างปัสสาวะ เลือด น้ำจากกระเพาะ เหงื่อ เส้นผมและเล็บของผู้เสพยา (Jirovsky *et al.*, 1998) ในปัจจุบันการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนจะทำการตรวจสอบเบื้องต้นโดยใช้ “ปัสสาวะ” เนื่องจากเมทแอมเฟตามีนคงอยู่ในปัสสาวะได้นานกว่าตัวอย่างอื่น ปริมาณเมทแอมเฟตามีนในปัสสาวะมีมากกว่าในเลือดและการตรวจจากปัสสาวะทำได้ง่ายกว่าตัวอย่างอื่น การตรวจเมทแอมเฟตามีนทำได้ 2 ขั้นตอน คือ การตรวจพิสูจน์ขั้นต้น (screening test) และการตรวจยืนยันผล (confirmation test) ซึ่งทั้ง 2 วิธีจะต้องตรวจเมื่อผู้เสพยาเมทแอมเฟตามีนครั้งสุดท้ายไม่เกิน 12 - 72 ชั่วโมง (Kraemer and Maurer, 1998) การตรวจพิสูจน์ขั้นต้นมี 2 วิธี คือ color test และ immunoassay test kit

สำหรับวิธีการตรวจยืนยันผล นิยมใช้เทคนิคทางโครมาโทกราฟีที่มีความไว (sensitivity) และความจำเพาะสูง (specificity) ซึ่งในประเทศไทยส่วนใหญ่จะใช้เทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (thin-layer chromatography, TLC) เพราะเป็นวิธีการตรวจยืนยันขั้นพื้นฐานและไม่สิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย แต่ข้อดีของการใช้เทคนิค TLC คือ ใช้เวลาในการทดสอบนาน มีความไว และความจำเพาะที่ต่ำกว่าวิธีอื่น (Scott, 2008) เช่น ไฮเปอร์ฟอร์แมนซ์ลิกวิดโครมาโทกราฟี (high performance liquid chromatography, HPLC) และ แก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมทรี (gas chromatography/mass spectrometry, GC/MS) ซึ่งเป็นวิธีการตรวจยืนยันผลที่ดีที่สุด แต่ค่าใช้จ่ายสูง ต้องใช้ผู้มีประสบการณ์และความชำนาญสูงในการทดสอบ ในทางการแพทย์จะใช้วิธีตรวจพิสูจน์ขั้นต้น แต่ในทางกฎหมายหรือเพื่อพิสูจน์ว่าไม่มีเมทแอมเฟตามีนในร่างกายจำเป็นต้องตรวจเพื่อยืนยัน แต่บางครั้งปัสสาวะมักจะถูกปนเปื้อนจากสารอื่น

การตรวจขั้นต้นอาจพบ “ผลบวกเท็จ” ได้จากการใช้ยาบางชนิด โดยเฉพาะยาในกลุ่ม symphathomimetic amine เช่น อีฟีดรีน (ephedrine), ซูโดอีฟีดรีน (pseudoephedrine), ไดเฟนไฮดรามีน (diphenhydramine) และยาลดความอ้วน เช่น เฟนเทอร์มีน (phentermine) รวมทั้งยาอีกหลายชนิด เช่น เคตามีน (ketamine), เฮโรอีน (heroin), โคดีอีน (codeine) และเอมีเนปทีน (amineptine) เป็นต้น (Moffat *et al.*, 1986; ศุภรัตน์ ธรรมพิทักษ์, 2550) ทำให้ไม่สามารถตรวจสอบได้ หรือในกรณีที่ไม่สามารถเก็บตัวอย่างได้ เช่น จากศพที่เสียชีวิตจากการเสพยาเกินขนาด (overdose) หรือกรณีที่เป็นการตรวจทางคลินิกเพื่อหาระดับการออกฤทธิ์หรือระดับของสารเสพติดที่ทำให้เสียชีวิต วิธีการตรวจวัดที่ดีที่สุดคือ การตรวจหาปริมาณจากเลือด (Levine, 2003)

การตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนในเลือดนิยมใช้เทคนิคทางโครมาโทกราฟี เช่น แก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography, GC), แก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโทรเมตรี (gas chromatography - mass spectrometry, GC-MS), ไฮเปอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี (high performance liquid chromatography, HPLC) และ ลิควิดโครมาโทกราฟี - แทนเดมแมสสเปกโทรเมตรี (liquid chromatography - tandem mass spectrometry, LC-MS/ MS) (Kikura and Nakahara, 1995 ; Sato and Mitsui, 1997 ; Okajima *et al.*, 2001 ; Nishida *et al.*, 2002 ; Martinis *et al.*, 2007) แต่เทคนิคดังกล่าวมีข้อจำกัด คือ ค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์สูง อีกทั้งเครื่องมือและผู้ชำนาญการมีน้อยจะมีเฉพาะในหน่วยงานขนาดใหญ่ จึงจำเป็นต้องประยุกต์ใช้เครื่องมือพื้นฐานที่มีในหน่วยงานด้านวิทยาศาสตร์ อย่างเช่น แก๊สโครมาโทกราฟีเฟลมไอออไนเซชัน (gas chromatography - flame ionization detector, GC-FID) มาใช้ในการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนในเลือด โดยผลที่ได้มีความถูกต้องแม่นยำและค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ต่ำ

ดังนั้นในการศึกษานี้ต้องการประยุกต์ใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีตัวตรวจวัดชนิดเฟลมไอออไนเซชัน (GC-FID) ในการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนในพลาสมา เพื่อลดข้อจำกัดในการตรวจวัดระดับเมทแอมเฟตามีนในเลือด ซึ่งผลการตรวจวัดให้ค่าที่ถูกต้องแม่นยำและเชื่อถือได้ เพื่อใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์และงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ต่อไป

1.2 บทตรวจเอกสาร

1.2.1 สถานการณ์เมทแอมเฟตามีนในประเทศไทย

ยาเสพติดที่แพร่ระบาดในประเทศไทยมีหลายชนิด แต่ในปัจจุบัน "ยาบ้า" หรือ "เมทแอมเฟตามีน" เป็นยาเสพติดที่เป็นปัญหามากที่สุด การแพร่ระบาดของเมทแอมเฟตามีนมีความรุนแรง ซึ่งส่วนใหญ่มีการนำเข้าจากแหล่งผลิตในประเทศเพื่อนบ้าน แม้จะมีการกวาดล้างจากเจ้าหน้าที่ของรัฐอย่างเข้มงวด แต่ไม่สามารถกวาดล้างเมทแอมเฟตามีนให้หมดลงได้ สถานการณ์การแพร่ระบาดของเมทแอมเฟตามีนที่สำคัญมี 3 ลักษณะ คือ การผลิต การค้า/ลำเลียง และการแพร่ระบาด

การผลิต

จากการรายงานของสำนักงานยาเสพติดและอาชญากรรมแห่งสหประชาชาติ (UNODC) กล่าวว่า เมทแอมเฟตามีนที่ระบาดอยู่ทั่วโลกมีฐานการผลิตอยู่บริเวณชายแดนแม่โขงและพื้นที่รัฐฉานของประเทศพม่า ซึ่งมีพื้นที่ติดกับประเทศลาว ไทย กัมพูชาและระบาดเข้าสู่ประเทศไทยผ่านบริเวณสามเหลี่ยมทองคำโดยชนกลุ่มน้อยตามชายแดนไทย-พม่า (UNODC, 2008) สำหรับการผลิตในประเทศไทยอยู่ในพื้นที่ชายแดนภาคเหนือเป็นหลัก โดยมีฐานการผลิตอยู่ไม่น้อยกว่า 15 จังหวัดเป็นแหล่งอัดเม็ดขนาดใหญ่ การผลิตเป็นไปในลักษณะอุตสาหกรรมในครัวเรือน (Home Lab) ที่มีอุปกรณ์อัดเม็ดขนาดเล็ก โดยดอกเม็ดยาที่ผสมเมทแอมเฟตามีนกับสารประกอบอื่นๆ เช่น คาเฟอีน อีพีดรีน และแป้ง กระจายอยู่ทั่วประเทศ (ปัญญา อินทรอุดม, 2551) สำหรับในปี พ.ศ. 2553 เริ่มพบว่ามี การจับกุมแหล่งผลิตอัดเม็ดเมทแอมเฟตามีนในพื้นที่กรุงเทพฯ และปริมณฑล เนื่องจากมีการดำเนินการปราบปรามอย่างเข้มงวดของเจ้าหน้าที่ ทำให้การจัดหายาเสพติดจากพื้นที่ชายแดนของกลุ่มนักค้าทำได้ยากลำบากยิ่งขึ้น อีกทั้งยังใช้ต้นทุนสูงกว่าการนำหัวเชื้อมาผลิตอัดเม็ดในพื้นที่ตอนใน อาจทำให้มีนักค้าบางกลุ่มเริ่มหันมาผลิตอัดเม็ดยาบ้าเพิ่มขึ้น โดยมีนักโทษในเรือนจำเป็นผู้บงการ หรือติดต่อสั่งการ นอกจากนี้ยังพบว่ามี การผลิตเมทแอมเฟตามีนในรูปแบบไอซ์ จากการจับกุมพบ การลักลอบผลิตไอซ์ในลักษณะของ Kitchen Lap เพิ่มขึ้น ซึ่งผู้ต้องหาวิธีการผลิต และสั่งซื้อสารเคมีทางอินเทอร์เน็ต (สำนักยุทธศาสตร์, 2553)

การค้าและการลำเลียง กลุ่มเครือข่ายนักค้าสำคัญและรูปแบบการค้า ได้แก่

1) นักค้านอกประเทศ

- กลุ่มคนจีน ซึ่งประกอบด้วยนักค้าจีนแผ่นดินใหญ่ นักค้าจีนไต้หวัน จีนฮ่องกง จีนสิงคโปร์ และจีนมาเลเซีย ส่วนใหญ่จะมีความสัมพันธ์กันเป็นเครือข่าย สามารถเดินทางเคลื่อนไหวไปได้ในทุกประเทศ (สำนักยุทธศาสตร์, 2552)

- กลุ่มชาวแอฟริกัน เคลื่อนไหวในหลายพื้นที่และในหลายประเทศ นิยมใช้ผู้หญิงในการลำเลียง

- กลุ่มชนกลุ่มน้อยในพื้นที่ประเทศพม่า หรือกลุ่มนักค้าชายแดน ส่วนใหญ่เป็นชนกลุ่มน้อยที่อาศัยอยู่ตามบริเวณชายแดนและสามารถเคลื่อนไหวข้ามไปมาได้ทั้งสองประเทศ เช่น กลุ่มจีนฮ่อ มูเซอ ลีซอ เย้า และม้ง (สำนักยุทธศาสตร์, 2552)

2) นักค้าในประเทศ

- นักค้าสัญชาติลาว ซึ่งอาศัยอยู่บริเวณชายแดนไทยประเทศลาว ส่วนใหญ่จะเป็นชาวบ้านที่อาศัยอยู่ในประเทศลาว เข้ามาจับจ่ายลำเลียงเมทแอมเฟตามีนเข้ามาสู่ประเทศไทย เนื่องจากได้ผลตอบแทนสูงมากกว่าทำอาชีพอื่นๆ หากสามารถนำเมทแอมเฟตามีนมาสู่พื้นที่ตอนในได้ จะได้ค่าจ้างหรือผลตอบแทนจำนวนมาก (สำนักยุทธศาสตร์, 2552)

- นักค้าในเรือนจำ ส่วนใหญ่คือนักค้าระดับรายสำคัญที่ถูกจับกุมตั้งแต่การประกาศสงครามยาเสพติดเมื่อปี พ.ศ. 2546 และถูกศาลตัดสินลงโทษชั้นสูง เช่น ประหารชีวิต จำคุกตลอดชีวิต หรือจำคุกตั้งแต่ 20 ปี ขึ้นไป ใช้วิธีค้าโดยการให้โทรศัพท์ มือถือสื่อสารกับกลุ่มบุคคลภายนอก หรือบางคนใช้วิธีติดต่อผู้ต้องขังในคดีอื่นๆ ที่ได้รับโทษจำคุกไม่นานนัก เมื่อออกจากเรือนจำไปแล้วให้มาทำหน้าที่ประสานงานในการค้ายาเสพติดแทนตัวเอง (สำนักยุทธศาสตร์, 2552)

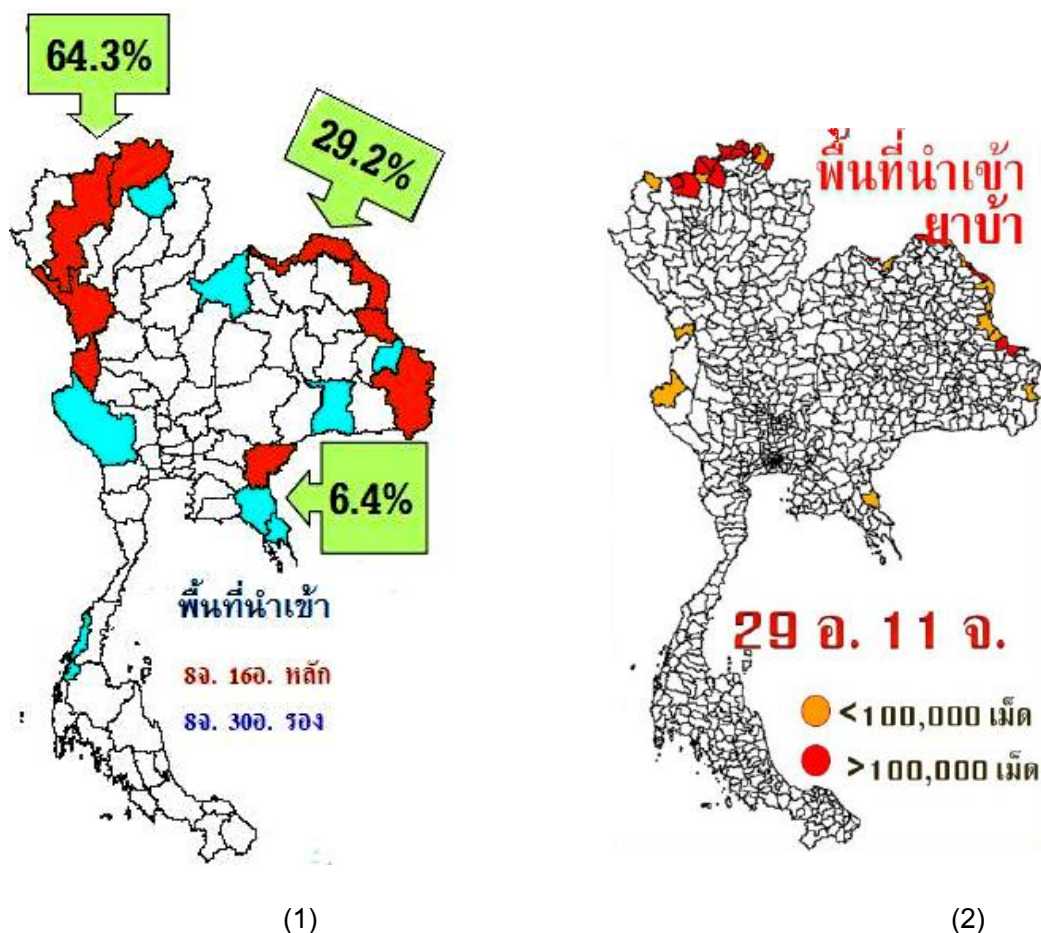
บุคคลเหล่านี้มีความสามารถในการลักลอบลำเลียงนำเข้าเมทแอมเฟตามีนได้ในบางพื้นที่ตลอดแนวชายแดนไทยและประเทศเพื่อนบ้าน ดังแสดงในภาพที่ 1.1

- พื้นที่นำเข้ายาเสพติดทางภาคเหนือร้อยละ 60 มาทางจังหวัดเชียงใหม่และเชียงราย ร้อยละ 30 นำเข้าทางจังหวัดตากและแม่ฮ่องสอน ร้อยละ 10 นำเข้ามาทางจังหวัดพะเยา น่าน และอุตรดิตถ์ แต่จากมาตรการสกัดกั้นที่เข้มแข็งทำให้กลุ่มผู้ลักลอบปรับเปลี่ยนเส้นทางนำเข้า ไปใช้เส้นทางผ่านประเทศลาวเข้าภาคอีสาน ผ่านทางจังหวัดอุบลราชธานี หนองคาย เลย นครพนม และมุกดาหาร ซึ่งมีปริมาณการนำเข้าเมทแอมเฟตามีนถึงร้อยละ 80 ของการนำเข้าทั้งประเทศ และส่วนใหญ่เป็นพื้นที่ที่มีปริมาณการนำเข้าต่อครั้งสูง ครั้งปีแรก พ.ศ. 2553 มีการจับกุมการนำเข้ายาบ้า 100,000 เม็ดขึ้นไป เป็นการนำเข้าด้านจังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ หนองคาย อำนาจเจริญ และอุบลราชธานี ซึ่งส่วนใหญ่ร้อยละ 70 จะส่งไปยังภูมิภาคอื่นของประเทศ (สำนักยุทธศาสตร์, 2552)

- ในพื้นที่ภาคกลางพบการนำเข้าเมทแอมเฟตามีนจากประเทศพม่าด้านจังหวัดกาญจนบุรีและประจวบคีรีขันธ์ จากกัมพูชาเข้ามาทางด้านจังหวัดสระแก้ว จันทบุรี และตราด

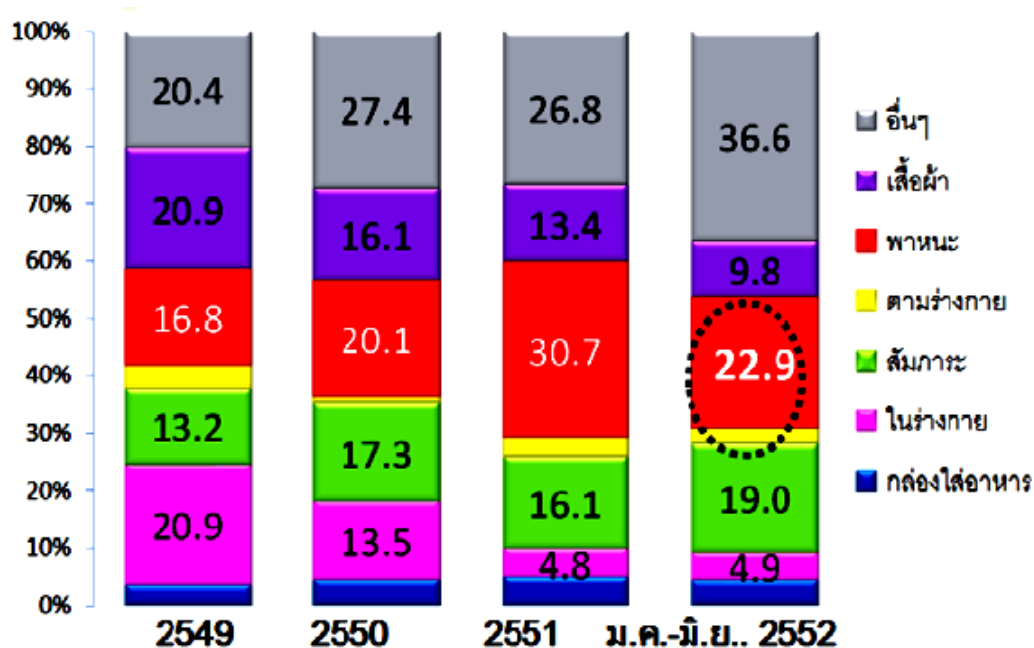
- ทางภาคใต้ มีการนำเข้าเมทแอมเฟตามีนทางด้านจังหวัดระนอง โดยจุดลักลอบนำเข้าที่สำคัญ ได้แก่จังหวัดสุราษฎร์ธานี สงขลา นราธิวาส ยะลา และสตูล (สำนักยุทธศาสตร์, 2552; 2553)

นอกจากนั้นยังพบการนำเข้าเมทแอมเฟตามีนรูปแบบไอซ์ ทางท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ จังหวัดสมุทรปราการ โดยมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น ส่วนใหญ่เป็นการนำเข้าโดยชาวอิหร่าน ซึ่งจะซุกซ่อนโดยการกลืนเข้าไปในร่างกาย (สำนักยุทธศาสตร์, 2553)



(1) (2)
 ภาพที่ 1.1 แสดงพื้นที่นำเข้าเมทแอมเฟตามีนในปี พ.ศ. 2550 - 2553
 ที่มา: (1) <http://www.nccd.go.th/upload/content/situation%281%29.pdf>
 (2) <http://www.nccd.go.th/upload/content/suj.pdf>

วิธีการสำคัญในการลักลอบลำเลียงเมทแอมเฟตามีน กลุ่มผู้ลักลอบได้นำกระดาษคาร์บอนมาใช้เพื่อป้องกันการตรวจเอ็กซเรย์ จากนั้นจะใช้น้ำยาดับกลิ่นทาทับบ่อยาเสพติด เพื่อป้องกันกลิ่นและบรรจุลงในกล่องพัสดุ พร้อมระบุชื่อผู้ส่ง-ผู้รับที่ไม่สามารถตรวจสอบได้และการลำเลียงอีกรูปแบบหนึ่งคือ การซุกซ่อนมาในร่างกายโดยเฉพาะทางทวารหนักและช่องคลอด ทำให้ยากลำบากต่อการตรวจค้นของเจ้าหน้าที่ (สำนักงาน ป.ป.ส., 2550) สถิติรูปแบบการลักลอบนำเข้าเมทแอมเฟตามีนในช่วงปี พ.ศ. 2549 - มิถุนายน พ.ศ. 2552 แสดงในแผนภูมิแท่งที่ 1.1

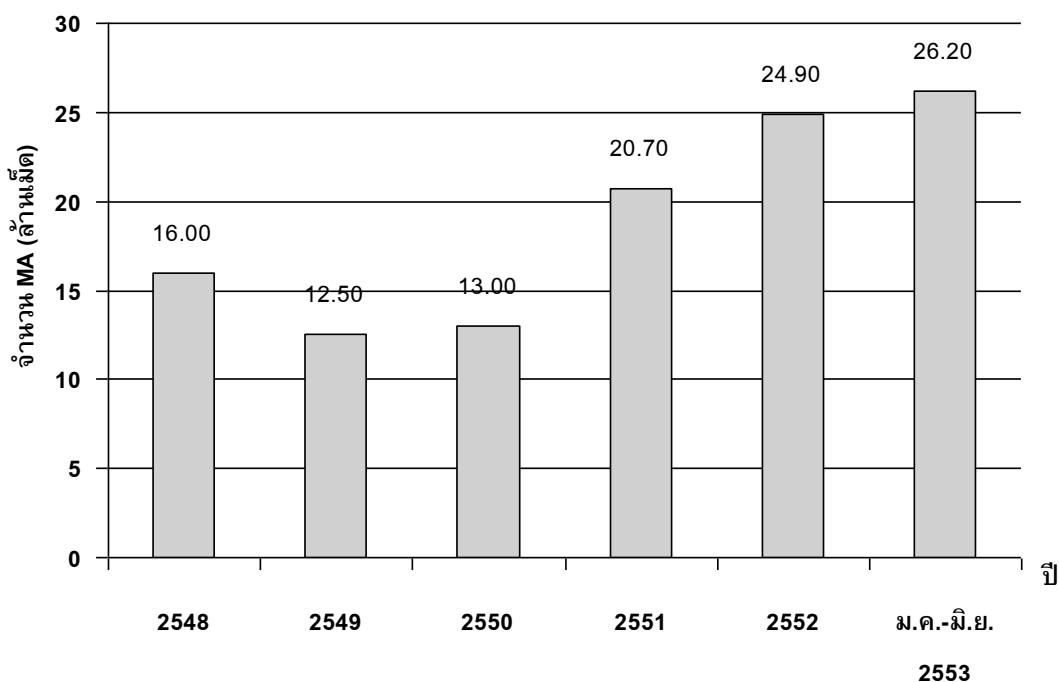


แผนภูมิแท่งที่ 1.1 แสดงสถิติรูปแบบการลักลอบนำเข้าเมทแอมเฟตามีนในปีต่างๆ

ที่มา: <http://www.nccd.go.th/upload/content/situationtrendin2009%28published%29.pdf>

จากสถิติพบว่ารูปแบบวิธีการซุกซ่อนลำเลียงเมทแอมเฟตามีน จะซุกซ่อนลำเลียงในยานพาหนะมีสัดส่วนเพิ่มขึ้น เนื่องจากกระยะหลังผู้ค้ามีระดับการค้ำที่ใหญ่อขึ้น โดยทำการดัดแปลงทำเป็นช่องลับไว้ที่พื้นกระบะด้านหลังรถบรรทุกของ เพื่อหลีกเลี่ยงการตรวจจับของเจ้าหน้าที่ (สำนักยุทธศาสตร์, 2552) เช่นเดียวกับการซุกซ่อนยาเสพติดในสัมภาระในปี พ.ศ. 2552 - 2553 มีสัดส่วนสูงที่สุดถึงร้อยละ 31.2 อีกรูปแบบที่น่าสนใจ คือ การซุกซ่อนในร่างกายที่มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น (สำนักยุทธศาสตร์, 2553)

เมทแอมเฟตามีนมีการจับกุมได้ในทุกพื้นที่ทั่วประเทศในสัดส่วนที่เกินกว่าร้อยละ 80 ยกเว้นภาคใต้ ปรากฏเพียงร้อยละ 40 สถิติการจับกุมเมทแอมเฟตามีนสถานการณ์ความรุนแรงค่อยๆ ลดน้อยลง ในช่วงที่รัฐบาลมีนโยบายสำคัญเร่งด่วนในการแก้ปัญหาด้านยาเสพติดในช่วงปี พ.ศ. 2546 - พ.ศ. 2549 และเริ่มมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ในปี พ.ศ. 2551 ซึ่งสามารถจับกุมเมทแอมเฟตามีนได้จำนวน 20.7 ล้านเม็ด (สำนักยุทธศาสตร์, 2552) ในปี พ.ศ. 2552 จับกุมได้ 24.9 ล้านเม็ดและช่วงเดือนมกราคม - มิถุนายน พ.ศ. 2553 จับกุมได้ประมาณ 26.2 ล้านเม็ด แสดงดังแผนภูมิแท่งที่ 1.2 โดยพื้นที่นำเข้าสำคัญส่วนใหญ่ยังคงอยู่ทางชายแดนภาคเหนือ (สำนักยุทธศาสตร์, 2553)



แผนภูมิแท่งที่ 1.2 แสดงสถิติจำนวนเมทแอมเฟตามีนที่จับกุมได้ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2548 - มิถุนายน พ.ศ. 2553 (สำนักยุทธศาสตร์, 2553)

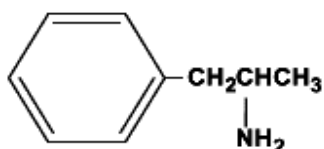
การแพร่ระบาด

พื้นที่แพร่ระบาดเมทแอมเฟตามีนที่พบมาก คือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก เชียงเหนือ ภาคเหนือ กรุงเทพมหานคร และภาคใต้ (สำนักยุทธศาสตร์, 2552) ช่วงแรกที่มีการระบาดจะพบมากในกลุ่มกรรมกรผู้ใช้แรงงาน คนขับรถบรรทุก แต่ปัจจุบันเมทแอมเฟตามีนแพร่ระบาดสู่กลุ่มคนทำงาน กลุ่มนักเรียน นักศึกษาและกลุ่มผู้ว่างงานทั่วประเทศ จากสถิติของผู้เข้ารับการรักษาเมทแอมเฟตามีนในสถานบำบัดช่วงปี พ.ศ. 2549 - 2552 มีจำนวนเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะกลุ่มเยาวชนอายุ 15 - 19 ปี ซึ่งในปี พ.ศ. 2552 มีสัดส่วนมากเป็นอันดับหนึ่งแทนที่กลุ่มอายุ 20 - 24 ปี โดยที่กลุ่มรับจ้างและเกษตรกรมีสัดส่วนแนวโน้มเพิ่มขึ้นรองลงมา(สำนักยุทธศาสตร์, 2553)

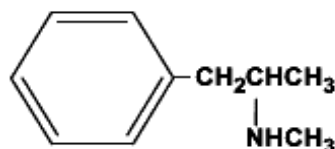
1.2.2 เมทแอมเฟตามีน/แอมเฟตามีน

ประวัติและสมบัติของเมทแอมเฟตามีน

สารกลุ่มแอมเฟตามีนเป็นสารที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นมาครั้งแรกในปี พ.ศ. 2430 โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวเยอรมัน ชื่อ เอเดเลียน (L. Edeleano) ในรูปของแอมเฟตามีนซัลเฟต (amphetamine Sulfate) ต่อมาในปี ค.ศ.1888 นักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่นสามารถสังเคราะห์อนุพันธ์ของแอมเฟตามีนได้อีกตัวหนึ่ง คือ เมทแอมเฟตามีน (methamphetamine) โดยการนำอะตอมของเมทิล (-CH₃) มาแทนที่ไฮโดรเจน (-H) ในโครงสร้างแอมเฟตามีน ทำให้เมทแอมเฟตามีนมีผลต่อระบบประสาทส่วนกลางได้รุนแรงกว่าแอมเฟตามีน (Chiang, 2006) สูตรโครงสร้างของแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนแสดงดังภาพที่ 1.2



แอมเฟตามีน



เมทแอมเฟตามีน

ภาพที่ 1.2 แสดงโครงสร้างของแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีน (Saito *et al.*, 2000)

สมบัติทางกายภาพของเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนแสดงในตารางที่ 1.1 และ 1.2 ตามลำดับ

ตารางที่ 1.1 แสดงสมบัติทางกายภาพของเมทแอมเฟตามีน

สมบัติ	เมทแอมเฟตามีน
ชื่อวิทยาศาสตร์	1-phenyl-2-methylaminopropane
สูตรเคมี	C ₁₀ H ₁₅ N
มวลโมเลกุล	149.23 กรัมต่อโมล
จุดเดือด	214°C
จุดหลอมเหลว	172-174°C
ลักษณะ	เป็นเม็ดกลมแบนขนาดเล็ก สีแดงอมชมพู สีส้ม สีเขียว สีม่วง
การละลาย	ละลายรวดเร็วในกรด ละลายได้ดีในน้ำและเมทานอล ละลายได้เล็กน้อยในอีเทอร์และคลอโรฟอร์ม

ตารางที่ 1.2 แสดงสมบัติทางกายภาพของแอมเฟตามีน

สมบัติ	แอมเฟตามีน
ชื่อวิทยาศาสตร์	1-phenyl-2-aminopropane
สูตรเคมี	C ₉ H ₁₃ N
มวลโมเลกุล	135.21 กรัมต่อโมล
จุดเดือด	200 - 203°C
จุดหลอมเหลว	281 - 285°C

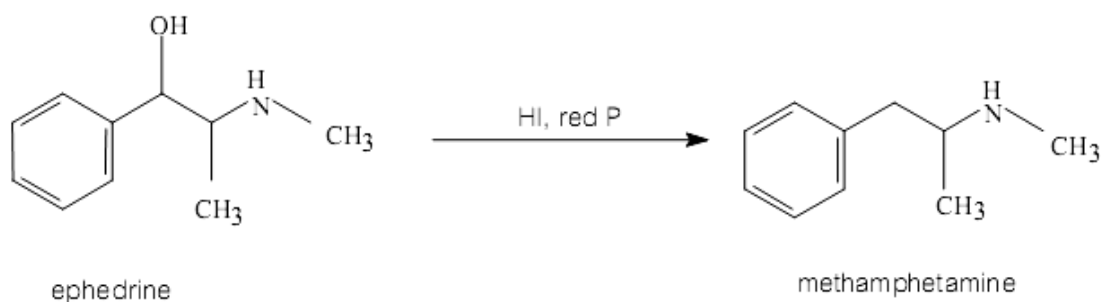
ลักษณะของเม็ดยาเมทแอมเฟตามีนที่แพร่ระบาดในปัจจุบันแสดงดังภาพที่ 1.3



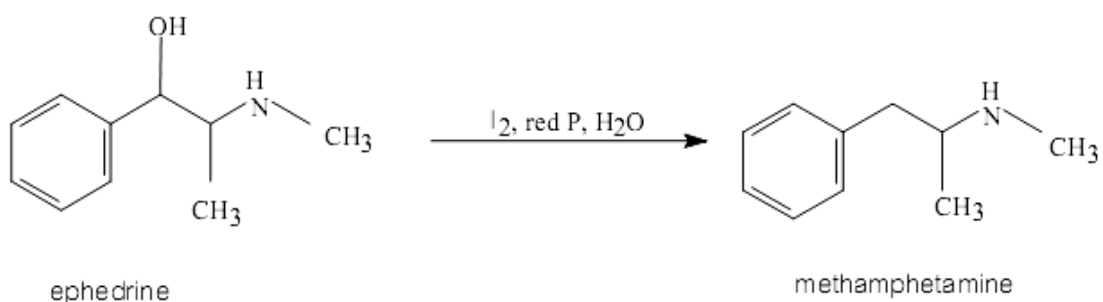
ภาพที่ 1.3 แสดงลักษณะของเม็ดยาเมทแอมเฟตามีน

การสังเคราะห์เมทแอมเฟตามีนในปัจจุบัน มีหลายวิธี เช่น Nagai method, Moscow method, Rosenmund method และ Emde method โดยมีวิธีการดังนี้

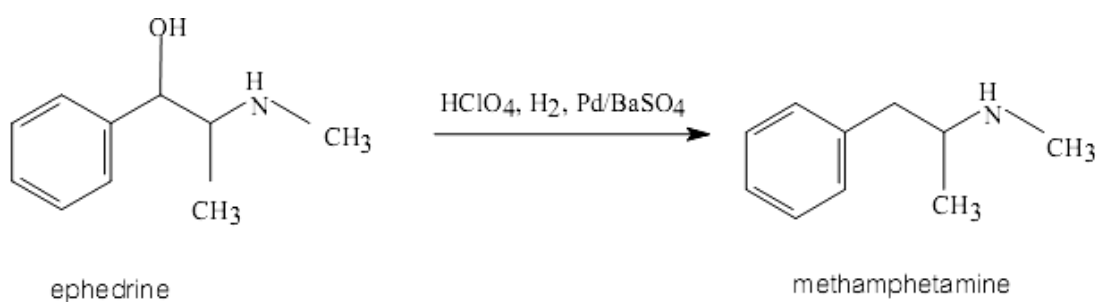
1) Nagai method ใช้สารตั้งต้น (precursor) คือ อีฟีดรีน หรือ ซูโดอีฟีดรีน ตัวทำละลาย คือ กรดไฮดริโอตริก และ ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี คือ ฟอสฟอรัสแดง ปฏิกิริยาที่ได้ คือ



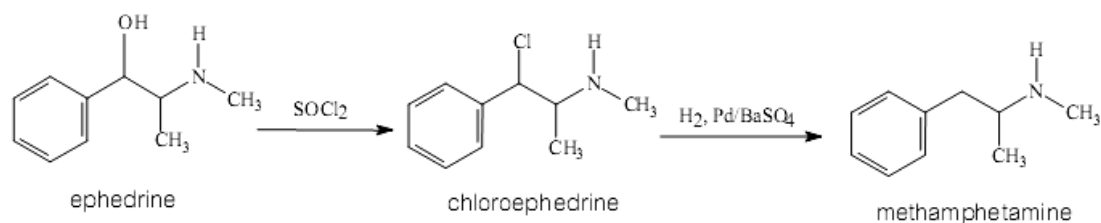
2) Moscow method ใช้สารตั้งต้น คือ อีฟีดรีน หรือ ซูโดอีฟีดรีน ตัวทำละลาย คือ กรดเพอร์คลอริก และ ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี คือ ฟลานาเดียมและแบเรียมซัลเฟต ปฏิกิริยาที่ได้ คือ



3) Rosenmund method ใช้สารตั้งต้น คือ อีฟีดรีน หรือ ซูโดอีฟีดรีน ตัวทำละลาย คือ กรดไฮเพอร์คลอริก และ ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี คือ ฟลานาเดียม และแบเรียมซัลเฟต ปฏิกิริยาที่ได้ คือ



4) Emde method ใช้สารตั้งต้น คือ อีฟีดรีน หรือ ซูโดอีฟีดรีน ตัวทำละลาย คือ ไทโอดีนคลอไรด์ และ ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี คือ ฟลานาเดียม และแบเรียมซัลเฟต ปฏิกิริยาที่ได้ คือ



สารตั้งต้นที่ใช้ในการสังเคราะห์เมทแอมเฟตามีน คือ อีฟีดรีนและซูโดอีฟีดรีน ซึ่งเป็นสารที่มีสูตรโมเลกุลเหมือนกัน แต่มีโครงสร้างทางเคมีต่างกัน (diastereomer) จึงมีการนำมาใช้แทนที่กันในปฏิกิริยาทางเคมีที่ใช้ในการสังเคราะห์เมทแอมเฟตามีน (ชวนีและคณะ, 2548)

วิธีเสพเมทแอมเฟตามีน แบ่งตามลักษณะรูปพรรณ คือ

1) แบบเม็ดหรือแคปซูล มีชื่อเรียกต่างๆ เช่น ยาม้า เนื่องจากกระยะแรกที่สารเสพติดกลุ่มแอมเฟตามีนถูกนำเข้ามาขายในประเทศไทย โดยบริษัท WELLCOME ซึ่งมีเครื่องหมายการค้าเป็นรูปหัวม้า (ทรงเกียรติ ปิยะกะ, 2544) ต่อมากระทรวงสาธารณสุขเปลี่ยนชื่อเป็น ยาบ้า และชื่อเรียกอื่นๆ เช่น สปีด (speed) เมท (met) ซอล์ก (chalk) เป็นต้น การเสพทั่วไปมักจะกลืนเม็ดหรือแคปซูลลงกระเพาะอาหาร ในประเทศไทยพบการนำเมทแอมเฟตามีนแบบเม็ดห่อฟอยล์เผาไฟให้เกิดควันแล้วสูบเข้าปอด

2) แบบเป็นผงป่น หรือเรียกว่า เมทแอมเฟตามีนไฮโดรคลอไรด์ ในกลุ่มผู้เสพจะเรียกว่า คริสตัล (crystal) แครงค์ (crank) เนื่องจากมีลักษณะเป็นผงละเอียดสีขาว เสพโดยวิธีสูดผงยาเข้าโพรงจมูก หรือการนำไปละลายน้ำแล้วกรอง หลังจากนั้นใช้หลอดหรือเข็มฉีดยาดูดสารละลายที่กรองได้ฉีดเข้าหลอดเลือดดำ เมทแอมเฟตามีนลักษณะดังกล่าวที่มีอยู่ในประเทศไทยจะใช้เป็นสารสำหรับเตรียมผลิตเมทแอมเฟตามีนแบบเม็ด

3) แบบสารละลายใส บรรจุในหลอดแก้วใสหรือสีชา โดยจะนำไปฉีดเข้าหลอดเลือดดำ ซึ่งจะออกฤทธิ์ทันทีและรุนแรง ยังไม่พบในประเทศไทย

4) แบบผลึกใส เมทแอมเฟตามีนชนิดนี้ระบอบเข้าสู่ประเทศไทย โดยชาวต่างชาติเป็นส่วนใหญ่ ผู้เสพจะเรียกว่า ไอซ์ (ice) หรือ กลาสส์ (glass) เพราะมีลักษณะเหมือนน้ำแข็งหรือแก้ว ดังแสดงในภาพที่ 1.4 ไอซ์เป็นเมทแอมเฟตามีนที่บริสุทธิ์เกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ มีวิธีเสพโดยการนำผลึกกลนไฟให้ระเหิดแล้วสูดไอระเหยเข้าปอด



ภาพที่ 1.4 แสดงลักษณะของไอซ์

ที่มา: <http://www.thaidrugpolice.com/drug/ice.html>

วิธีการสูบเอาควันของเมทแอมเฟตามีนจะเป็นอันตรายแก่ผู้เสพมากกว่าการสูดเอาไอระเหย เนื่องจากควันเกิดจากการเผาไหม้ ทำให้มีส่วนประกอบทางเคมีที่เป็นพิษมากมาย

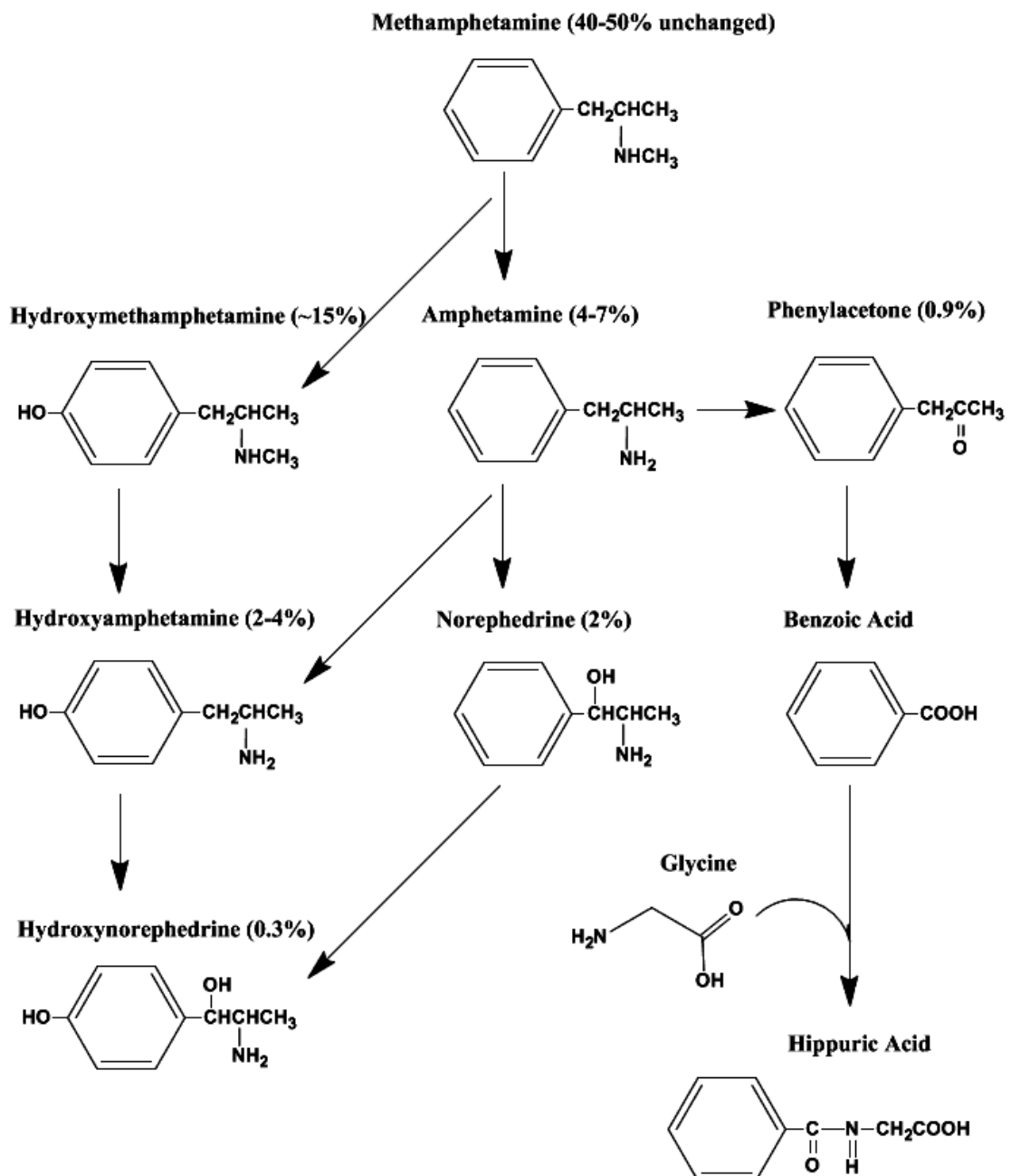
เช่น dimethylamphetamine, furfurylmethamphetamine, formylmethamphetamine เป็นต้น แต่ไอระเหยจะมีเฉพาะสารเมทแอมเฟตามีนเพียงอย่างเดียว (วิโรจน์ สุ่มใหญ่, 2543)

เภสัชวิทยาของเมทแอมเฟตามีน

เมทแอมเฟตามีนมีคุณสมบัติเป็นต่างอ่อนละลายได้ดีมากในไขมัน (lipid solubility) ทำให้ถูกดูดซึมได้ดีทั้งทางการรับประทาน สูดดมและโดยเฉพาะการฉีดเข้าเส้นเลือดดำ ซึ่งพบว่าระยะเวลาในการดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดและเริ่มออกฤทธิ์หลังจากเสพด้วยวิธีต่างๆ คือ 30 นาที, 1 - 2 นาทีและ 8 วินาที ตามลำดับ ออกฤทธิ์เต็มที่ในเวลา 2 - 3 ชั่วโมง, 30 นาที และ 1 - 2 นาที ตามลำดับ (ไพทอร์ยและสิริพันธ์, 2548) เมื่อดูดซึมจากทางเดินอาหาร หรือทางเดินหายใจเข้าสู่กระแสเลือดแล้ว สารจะกระจายตัวไปตามส่วนต่างๆ ของร่างกาย และจะมีความเข้มข้นมากที่สุดที่สมองและน้ำไขสันหลัง รองลงมา คือ ตับ ม้ามและไต (พงษ์รักษ์และศุภรัตน์, 2552) เมทแอมเฟตามีนมีค่าประโยชน์เชิงชีวภาพ (bioavailability) ประมาณ 67 เปอร์เซ็นต์และปริมาตรการกระจาย (volume of distribution) 3 - 7 ลิตรต่อกิโลกรัม จากการทดลองให้อาสาสมัครเพศชายรับประทานเมทแอมเฟตามีนขนาด 0.125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าปริมาณเมทแอมเฟตามีนสูงสุดในเลือดเท่ากับ 0.020 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เวลา 3.6 ชั่วโมง และมีค่าครึ่งชีวิต (half life) เท่ากับ 10 ชั่วโมง และยังมีทดลองให้อาสาสมัครทดลองสูบ พบว่าเมทแอมเฟตามีนจะดูดซึมได้ดีที่ปอด โดยมีค่าประโยชน์เชิงชีวภาพของเมทแอมเฟตามีนขนาด 21.8 มิลลิกรัม เท่ากับ 90 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรการกระจายของการสูบเท่ากับ 3.24 ลิตรต่อกิโลกรัม มีค่าครึ่งชีวิตเท่ากับ 11.1 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับกรฉีดเมทแอมเฟตามีนขนาด 15.5 มิลลิกรัม มีปริมาตรการกระจายจากการฉีดเท่ากับ 3.73 ลิตรต่อกิโลกรัม มีค่าครึ่งชีวิตเท่ากับ 12.2 ชั่วโมง ระยะเวลาของเมทแอมเฟตามีนที่สามารถเหลืออยู่ในร่างกายครึ่งหนึ่งของจำนวนที่ได้รับทั้งหมด มีค่าเท่ากับ 12 ชั่วโมง ส่วนแอมเฟตามีนมีค่า 8 ชั่วโมง ซึ่งระยะเวลาดังกล่าวยังขึ้นกับความถี่เป็นกรด เป็นด่างของร่างกายและปัสสาวะ (Moore, 2003)

เมทแอมเฟตามีนเมื่อกระจายเข้าสู่ร่างกายแล้วจะถูกเมแทบอลิซึมที่ตับ และขับออกทางปัสสาวะ การกำจัดเมทแอมเฟตามีนออกจากร่างกาย จะถูกขับออกทางปัสสาวะมากที่สุดในเวลา 24 ชั่วโมง ประมาณ 45 เปอร์เซ็นต์ ถูกขับออกมาในรูปเดิม และเปลี่ยนแปลงโดยปฏิกิริยา N-demethylation เป็นแอมเฟตามีนประมาณ 7 เปอร์เซ็นต์ และ 4-hydroxymethamphetamine ประมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ แอมเฟตามีนจะถูกเปลี่ยนรูปโดยกระบวนการ deamination ได้เป็น p-hydroxy amphetamine และ phenylacetone หลังจากนั้น phenylacetone จะถูกออกซิไดส์เป็น benzoic acid ซึ่งจะจับตัวกับ glycine เป็น hippuric acid conjugate และถูกไตขับออกทางปัสสาวะ มีแอมเฟตามีนบางส่วนจะถูกเปลี่ยนรูปโดยกระบวนการออกซิเดชันเป็น norephedrine และบางส่วนเปลี่ยนรูปโดยกระบวนการ hydroxylation ได้เป็น hydroxynorephedrine ดังแสดงในภาพที่ 1.5 การกำจัดเมทแอมเฟตามีนออกจากร่างกายในรูปปัสสาวะที่มีความเป็นกรดแอมเฟตามีนจะถูกขับออกเพิ่มขึ้นถึง 76

เปอร์เซ็นต์ จะทำให้ตรวจพบในร่างกายนได้เพียง 2 - 3 วัน ในขณะที่ปัสสาวะมีความเป็นด่าง แอมเฟตามีนจะถูกขับออกน้อยลงและตรวจพบในร่างกายนได้นาน 5 - 7 วัน (Moore, 2003; Karch, 2008)



ภาพที่ 1.5 แสดงกระบวนการเมแทบอลิซึม (Metabolism) ของเมทแอมเฟตามีน (Moore, 2003)

เกิดขึ้นในผู้ที่ใช้อยู่ในขนาดสูง ได้แก่ อ่อนเพลีย ทำให้ประสิทธิภาพในการทำงานถดถอย นอนหลับคล้ายคนหมดสติ เกิดโรคจิตชนิดหวาดระแวง (paranoid delusions) ประสาทหลอนทางจิต หูแว่วและกระวนกระวายหิวอาหารอย่างรุนแรง ในระยะ 3 - 4 วัน หลังจากหยุดยาจะเกิดอาการสะท้อนกลับของอารมณ์ (rebound phenomena) จากอารมณ์ตื่นตัว ร่าเริง เป็นอารมณ์ซึมเศร้า จนอาจถึงคลุ้มคลั่งทำร้ายผู้อื่นหรือฆ่าตัวตายได้

อาการถอนยา (withdrawal symptoms) มักเกิดกับผู้ที่เสพเมทแอมเฟตามีนในขนาดที่สูงเป็นเวลานาน จะทำให้หลับนาน (hypersomnia) มีอาการซึมเศร้า โดยอาการจะรุนแรงสุดในช่วง 48 - 72 ชั่วโมงหลังหยุดยาและคงอยู่ได้นานเป็นเดือน บางรายอาจถึงขั้นทำร้ายตัวเองหรือฆ่าตัวตาย (กิติและวนิดา, 2542)

3) พิษจากการได้รับยาเกินขนาด จะเกิดการกระตุ้นอะดรีเนอร์จิกทำให้ม่านตาขยาย หัวใจเต้นเร็ว ความดันโลหิตสูง และมักพบอาการทางจิตร่วมด้วย เช่น หวาดระแวง วิตกเพื่อคลัง หากใช้อยู่ในขนาดที่สูงจะทำให้ชักกระตุก หลอดเลือดหัวใจตีบ

ผลการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

1) ผลต่อระบบประสาทส่วนกลาง เมทแอมเฟตามีนออกฤทธิ์กระตุ้นประสาทส่วนกลาง ลดความง่วงซึม ทำให้นอนไม่หลับ มีการเปลี่ยนแปลงทางอารมณ์ให้ครึกครื้น รื่นเริง เป็นสุข ไม่รู้สึกเหนื่อย เมื่อใช้ในขนาดที่สูงจะทำให้เกิดอาการมึนงงและเกิดสภาวะตื่นกลัว

2) ผลต่อจิตใจ เมื่อเสพเป็นระยะเวลาานหรือใช้เป็นจำนวนมาก จะทำให้ผู้เสพมีความผิดปกติทางด้านจิตใจ กลายเป็นโรคจิตชนิดหวาดระแวง ส่งผลให้มีพฤติกรรมเปลี่ยนแปลงไป เช่น เกิดอาการหวาดหวั่น หวาดกลัว ประสาทหลอน ซึ่งโรคนี้หากเกิดขึ้นแล้วอาการจะคงอยู่ตลอดไป แม้ในช่วงเวลาที่ไม่ได้เสพยาก็ตาม

3) ผลต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด เร่งอัตราการเต้นของหัวใจ ทำให้เกิดอาการใจสั่นและจังหวะการเต้นของหัวใจผิดปกติ ปวดศีรษะ

4) ผลต่อระบบทางเดินหายใจ ทำให้อัตราการหายใจเร็วขึ้นและจังหวะหายใจไม่ปกติ

5) ผลต่อระบบทางเดินอาหาร ปากแห้ง เบื่ออาหาร ไม่รู้สึกหิว

6) ผลต่อพฤติกรรม จะทำให้เกิดอาการพูดมาก ก้าวร้าว ย้ำคิดย้ำทำ ปัสสาวะบ่อย เมื่อร่างกายถูกกระตุ้นให้ใช้พลังงานมากจะรู้สึกไม่เมื่อยและตื่นตัวตลอดเวลา เมื่อยาหมดฤทธิ์ จะทำให้รู้สึกเหนื่อย อ่อนเพลีย เมื่อใช้เป็นเวลานานทำให้ร่างกายทรุดโทรมและเป็นโรคได้ง่าย (Logan, 2002; ไพฑูรย์และธนระวี, 2550)

1.2.3 แก๊สโครมาโทกราฟี

แก๊สโครมาโทกราฟี (Gas Chromatography, GC) เป็นรูปแบบหนึ่งของกระบวนการแยกสารทางโครมาโทกราฟี โดยที่โครมาโทกราฟีทุกรูปแบบเกี่ยวข้องกับ distribution หรือ partition ของสารประกอบใดๆ ระหว่างเฟสที่แตกต่างกัน 2 เฟส ซึ่งเป็น เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) และเฟสอยู่กับที่ (stationary phase) ในการแยกสารขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลาย (relative solubility) เมื่อสารในของผสมเคลื่อนที่ผ่านเฟสอยู่กับที่ โดยมีเฟสเคลื่อนที่นำไป สารแต่ละตัวจะถูกเหนี่ยวรั้งมากน้อยต่างกัน เนื่องจากความสามารถในการละลายที่ต่างกัน สารจึงถูกแยกออกจากกันได้ สารใดมีความสามารถในการละลายในเฟสอยู่กับที่มากกว่าก็จะใช้เวลามากกว่า ในการเคลื่อนที่ออกมาจากคอลัมน์ (column) นิยมใช้แก๊สเฉื่อยเป็นเฟสเคลื่อนที่ หรือเรียกว่า แก๊สพา (carrier gas) โดยปกติมักจะใช้แก๊สฮีเลียม (He) ไฮโดรเจน (H₂) หรือไนโตรเจน (N₂) เป็นแก๊สพา (มงคล ราชะนาคร, 2537)

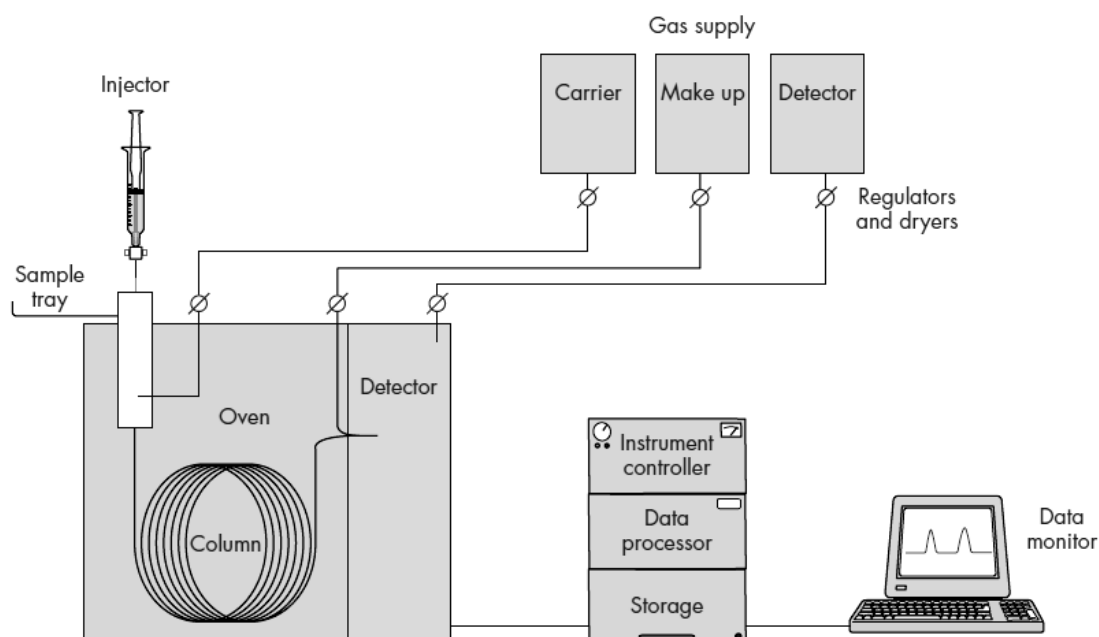
แก๊สโครมาโทกราฟีแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ

1) แก๊สโครมาโทกราฟีแบบของแข็ง (Gas-solid chromatography, GSC) โครมาโทกราฟีชนิดนี้จะใช้ของแข็ง เช่น ซิลิกาเจลเป็นเฟสอยู่กับที่ กลไกการแยกสารที่เกิดขึ้นเป็นแบบการดูดซับ ดังนั้นการแยกสารจะดีหรือไม่ขึ้นกับคุณสมบัติการดูดซับของสารที่บรรจุในคอลัมน์ แต่โดยทั่วไปโครมาโทกราฟีชนิดนี้ไม่เป็นที่นิยมมากนัก

2) แก๊สโครมาโทกราฟีแบบของเหลว (Gas-liquid chromatography, GLC) โครมาโทกราฟีชนิดนี้จะใช้ของเหลวเป็นเฟสอยู่กับที่ จึงต้องทำการเคลือบของเหลวให้เป็นชั้นบางๆ บนของแข็งเฉื่อยที่เรียกว่า solid support กลไกการแยกสารที่เกิดขึ้นเป็นแบบ partition ซึ่งสามารถใช้ได้ในช่วงอุณหภูมิที่กว้างมากและให้ผลการทดลองที่ดีกว่า GSC จึงทำให้ GLC เป็นที่นิยมใช้ในปัจจุบัน

องค์ประกอบของแก๊สโครมาโทกราฟี ประกอบด้วย

- 1) แก๊สพา (Carrier gas)
- 2) สารตัวอย่าง (Sample introduction)
- 3) ส่วนฉีดสาร (Injection system)
- 4) คอลัมน์ (Column)
- 5) ตู้อบให้ความร้อน (Oven)
- 6) ตัวตรวจวัด (Detector)
- 7) ส่วนประมวลผลและบันทึกข้อมูล (Data processing and Recorder)



ภาพที่ 1.6 แสดงส่วนประกอบพื้นฐานของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (Dawling *et al.*, 2008)

1) แก๊สพา (Carrier gas)

แก๊สที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่จะต้องเป็นแก๊สเฉื่อย โดยปกติจะใช้แก๊สไนโตรเจน ฮีเลียม อาร์กอนหรือคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งการเลือกชนิดของแก๊สจะขึ้นกับชนิดของตัวตรวจวัด เฟสเคลื่อนที่จะถูกนำเข้าสู่เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีผ่านทางตัวควบคุมอัตราการไหลเพื่อรักษาอัตราการไหลให้คงที่ ถ้าอัตราการไหลเปลี่ยนแปลงไปเพียง 1 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้เวลาในการหน่วงเหนี่ยวเปลี่ยนไป 1 เปอร์เซ็นต์ เช่นกัน

2) สารตัวอย่าง (Sample introduction)

สารตัวอย่างที่จะถูกนำเข้าไปในเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี ได้ 2 สถานะ คือ

- สถานะที่เป็นไอหรือแก๊ส (gaseous samples)
- สถานะที่เป็นของเหลว (liquid sample)

ตัวอย่างที่เป็นของเหลวสามารถนำเข้าสู่เครื่อง GC ได้โดยใช้ micro syringe ดูดสารตัวอย่างของเหลวให้ได้ปริมาตรตามที่ต้องการแล้วฉีดผ่าน silicone rubber septum ซึ่งสามารถทำได้ 2 วิธี คือ

(1) การฉีดด้วยมือ (manual) การฉีดแบบนี้ผู้ทดลองต้องมีความชำนาญ จึงจะทำให้การวิเคราะห์มีความเที่ยงตรงสูง ข้อเสียของวิธีนี้คือ สิ้นเปลือง septum เพราะการฉีดแต่

ละครั้งผู้ทดลองไม่สามารถฉีดเข้าที่จุดเดิมได้ ทำให้ septum เกิดการฉีกขาด และแก้สรว์ได้ง่าย ต้องมีการเปลี่ยน septum บ่อย ๆ

(2) การฉีดด้วยเครื่อง auto injector จะให้ผลที่เที่ยงตรงกว่าการฉีดด้วยมือและสามารถใช้ได้กับปริมาตรของตัวอย่างที่มีจำนวนน้อยกว่า 1 ไมโครลิตร ได้ด้วย

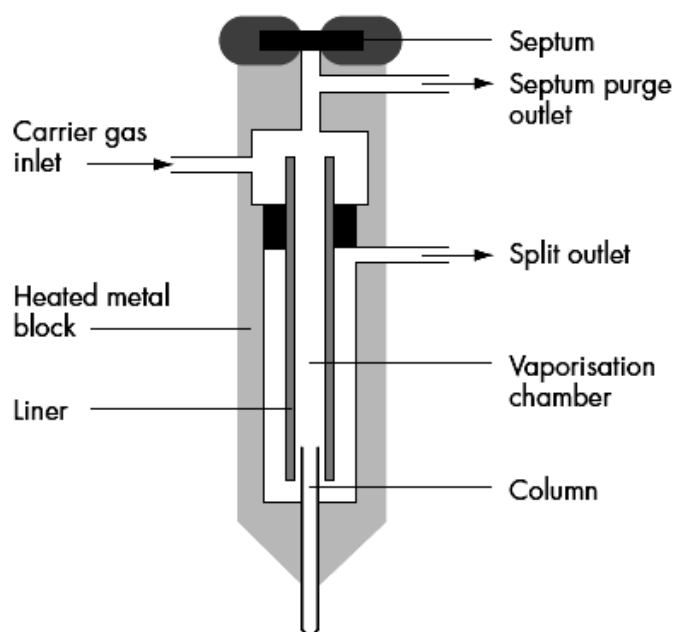
3) ส่วนฉีดสาร (Injection system)

เมื่อตัวอย่างเข้าเครื่อง GC ลงสู่บริเวณ Inlet ที่มีความร้อนสูงพอที่จะทำให้ตัวอย่างกลายเป็นไอแล้วถูกพาเข้าสู่คอลัมน์ด้วยแก๊สพา อุณหภูมิที่เหมาะสมของ injector ควรเป็นอุณหภูมิที่สูงพอที่จะทำให้ตัวอย่างระเหยได้แต่ต้องไม่ทำให้สารสลายตัว ซึ่งเรียกระบบของการพาว่า sample inlet system ระบบของการพาตัวอย่างเข้าคอลัมน์มีหลายแบบ คือ

(1) Split / Splitless Inlet

- Split injection mode เหมาะกับสารตัวอย่างที่ฉีดเข้าคอลัมน์มีปริมาณมากหรือความเข้มข้นสูง ซึ่งตัวอย่างชนิดนี้อาจทำให้คอลัมน์เกิดการ overload ทำให้การแยกไม่ดี พีคซ้อนทับกันและรูปร่างของพีคไม่สมมาตรจึงมีการปรับปรุงการวิเคราะห์ได้โดยการเลือก split mode

- Splitless injection mode เหมาะกับสารที่ต้องการวิเคราะห์มีปริมาณน้อยๆ หรือความเข้มข้นน้อยๆ (trace analysis)



ภาพที่ 1.7 แสดงภาพตัดขวางส่วนฉีดสารแบบ Split / Splitless (Dawling *et al.*, 2008)

(2) Purged packed inlet การฉีดสารตัวอย่างด้วยระบบ purged packed ใช้กับ packed column และสามารถใช้กับ wide - bore capillary column ได้เมื่ออัตราการไหลของแก๊สพามากกว่า 10 มิลลิลิตรต่อนาที

(3) Cool on - column inlet เป็นวิธีการฉีดตัวอย่างที่เป็นของเหลวตรงเข้าสู่คาพิลลารีคอลัมน์ ซึ่งวิธีการนี้ส่วนของ inlet และ oven ต้องมีอุณหภูมิต่ำกว่าจุดเดือดของตัวทำละลายเมื่อทำการฉีดสารตัวอย่าง

(4) Programmable Temperature Vaporisation Inlet (PTV) เนื่องจากวิธีการฉีดตัวอย่างที่เป็นของเหลวเข้าคอลัมน์โดยตรงพบว่า สารที่ไม่ระเหย (non - volatile) ที่ติดมากับตัวอย่าง สามารถเข้าไปติดแน่นในคอลัมน์ วิธีการของ PTV จึงได้พัฒนาขึ้นมาเพื่อให้สามารถทำงานได้หลาย ๆ mode เมื่อใช้อุณหภูมิคงที่สามารถเลือกระบบเป็นแบบ split/splitless ถ้าใช้การโปรแกรมอุณหภูมิให้มีอุณหภูมิเริ่มต้นต่ำและใช้กับ wide - bore capillary column จะสามารถเลือกใช้ on - column injection ได้ นอกจากนี้ยังสามารถใช้กับการฉีดสารตัวอย่างที่มีตัวทำละลายมากๆ ซึ่งเรียกว่า Solvent vent mode โดยใช้การฉีดแบบปริมาตรมาก (large volume injection) (Agilent Technologies, 2006)

4) คอลัมน์ (Column)

คอลัมน์ที่ใช้กันในเครื่อง GC โดยทั่วไป จัดได้เป็น 2 ประเภทคือ แพ็คคอลัมน์ (pack column) และ WCOT (wall-coated open tubular column) หรือ คาพิลลารีคอลัมน์ (capillary column) ทั้งนี้ได้มีการพัฒนาแพ็คคอลัมน์มาก่อน ส่วนคาพิลลารีคอลัมน์มีการพัฒนา มาตั้งแต่ พ.ศ. 2523 ลักษณะสำคัญของคอลัมน์แสดงดังตารางที่ 1.3

ตารางที่ 1.3 แสดงลักษณะที่สำคัญของคอลัมน์ในเครื่อง GC

Parameter	Pack column	Capillary column
ความยาว (เมตร)	1 - 6	10 - 100
เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน (มิลลิเมตร)	2 - 4	0.20 - 0.53
ความจุ (Capacity)	10 ไมโครกรัม/ฟีด	50 นาโนกรัม/ฟีด
ความหนาของเฟสอยู่กับที่ (ไมโครเมตร)	1 - 10	0.05 - 0.5
อัตราการไหลของแก๊สพา (มิลลิลิตร/นาที)	10 - 60	0.5 - 10
ความดันตกของคอลัมน์ (Column pressure drop; psi)	10 - 40	3 - 40

ที่มา: มงคล ราชะนาคร, 2537; Agilent Technologies, 2006

(1) แพ็คคอลัมน์ (pack column) แพ็คคอลัมน์มีประสิทธิภาพและขีดความสามารถในการแยกต่ำกว่าคาพิลลารีคอลัมน์ (capillary column) แต่เป็นคอลัมน์ที่มีความจุ

มากกว่า ซึ่งทำให้การนำสารเข้าสู่คอลัมน์ง่ายขึ้น และยังมีองค์ประกอบของสารตัวอย่างในปริมาณมากขึ้นสำหรับการนำเข้าสู่ตัวตรวจวัด แพ็คคอลัมน์สำหรับการวิเคราะห์ทั่วไปมีความยาว 2 - 5 เมตร และเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 2 มิลลิเมตร เป็นคอลัมน์ที่ใช้อัตราการไหลของแก๊สพาประมาณ 20 - 50 มิลลิลิตรต่อนาที สำหรับคอลัมน์ที่ใหญ่กว่านี้ สามารถที่จะออกแบบให้เป็นการเฉพาะที่จะใช้งานสำหรับ GC ชนิดที่ใช้เตรียมสาร (preparative - scale GC)

(2) คาพิลลารีคอลัมน์ (capillary column) คาพิลลารีคอลัมน์ทำจาก SiO_2 ที่บริสุทธิ์และแข็งแรงทนทานเป็นพิเศษ โดยเคลือบฉนวนผิวด้านนอกด้วย polyimide polymer ปัจจุบันคาพิลลารีคอลัมน์มีการใช้เทคโนโลยีการผลิตที่มีคุณภาพสูง ควบคุมเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน และความหนาของฟิล์มที่เคลือบได้ซึ่งมีทั้งแบบเฟสที่มีขั้วและไม่มีขั้ว คอลัมน์ที่ผลิตลักษณะนี้มีความยาว 10 - 100 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.20 - 0.53 มิลลิเมตร และใช้อัตราการไหลของแก๊สพา 2 - 5 มิลลิลิตรต่อนาที คาพิลลารีคอลัมน์เหมาะกับการวิเคราะห์สารปริมาณน้อยๆ ของสารประกอบอินทรีย์ที่เฉพาะเจาะจงในของผสมที่ซับซ้อน (มงคล ราชะนาคร, 2537)

5) ตู้อบให้ความร้อน (Oven)

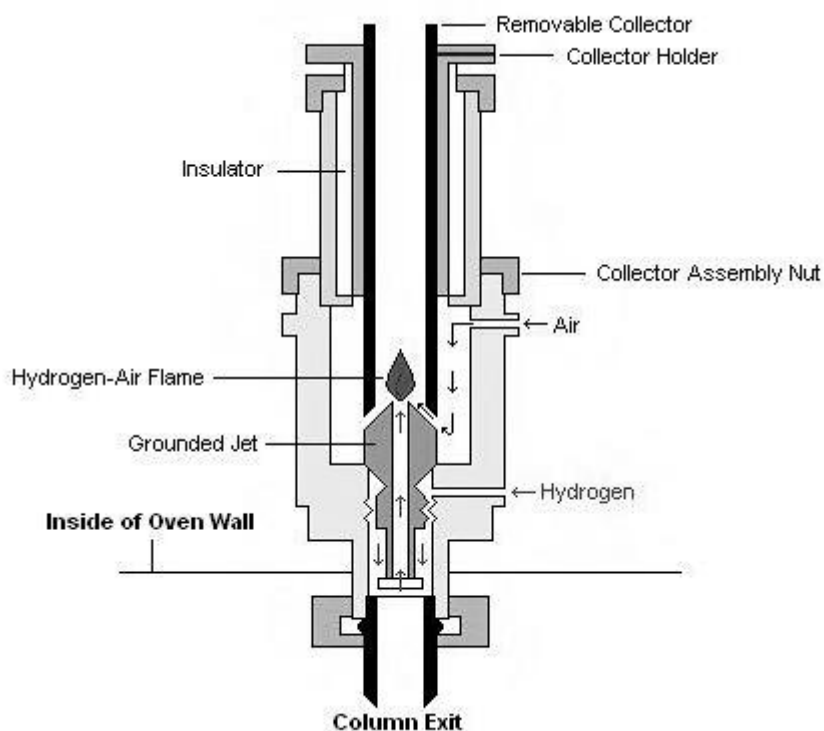
ตู้อบให้ความร้อน เป็นส่วนที่ใช้สำหรับบรรจุคอลัมน์และเป็นส่วนที่ควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์ให้เปลี่ยนไปตามความเหมาะสมกับวิธีการที่ต้องการวิเคราะห์สารผสม การควบคุมอุณหภูมิของตู้อบให้ความร้อนนั้นมี 2 แบบ คือ แบบ Isothermal จะใช้อุณหภูมิเดียวตลอดการวิเคราะห์ และแบบ temperature program จะสามารถเปลี่ยนอุณหภูมิได้ในระหว่างการวิเคราะห์ ซึ่งนิยมใช้กับสารผสมที่มีช่วงของจุดเดือดกว้าง ทำให้โครมาโทแกรม (chromatogram) ที่ได้ มีลักษณะของพีคที่ไม่กว้างและช่วยลดเวลาในการวิเคราะห์ (Agilent Technologies, 2006)

6) ตัวตรวจวัด (Detector)

ตัวตรวจวัด เป็นส่วนที่อยู่ต่อจากทางออกของคอลัมน์ ทำหน้าที่ตรวจวัดองค์ประกอบต่างๆ ของสารตัวอย่าง ในขณะที่สารเคลื่อนที่ผ่านออกมาจากคอลัมน์ โดยที่ตัวตรวจวัดจะต้องไม่ว่องไวต่อแก๊สพา เมื่อตัวตรวจวัดทำการตรวจวัดองค์ประกอบของสารจะทำการบันทึกผลเทียบกับเวลา ทำให้ได้โครมาโทแกรม (chromatogram) ตัวตรวจวัดที่ใช้ในปัจจุบัน ได้แก่ เฟลมไอออไนเซชัน (flame ionization detector, FID) ไนโตรเจนฟอสฟอรัส (nitrogen phosphorous detector, NPD) อิเล็กตรอนแคปเจอร์ (electron capture detector, ECD) เทอร์มอลคอนดักทิวิตี (thermal conductivity detector, TCD) เฟลมโฟโต (flame photo detector, FPD) และแมสสเปกโทรเมตรี (mass spectrometry, MS)

ตัวตรวจวัดแบบเปลวไอออไนเซชัน (Flame ionization detector, FID)

ตัวตรวจวัดแบบเปลวไอออไนเซชัน เป็นตัวตรวจวัดมาตรฐานที่ใช้งานกันอย่างแพร่หลายในแก๊สโครมาโทกราฟี เนื่องจากสารโดยเฉพาะสารประกอบอินทรีย์ทุก ๆ ชนิดสามารถเกิดการไอออไนซ์ (ionize) ได้ในเปลวไฟ ทำให้เกิดกระแสของไอออนที่สามารถสะสมอยู่ระหว่างขั้วที่มีประจุตรงข้าม 2 ขั้ว ได้ตามปริมาณของไอออน ลักษณะตัวตรวจวัดแบบเปลวไอออไนเซชัน แสดงในภาพที่ 1.8



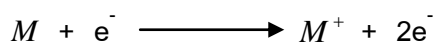
ภาพที่ 1.8 แสดงลักษณะตัวตรวจวัดแบบเปลวไอออไนเซชัน

ที่มา: http://chemwiki.ucdavis.edu/Analytical_Chemistry/Instrumental_Analysis/Chromatography/Gas_Chromatography

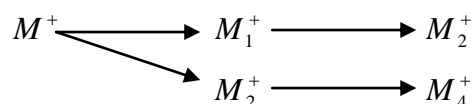
ในระบบของ FID ประกอบด้วยแก๊ส 3 ชนิด คือ แก๊สพารวมกับไฮโดรเจนและอากาศ โดยแก๊สไฮโดรเจนจะทำหน้าที่เป็นเชื้อเพลิงในการจุดเปลวไฟด้วย heater อากาศเป็นตัวช่วยทำให้เกิดการสันดาป (combustion) และช่วยพาให้แก๊สที่เผาไหม้แล้วออกไป อัตราการไหลของแก๊สไฮโดรเจนและอากาศต้องปรับให้เป็นสัดส่วนที่เหมาะสมกับแก๊สพา ถ้าสัดส่วนไม่เหมาะสม การจุดเปลวไฟที่ตัวตรวจวัดจะจุดติดยาก เปลวไฟของแก๊สไฮโดรเจนและอากาศจะถูกจุดที่หัว jet โดยมีตำแหน่งของขั้ว (electrode) วางอยู่เหนือเปลวไฟเพื่อเป็นที่สะสมของ

ไอออนสารตัวอย่าง (analyte ion) แก๊สพาและไอของสารตัวอย่างจะเข้าสู่เปลวไฟแล้วทำให้สารตัวอย่างเกิดการไอออไนซ์ได้อิเล็กตรอนและไอออนบวก (Agilent Technologies, 2006) หลังจากนั้นอิเล็กตรอนจะเคลื่อนที่ไปยัง flame jet ไอออนบวกจะเคลื่อนที่ไปยังอิเล็กโทรด สัญญาณที่เกิดขึ้นจะถูกบันทึกด้วยเครื่องบันทึกสัญญาณได้เป็นโครมาโทแกรม (แมน และ อมร, 2539) ข้อมูลเชิงคุณภาพวิเคราะห์แสดงอยู่ในรูปของ retention time ซึ่งค่อนข้างเฉพาะสำหรับแต่ละสาร ส่วนข้อมูลเชิงปริมาณวิเคราะห์แสดงอยู่ในรูปของพื้นที่พีค (peak area) หรือความสูงของพีค (peak height) โดยโครมาโทแกรมมีผลจากตัวแปรต่างๆ เช่น อุณหภูมิ อัตราการไหลของแก๊สพา และชนิดของคอลัมน์ เป็นต้น ตัวแปรเหล่านี้สามารถคำนวณหาค่าที่เหมาะสมได้ เพื่อให้การวิเคราะห์มีประสิทธิภาพมากขึ้น การตอบสนองของตัวตรวจวัดชนิดนี้เร็วมากและให้ค่าของกราฟมาตรฐานที่มีช่วงความเข้มข้นที่กว้าง เปลวไฟไฮโดรเจนผลิตไอออนได้ไม่มากนัก คิดเป็นกระแสประมาณ 10 - 14 แอมแปร์ แต่เมื่อมีสารประกอบอินทรีย์จะทำให้มีไอออนเกิดขึ้นปริมาณมากมาย การตอบสนองของ FID ขึ้นกับจำนวนไอออนที่เกิดขึ้นจากแต่ละสารประกอบ ขึ้นกับจำนวนคาร์บอนในโมเลกุลของสารตัวอย่างและปริมาณของสารการตอบสนองนี้แตกต่างกันไประหว่างสารประกอบแต่ละกลุ่ม (มงคล ราชะนาคร, 2537)

สำหรับตัวตรวจวัดแบบแมสสเปกโทรเมทรี (mass spectrometry, MS) เป็นเทคนิคที่อาศัยหลักการทาง spectroscopy ในการวิเคราะห์โครงสร้างและมวลโมเลกุลของสาร โดยให้พลังงานแก้มอเลกุลของสารมากพอที่จะทำให้โมเลกุลเหล่านั้นเกิดการแตกตัวเป็นไอออนแล้วทำการแยกและตรวจสอบไอออนที่เกิดขึ้น โดยที่แหล่งกำเนิดไอออน (ion source) เป็นส่วนประกอบสำคัญที่ทำให้โมเลกุลของสารตัวอย่างเกิดเป็นไอออนและเกิดการแตกตัว โดยวิธีที่นิยมกันมากที่สุด คือ วิธีอิเล็กตรอนอิมแพ็ค (electron - impact, EI) ซึ่งเป็นวิธีที่ทำให้โมเลกุลของสารตัวอย่าง (M) เกิดการแตกตัวเป็นไอออนและมีประจุบวก (molecular ion, M^+) ด้วยกระบวนการชนกับอิเล็กตรอนที่มีพลังงานสูง เช่น



โดยโมเลกุลที่มีประจุบวกนี้ ถ้ามีพลังงานมากพอ จะเกิดการแตกตัวออกเป็นไอออนย่อยและจะแตกตัวต่อไปเรื่อยๆ จนเหลือพลังงานน้อยลงและไม่พอที่จะแตกตัวต่อไปได้อีก



กระบวนการในแมสสเปกโทรเมทรี สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กระบวนการคือ ไอออไนเซชัน (ionization) และการแยกมวล (mass separation) วิธีการไอออไนซ์ (ionize) เป็น

การทำให้เกิดไอออน เมื่อโมเลกุลถูกไอออไนซ์ในสุญญากาศ กลุ่มที่มีลักษณะเฉพาะของไอออนของมวลต่างๆ กันก็จะเกิดขึ้น แมสสเปกโตรมิเตอร์เป็นเครื่องมือที่ใช้แยกและวัดมวลของไอออนด้วยการใช้อัตราส่วนของมวลต่อประจุ (m/Z) โดยทั่วไปแล้วไอออนมักมีประจุ $+1$ ($z = 1$) ดังนั้นค่า m/Z จึงมีค่าเท่ากับมวลของไอออนโดยตรง เมื่อแยกไอออนเหล่านี้ หากความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสัมพัทธ์ (relative abundance) เทียบกับมวลจะได้แมสสเปกตรัม (Mass spectrum) สเปกตรัมเหล่านี้สามารถใช้ในการบ่งบอกเอกลักษณ์ของโมเลกุลได้หรือรวมรูปแบบของการแตกตัวของแต่ละไอออนทั้งหมดเข้าด้วยกันแล้วก็จะได้รูปแบบการแตกตัว (fragmentation pattern) ของโมเลกุล ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของสารประกอบแต่ละชนิด (มงคล ราชะนาคร, 2537; แม้นและอมร, 2539)

1.2.4 การเตรียมตัวอย่าง (Sample preparation)

พลาสมา (plasma) เป็นส่วนประกอบส่วนใหญ่มีอยู่ร้อยละ 55 ของเลือดทั้งหมด มีสภาวะเป็นด่าง มี pH เท่ากับ 7.4 ประกอบด้วยน้ำ 91 เปอร์เซ็นต์และสารอื่นๆ เช่น โปรตีน 7 เปอร์เซ็นต์ วิตามิน เกลือแร่ เอ็นไซม์ ฮอรโมน และแก๊ส 2 เปอร์เซ็นต์ พลาสมาได้จากการเติมสารกันเลือดแข็ง (anti coagulation) ลงไป เช่น heparin หรือ EDTA และนำไปปั่นเหวี่ยงจนเม็ดเลือดตกตะกอนจะได้พลาสมาสีเหลืองใส (Wikipedia, 2009) การเตรียมตัวอย่างพลาสมาเพื่อวิเคราะห์เมทาบอไลต์โดยทั่วไป ได้แก่

การตกตะกอนโปรตีน (protein precipitation)

เป็นวิธีการพื้นฐานในการแยกสารที่รวดเร็วกว่าวิธีการอื่น โปรตีนสามารถละลายน้ำได้ขึ้นกับหลัก 2 ประการ คือ โมเลกุลของโปรตีนมีส่วนที่ชอบน้ำ สามารถเกิดแรงกิริยากับน้ำได้ เรียกส่วนนี้ว่า hydrophobic patches สามารถเกิดแรงดึงดูดทางไฟฟ้าเอาโมเลกุลของน้ำมาล้อมรอบโมเลกุลของโปรตีนได้ และบนโมเลกุลของโปรตีนอยู่ห่างกัน จึงไม่สามารถรวมตัวเข้ามาอยู่ใกล้กันแล้วตกตะกอนลงมาได้ ดังนั้นปัจจัยใดที่เพิ่มแรงปฏิสัมพันธ์ระหว่างโมเลกุลของโปรตีนด้วยตัวเอง (protein-protein interaction) หรือการลดปฏิสัมพันธ์ระหว่างโมเลกุลของโปรตีนและน้ำ (protein-water interaction) ทำให้ความสามารถในการละลายน้ำของโปรตีนลดลง ทำให้โปรตีนเกิดการตกตะกอนลงมา (Polson *et al.*, 2003) สำหรับการตกตะกอนโปรตีนมี 3 วิธี คือ

- 1) การตกตะกอนที่ค่าจุดไอโซอิเล็กตริก (isoelectric pH) เรียกวิธีนี้ว่า isoelectric precipitation เนื่องจากโปรตีนแต่ละชนิดมีค่า pH ที่ทำให้สมดุของประจุสุทธิบนโมเลกุลเท่ากับศูนย์ เรียกค่านี้ว่า จุดไอโซอิเล็กตริก (isoelectric point, pI) ค่านี้เป็นจุดที่โปรตีนละลายได้น้อยที่สุด ดังนั้นโปรตีนจึงเคลื่อนที่เข้าหากัน เนื่องจากไม่มีแรงผลักดันไฟฟ้าสถิตระหว่างโมเลกุลของโปรตีนเองทำให้เกิดการรวมตัวแล้วตกตะกอนลงมาได้

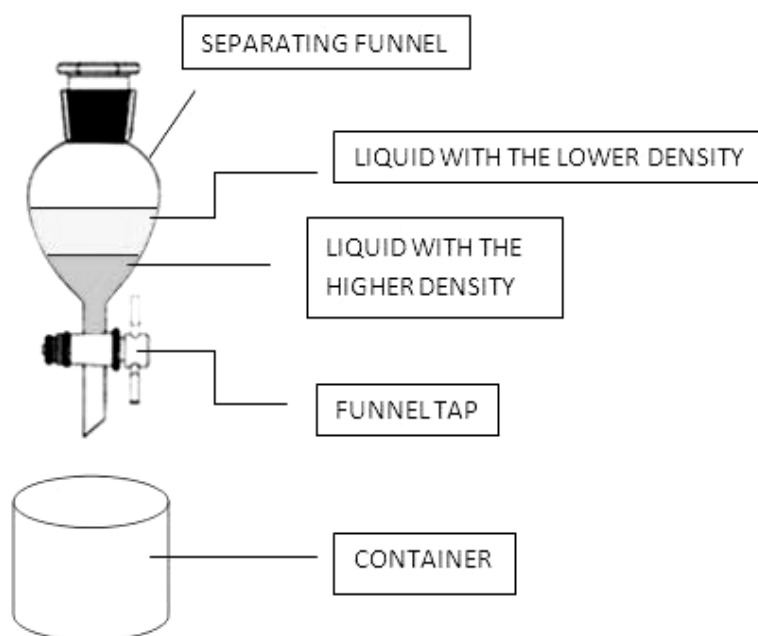
2) การตกตะกอนโปรตีนโดยการเพิ่มความแรงไอออนด้วยวิธีการตกตะกอนแบบลำดับส่วนด้วยเกลือ (ionic strength หรือ salt fraction precipitation) เป็นการตกตะกอนโปรตีนโดยใช้เกลือที่มีความเข้มข้นสูง เพื่อเพิ่มความแรงไอออน (ionic strength) ของสารละลายให้สูงขึ้น จนกระทั่งไอออนของเกลือไปแย่งโมเลกุลของน้ำที่ล้อมรอบโมเลกุลของโปรตีนให้ออกมาล้อมรอบโมเลกุลของเกลือเอง ทำให้โปรตีนละลายได้น้อยลง เกิดการจับตัวของโปรตีนจนเกิดการตกตะกอนลงมา

3) การตกตะกอนด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่อุณหภูมิต่ำ (organic solvent precipitation) ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ ได้แก่ เมทานอล อะซีโตน โดยตัวทำละลายเหล่านี้จะไปลดค่าคงที่ไดอิเล็กตริก (dielectric constant) ของโปรตีนซึ่งมีน้ำเป็นตัวทำละลาย เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของตัวทำละลายอินทรีย์มากขึ้นเรื่อยๆ จนถึงจุดที่พลังงานไฟฟ้าสถิตย์ของแรงกระทำระหว่างโมเลกุลของโปรตีนสูงกว่าแรงกระทำระหว่างโมเลกุลของโปรตีนกับน้ำ ทำให้เกิดการรวมตัวของโปรตีนแล้วตกตะกอนลงมา

ตะกอนโปรตีนจะถูกแยกด้วยวิธีการกรองหรือการปั่นเหวี่ยง เทคนิคในการตกตะกอนโปรตีนเพื่อให้ได้ร้อยละการคืนกลับที่ดีที่สุด ควรมีการตกตะกอนตัวอย่างซ้ำ 2 ครั้ง (Siek, 2003)

การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction)

การสกัดด้วยตัวทำละลายเป็นการแยกสารที่ต้องการออกจากของผสมด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมซึ่งมีหลายวิธี ที่นิยมใช้คือ การสกัดของเหลวด้วยของเหลว (liquid-liquid extraction, LLE) แสดงดังภาพที่ 1.9 เป็นวิธีการเตรียมตัวอย่างโดยอาศัยหลักการแยกสารระหว่างของเหลวกับของเหลว โดยจะแยกสารอินทรีย์ออกจากสารอินทรีย์ ซึ่งนิยมให้ของผสมละลายหรือแขวนลอยในน้ำ เรียกว่า ชั้นน้ำ (aqueous layer) และสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่ละลายน้ำแยกชั้นอยู่เรียกว่า ชั้นสารอินทรีย์ (organic layer) ตัวทำละลายที่ใช้ ได้แก่ อีเทอร์ (ether) คลอโรฟอร์ม (chloroform) คาร์บอนเตตระคลอไรด์ (carbon tetrachloride) เบนซีน (benzene) และเฮกเซน (*n*-hexane) ขั้นตอนการสกัดนิยมทำในกรวยแยก (separatory funnel) โดยของผสมจะแยกชั้นอยู่ตามความสามารถในการละลาย คือ สารอินทรีย์หรือเกลือที่ละลายน้ำจะแตกตัวเป็นไอออนอยู่ในชั้นน้ำ ในขณะที่สารอินทรีย์จะละลายอยู่ในชั้นสารอินทรีย์ ข้อเสียของวิธีนี้ คือ ใช้เวลาในการเตรียมตัวอย่างนาน สิ้นเปลืองตัวทำละลาย และสารสกัดที่ได้เสี่ยงต่อการปนเปื้อนสูง อีกทั้งสามารถเกิด emulsion ที่ไปรบกวนการวิเคราะห์ได้ (Thurman and Mills, 1998)

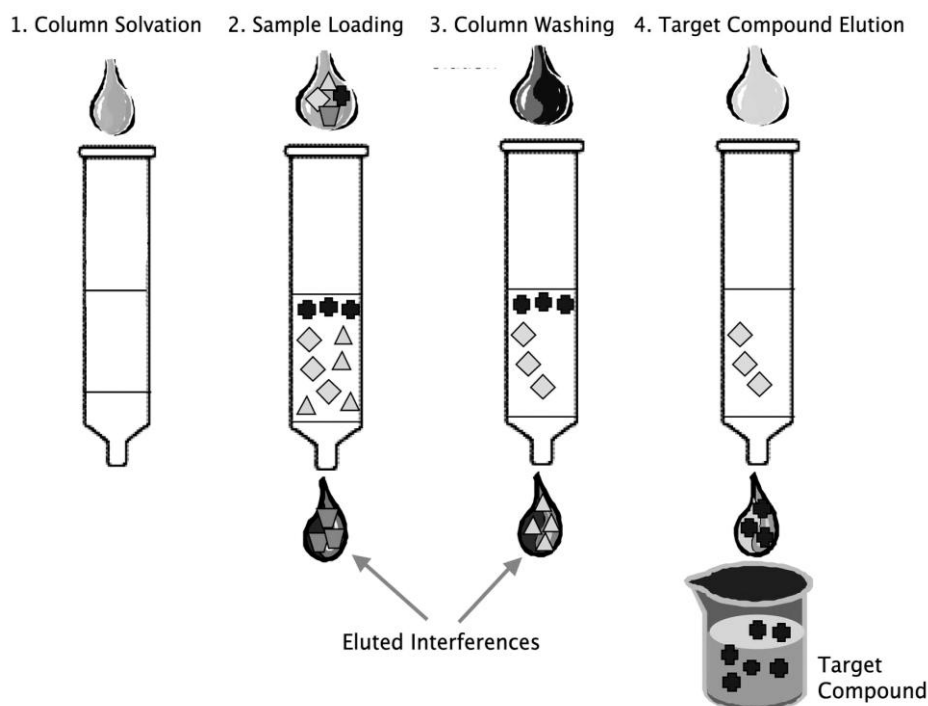


ภาพที่ 1.9 แสดงการสกัดด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย

ที่มา: <http://www.tutorbene.com/index.aspx?PageID=92>

การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง (solid phase extraction, SPE)

การสกัดด้วย SPE เป็นวิธีการเตรียมตัวอย่างโดยอาศัยหลักการแยกสารระหว่างของแข็ง (absorbent) กับของเหลว (solvent) ขั้นตอนการใช้ SPE มี 4 ขั้นตอนแสดงดังภาพที่ 1.10 ดังนี้



ภาพที่ 1.10 แสดงขั้นตอนการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง

ที่มา: www.biotage.com/DynPage.aspx%3Fi...%3D35833

1. การปรับสภาพ (condition)

ตัวดูดซับ (absorbent) ที่บรรจุในคอลัมน์จะต้องถูกปรับสภาพให้พร้อมใช้งาน โดยการเติมตัวทำละลายที่เหมาะสมเข้าไปในคอลัมน์ ซึ่งมีหลักเกณฑ์การเลือกดังนี้

1.1 ตัวทำละลายแบบมีขั้ว เช่น เมทานอล สำหรับตัวดูดซับที่เป็นแบบไม่มีขั้ว ได้แก่ C18, C8, polymeric

1.2 ตัวทำละลายไม่มีขั้ว เช่น เฮกเซน สำหรับตัวดูดซับแบบที่เป็นแบบมีขั้ว ได้แก่ NH_2 , CN, silica, florisil

1.3 น้ำ สำหรับตัวดูดซับที่เป็นแบบแลกเปลี่ยนประจุ ได้แก่ SCX, SAX

2. การเติมสารตัวอย่าง (loading)

สารตัวอย่างที่มีสารแปลกปลอมจะถูกเติมลงในคอลัมน์ โดยสารที่สนใจจะถูกจับโดยตัวดูดซับ ในขณะที่สารแปลกปลอมจะไม่ถูกจับและปล่อยออกจากคอลัมน์ กระบวนการมีดังนี้

2.1 Reversed phase chromatography ตัวดูดซับแบบไม่มีขั้วจะจับสารตัวอย่างแบบไม่มีขั้วหรือมีขั้วเล็กน้อย เช่น ยาปฏิชีวนะ ยาฆ่าแมลง เป็นต้น

2.2 Normal phase chromatography ตัวดูดซับแบบมีขั้วจะจับสารตัวอย่างแบบมีขั้ว เช่น nitrosamine ยาฆ่าแมลง เป็นต้น

2.3 Ion exchange chromatography ตัวดูดซับแบบแลกเปลี่ยนประจุจะจับสารตัวอย่างแบบมีขั้วที่สามารถแลกเปลี่ยนประจุ เช่น ไอออนต่างๆ เป็นต้น

3. การล้าง (washing)

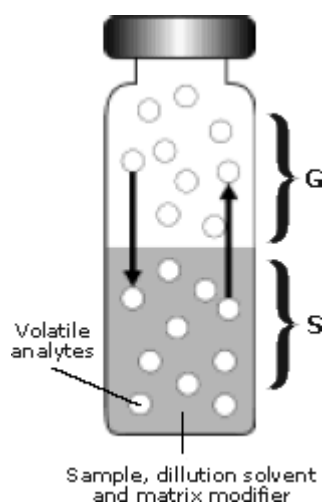
สารแปลกปลอมที่อาจถูกจับโดยตัวดูดซับในคอลัมน์ จะถูกล้างออกไปด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม โดยขั้นตอนนี้ต้องระวังในการเลือกตัวทำละลายหรือความเข้มข้นและอัตราการไหลที่เหมาะสม เพื่อไม่ให้สารที่สนใจถูกล้างออกไปด้วยหรือให้สูญเสียสารที่สนใจน้อยที่สุด (highest recovery)

4. การชะสาร (elution)

สารที่สนใจจะถูกชะออกจากคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม เพื่อนำไปวิเคราะห์ (Thurman and Mills, 1998; Supelco, 1998)

เทคนิคเฮดสเปซ (Headspace)

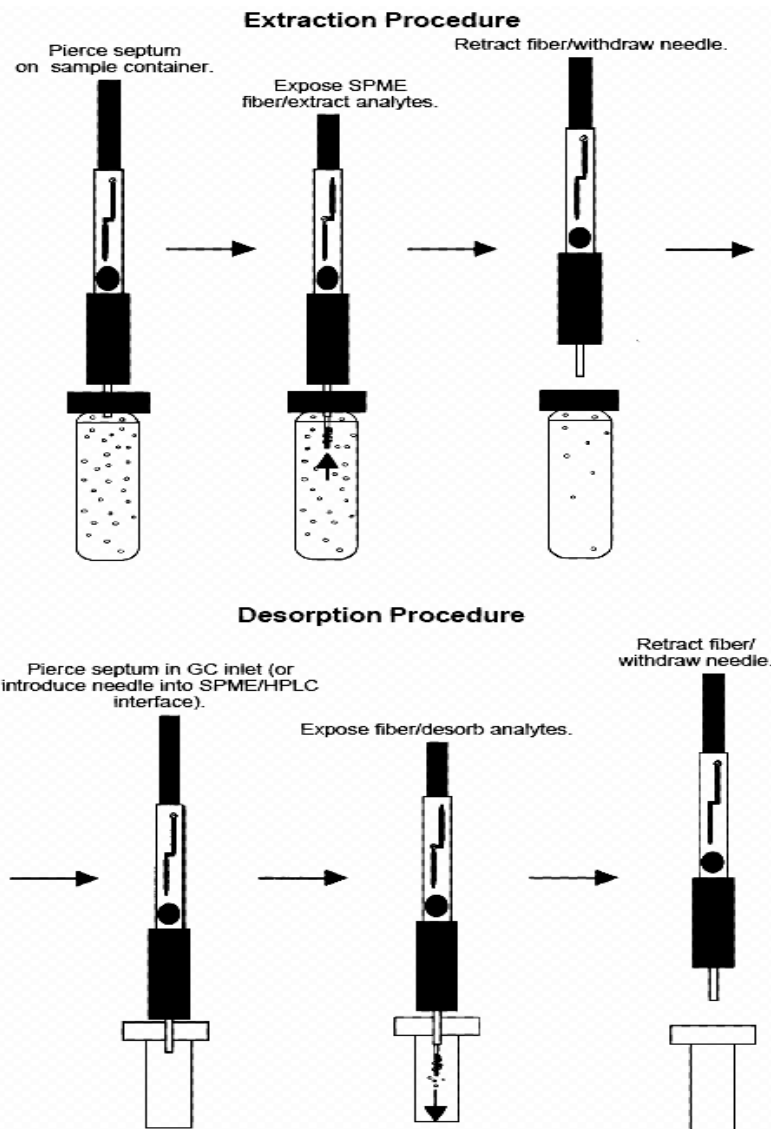
เป็นเทคนิคที่ใช้ได้กับตัวอย่างที่มีคุณสมบัติระเหยได้ (volatile compounds) ที่อยู่ในรูปของแก๊ส ของแข็งและของเหลว โดยนำตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ไปบรรจุในภาชนะปิดสนิท การบรรจุสารตัวอย่างในภาชนะ จะต้องมีช่องว่างอยู่เหนือสาร โดยปริมาตรของช่องว่างจะต้องไม่น้อยกว่าปริมาตรของสารตัวอย่างในภาชนะ เพื่อให้ไอของสารระเหยที่ต้องการวิเคราะห์ในสารตัวอย่างนั้นระเหยขึ้นมา ซึ่งอาจมีการให้ความร้อนหรือไม่ก็ได้ เมื่อความดันไอของตัวอย่างและบรรยากาศรอบๆ ถึงจุดสมดุล เก็บไอระเหยที่ระเหยออกมาจากตัวอย่างโดยใช้เข็มสำหรับเก็บตัวอย่างก๊าซ (gas tight syringe) แล้วนำไปฉีดในเครื่อง GC เพื่อวิเคราะห์หาองค์ประกอบที่ระเหยได้ (Mitra, 2001) ลักษณะของเทคนิคนี้แสดงดังภาพที่ 1.11



ภาพที่ 1.11 แสดงขั้นตอนของเทคนิคเฮดสเปซ

ที่มา: <http://www.labhut.com/education/headspace/introduction01.php>

นอกจากนี้ยังมีการใช้เทคนิคเฮดสเปซร่วมกับการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งปริมาณน้อย (solid phase microextraction, SPME) ซึ่งมีลักษณะเป็นแท่งแก้วกลวงทำจากซิลิกาและถูกเคลือบด้วยตัวดูดซับที่เป็นสารพอลิเมอร์ที่เหมาะสม เรียกว่า fiber จะทำหน้าที่ดูดซับสารตัวอย่างที่เป็นสารประกอบที่ระเหยได้ในขวดเก็บตัวอย่าง แล้วนำ fiber ที่ดูดซับสารตัวอย่างแล้วมาฉีดใน injector port ของ GC หรือ GC-MS ที่ร้อน เพื่อทำการคายการดูดซับสารตัวอย่าง (Wercinski, 1999) ขั้นตอนของเทคนิค SPME แสดงดังภาพที่ 1.12



ภาพที่ 1.12 แสดงขั้นตอนของเทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งปริมาณน้อย
ที่มา: <http://www.sigmaaldrich.com/Graphics/Supelco/objects/4600/4547.pdf>

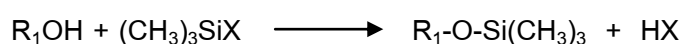
การทำอนุพันธ์ (derivatization)

การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC มีข้อจำกัดในการวิเคราะห์ คือ ไม่สามารถวิเคราะห์สารที่มีสมบัติความเป็นขั้วหรือมีน้ำหนักโมเลกุลสูงได้ เนื่องจากสารเหล่านี้ไม่สามารถถูกทำให้ระเหยเป็นไอได้หมดหรือในกรณีที่อุณหภูมิทำให้สารเกิดการสลายตัว (degradable) จึงต้องใช้วิธีการทำอนุพันธ์เพื่อเพิ่มคุณสมบัติของสารให้เหมาะสมต่อการวิเคราะห์ เช่น เพิ่มการกลายเป็นไอ ลดความเป็นขั้วของสาร ลดการเกิดการสลายตัวจากความร้อน เพิ่มประสิทธิภาพ

การแยกและลดการเกิด tailing เป็นต้น ข้อเสียของการทำอนุพันธ์ คือ หากกำจัดสารหลังทำอนุพันธ์ออกไปไม่หมดจะกลายเป็นสารรบกวนต่อการวิเคราะห์ และยังเป็น การเพิ่มเวลาในการเตรียมตัวอย่างอีกด้วย (Balu and Halket, 1993)

ชนิดของปฏิกิริยาอนุพันธ์แบ่งเป็น 4 แบบ คือ

1) แบบ Silylation เป็นเทคนิคที่นิยมใช้กันมากที่สุดใน การแยกหมู่ฟังก์ชันนัลที่มีปัญหาในการแยกด้วยวิธีทาง GC เช่น หมู่ไฮดรอกซิล เอมีน ไฮอัลฟอสเฟต โดยใช้หมู่ alkylsilyl เช่น $-\text{SiMe}_3$ มาแทนที่ไฮโดรเจนแสดงความเป็นกรด โดยลักษณะของปฏิกิริยา Silylation แสดงดังนี้



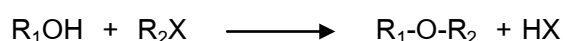
อนุพันธ์ที่ได้นี้มักมีความเป็นขั้วต่ำ ระเหยง่าย และมีค่าความร้อนเสถียร สารก่ออนุพันธ์ที่ใช้กัน คือ TMS (trimethylsilyl)

2) แบบ Acylation เป็นปฏิกิริยาที่ลดความเป็นขั้วของกรดอะมิโน ไฮดรอกซิล และไฮอัล ทำให้เป็นการเพิ่มคุณสมบัติทางโครมาโทกราฟีและยังช่วยให้สารประกอบมีความเสถียร เนื่องจากไปป้องกันหมู่ฟังก์ชันนัลที่ไม่เสถียร โดยลักษณะของปฏิกิริยา Acylation แสดงดังนี้



นอกจากนี้ปฏิกิริยา Acylation ยังเพิ่มการระเหยของสารประกอบ เช่น คาร์โบไฮเดรต หรือกลุ่มอะมิโนที่มีหมู่ฟังก์ชันนัลเป็นขั้วมากๆ ที่สามารถสลายได้ด้วยความร้อนขณะวิเคราะห์ด้วย GC สารก่ออนุพันธ์ที่นิยมใช้ในปฏิกิริยานี้ คือ acetic anhydride

3) แบบ Alkylation เป็นปฏิกิริยาแทนที่ไฮโดรเจนใน R-COOH , R-OH , R-SH และ R-NH_2 ด้วยหมู่อัลคิล หรือบางครั้งเป็นกลุ่มเอริล ทำให้สารประกอบมีคุณสมบัติทางโครมาโทกราฟีเพิ่มขึ้น เนื่องจากความเป็นขั้วของอนุพันธ์เมื่อเทียบกับสารประกอบเดิมลดลง โดยลักษณะของปฏิกิริยา Alkylation เช่น



ปฏิกิริยาชนิดนี้มักใช้กับสารพวกคาร์โบไฮเดรต สารอนุพันธ์ที่นำมาใช้ เช่น diazomethane, pentafluorobenzyl bromide เป็นต้น

4) แบบ Esterification ปฏิกิริยานี้เป็นตัวเลือกอันดับแรกในการทำอนุพันธ์กับกรด กรดเป็นสารประกอบที่แตกตัวได้ง่ายและมีความเป็นขั้วสูง จึงไม่สามารถนำมาแยกด้วย GC ได้ดี กรดที่ไม่ทำอนุพันธ์จึงมีแนวโน้มที่จะให้พีคที่มี tail เนื่องจากเกิดการดูดกลืนและไม่เกิด interaction เฉพาะกับคอลัมน์ในการแยกเอสเทอร์พีเคชันจึงถูกนำมาใช้ในการทำอนุพันธ์กับกรดคาร์บอกซิลิกและหมู่ฟังก์ชันัลของกรด ชนิดของปฏิกิริยาเป็นการรวมตัวของหมู่คาร์บอกซิลิกของกรดและหมู่ไฮดรอกซิลของแอลกอฮอล์ด้วยการกำจัดน้ำออก ปฏิกิริยาเอสเทอร์พีเคชันมักเกิดช้าและต้องใช้อุณหภูมิสูงขึ้น ดังนั้นเมื่อปฏิกิริยาถึงจุดสมมูล จึงต้องขจัดน้ำออก ระหว่างเกิดปฏิกิริยา ลักษณะของปฏิกิริยาแสดงดังนี้



ชนิดของปฏิกิริยาการเกิดอนุพันธ์กับหมู่ฟังก์ชันัลสรุปได้ดังตารางที่ 1.4

ตารางที่ 1.4 แสดงปฏิกิริยาอนุพันธ์กับหมู่ฟังก์ชันัล

หมู่ฟังก์ชันัล	ปฏิกิริยาอนุพันธ์
หมู่ไฮดรอกซิล เช่น 1° 2° 3° ของแอลกอฮอล์, ฟีนอล, คาร์โบไฮเดรต	Silylation, Acylation, Alkylation
หมู่คาร์บอกซิลิก (-COOH)	Esterification, Silylation
หมู่คาร์บอนิล (-C=O) ในอัลดีไฮด์คีโตน	Silylation
หมู่อะมิโน (-NH ₂) ใน 1°เอมีน กรดอะมิโน น้ำตาลอะมิโน	Alkylation
หมู่อะมิโน (-NH-R) ใน 2°เอมีน	Acylation, Silylation
หมู่ -NH ₂ และ -COOH ในกรดอะมิโน	Silylation, Esterification, Acylation
สารประกอบไนโตร (-NO ₂)	ไม่ต้องทำอนุพันธ์

สิ่งสำคัญของการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ คือ ปฏิกิริยาต้องเกิดอย่างสมบูรณ์และจำเป็นต้องใช้วิธี internal standard (IS) ในการหาค่าเชิงปริมาณ การใช้ internal standard จะเป็นการชดเชยตัวคตาไลต์ที่สูญเสียไประหว่างการทำอนุพันธ์ (Balu and Halket, 1993)

1.2.5 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมา ตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์หาเมทแอมเฟตามีนจะเป็นพลาสมา ซีรัม หรือเลือดครบส่วน (whole blood) ทำการเตรียมตัวอย่างโดยการตกตะกอนโปรตีน หรือสกัดด้วยวิธีการต่างๆ เช่น การสกัดด้วยตัวทำละลาย สกัดด้วย SPE หรือใช้เทคนิค headspace แล้วมีการตรวจวัดโดยใช้เครื่อง GC-MS เป็นส่วนใหญ่

Chen และคณะ (1992) ศึกษาการตรวจวัดสารเสพติดชนิดต่างๆ ในพลาสมาและปัสสาวะ โดยทำการสกัดด้วย SPE และตรวจวัดโดยใช้ GC-FID พบว่า เป็นวิธีที่เหมาะสมในการใช้ตรวจปัสสาวะมากกว่าเลือด เนื่องจากระดับในปัสสาวะมีมากกว่าในระดับที่สามารถตรวจวัดได้

Kikura และ Nakahara (1995) ทำการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมและพลาสมาโดยใช้วิธีสกัดด้วย SPE หลังจากนั้นทำอนุพันธ์ด้วย TFA:ethylacetate (1:1) และทำการตรวจวัดด้วยเครื่อง GC-MS โดยการหาความสัมพันธ์ของเลือดกับเส้นขนของหนู ตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนในเลือดได้ระดับต่ำกว่า 10 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ได้มีการประยุกต์ใช้ในการตรวจวัด 6-monoacetyl morphine จากซีรัม (Moeller and Mueller, 1995)

Sato และ Mitsui (1997) ได้ศึกษาวิธีการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในเลือดโดยใช้ whole blood 1 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เท่ากับ 9.0 โดยใช้ boric acid-sodium hydroxide buffer แล้วนำไปสกัดด้วยตัวทำละลาย พร้อมทำอนุพันธ์ด้วย pentafluorobenzyl และตรวจวัดโดยใช้เครื่อง GC-MS ให้ค่าความเที่ยงของเมทแอมเฟตามีนในช่วง 1.3 - 2.6 เปอร์เซ็นต์ และแอมเฟตามีนในช่วง 1.6 - 3.0 เปอร์เซ็นต์

Saito และคณะ (2000) ศึกษาการสะสมเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมของผู้เสียชีวิต โดยทำการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนในเลือดและเนื้อเยื่อต่างๆ เพื่อดูการกระจายของยา โดยใช้วิธีสกัดด้วยตัวทำละลาย นำไปวิเคราะห์ด้วย GC-MS ตรวจพบเมทแอมเฟตามีนในเลือดของผู้เสียชีวิต 0.375 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากการศึกษาก่อนหน้านี้ตรวจพบเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีน 4.92 และ 0.15 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ

Mills และ Walker (2000) พัฒนาการสกัดและแยกสารที่ระเหยง่าย และระเหยยากในตัวอย่างพลาสมา ซีรัม เส้นผม ลมหายใจ น้ำนม น้ำลาย ด้วยวิธี SPME พบว่าเทคนิคนี้เหมาะสำหรับการตรวจสารปริมาณน้อย ซึ่งจะช่วยเพิ่มความเข้มข้นของสาร และขจัดสิ่งรบกวนในการวิเคราะห์ด้วย GC และพัฒนาเทคนิคนี้ประยุกต์ใช้กับ HPLC ได้อีกด้วย

Martinis และคณะ (2007) ตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนและสารในกลุ่มแอมเฟตามีนในเหงื่อ ทำการสกัดโดยใช้ SPE และวิเคราะห์ด้วย GC-MS-EI ให้ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดอยู่ในช่วง 2.5 - 5 ng/patch การวิเคราะห์สารโดยใช้เหงื่อเป็นตัวอย่างที่ทำให้มีการพัฒนาเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวัดให้หลากหลายขึ้น

Pujadas และคณะ (2007) ตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนร่วมกับสารกลุ่มอนุพันธ์แอมเฟตามีนในน้ำลาย เมื่อสกัดโดยใช้ SPE แล้วทำอนุพันธ์โดยใช้ trimethylsilyl นำไปวิเคราะห์กับเครื่อง GC-MS ให้ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดของการหาปริมาณเมทแอมเฟตามีน 6.9 และ 20.9 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตรและแอมเฟตามีน 6.8 และ 20.6 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร วิธีนี้สามารถตรวจวัดสารอื่นจากน้ำลายได้และเหมาะสมเป็นงานประจำที่ประยุกต์ใช้ในห้องปฏิบัติการหรือในโรงพยาบาลได้

นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาวิธีตรวจวัดโดย Okajima และคณะ (2001) ศึกษาการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนใน whole blood ด้วยวิธี headspace SPME โดยใช้ pentafluorobenzyl bromide (PFBB) เป็นสารทำอนุพันธ์ ให้ขีดจำกัดต่ำสุดที่เครื่องตรวจวัดได้ของแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนเท่ากับ 0.5 นาโนกรัมต่อกรัม ในการทดลองยังพบว่าการใส่บัฟเฟอร์ในขั้นตอนสกัด ซึ่ง buffer บางตัวจะทำให้เกิดพีคบรอกวอนพีคของสารที่เราต้องการ

การทดลองยังมีการพัฒนาวิธีการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนด้วยวิธีอื่นๆ เช่น

Ortuño และคณะ (1999) ศึกษาปริมาณของ 3,4-methylenedioxy methamphetamine และสารเมทาบอลไลท์ในพลาสมาและปัสสาวะ ทำการสกัดพลาสมาด้วย SPE โดยไม่ทำอนุพันธ์ และตรวจวัดโดยใช้ GC-NPD ให้ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดในพลาสมาและปัสสาวะน้อยกว่า 1.6 ไมโครกรัมต่อลิตร และ 47 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ให้ร้อยละการคืนกลับในพลาสมาอยู่ในช่วง 81 – 92 เปอร์เซ็นต์ การตรวจวัดสารกลุ่มแอมเฟตามีนโดยใช้ GC-NPD ให้ผลเร็วและเป็นเทคนิคที่ให้ความไว (sensitivity) ที่ดี โดยไม่ต้องทำอนุพันธ์ ซึ่ง Jiménez และคณะ (2006) ได้นำวิธีการนี้ไปศึกษาหาแอมเฟตามีนและสารอนุพันธ์ในปัสสาวะได้อีกด้วย

Wood และคณะ (2000) ได้ศึกษาการตรวจวัดปริมาณสารกลุ่มแอมเฟตามีนโดยการใช้เมทานอลเป็นสารในการสกัดด้วยวิธีตกตะกอนโปรตีน ในอัตราส่วน 1 : 4 แล้วนำสารสกัดส่วนที่แยกด้วยวิธีปั่นเหวี่ยงด้วยแรงศูนย์กลาง 13000 รอบต่อนาที นำไปวิเคราะห์หาปริมาณโดยใช้ LC-ESI-MS/MS ให้ค่าต่ำสุดที่เครื่องสามารถตรวจวัดได้อยู่ที่ 1 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเป็นวิธีการที่รวดเร็วและไม่ต้องทำอนุพันธ์ ทำให้ประหยัดเวลาในการวิเคราะห์

Nishida และคณะ (2002) ได้พัฒนาการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในเลือดโดยวิธีฉีดแบบ On-column โดยใช้ propylchloroformate เป็นสารทำอนุพันธ์ ตรวจวัดโดยใช้ GC-MS ปริมาณของแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนเท่ากับ 0.10 และ 2.53 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ

Chou และ Lee (2005) พัฒนาการตรวจวัดแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนใน serum โดยสกัดด้วย SPME ตรวจวัดโดยใช้ LC-ESI-MS/MS ให้ค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่เครื่องตรวจวัดได้ของแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนเท่ากับ 0.3 และ 0.04 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ให้ค่าความเที่ยงน้อยกว่า 8 เปอร์เซ็นต์

วิธีการสกัดโดยใช้ SPE และ SPME เป็นการ clean up ตัวอย่างที่ให้ผลดีและเกิดพีครบกวนน้อย ทำให้เป็นวิธีที่นักวิจัยส่วนใหญ่นิยมใช้ ถึงแม้จะมีค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์สูงแต่เพื่อผลการสกัดที่ดีจึงเป็นทางเลือกหลักของนักวิจัยทั่วไป

สำหรับการตรวจวัดโดยใช้ GC-FID ส่วนใหญ่ใช้ตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนในเม็ดยา เนื่องจากตรวจพบเมทแอมเฟตามีนได้ในปริมาณที่สูงกว่าตัวอย่างชีววัตถุ เช่น

Puthaviriyakorn และคณะ (2002) ศึกษาความบริสุทธิ์และจำแนกสถิติของเม็ดยาเมทแอมเฟตามีนในประเทศไทย โดยบดให้ละเอียดแล้วใช้ ethylacetate เป็นสารสกัดเม็ดยาในสถานะเป็นต่าง ตรวจวัดโดยใช้ GC-FID ตรวจพบสารในกลุ่มแอมเฟตามีนและสารชนิดอื่นในเม็ดยาโดยเฉพาะ caffeine และ ethylvanilin หากใช้ GC-MS จะสามารถตรวจวัดสารอื่นที่มีในเม็ดยาได้มากขึ้น เช่น อีฟีดรีน ซูโดอีฟีดรีน เป็นต้น

Dayrit และ Dumlaio (2004) ศึกษาหาความบริสุทธิ์ของเมทแอมเฟตามีนไฮโดรคลอไรด์ในเม็ดยาที่พบในประเทศฟิลิปปินส์ โดยละลายเม็ดยาในบัฟเฟอร์ที่ pH เท่ากับ 10.5 สกัดโดยใช้ ethylacetate วิเคราะห์คุณภาพโดยใช้ GC-FID และหาปริมาณโดยใช้ GC-MS ผลที่ได้ทำให้ตรวจวัดสารได้หลายตัว เนื่องจากใช้ GC-MS เปรียบเทียบมวลอีกทางหนึ่ง

Mitreviski และ Zdravkovski (2005) วิเคราะห์หาปริมาณแอมเฟตามีนและสารอนุพันธ์แอมเฟตามีนในตัวอย่างเม็ดยาโดยใช้ GC-FID ตรวจวัดในครั้งเดียวสามารถตรวจวัดแอมเฟตามีนและสารอนุพันธ์ทั้งหมดได้ในเวลาเพียง 6 นาที ซึ่งในการวิเคราะห์บางครั้งสิ่งที่พบในการตรวจวัดสารกลุ่มแอมเฟตามีนคือพีคจะเกิด tailing เนื่องจากตัวเครื่องมือที่เกี่ยวกับการแยกหรือปฏิบัติการเกี่ยวกับ retention time พื้นที่ใต้พีค หรือพีค overlap ในการทดลองนี้ให้ผลการแยกที่ดี เป็นแนวทางในการเลือกเครื่องมือในการตรวจวัดได้

Inoue และคณะ (2003) ได้ศึกษาหาความบริสุทธิ์ของเมทแอมเฟตามีนในเม็ดยาโดยใช้ GC-FID ได้ให้คำแนะนำในการตรวจวัดเกี่ยวกับเครื่องมือในการแยกกว่าคาฟิลลารีคอลัมน์ชนิดไม่มีขั้วที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 ให้ผลการแยกเมทแอมเฟตามีนออกมาดี และสามารถประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างอื่นได้

เครื่องมือและวิธีการสกัดเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างเลือดมีมากมาย แต่ขึ้นกับวัตถุประสงค์ของการวิจัย การสกัดโดยใช้ SPE และ SPME พบว่า พีครบกวนในการวิเคราะห์น้อยกว่าวิธีสกัดอื่น แต่ข้อเสียคือ มีราคาค่อนข้างแพงและใช้ได้ครั้งเดียวอย่างเช่น SPE สำหรับเครื่องมือในการตรวจวัดพบว่า GC-MS เป็นเครื่องมือหลักในการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างไม่ว่าจะเป็นเลือด เส้นผม เหงื่อ น้ำลาย แต่ได้มีการพัฒนาให้ตรวจวัดด้วยเครื่องมืออื่น เช่น GC-NPD HPLC และ LC-ESI-MS/MS ซึ่งเป็นเครื่องมือที่มีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง ดังนั้นในการศึกษาที่ต้องการประยุกต์ใช้ GC-FID เพื่อตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนในพลาสมาได้ เพื่อลดข้อจำกัดในการตรวจวัดระดับเมทแอมเฟตามีนในเลือด อีกทั้งต้นทุนในการวิเคราะห์ต่ำ การเตรียมตัวอย่างไม่ยุ่งยาก ผลที่ได้มีความถูกต้องน่าเชื่อถือ

1.3 วัตถุประสงค์

1.3.1 ศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการตกตะกอนโปรตีนเพื่อหาเมทแอมเฟตามีนในพลาสมา

1.3.2 ศึกษาการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในพลาสมาโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีชนิดเฟลมไอออไนเซชัน

บทที่ 2

วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 วัสดุและสารเคมี

- 2.1.1 สารมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนเตรียมในเมทานอลความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร, กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข Lot. No. PT-U52MO1
- 2.1.2 สารมาตรฐานแอมเฟตามีนซัลเฟตเตรียมในเมทานอลความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร, กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข Lot. No. PT-U52AO1
- 2.1.3 สารมาตรฐานอีเฟดรีนไฮโดรคลอไรด์เตรียมในเมทานอลความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข Lot. No. PT-U52EP01
- 2.1.4 สารมาตรฐานซูโดอีเฟดรีนไฮโดรคลอไรด์เตรียมในเมทานอลความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข Lot. No. PT-U52PE01
- 2.1.5 สารมาตรฐานเฟนฟลูรามีนไฮโดรคลอไรด์เตรียมในเมทานอลความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข Lot. No. PT-U52F01
- 2.1.6 สารมาตรฐานเฟนเทอร์มินไฮโดรคลอไรด์เตรียมในเมทานอลความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข Lot. No. PT-U52PT01
- 2.1.7 สารมาตรฐาน 3,4-methylenedioxymethamphetamine ได้รับความอนุเคราะห์จาก รองศาสตราจารย์ ดร.นายแพทย์พงษ์รักษ์ ศรีบัณฑิตมงคล ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- 2.1.8 เมทานอล (Methanol HPLC grade), J.T.Beaker, USA
- 2.1.9 2-โพรพานอล (2-propanol HPLC grade), J.T.Beaker, USA
- 2.1.10 อะซีโตน (Acetone HPLC grade), J.T.Beaker, USA
- 2.1.11 อะซีโตนไนไตรล์ (Acetonitrile HPLC grade), J.T.Beaker, USA
- 2.1.12 น้ำปราศจากไอออน (Deionize water), Millipore, USA

2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 2.2.1 เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีตัวตรวจวัดชนิดเฟลมไอออไนเซชัน (Gas Chromatography-Flame Ionization ; GC-FID) รุ่น 6890N และ Autosampler รุ่น 7683 Agilent, USA
- 2.2.2 คอลัมน์ HP-5 (30 m × 0.32 mm × 0.25 μm) Agilent, USA
- 2.2.3 เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน (microcentrifuge), Eppendorf, Germany
- 2.2.4 เครื่องผสมสาร (vortex mixer) รุ่น Genie 2, USA
- 2.2.5 เครื่องอัลตราโซนิก (ultrasonication), Elma, Germany
- 2.2.6 Microcentrifuge tube ขนาด 2 ไมโครลิตร, eppendorf, Germany
- 2.2.7 ไมโครปิเปต, Gilson, USA
- 2.2.8 เครื่องชั่งสาร, Sartorius, Germany
- 2.2.9 แก๊สฮีเลียม (He) 99.999%, Ultra High Pure grade, TIG, Thailand
- 2.2.10 แก๊สไฮโดรเจน (H₂) 99.999%, High Pure grade, TIG, Thailand
- 2.2.11 แอร์ซีโร่ (Air Zero) TIG, Thailand

2.3 วิธีดำเนินการ

2.3.1 การเตรียมสารละลาย

2.3.1.1 การเตรียม stock standard solution

stock solution ของเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีน ใช้สารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนไฮโดรคลอไรด์และสารละลายมาตรฐานแอมเฟตามีนซัลเฟตที่เตรียมในเมทานอลความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้รับความอนุเคราะห์จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

2.3.1.2 การเตรียม working standard solution

เตรียมโดยการเจือจาง stock solution ของสารมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนด้วยเมทานอลให้มีความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2.3.2 ศึกษาหาตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการสกัดด้วยวิธีการตกตะกอนโปรตีน

เตรียมโดยเติมสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนลงในพลาสมาที่ความเข้มข้น 0.10, 0.25 และ 0.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยทำการเตรียมตัวอย่างความเข้มข้นละ

5 ซ้ำ และใช้ตัวทำละลายโดยพิจารณาจากความสามารถในการละลายได้ดีของเมทแอมเฟตามีน ในตัวทำละลายต่างๆ ได้แก่ เมทานอล, 2-โพรพานอล, อะซีโตนไนไตรล์และอะซีโตน

2.3.3 ศึกษาความจำเพาะเจาะจงและความสามารถในการเลือก (specificity/ selectivity)

วิธีตรวจวิเคราะห์ที่ใช้ในการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีน ต้องไม่มีผลรบกวนจากสารอื่นๆ ที่มีในตัวอย่าง หรือสามารถตรวจวัดสารหลายชนิดได้โดยไม่มีผลรบกวนต่อกัน (Taverniers *et al.*, 2004) ทำการเตรียมสารมาตรฐานในกลุ่มอนุพันธ์ของแอมเฟตามีน ได้แก่ อีฟีดรีน (ephedrine), ซูโดอีฟีดรีน (pseudoephedrine), เฟนเทอร์มีน (phentermine), เฟนฟลูรามีน (fenfluramine) และ 3,4-methylenedioxymethamphetamine (ยาอี) สำหรับการศึกษาความจำเพาะเจาะจงของสาร ทำโดยเตรียมสารมาตรฐานชนิดต่างๆ ในเมทานอลที่ความเข้มข้น 20.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและการศึกษาความสามารถในการตรวจวัดสารได้หลายชนิด ทำโดยเตรียมสารมาตรฐานชนิดต่างๆ มาผสมในเมทานอลให้มีความเข้มข้น 1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์แล้วทำการเปรียบเทียบสัญญาณกับตัวอย่าง blank ของเมทานอลและพลาสมาตัวอย่างละ 10 ซ้ำ ผลการทดสอบจะต้องไม่พบสัญญาณของสารอื่นซึ่งที่เวลาของสัญญาณเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีน

2.3.4 วิธีเตรียมตัวอย่าง

วิธีการเตรียมตัวอย่างดัดแปลงมาจากวิธีของ Wood และคณะ (2000) ดังนี้

- ทำการตกตะกอนพลาสมา 200 ไมโครลิตร ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม 800 ไมโครลิตร แล้วนำไป sonicate 15 นาที หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยแรงสุญญากาศ 10,000 Xg จนตะกอนแยกชั้น เป็นเวลา 10 นาที ดูดสารละลายส่วนใสแล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID

2.4 ศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation)

วิธีการที่ใช้ในการศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์คือ specificity/selectivity, linearity และ calibration curve, LOD, LOQ, recovery, precision (Taverniers *et al.*, 2004), stability (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2547)

2.4.1 Linearity และ calibration curve

โดยการเติมสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนลงในพลาสมาที่ความเข้มข้น 0.10, 0.50, 2.50, 10.00 และ 50.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 0.10, 0.25, 0.50, 1.00 และ 2.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วทำการเตรียมตัวอย่างความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ โดยในช่วงความเข้มข้นดังกล่าวของเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีน จะต้องให้สมการเส้นตรงที่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation Coefficient, r) ไม่น้อยกว่า 0.99

2.4.2 ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (limit of detection, LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการหาปริมาณ (limit of quantification, LOQ)

พิจารณาจากการวิเคราะห์ตัวอย่าง blank 10 ครั้ง จากนั้นนำค่าสัญญาณการตอบสนองที่ได้มาคำนวณหาค่าเฉลี่ย (Average, \bar{X}) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation, S.D.) ของสัญญาณจากตัวอย่าง blank

โดยขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด หมายถึง ความเข้มข้นต่ำที่สุด (C_L) ของสารที่สามารถตรวจวัดได้ คำนวณได้จากสัญญาณตอบสนองที่น้อยที่สุด (X_L) แสดงดังสมการ

$$X_L = \bar{X}_B + kS_B \quad (1)$$

เมื่อ \bar{X}_B คือค่าเฉลี่ยของสัญญาณจากตัวอย่าง blank

S_B คือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณจากตัวอย่าง blank

k คือสัมประสิทธิ์ที่แสดงถึงระดับความเชื่อมั่น (Confidence Level)

โดย LOD จะคำนวณโดยแทนค่า $k = 3$ ซึ่งหมายถึงที่ระดับความเชื่อมั่น 99.86% ดังนั้น จึงคำนวณค่า C_L แสดงดังสมการ

$$C_L = \frac{(X_L - \bar{X}_B)}{m} \quad (2)$$

เมื่อ m คือความไววิเคราะห์หรือค่าความชันของกราฟมาตรฐาน และแทนค่า X_L ลงในสมการ (2) จะสามารถคำนวณค่า LOD ได้ดังสมการ

$$C_L = \frac{kS_B}{m} \quad (3)$$

สำหรับการคำนวณค่า LOQ จะใช้วิธีการคำนวณเช่นกัน แต่แทนค่า $k = 10$

2.4.3 ร้อยละการคืนกลับ (%recovery)

การหาร้อยละการคืนกลับ เพื่อตรวจสอบการได้คืนกลับของการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในพลาสมา และเป็นการทดสอบผลการรบกวนของพลาสมาเตรียมโดยการเติมสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนลงในพลาสมาที่ความเข้มข้น 0.10, 0.50, 2.50, 10.00 และ 50.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 0.10, 0.25, 0.50, 1.00 และ 2.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียมความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ ทำการคำนวณ %Recovery ได้จากสมการ

$$\%Recovery = \frac{\text{response after extraction}}{\text{response after direct injection}} \times 100$$

โดยค่าร้อยละการคืนกลับที่ยอมรับได้ในช่วงความเข้มข้นต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 แสดงร้อยละการคืนกลับที่ยอมรับได้ในช่วงความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น (µg/mL)	ค่าเฉลี่ยการคืนกลับ (%)
100	90-107
10	80-110
1	80-110
0.1	80-110
0.01	60-115
0.001	40-120

ที่มา: Taverniers *et al.*, 2004

2.4.4 ความเที่ยง (precision)

เป็นค่าความใกล้เคียงของปริมาณสารที่ตรวจวัดได้จากการตรวจวัดซ้ำหลายๆ ครั้ง ค่าความเที่ยงของการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (intraday) และระหว่างวัน (interday) เตรียมโดยการเติมสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนลงในพลาสมาที่ความเข้มข้น คือ 0.10, 0.50, 2.50, 10.00 และ 50.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 0.10, 0.25, 0.50, 1.00 และ 2.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียมความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ ให้ผลแสดงในรูปร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ หรือ %RSD ซึ่งคำนวณได้ดังสมการ

$$\%RSD = \frac{S.D.}{\bar{X}} \times 100$$

โดยร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ที่ยอมรับได้ในช่วงความเข้มข้น
ต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 แสดงร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ที่ยอมรับได้ในช่วงความเข้มข้น
ต่างๆ

ความเข้มข้น (µg/ml)	Horwitz %RSD	AOAC %RSD
100	8	5.3
10	11.3	7.3
1	16	11
0.1	22.6	15
0.01	32	21
0.001	45.3	30

ที่มา: Taverniers *et al.*, 2004

2.4.5 เสถียรภาพ (stability) ทำการศึกษาเสถียรภาพของตัวอย่าง 4 แบบ ได้แก่

1) Freeze-thaw stability ทำการเตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีน และแอมเฟตามีนในพลาสมาที่ความเข้มข้น 0.50 และ 1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียม ความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ หลังจากเก็บตัวอย่างแบบ freeze-thaw ครบ 3 รอบ (1 รอบ คือ การเก็บ ตัวอย่างที่อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาตัวอย่างเป็นเวลา 24 ชม. แล้วนำออกมาละลายที่ อุณหภูมิห้อง) เปรียบเทียบความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้หลังจากเก็บตัวอย่างครบ 3 รอบ กับความ เข้มข้นของตัวอย่างที่เตรียมขึ้นใหม่ ผลการเปรียบเทียบต้องไม่พบการสลายตัวของเมทแอมเฟ ตามีนและแอมเฟตามีนในพลาสมาหลังจากเก็บตัวอย่างครบ 3 รอบ

2) Long-term stability ทำการเตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีน และแอมเฟตามีนในพลาสมาที่ความเข้มข้น 0.50 และ 1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียม ความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ หลังจากเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา คือ -20°C โดยเก็บ ตัวอย่างที่ระยะเวลา 15 วัน และ 30 วัน ซึ่งเป็นช่วงเวลาในการเก็บรักษาตัวอย่างจริง เปรียบเทียบความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้หลังจากเก็บตัวอย่างตามระยะเวลาที่กำหนดไว้กับความ เข้มข้นของตัวอย่างที่เตรียมขึ้นใหม่ ผลการเปรียบเทียบต้องไม่พบการสลายตัวของเมทแอมเฟ ตามีนและแอมเฟตามีนในตัวอย่างพลาสมาภายในระยะเวลา 15 วัน และ 30 วัน

3) Short-term stability ทำการเตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีน และแอมเฟตามีนในพลาสมาที่ความเข้มข้น 0.50 และ 1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียม ความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ หลังจากเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา คือ -20°C แล้วนำ

ตัวอย่างมาละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 และ 6 ชั่วโมง เปรียบเทียบความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้หลังจากละลายตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องตามระยะเวลาที่กำหนดกับความเข้มข้นของตัวอย่างที่เตรียมขึ้นใหม่ ผลการเปรียบเทียบต้องไม่พบการสลายตัวของเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในตัวอย่างพลาสมาภายในระยะเวลาที่คาดว่าจะต้องเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้องเมื่อทำการวิเคราะห์จริง

4) Post-preparative stability ทำการเตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในพลาสมาที่ความเข้มข้น 0.50 และ 1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียมความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ หลังจากนำตัวอย่างยาที่ผ่านกระบวนการเตรียมตัวอย่างหรือสกัดสาร (extracted sample) ตั้งไว้ใน autosampler (autosampler stability) หรือตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (bench-top stability) เป็นระยะเวลา 5 และ 10 ชั่วโมง ซึ่งเวลาดังกล่าวเป็นเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างในแต่ละ batch size ที่เตรียมสำหรับวิเคราะห์ในแต่ละครั้ง เปรียบเทียบความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้หลังจากนำตัวอย่างที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างหรือสกัดสารแล้วตั้งไว้ใน autosampler หรือที่อุณหภูมิห้องตามระยะเวลาที่กำหนดกับความเข้มข้นของตัวอย่างที่เตรียมขึ้นใหม่และทำการวิเคราะห์ทันที ผลการเปรียบเทียบต้องไม่พบการสลายของเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในพลาสมาภายในระยะเวลาที่คาดว่าจะใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างในแต่ละ batch size (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2547)

2.5 การตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในพลาสมาคน (determination of methamphetamine and amphetamine in human plasma)

เก็บตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์จากพลาสมาผู้เสียชีวิตที่ถูกส่งมาชันสูตรเพื่อหาสาเหตุการเสียชีวิต ณ หน่วยนิติเวชศาสตร์และพิษวิทยา โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ ระหว่างเดือนธันวาคม พ.ศ. 2552 – กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2553 โดยมีการตรวจสอบประวัติการใช้สารเสพติดกลุ่มแอมเฟตามีนอย่างละเอียด โดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญทางนิติเวชศาสตร์ ระยะเวลาในการเก็บตัวอย่างก่อนทำการวิเคราะห์หาเมทแอมเฟตามีนอยู่ในช่วง 0-3 วัน หลังจากได้รับตัวอย่าง โดยตัวอย่างจะถูกเก็บไว้ในตู้ทำความเย็นของหน่วยนิติเวชศาสตร์และพิษวิทยาที่อุณหภูมิ -20°C

2.6 การตั้งค่าเครื่องมือ

GC-FID ตั้งสภาวะของเครื่องดังแสดงในตารางที่ 2.3 ทำการวิเคราะห์ข้อมูลเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนโดยใช้โปรแกรม Chem Station Version A

ตารางที่ 2.3 แสดงสภาวะของเครื่อง GC-FID ในการวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีน

Column	HP5 (30.00 m x 0.32 mm x 0.25 μ m)
Injector	290 $^{\circ}$ C
Detector	300 $^{\circ}$ C
Oven	80 $^{\circ}$ C (1 min) , 30 $^{\circ}$ C/min , 200 $^{\circ}$ C (0 min)
Injection volumn	1 μ l, splitless
Gas flow rate	Carrier gas (He) 2.60 ml/min Make up gas (He) 35.00 ml/min Fuel gas (H ₂) 25.00 ml/min Oxidant gas (O ₂) 400.00 ml/min

2.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนนำเสนอในรูปค่าเฉลี่ยและ \pm S.D. วิเคราะห์หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบจับคู่ (Pair Sample T-test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม SPSS

บทที่ 3

ผลและบทวิจารณ์

3.1 ศึกษาหาตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมตัวอย่างเมทแอมเฟตามีนในพลาสติกด้วยวิธีการตกตะกอนโปรตีน

ตัวทำละลายที่ใช้เตรียมตัวอย่างเมทแอมเฟตามีนในพลาสติกด้วยวิธีการตกตะกอนโปรตีน ได้แก่ เมทานอล, 2-โพรพานอล, อะซีโตไนไตรล์และอะซีโตน เมื่อทำการวัดพื้นที่พีคของเมทแอมเฟตามีนที่เติมลงในพลาสติกที่ความเข้มข้น 0.10, 0.25 และ 0.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการตกตะกอนพลาสติกด้วยตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด ความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ โดยทำการเลือกจากความสามารถในการละลายของเมทแอมเฟตามีน ซึ่งสารแต่ละชนิดมีความเป็นขั้วดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 แสดงความเป็นขั้วของตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด

ตัวทำละลาย	เมทานอล	2-โพรพานอล	อะซีโตไนไตรล์	อะซีโตน	น้ำ
ความเป็นขั้ว	5.1	3.9	5.8	5.1	10.2

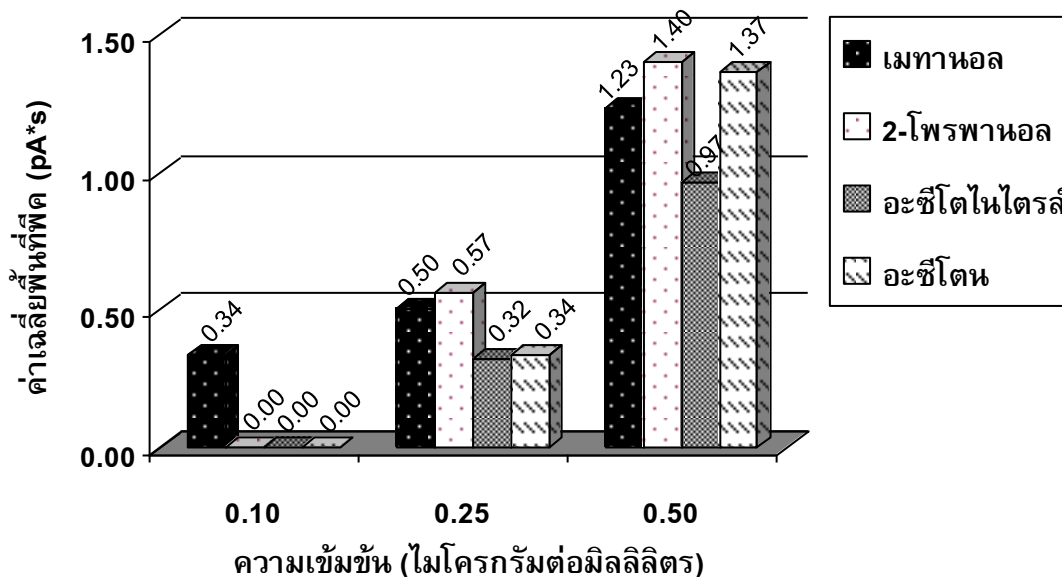
ที่มา: Sydex, 1997

เมื่อทำการตกตะกอนพลาสติกด้วยตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด ผลการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนให้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 แสดงพื้นที่พีคของเมทแอมเฟตามีนหลังจากตกตะกอนโปรตีนด้วยตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด

ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$)	เวลา MA (นาที)	ค่าเฉลี่ยพื้นที่พีคของ MA ที่ตกตะกอนด้วยตัวทำละลาย (pA*s) (%RSD)			
		เมทานอล	2-โพรพานอล	อะซีโตไนไตรล์	อะซีโตน
0.10	3.62	0.44 (9.07)	ND (-)	ND (-)	ND (-)
0.25	3.62	0.50 (5.00)	ND (-)	0.32 (11.71)	0.34 (12.36)
0.50	3.63	1.13 (4.68)	1.40 (7.14)	0.97 (3.63)	1.37 (11.18)

* ND = ไม่สามารถตรวจวัดได้ (Not Detectable)



แผนภูมิแท่งที่ 3.1 แสดงการเปรียบเทียบพื้นที่ฟิคของเมทแอมเฟตามีนในตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด ที่ใช้ในการตกตะกอนโปรตีน

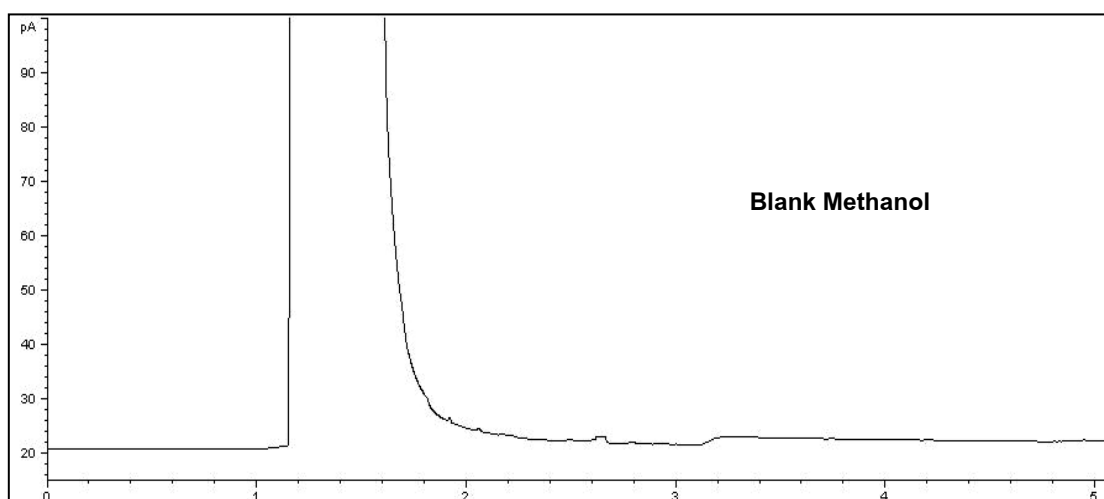
จากผลการทดลอง ฟิคของเมทแอมเฟตามีนในตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด เกิดที่เวลาเดียวกัน คือที่เวลาประมาณ 3.62 นาที และพบว่าเมื่อใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายในการตกตะกอนโปรตีน จะให้พื้นที่ฟิคของเมทแอมเฟตามีนสูงในทุกความเข้มข้น ซึ่งแสดงว่าเมทานอลสามารถแยกเมทแอมเฟตามีนออกจากโปรตีนในพลาสมาได้ อีกทั้งเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่ให้ผลการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนในระดับความเข้มข้นต่ำได้ เนื่องจากเมทแอมเฟตามีนเป็นสารที่มีขั้วและเมทแอมเฟตามีนสามารถละลายในเมทานอลได้ดี (Logan, 2002) เมื่อเปรียบเทียบความเป็นขั้วของตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 3.1 พบว่า อะซิติกแอซิดเป็นตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วสูงมากกว่าเมทานอล และเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วสูงใกล้เคียงกับอะซิติกแอนไฮไดรด์ โดยที่ 2-โพรพานอลมีความเป็นขั้วน้อยที่สุด (Syndex, 1997) แต่จากการทดลองเมื่อพิจารณาค่าความเที่ยงของเมทแอมเฟตามีนที่ใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย มีค่าอยู่ในช่วง 4.68 - 9.07% ซึ่งในแต่ละความเข้มข้นผลของค่าความเที่ยงมีความแปรปรวนน้อย แสดงว่าค่าความใกล้เคียงของพื้นที่ฟิคเมทแอมเฟตามีนที่ได้จากการตรวจวัดซ้ำหลายๆ ครั้ง อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (Taverniers *et al.*, 2004) เมื่อเปรียบเทียบกับ 2-โพรพานอล, อะซิติกแอซิดและอะซิติกแอนไฮไดรด์ ซึ่งไม่สามารถตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้นต่ำได้ และความเข้มข้นที่สามารถตกตะกอนโปรตีนได้ให้ผลของค่าความเที่ยงมีความแปรปรวนสูง ดังนั้นเมทานอลจึงเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างเพื่อตรวจหาเมทแอมเฟตามีนในพลาสมาด้วยวิธีการตกตะกอนโปรตีน

3.2 ศึกษาความจำเพาะเจาะจงและความสามารถในการเลือก (specificity/selectivity)

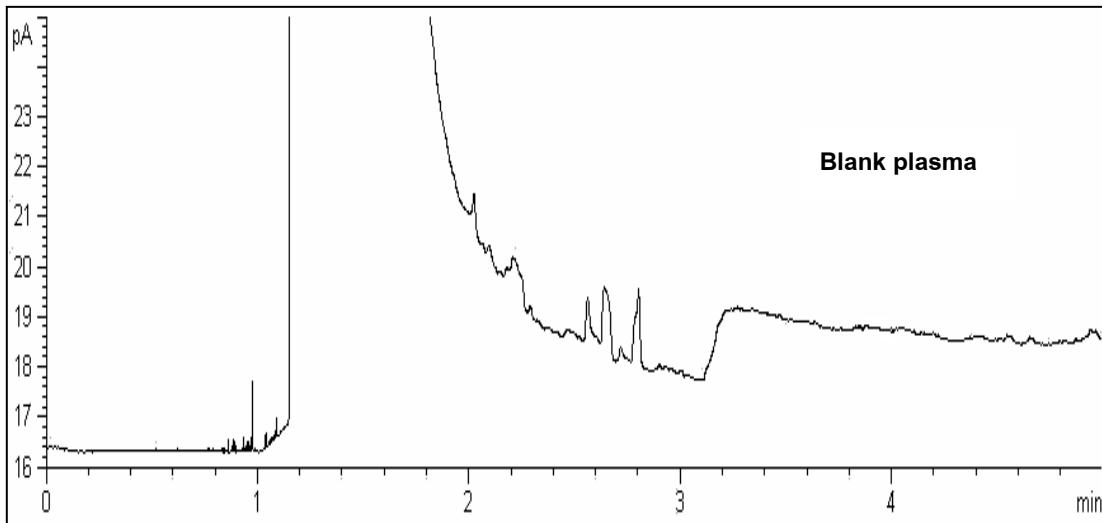
ทำการวิเคราะห์สารมาตรฐานเมทแอมเฟตามีน แอมเฟตามีนและสารในกลุ่มอนุพันธ์ของแอมเฟตามีน ได้แก่ อีฟีดรีน (ephedrine), ชูโดอีฟีดรีน (pseudoephedrine), เฟนเทอร์มีน (phentermine), เฟนฟลูรามีน (fenfluramine) และ 3,4-methylenedioxymethamphetamine (ยาอี) โดยเตรียมสารมาตรฐานในเมทานอลที่ความเข้มข้น 1.00 และ 20.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์แล้วทำการเปรียบเทียบสัญญาณกับตัวอย่าง blank ของเมทานอลและพลาสมา ตัวอย่างละ 10 ซ้ำ ความจำเพาะเจาะจงของสารแต่ละชนิดแสดงพีคออกมาที่เวลาต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 3.3 และ ลักษณะโครมาโทแกรมแสดงดังภาพที่ 3.1 - 3.9 ตามลำดับ

ตารางที่ 3.3 แสดงเวลาที่เกิดพีคของสารแต่ละชนิด

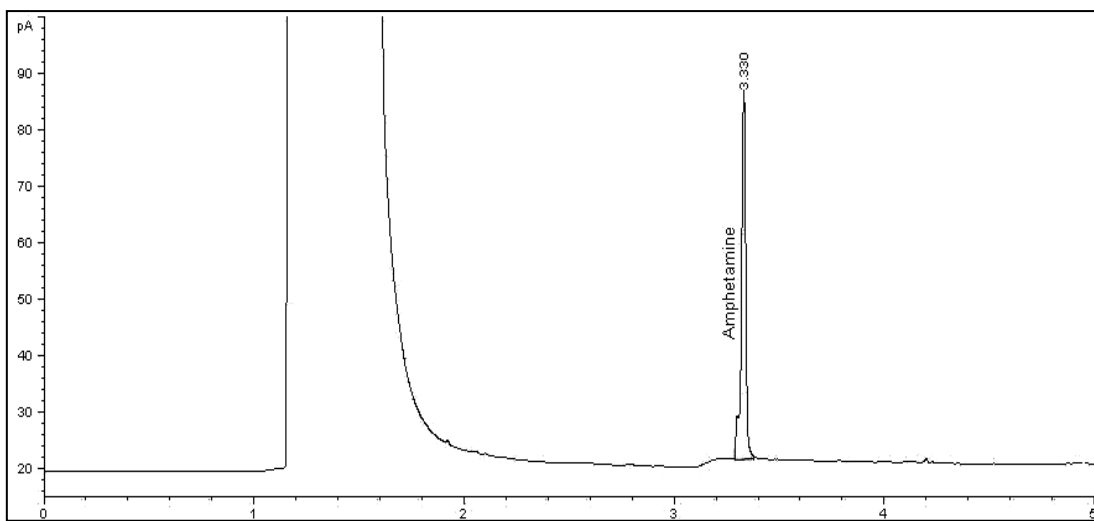
ชื่อสาร	เวลาเฉลี่ยที่เกิดพีค (นาที)
แอมเฟตามีน	3.33
เมทแอมเฟตามีน	3.62
เฟนเทอร์มีน	3.51
เฟนฟลูรามีน	3.86
อีฟีดรีน	4.50
ชูโดอีฟีดรีน	4.51
3,4-methylenedioxymethamphetamine	5.18



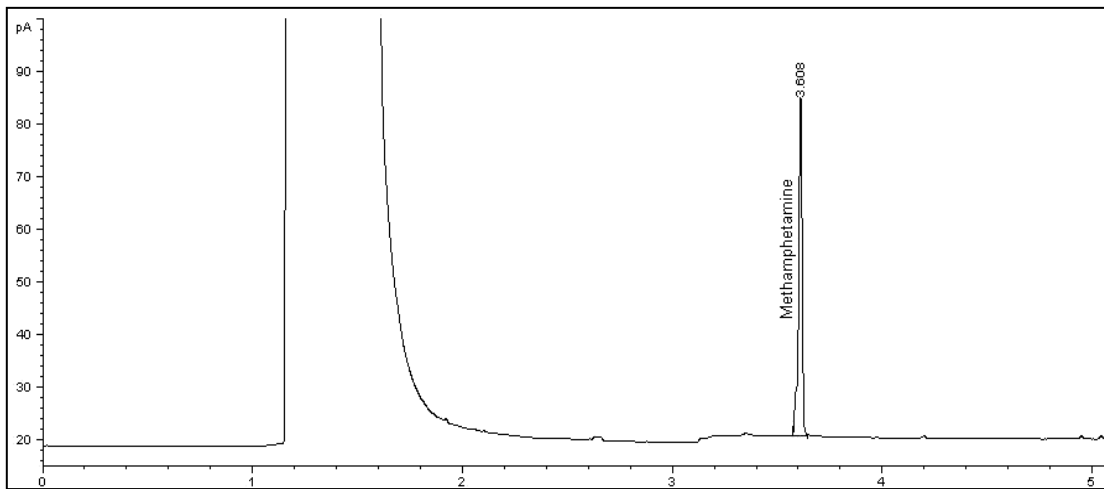
ภาพที่ 3.1 แสดงโครมาโทแกรมของ blank เมทานอล



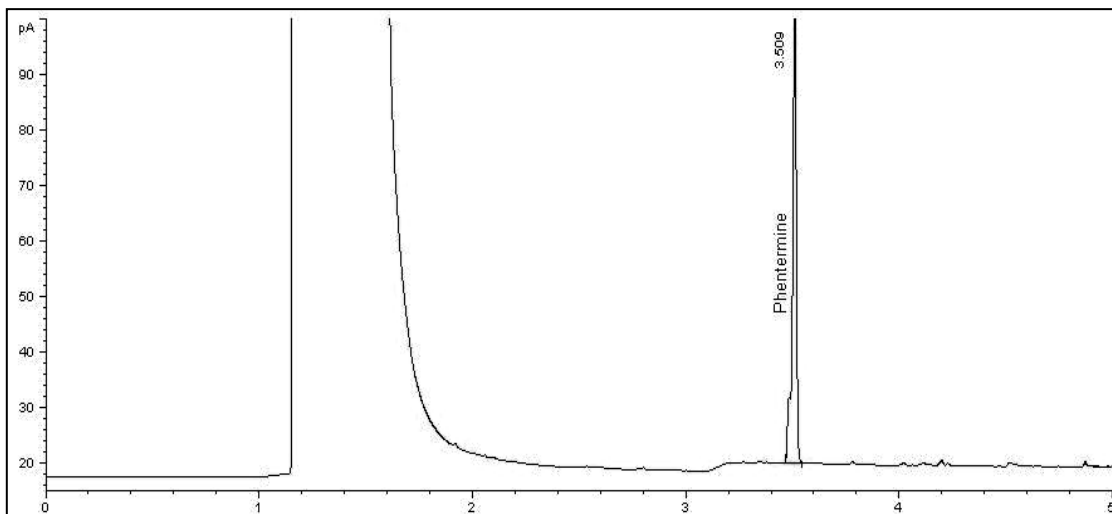
ภาพที่ 3.2 แสดงโครมาโทแกรมของ blank พลาสมา



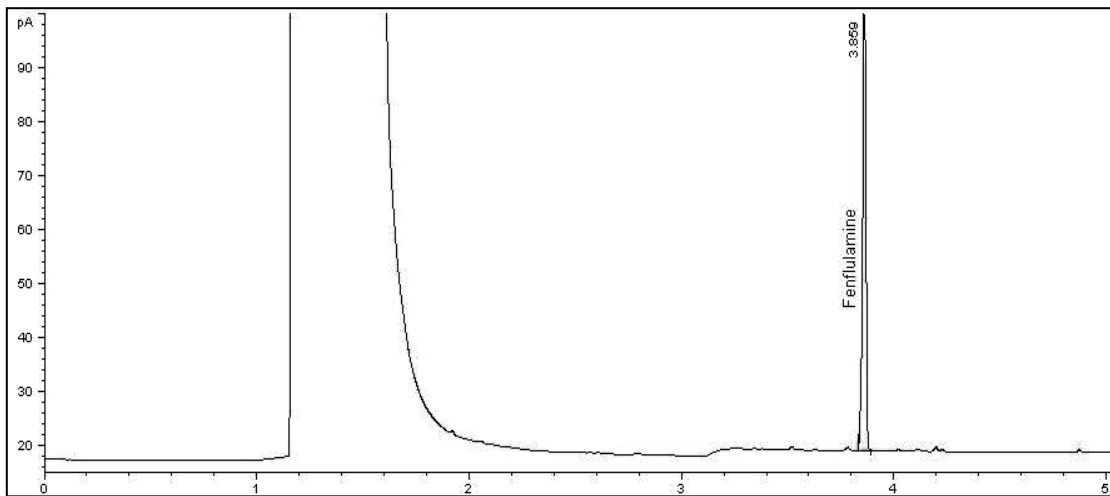
ภาพที่ 3.3 แสดงโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานแอมเฟตามีนในเมทานอล ที่ความเข้มข้น 20.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



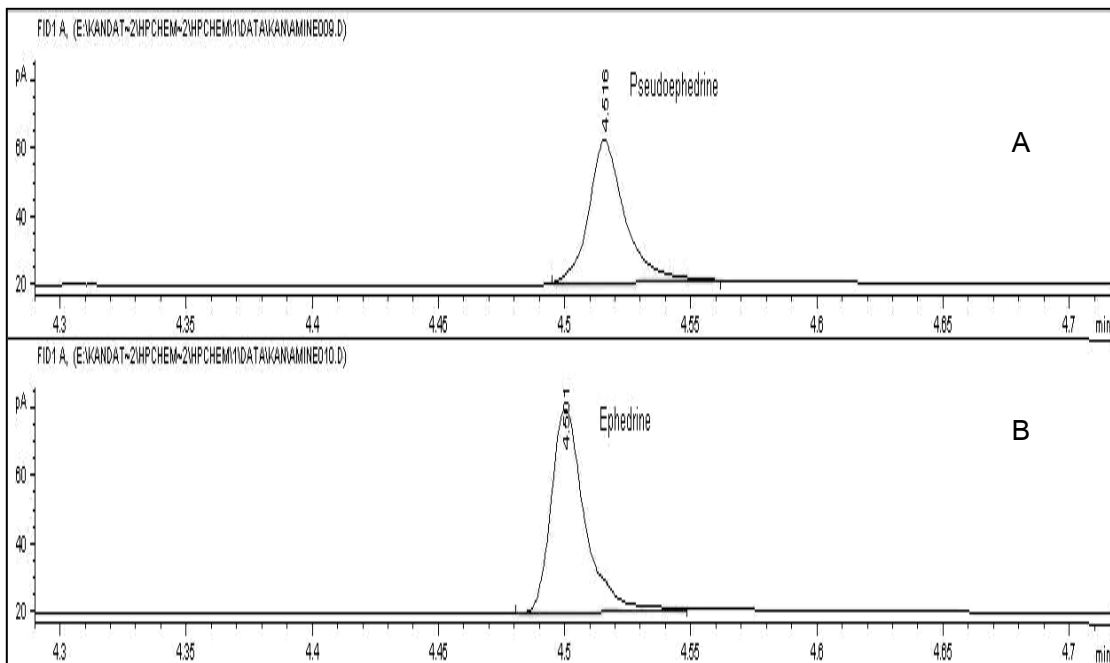
ภาพที่ 3.4 แสดงโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนในเมทานอล ที่ความเข้มข้น 20.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



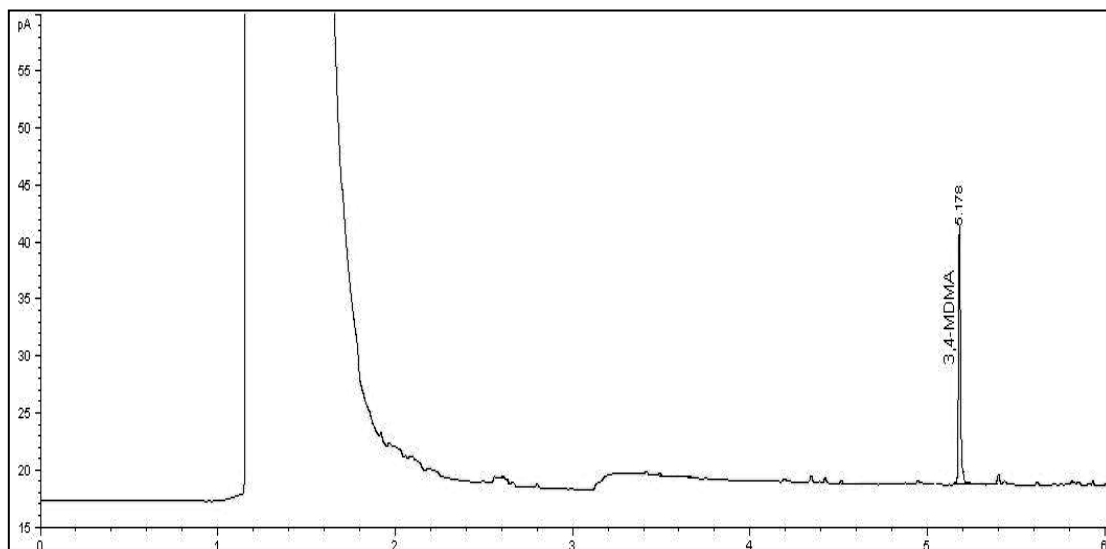
ภาพที่ 3.5 แสดงโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานเฟนเทอร์มินในเมทานอล ที่ความเข้มข้น 20.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 3.6 แสดงโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานเฟนฟลูรามีนในเมทานอล ที่ความเข้มข้น 20.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

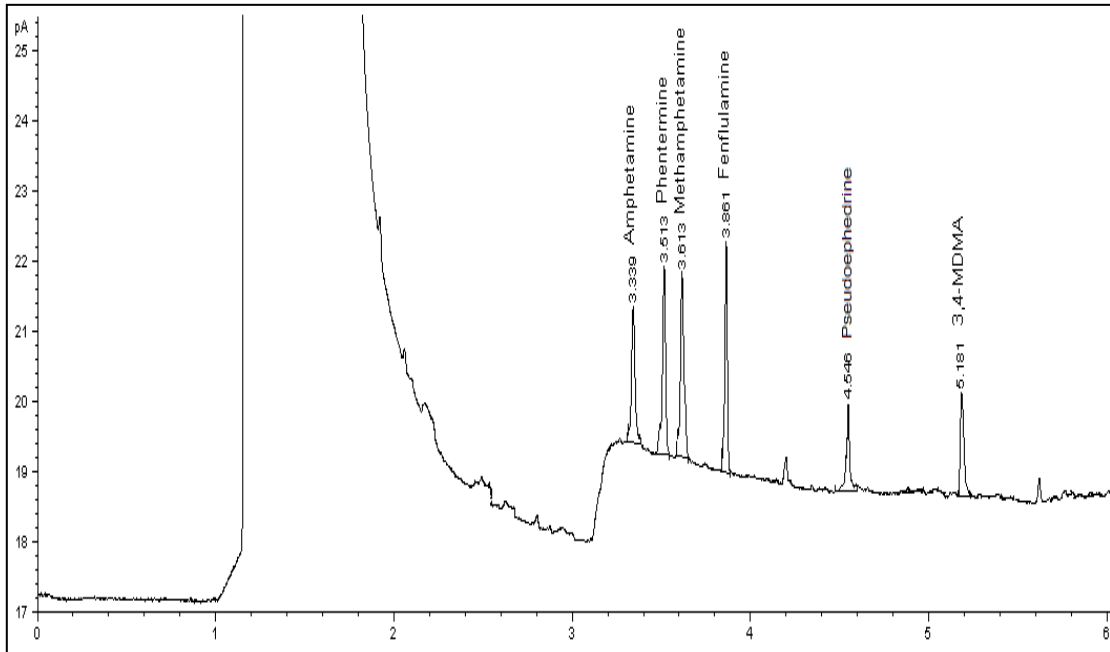


ภาพที่ 3.7 แสดงโครมาโทแกรมแบบซ้อนทับ (overlay) ของสารมาตรฐาน; (A) ซูโดอีฟีดรีน และ (B) อีฟีดรีนในเมทานอลที่ความเข้มข้น 20.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 3.8 แสดงโครมาโทแกรมของสารมาตรฐาน 3,4-methylenedioxyamphetamine ในเมทานอลที่ความเข้มข้น 20.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

จากภาพที่ 3.3 - 3.8 แสดงพีคของสารชนิดต่างๆ ได้แก่ แอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน เฟนเทอร์มิน เฟนฟลูรามีน ซูโดอีเฟดรีน อีเฟดรีน และ 3,4-methylenedioxyamphetamine ให้พีคที่เวลาต่างกัน แสดงถึงความจำเพาะของวิธีวิเคราะห์ในการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีน ซึ่งเป็นสารที่ต้องการได้อย่างถูกต้อง โดยไม่มีผลการรบกวนจากสารอื่น เมื่อทำการตรวจวัดสารพร้อมกันจะแสดงพีคแยกออกจากกันอย่างชัดเจน ยกเว้นซูโดอีเฟดรีนและอีเฟดรีน พีคที่ได้แสดงดังภาพที่ 3.9



ภาพที่ 3.9 แสดงโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานผสมในเมทานอล ที่ความเข้มข้น 1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

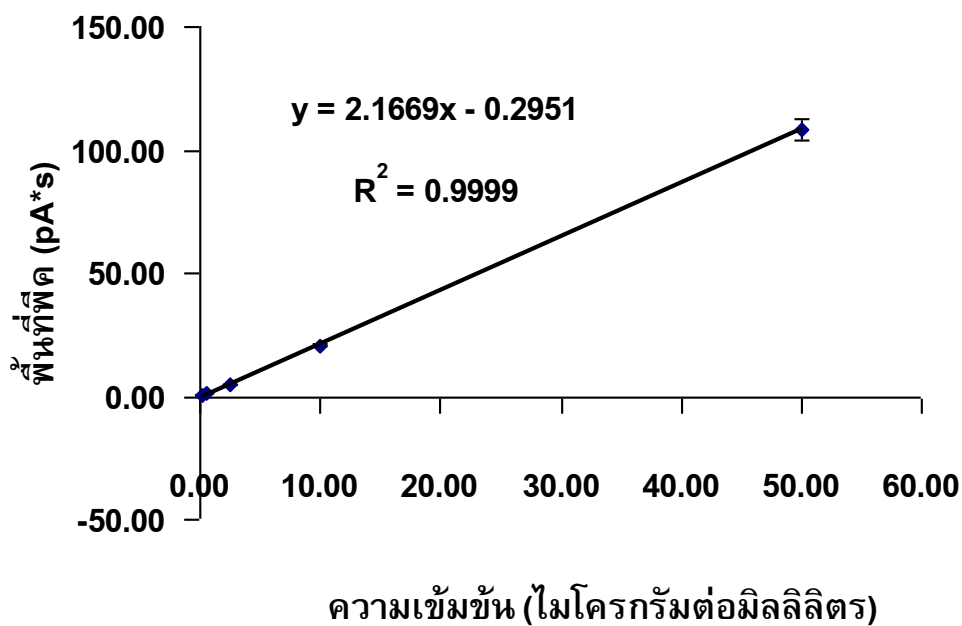
ผลการศึกษาความจำเพาะเจาะจงและความสามารถในการเลือกวัดเฉพาะเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีน ซึ่งเป็นสารที่ต้องการ จากภาพที่ 3.1 - 3.2 แสดงให้เห็นว่าพีคของ blank เมทานอลและพลาสมา ไม่มีพีครบกวนต่อการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีน และจากภาพ 3.9 วิธีการวิเคราะห์สามารถแยกเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนออกจากสารอื่นได้อย่างชัดเจน รวมทั้งสามารถตรวจวัดสารได้หลายชนิด โดยไม่มีผลการรบกวนต่อกัน ยกเว้นซูโดอีฟีดรีนและอีฟีดรีน ที่พีคไม่สามารถแยกออกจากกันได้ชัดเจน แต่พีคของซูโดอีฟีดรีนและอีฟีดรีนไม่เป็นพีครบกวนในการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีน ดังนั้นวิธีการวิเคราะห์นี้ จึงมีความเหมาะสมในการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีน

3.3 ศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation)

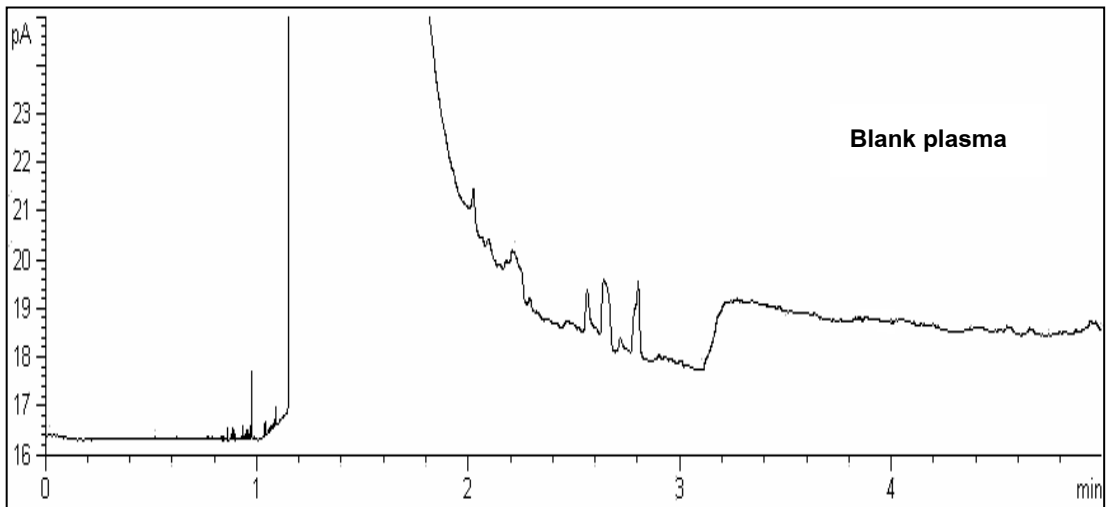
3.3.1 ศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีน

3.3.1.1 Linearity และ calibration curve ของเมทแอมเฟตามีนในพลาสมา

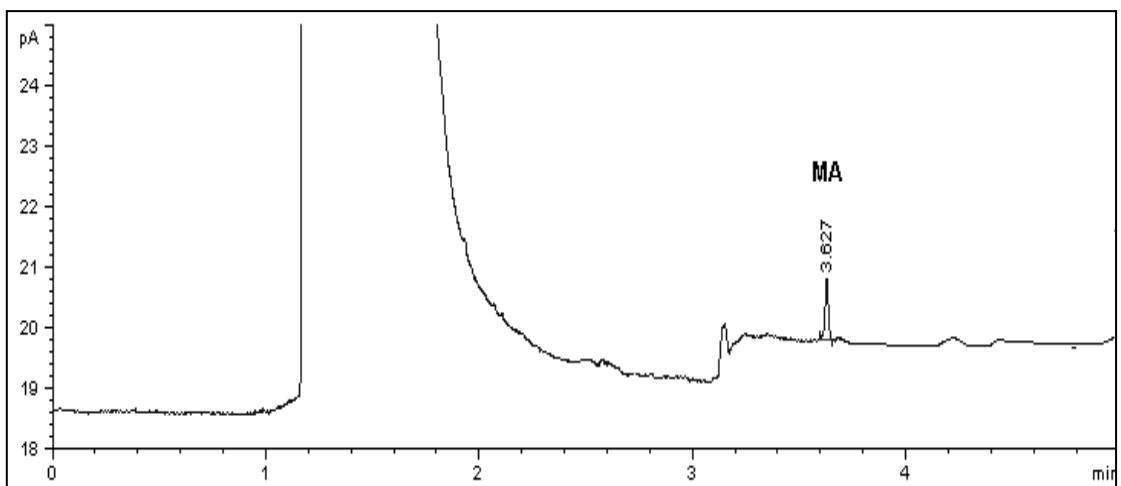
ทำการสร้างกราฟมาตรฐานของเมทแอมเฟตามีนในพลาสมาที่ความเข้มข้น 0.10, 0.50, 2.50, 10.00 และ 50.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียมความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ จากช่วงความเป็นเส้นตรงได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9999 ดังแสดงในภาพที่ 3.10 และลักษณะโครมาโทแกรมแสดงในภาพที่ 3.11 - 3.13



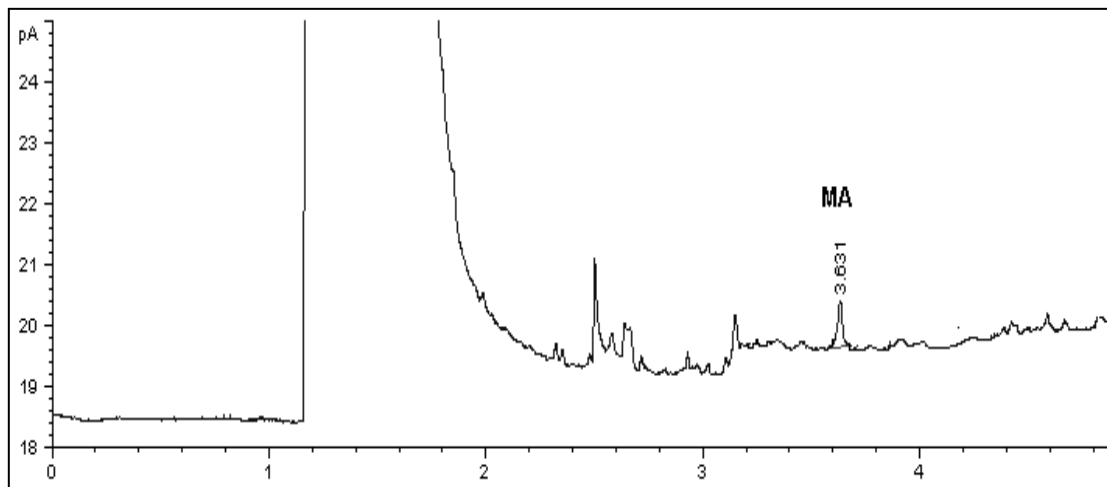
ภาพที่ 3.10 แสดงช่วงความเป็นเส้นตรงของเมทแอมเฟตามีนในพลาสมา



ภาพที่ 3.11 แสดงโครมาโทแกรมของ blank พลาสมาเมทแอมเฟตามีน



ภาพที่ 3.12 แสดงโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนในเมทานอล ที่ความเข้มข้น 0.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 3.13 แสดงโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนในพลาสมา ที่ความเข้มข้น 0.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3.3.1.2 ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (limit of detection: LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการหาปริมาณ (limit of quantification: LOQ) ของเมทแอมเฟตามีนในพลาสมา

จากการสร้างกราฟมาตรฐานโดยเปรียบเทียบกับพื้นที่พีคของเมทแอมเฟตามีนในพลาสมาในช่วงความเข้มข้น 0.10, 0.50, 2.50, 10.00 และ 50.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียมความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ จากช่วงความเป็นเส้นตรงให้สมการ $y = 2.1669x - 0.2951$ ความชันของกราฟมีค่าเท่ากับ 2.1669 นำไปคำนวณหา LOD และ LOQ โดยใช้ค่าเฉลี่ยของ blank พลาสมา 10 ซ้ำ ดังแสดงในตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 แสดงค่าเฉลี่ยพื้นที่พีคและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของเมทแอมเฟตามีนใน blank พลาสมา

Blank plasma	Mean	S.D.
MA	0.0910	0.0088

ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีน คำนวณได้จาก

$$\text{สูตร} \quad C_L = \frac{kS_B}{m}$$

$$\text{แทนค่า} \quad C_L = \frac{3 \times 0.0088}{2.1669}$$

$$C_L = 0.0123 \text{ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร}$$

ขีดจำกัดต่ำสุดของการหาปริมาณเมทแอมเฟตามีน คำนวณได้จาก

$$\text{สูตร} \quad C_L = \frac{kS_B}{m}$$

$$\text{แทนค่า} \quad C_L = \frac{10 \times 0.0088}{2.1669}$$

$$C_L = 0.0409 \text{ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร}$$

ดังนั้น ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดของการหาปริมาณของเมทแอมเฟตามีนมีค่าเท่ากับ 0.0123 และ 0.0409 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

3.3.1.3 ร้อยละการคืนกลับ (%recovery) ของเมทแอมเฟตามีนในพลาสมา

เมื่อคำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายเมทแอมเฟตามีนในพลาสมาที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างที่ความเข้มข้น 0.10, 0.50, 2.50, 10.00 และ 50.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียมความเข้มข้นละ 5 ชั่วโมง ทำการเปรียบเทียบกับสารละลายเมทแอมเฟตามีนที่ไม่ผ่านการเตรียมตัวอย่าง ให้ผลแสดงดังตารางที่ 3.5

ตารางที่ 3.5 แสดงค่าร้อยละการคืนกลับของเมทแอมเฟตามีน

ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$)	พื้นที่พีค MA ในเมทานอล (Mean \pm S.D.)	พื้นที่พีค MA ในพลาสมา (Mean \pm S.D.)	%Recovery	%RSD
0.10	0.32 \pm 0.03	0.35 \pm 0.03	108.75	8.95
0.50	1.20 \pm 0.00	0.99 \pm 0.02	82.33	1.66
2.50	6.20 \pm 0.25	5.00 \pm 0.07	80.65	1.68
10.00	22.34 \pm 0.11	20.74 \pm 0.57	92.84	2.74
50.00	126.58 \pm 0.84	108.18 \pm 4.36	85.48	4.03

จากตารางการเตรียมตัวอย่างเมทแอมเฟตามีนในพลาสมาให้การคืนกลับของเมทแอมเฟตามีนแสดงอยู่ในช่วง 80.65 - 108.95% ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ในช่วงของเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ 80 - 120 % (Taverniers *et al.*, 2004) ให้ร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) อยู่ในช่วง 1.66 - 8.95%

3.3.1.4 ความเที่ยง (precision) ของเมทแอมเฟตามีนในพลาสมา

จากการคำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายเมทแอมเฟตามีนในพลาสมาที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างที่ความเข้มข้น คือ 0.10, 0.50, 2.50, 10.00 และ 50.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียมความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ เปรียบเทียบการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (intraday, n=5) และระหว่างวัน (interday, n=10) ให้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.6

ตารางที่ 3.6 แสดงค่าความเที่ยงของการวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนในพลาสมาภายในวันเดียวกันและระหว่างวัน

ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$)	%RSD	
	Intraday (n=5)	Interday (n=10)
0.10	8.95	8.68
0.50	1.66	5.23
2.50	1.68	3.91
10.00	2.74	4.49
50.00	4.03	5.22

จากตารางการศึกษาความเที่ยงของการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน และระหว่างวัน แสดงผลเป็นค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) มีค่าอยู่ในช่วง 1.66 - 8.95% และ 3.91 - 8.68% ตามลำดับและเป็นค่าที่ยอมรับได้ ซึ่งค่าที่ยอมรับได้ของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ คือ ไม่เกิน 15% (Taverniers *et al.*, 2004)

3.3.1.5 เสถียรภาพ (stability) ของเมทแอมเฟตามีนในพลาสติก

เสถียรภาพของเมทแอมเฟตามีน แสดงผลจากการคำนวณหาร้อยละของความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในพลาสติกผ่านการเตรียมตัวอย่างจากเงื่อนไขของเสถียรภาพแต่ละแบบ ที่ความเข้มข้นต่ำและสูงคือ 0.50 และ 1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการเปรียบเทียบกับร้อยละของความเข้มข้นที่เตรียมขึ้นใหม่ การทดลองให้ผลของเสถียรภาพของเมทแอมเฟตามีนดังต่อไปนี้

1) Freeze-thaw stability ทำการเตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์ตัวอย่างเมทแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 0.50 และ 1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียมความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ หลังจากเก็บตัวอย่างยาแบบ freeze-thaw ครบ 3 รอบ เปรียบเทียบความเข้มข้นในรูปค่าร้อยละของความเข้มข้นของตัวอย่างที่ตรวจวัดได้หลังจากเก็บตัวอย่างครบ 3 รอบกับความเข้มข้นของตัวอย่างที่เตรียมขึ้นใหม่ (0 รอบ) ให้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.7

ตารางที่ 3.7 แสดงร้อยละความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ

Freeze-thaw stability

Stability	ความเข้มข้นของ MA ($\mu\text{g/mL}$)	
	0.50 (Mean \pm S.D.)	1.00 (Mean \pm S.D.)
Freeze-thaw (รอบ)		
0	100	100
3	102.56 \pm 3.00	98.59 \pm 4.98

จากผลการทดลองเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยเปรียบเทียบร้อยละความเข้มข้นของตัวอย่างที่ตรวจวัดได้หลังจากเก็บตัวอย่างครบ 3 รอบกับร้อยละความเข้มข้นของตัวอย่างที่เตรียมขึ้นใหม่ พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แสดงว่าเมทแอมเฟตามีนในพลาสติก ไม่มีการสลายตัวหลังจากเก็บตัวอย่างแบบ Freeze-thaw stability ครบ 3 รอบ

2) Long-term stability ทำการเตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนในพลาสมาที่ความเข้มข้น 0.50 และ 1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียมความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ หลังจากเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา คือ -20°C โดยเก็บตัวอย่างที่ระยะเวลา 15 วัน และ 30 วัน ซึ่งเป็นช่วงเวลาในการเก็บรักษาตัวอย่างจริง เปรียบเทียบความเข้มข้นในรูปค่าร้อยละของความเข้มข้นของตัวอย่างที่ตรวจวัดได้หลังจากเก็บตัวอย่างตามระยะเวลาที่กำหนดไว้กับความเข้มข้นของตัวอย่างที่เตรียมขึ้นใหม่ ให้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.8

ตารางที่ 3.8 แสดงร้อยละความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ

Long-term stability

Stability	ความเข้มข้นของ MA ($\mu\text{g/mL}$)	
	0.50 (Mean \pm S.D.)	1.00 (Mean \pm S.D.)
Long-term (วัน)		
0	100	100
15	97.36 \pm 2.02	98.41 \pm 4.35
30	97.35 \pm 1.81	100.00 \pm 0.00

จากผลการทดลองเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยเปรียบเทียบร้อยละความเข้มข้นของตัวอย่างที่ตรวจวัดได้หลังจากเก็บตัวอย่างตามระยะเวลาที่กำหนดไว้กับร้อยละความเข้มข้นของตัวอย่างที่เตรียมขึ้นใหม่ พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แสดงว่าเมทแอมเฟตามีนในพลาสมา ไม่มีการสลายตัวหลังจากเก็บตัวอย่างแบบ Long-term stability ครบ 15 วัน และ 30 วัน

3) Short-term stability ทำการเตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนในพลาสมาที่ความเข้มข้น 0.50 และ 1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียมความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ หลังจากเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา คือ -20°C แล้วนำตัวอย่างมาละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 และ 6 ชั่วโมง เปรียบเทียบความเข้มข้นในรูปค่าร้อยละของความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้หลังจากละลายตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องตามระยะเวลาที่กำหนดกับความเข้มข้นของตัวอย่างที่เตรียมขึ้นใหม่ ให้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.9

ตารางที่ 3.9 แสดงร้อยละความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ

Short-term stability

Stability	ความเข้มข้นของ MA ($\mu\text{g/mL}$)	
	0.50 (Mean \pm S.D.)	1.00 (Mean \pm S.D.)
Short-term (ชม.)		
0	100	100
3	102.24 \pm 4.86	102.82 \pm 3.86
6	101.60 \pm 2.43	100.00 \pm 3.15

จากผลการทดลองเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยเปรียบเทียบร้อยละความเข้มข้นของตัวอย่างที่ตรวจวัดได้หลังจากเก็บตัวอย่างตามระยะเวลาที่กำหนดไว้กับร้อยละความเข้มข้นของตัวอย่างที่เตรียมขึ้นใหม่ พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แสดงว่าเมทแอมเฟตามีนในพลาสติก ไม่มีการสลายตัวหลังจากเก็บตัวอย่างแบบ Short-term stability ครบ 3 ชั่วโมง และ 6 ชั่วโมง

4) Post-preparative stability ทำการเตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนในพลาสติกที่ความเข้มข้น 0.50 และ 1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียมความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ หลังจากนำตัวอย่างยาที่ผ่านกระบวนการเตรียมตัวอย่างหรือสกัดสาร (extracted sample) ตั้งไว้ใน autosampler (autosampler stability) หรือตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (bench-top stability) เป็นระยะเวลา 5 และ 10 ชั่วโมง ซึ่งเวลาดังกล่าวเป็นเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างในแต่ละ batch size ที่เตรียมสำหรับวิเคราะห์ในแต่ละครั้ง เปรียบเทียบความเข้มข้นในรูปค่าร้อยละของความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้หลังจากนำตัวอย่างที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างหรือสกัดสารแล้วตั้งไว้ใน autosampler หรือที่อุณหภูมิห้องตามระยะเวลาที่กำหนดกับความเข้มข้นของตัวอย่างที่เตรียมขึ้นใหม่และทำการวิเคราะห์ทันที ให้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.10

ตารางที่ 3.10 แสดงร้อยละความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ

Post-preparative stability

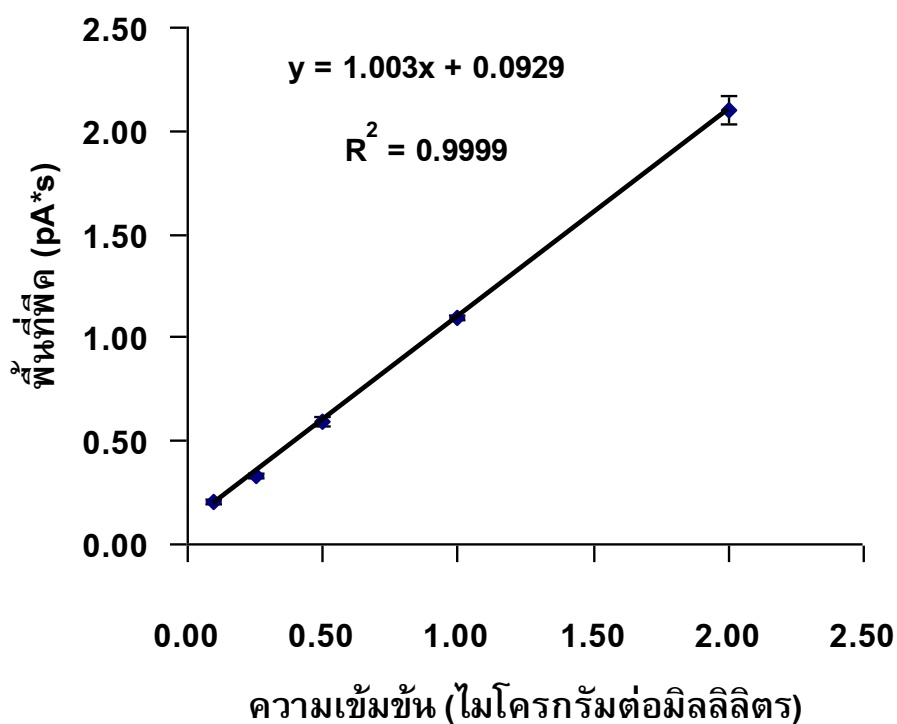
Stability	ความเข้มข้นของ MA ($\mu\text{g/mL}$)	
	0.50 (Mean \pm S.D.)	1.00 (Mean \pm S.D.)
Post-preparative (ชม.)		
0	100	100
5	102.88 \pm 1.34	102.82 \pm 3.86
10	102.56 \pm 3.76	98.59 \pm 0.00

จากผลการทดลองเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยเปรียบเทียบร้อยละความเข้มข้นของตัวอย่างที่ตรวจวัดได้หลังจากนำตัวอย่างที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างแล้วตั้งไว้ใน autosampler หรือที่อุณหภูมิห้องตามระยะเวลาที่กำหนดกับร้อยละความเข้มข้นของตัวอย่างที่เตรียมขึ้นใหม่ พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) แสดงว่าเมทแอมเฟตามีนในพลาสมา ไม่มีการสลายตัวหลังจากเก็บตัวอย่างแบบ Post-preparative stability ครบ 5 ชั่วโมง และ 10 ชั่วโมง

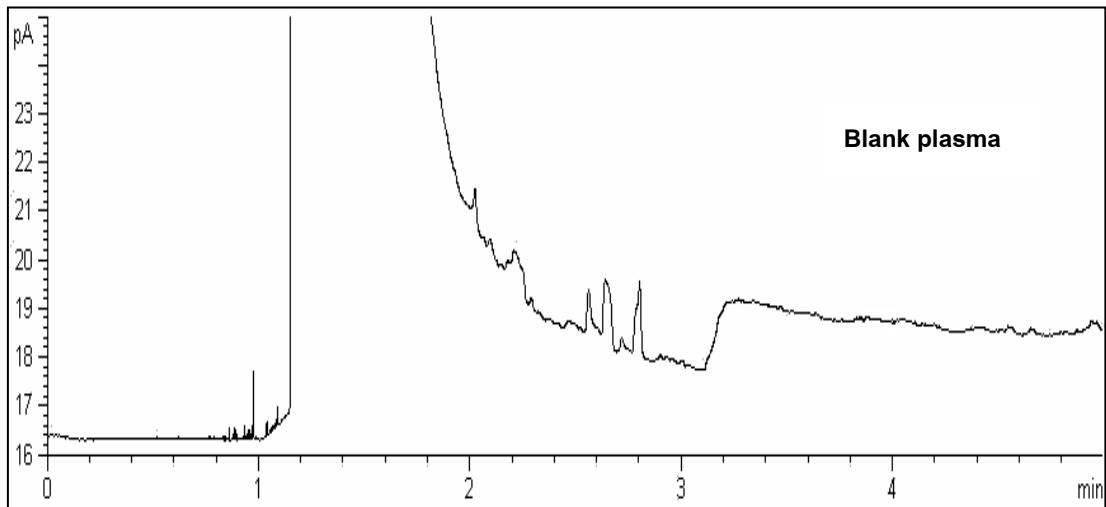
3.3.2 ศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์แอมเฟตามีน

3.3.2.1 Linearity และ calibration curve ของแอมเฟตามีนในพลาสติก

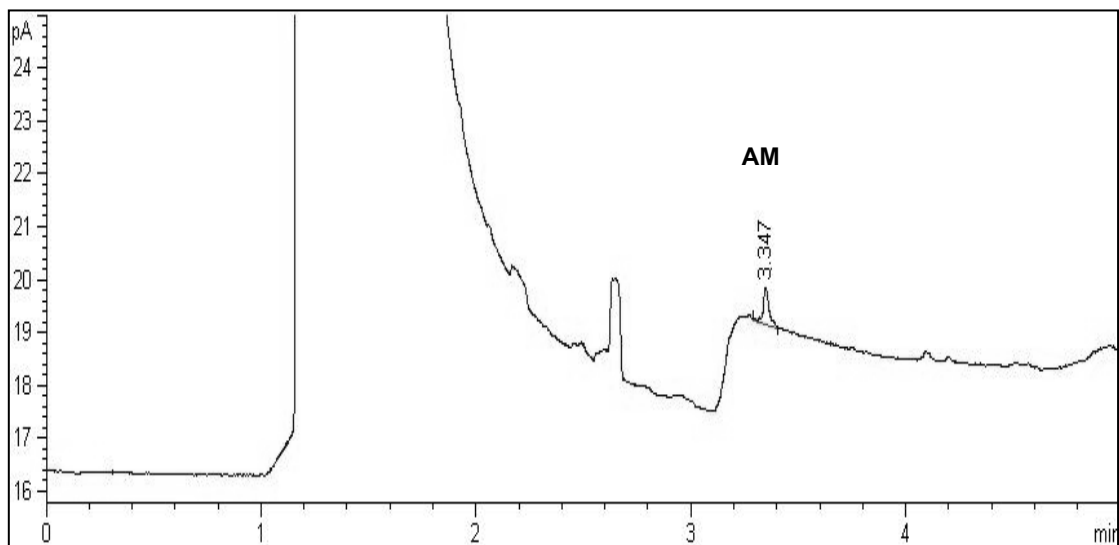
ทำการสร้างกราฟมาตรฐานของแอมเฟตามีนในพลาสติกที่ความเข้มข้น 0.10, 0.25, 0.50, 1.00 และ 2.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียมความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ จากช่วงความเป็นเส้นตรงได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9999 แสดงในภาพที่ 3.14 และลักษณะโครมาโทแกรมแสดงในภาพที่ 3.15 - 3.17



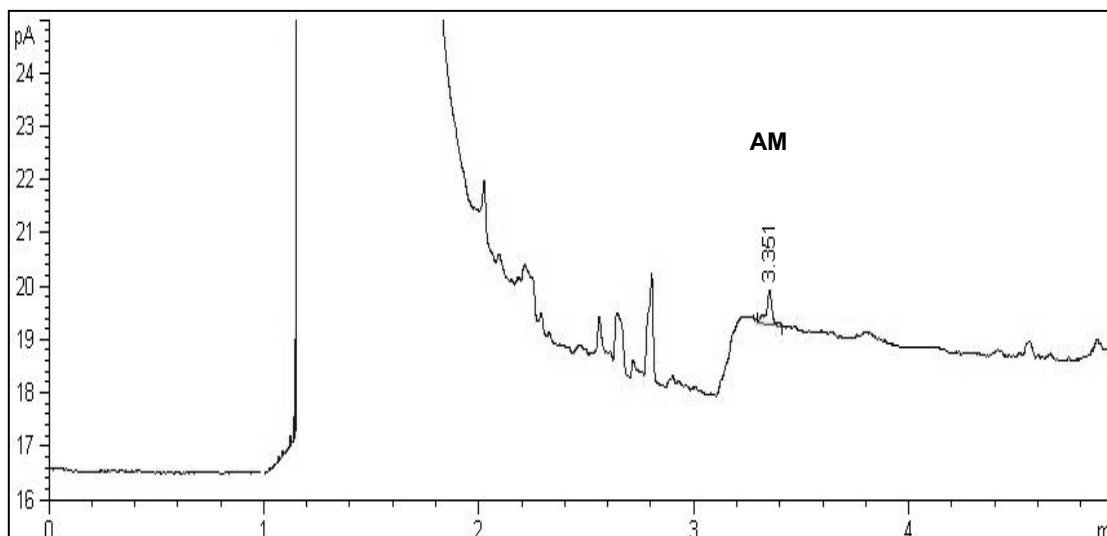
ภาพที่ 3.14 แสดงช่วงความเป็นเส้นตรงของแอมเฟตามีนในพลาสติก



ภาพที่ 3.15 แสดงโครมาโทแกรมของ blank พลาสมาแอมเฟตามีน



ภาพที่ 3.16 แสดงโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานแอมเฟตามีนในเมทานอล ที่ความเข้มข้น 1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 3.17 แสดงโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานแอมเฟตามีนในพลาสมา ที่ความเข้มข้น 1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3.3.2.2 ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (limit of detection: LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการหาปริมาณ (limit of quantification: LOQ) ของแอมเฟตามีนในพลาสมา

จากการสร้างกราฟมาตรฐานโดยเปรียบเทียบกับพื้นที่พีคของแอมเฟตามีนในพลาสมาที่ความเข้มข้น 0.10, 0.25, 0.50, 1.00 และ 2.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียมความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ จากช่วงความเป็นเส้นตรงให้สมการ $y = 1.003x - 0.0929$ ความชันของกราฟมีค่าเท่ากับ 1.003 นำไปคำนวณหา LOD และ LOQ โดยค่าเฉลี่ยของ blank พลาสมา 10 ซ้ำ แสดงในตารางที่ 3.11

ตารางที่ 3.11 แสดงค่าเฉลี่ยพื้นที่พีคและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของแอมเฟตามีนใน blank พลาสมา

Blank plasma	Mean	S.D.
AM	0.1007	0.0088

ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดแอมเฟตามีน คำนวณได้จาก

$$\text{สูตร} \quad C_L = \frac{kS_B}{m}$$

$$\text{แทนค่า} \quad C_L = \frac{3 \times 0.0088}{1.003}$$

$$C_L = 0.0264 \text{ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร}$$

ขีดจำกัดต่ำสุดของการหาปริมาณแอมเฟตามีน คำนวณได้จาก

$$\text{สูตร} \quad C_L = \frac{kS_B}{m}$$

$$\text{แทนค่า} \quad C_L = \frac{10 \times 0.0088}{1.003}$$

$$C_L = 0.0882 \text{ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร}$$

ดังนั้น ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดของการหาปริมาณของแอมเฟตามีนมีค่าเท่ากับ 0.0264 และ 0.0882 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

3.3.2.3 ร้อยละการคืนกลับ (%recovery) ของแอมเฟตามีนในพลาสติก

เมื่อคำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายแอมเฟตามีนในพลาสติกที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างที่ความเข้มข้น 0.10, 0.25, 0.50, 1.00 และ 2.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียมความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ ทำการเปรียบเทียบกับสารละลายแอมเฟตามีนที่ไม่ผ่านการเตรียมตัวอย่าง ให้ผลแสดงดังตารางที่ 3.12

ตารางที่ 3.12 แสดงค่าร้อยละการคืนกลับของแอมเฟตามีน

ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$)	พื้นที่พีค AM ในเมทานอล (Mean \pm S.D.)	พื้นที่พีค AM ในพลาสมา (Mean \pm S.D.)	%Recovery	%RSD
0.10	0.22 \pm 0.02	0.21 \pm 0.01	92.79	4.34
0.25	0.34 \pm 0.22	0.33 \pm 0.01	97.63	4.28
0.50	0.63 \pm 0.03	0.59 \pm 0.02	94.28	3.28
1.00	1.12 \pm 0.08	1.10 \pm 0.01	97.86	0.82
2.00	2.02 \pm 0.04	2.10 \pm 0.07	103.96	3.37

จากตารางการสกัดแอมเฟตามีนในพลาสมาให้การคืนกลับของแอมเฟตามีนแสดงอยู่ในช่วง 92.79 - 103.96% เป็นค่าที่อยู่ในช่วงของเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ 80 - 120 % (Taverniers *et al.*, 2004) ให้ร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) อยู่ในช่วง 0.82 - 4.34%

3.3.2.4 ความเที่ยง (precision) ของแอมเฟตามีนในพลาสมา

จากการคำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายแอมเฟตามีนในพลาสมาที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างที่ความเข้มข้น 0.10, 0.25, 0.50, 1.00 และ 2.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียมความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ เปรียบเทียบการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (intraday, n=5) และระหว่างวัน (interday, n=12) ให้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.13

ตารางที่ 3.13 แสดงค่าความเที่ยงของการวิเคราะห์แอมเฟตามีนในพลาสมาภายในวันเดียวกัน และระหว่างวัน

ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$)	%RSD	
	Intraday (n=5)	Interday (n=12)
0.10	4.34	8.11
0.25	4.28	6.07
0.50	3.28	4.86
1.00	0.82	4.61
2.00	3.37	3.44

จากตารางการศึกษาความเที่ยงของการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน และระหว่างวัน แสดงผลเป็นค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) มีค่าอยู่ในช่วง 0.82 - 4.34% และ 3.44 - 8.11% ตามลำดับและเป็นค่าที่ยอมรับได้ ซึ่งค่าที่ยอมรับได้ของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ คือ ไม่เกิน 15% (Taverniers *et al.*, 2004)

3.3.2.5 เสถียรภาพ (stability) ของแอมเฟตามีนในพลาสมา

เสถียรภาพของแอมเฟตามีน แสดงผลจากการคำนวณหาร้อยละของความเข้มข้นของแอมเฟตามีนในพลาสมาที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างจากเงื่อนไขของเสถียรภาพแต่ละแบบ ที่ความเข้มข้นต่ำและสูงคือ 0.5 และ 1.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการเปรียบเทียบกับร้อยละของความเข้มข้นที่เตรียมขึ้นใหม่ การทดลองให้ผลของเสถียรภาพของแอมเฟตามีนดังต่อไปนี้

1) Freeze-thaw stability ทำการเตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์ตัวอย่างแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 0.50 และ 1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียมความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ หลังจากเก็บตัวอย่างยาแบบ freeze-thaw ครบ 3 รอบ เปรียบเทียบความเข้มข้นในรูปค่าร้อยละของความเข้มข้นของตัวอย่างที่ตรวจวัดได้หลังจากเก็บตัวอย่างครบ 3 รอบกับความเข้มข้นของตัวอย่างที่เตรียมขึ้นใหม่ (0 รอบ) ให้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.14

ตารางที่ 3.14 แสดงร้อยละความเข้มข้นของแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ

Freeze-thaw stability

Stability	ความเข้มข้นของ AM ($\mu\text{g/mL}$)	
	0.50 (Mean \pm S.D.)	1.00 (Mean \pm S.D.)
Freeze-thaw (รอบ)		
0	100	100
3	103.15 \pm 4.54	100.00 \pm 3.15

จากผลการทดลองเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยเปรียบเทียบร้อยละความเข้มข้นของตัวอย่างที่ตรวจวัดได้หลังจากเก็บตัวอย่างครบ 3 รอบกับร้อยละความเข้มข้นของตัวอย่างที่เตรียมขึ้นใหม่ พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แสดงว่าแอมเฟตามีนในพลาสมา ไม่มีการสลายตัวหลังจากเก็บตัวอย่างแบบ Freeze-thaw stability ครบ 3 รอบ

2) Long-term stability ทำการเตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์แอมเฟตามีนในพลาสติกที่มีความเข้มข้น 0.50 และ 1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียมความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ หลังจากเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา คือ -20°C โดยเก็บตัวอย่างที่ระยะเวลา 15 วัน และ 30 วัน ซึ่งเป็นช่วงเวลาในการเก็บรักษาตัวอย่างจริง เปรียบเทียบความเข้มข้นในรูปค่าร้อยละของความเข้มข้นของตัวอย่างที่ตรวจวัดได้หลังจากเก็บตัวอย่างตามระยะเวลาที่กำหนดไว้กับความเข้มข้นของตัวอย่างที่เตรียมขึ้นใหม่ ให้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.15

ตารางที่ 3.15 แสดงร้อยละความเข้มข้นของแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ

Long-term stability

Stability	ความเข้มข้นของ AM (µg/mL)	
	0.50 (Mean ± S.D.)	1.00 (Mean ± S.D.)
Long-term (วัน)		
0	100	100
15	98.41 ± 1.59	100.00 ± 5.89
30	100.33 ± 3.13	98.55 ± 3.97

จากผลการทดลองเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยเปรียบเทียบร้อยละความเข้มข้นของตัวอย่างที่ตรวจวัดได้หลังจากเก็บตัวอย่างตามระยะเวลาที่กำหนดไว้กับร้อยละความเข้มข้นของตัวอย่างที่เตรียมขึ้นใหม่ พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แสดงว่าเมทแอมเฟตามีนในพลาสติก ไม่มีการสลายตัวหลังจากเก็บตัวอย่างแบบ Long-term stability ครบ 15 วัน และ 30 วัน

3) Short-term stability ทำการเตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์แอมเฟตามีนในพลาสติกที่มีความเข้มข้น 0.50 และ 1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียมความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ หลังจากเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา คือ -20°C แล้วนำตัวอย่างมาละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 และ 6 ชั่วโมง เปรียบเทียบความเข้มข้นในรูปค่าร้อยละของความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้หลังจากละลายตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องตามระยะเวลาที่กำหนดกับความเข้มข้นของตัวอย่างที่เตรียมขึ้นใหม่ ให้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.16

ตารางที่ 3.16 แสดงร้อยละความเข้มข้นของแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ

Short-term stability

Stability	ความเข้มข้นของ AM ($\mu\text{g/mL}$)	
	0.50 (Mean \pm S.D.)	1.00 (Mean \pm S.D.)
Short-term (ชม.)		
0	100	100
3	102.52 \pm 2.95	102.82 \pm 3.86
6	101.58 \pm 3.96	102.82 \pm 3.86

จากผลการทดลองเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยเปรียบเทียบร้อยละความเข้มข้นของตัวอย่างที่ตรวจวัดได้หลังจากละลายตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องตามระยะเวลาที่กำหนดกับร้อยละความเข้มข้นของตัวอย่างที่เตรียมขึ้นใหม่ พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แสดงว่าเมทแอมเฟตามีนในพลาสมา ไม่มีการสลายตัวหลังจากเก็บตัวอย่างแบบ Short-term stability ครบ 3 ชั่วโมง และ 6 ชั่วโมง

4) Post-preparative stability ทำการเตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์แอมเฟตามีนในพลาสมาที่ความเข้มข้น 0.50 และ 1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียมความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ หลังจากนำตัวอย่างยาที่ผ่านกระบวนการเตรียมตัวอย่างหรือสกัดสาร (extracted sample) ตั้งไว้ใน autosampler (autosampler stability) หรือตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (bench-top stability) เป็นระยะเวลา 5 และ 10 ชั่วโมง ซึ่งเวลาดังกล่าวเป็นเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างในแต่ละ batch size ที่เตรียมสำหรับวิเคราะห์ในแต่ละครั้ง เปรียบเทียบความเข้มข้นในรูปค่าร้อยละของความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้หลังจากนำตัวอย่างที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างหรือสกัดสารแล้วตั้งไว้ใน autosampler หรือที่อุณหภูมิห้องตามระยะเวลาที่กำหนดกับความเข้มข้นของตัวอย่างที่เตรียมขึ้นใหม่และทำการวิเคราะห์ทันที ให้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.17

ตารางที่ 3.17 แสดงร้อยละความเข้มข้นของแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ

Post-preparative stability

Stability	ความเข้มข้นของ AM ($\mu\text{g/mL}$)	
	0.50 (Mean \pm S.D.)	1.00 (Mean \pm S.D.)
Post-preparative (ชม.)		
0	100	100
5	102.84 \pm 2.06	101.41 \pm 3.86
10	102.21 \pm 4.38	98.59 \pm 4.98

จากผลการทดลองเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยเปรียบเทียบร้อยละความเข้มข้นของตัวอย่างที่ตรวจวัดได้หลังจากนำตัวอย่างที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างแล้วตั้งไว้ใน autosampler หรือที่อุณหภูมิห้องตามระยะเวลาที่กำหนดกับร้อยละความเข้มข้นของตัวอย่างที่เตรียมขึ้นใหม่ พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) แสดงว่าเมทแอมเฟตามีนในพลาสมา ไม่มีการสลายตัวหลังจากเก็บตัวอย่างแบบ Post-preparative stability ครบ 5 ชั่วโมง และ 10 ชั่วโมง

3.4 การตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในพลาสมาคน (determination of methamphetamine and amphetamine in human plasma)

ศึกษาหาปริมาณเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในพลาสมาคน ในกรณีเก็บตัวอย่างจากผู้เสียชีวิตจำนวน 6 ราย โดยมีการสืบประวัติการใช้เมทแอมเฟตามีน สาเหตุการเสียชีวิตและทำการเก็บตัวอย่างพลาสมา โดยแพทย์นิติเวชศาสตร์ โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ ระหว่างเดือนธันวาคม พ.ศ. 2552 - กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2553 จากการสืบประวัติผู้เสียชีวิตทั้ง 6 ราย โดยแพทย์นิติเวชศาสตร์ พบว่า มีประวัติการเสพเมทแอมเฟตามีน

สำหรับตัวอย่างพลาสมาจะทำการวิเคราะห์หาปริมาณเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนทันทีหรือเก็บตัวอย่างเพื่อรอวิเคราะห์ไว้ที่อุณหภูมิ -20°C การตรวจวัดปริมาณเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนจากตัวอย่างพลาสมาผู้เสียชีวิตได้ผล ดังแสดงในตารางที่ 3.18

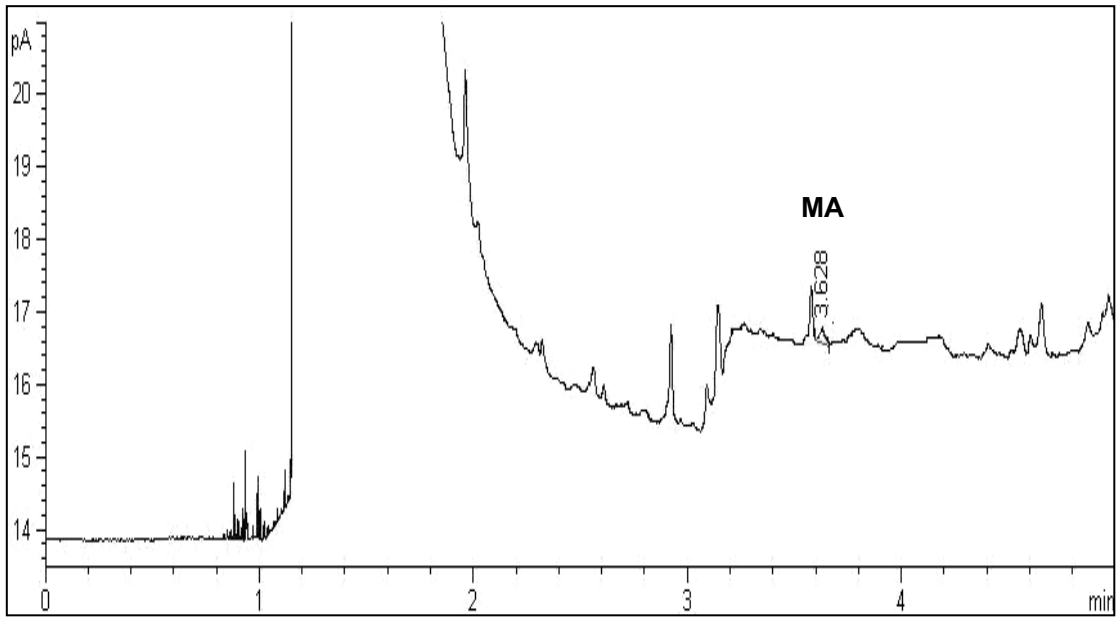
ตารางที่ 3.18 แสดงปริมาณเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในพลาสมาที่เก็บจากผู้เสียชีวิต

Case	TLC	ปริมาณเมทแอมเฟตามีน ($\mu\text{g/mL}$)	ปริมาณแอมเฟตามีน ($\mu\text{g/mL}$)
A1	negative	0.24	ND
A2	negative	0.68	0.26
A3	positive	1.31	0.24
A4	negative	0.60	0.32
A5	positive	1.00	0.31
A6	negative	0.87	0.23

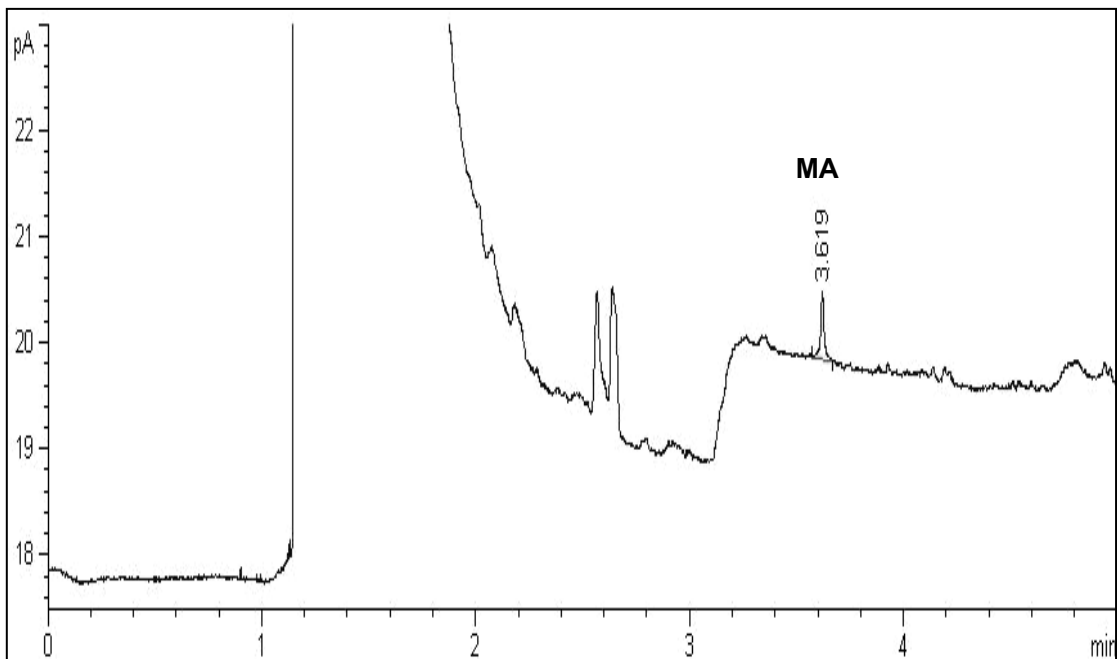
* ND = ไม่สามารถตรวจวัดได้ (Not Detectable)

positive = พบเมทแอมเฟตามีน, negative = ไม่พบเมทแอมเฟตามีน

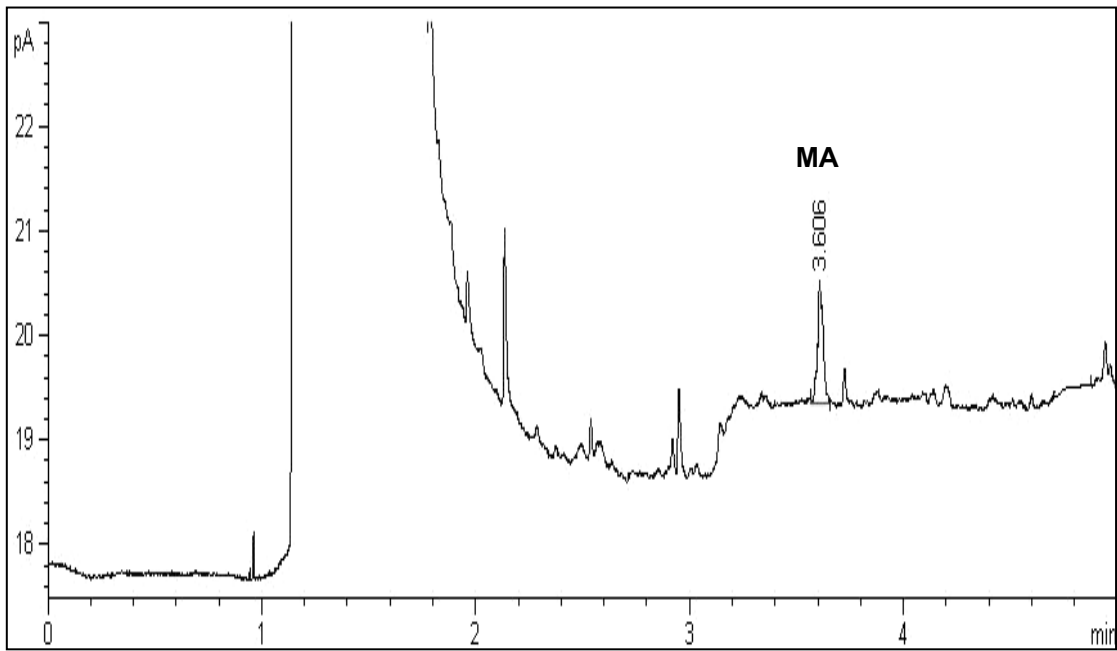
จากตารางที่ 3.18 ผลการตรวจเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในพลาสมาที่เก็บจากผู้เสียชีวิต ได้ทำการตรวจวัดทางด้านคุณภาพวิเคราะห์ (qualitative) ด้วยวิธี TLC โดยเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการพิษวิทยา หน่วยนิติเวชศาสตร์และพิษวิทยา โรงพยาบาลสงขลา นครินทร์ พบว่า ให้ผลเป็น positive 2 ราย คือ case A3 และ case A5 แสดงว่า ตรวจพบเมทแอมเฟตามีนในร่างกาย และให้ผลเป็น negative 4 ราย แสดงว่า ตรวจไม่พบเมทแอมเฟตามีนในร่างกาย เมื่อนำตัวอย่างมาทำการตรวจวัดทางด้านปริมาณวิเคราะห์ (quantitative) ด้วยวิธี GC-FID พบว่า ในพลาสมาผู้เสียชีวิตทั้ง 6 ราย ตรวจพบเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีน มีปริมาณอยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.24 - 1.31 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 0.23 - 0.32 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยที่ case A1 ตรวจไม่พบแอมเฟตามีนในพลาสมา ลักษณะพีคของ case A1 - A6 แสดงดังภาพที่ 3.18 - 3.23



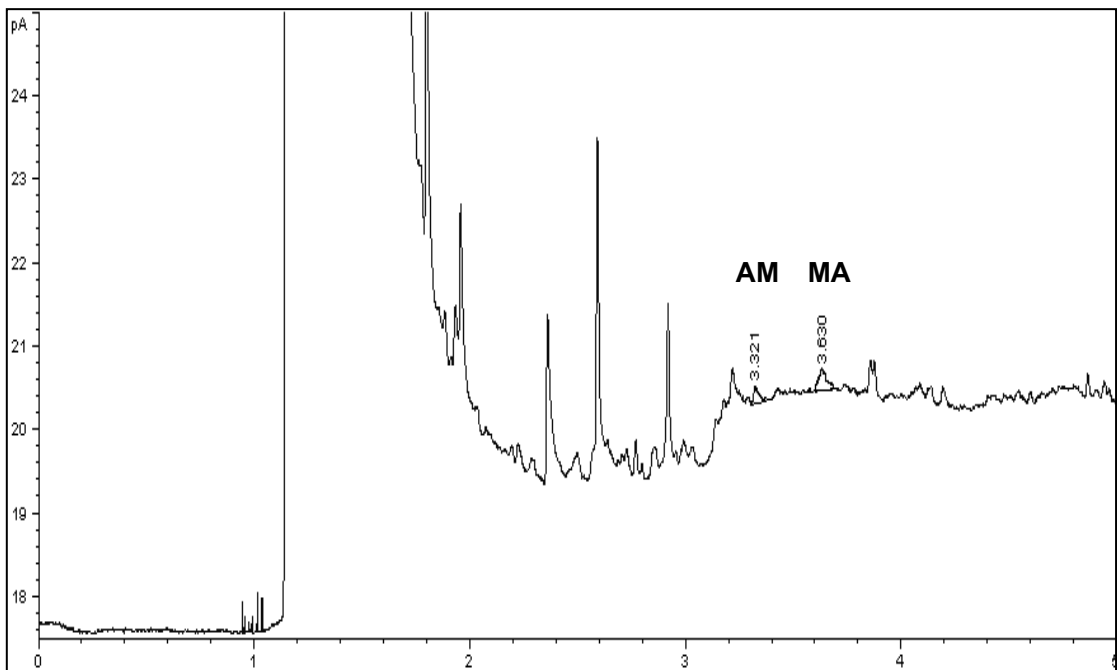
ภาพที่ 3.18 แสดงพีคของ case A1



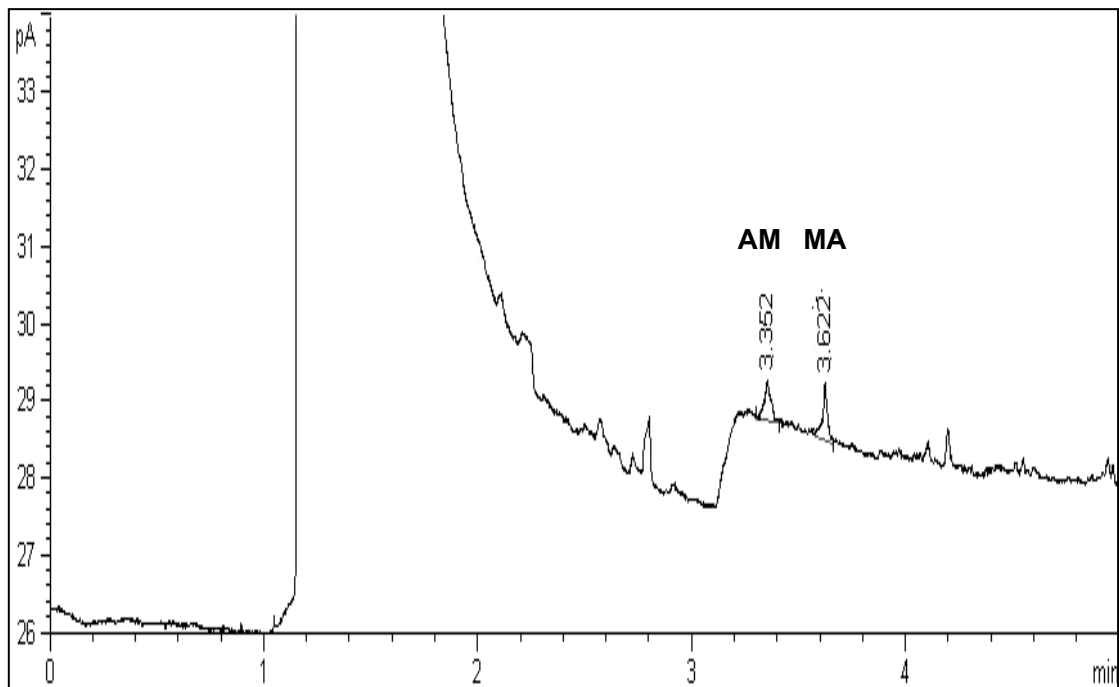
ภาพที่ 3.19 แสดงพีคของ case A2



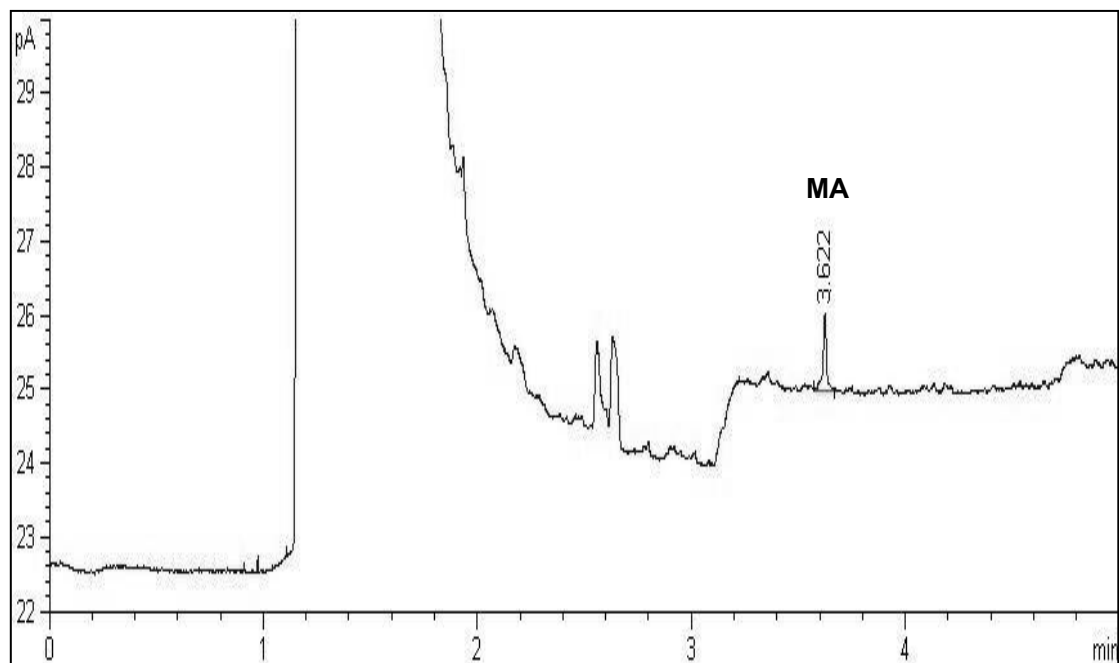
ภาพที่ 3.20 แสดงพีคของ case A3



ภาพที่ 3.21 แสดงพีคของ case A4



ภาพที่ 3.22 แสดงพีคของ case A5



ภาพที่ 3.23 แสดงพีคของ case A6

จากการทดลอง เมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนที่ตรวจพบในตัวอย่างพลาสมา สามารถยืนยันได้ว่าผู้เสียชีวิตมีการเสพเมทแอมเฟตามีนมาก่อน ในกรณีที่ตรวจพบเมทแอมเฟตามีน แต่ไม่พบแอมเฟตามีนดังเช่นใน case A1 อาจเนื่องมาจากแอมเฟตามีนถูกขับออกจากร่างกายจนอยู่ในระดับที่ไม่สามารถตรวจวัดได้ หรือผู้เสียชีวิตได้เสพเมทแอมเฟตามีนในปริมาณน้อย จึงทำให้สารเมแทบอไลต์แอมเฟตามีนมีน้อยลงไปด้วย หรือผู้เสียชีวิตเพิ่งมีการเสพเมทแอมเฟตามีน ทำให้กระบวนการเมแทบอลิสมมีการเปลี่ยนรูปเป็นสารเมแทบอไลต์ไม่สมบูรณ์ จึงตรวจไม่พบแอมเฟตามีนหรือพบแต่มีปริมาณน้อยมาก ดังนั้นจึงต้องทราบประวัติการใช้เมทแอมเฟตามีนของผู้เสียชีวิตหรือผู้ช่วยก่อนทำการตรวจวัดทุกครั้ง จากบทสรุปดังกล่าวการตรวจพบหรือไม่พบเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในพลาสมา ยังขึ้นกับค่า LOD และ LOQ ของวิธีการตรวจวัด หากระดับยา มีระดับต่ำกว่า LOD วิธีการวิเคราะห์จะไม่สามารถตรวจวัดสารได้ แต่หากระดับยาต่ำกว่า LOQ วิธีการวิเคราะห์จะไม่สามารถตรวจหาปริมาณได้ ดังนั้นหากแอมเฟตามีนใน case A1 มีปริมาณยาที่พบว่าต่ำกว่าระดับของ LOD จึงทำให้ตรวจวัดได้เฉพาะเมทแอมเฟตามีนเพียงอย่างเดียว

การใช้เมทแอมเฟตามีนในขนาด overdose ในกรณีที่ทำให้เสียชีวิตเกิดจาก arrhythmia หรือมีเลือดออกภายในร่างกาย โดยขนาดยาต่ำสุดที่ทำให้เสียชีวิตในคนที่ไม่ติดยา คือ 200 มิลลิกรัม (พงษ์รักษ์และศุภรัตน์, 2552) Inoue และคณะ (2006) ศึกษาปริมาณเมทแอมเฟตามีนในเลือดของผู้เสียชีวิต 32 ราย ตรวจวัดระดับยาที่ทำให้เกิดพิษ พบเมทแอมเฟตามีนมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.06 - 50.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และแอมเฟตามีนมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.03 - 4.90 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากการรายงานในอดีตตรวจพบระดับเมทแอมเฟตามีนในเลือดของผู้เสียชีวิตมีความเข้มข้นสูงถึง 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (United Nations, 1995) และระดับแอมเฟตามีนที่พบในผู้เสียชีวิต รายงานอยู่ที่ความเข้มข้น 0.80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Fenton, 2003) การศึกษาของ Drummer (2004) สามารถตรวจพบเมทแอมเฟตามีนในเลือดผู้เสียชีวิตจากการรับประทาน พบความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนสูงกว่า 0.20 มิลลิกรัมต่อลิตร

สำหรับการตรวจเมทแอมเฟตามีน โดยทั่วไปจะใช้ TLC ในการยืนยันการตรวจวัดแบบคุณภาพวิเคราะห์ ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้มานานในห้องปฏิบัติการทั่วไปและยังสามารถนำมาใช้ได้จนถึงปัจจุบัน แต่ข้อเสียของเทคนิค TLC คือ การตรวจสอบสารประกอบหลายชนิด เทคนิค TLC ให้ค่า LOD สูง (Fenton, 2003) จากรายงานการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในปัสสาวะ โดยเทคนิค TLC มีค่า LOD ที่ระดับความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และการตรวจด้วย GC-FID มีค่า LOD ของเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนที่ระดับความเข้มข้น 0.3890 และ 0.3490 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (กำพลและวิชาญ, 2551) แต่จากการทดลอง เมื่อทำการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในพลาสมาโดยใช้ GC-FID พบว่า เมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนมีค่า LOD อยู่ที่ความเข้มข้น 0.0123 และ

0.0264 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ LOQ อยู่ที่ความเข้มข้น 0.0409 และ 0.0882 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ต่ำกว่าระดับที่เคยมีการรายงานไว้โดยใช้ตัวตรวจวัดชนิดเดียวกัน ทำให้สามารถใช้ในการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในตัวอย่างเลือดได้ เนื่องจากปริมาณเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในเลือดจะมีน้อยกว่าในปัสสาวะ เทคนิคนี้จึงเป็นวิธีการที่สามารถใช้ยืนยันผลได้ โดยให้ค่าความถูกต้องอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ และ GC-FID ถือเป็นเครื่องมือพื้นฐานที่มีใช้อยู่ในหน่วยงานทั่วไป

ปัจจุบันหน่วยนิติเวชศาสตร์และพิษวิทยา โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ ได้นำวิธีการตรวจวัดโดยใช้ GC-FID มาใช้ในการตรวจยืนยันเมทแอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของแอมเฟตามีนในตัวอย่างเลือดและปัสสาวะควบคู่กับการตรวจวัดโดยใช้เทคนิค TLC ซึ่งทำให้ประหยัดเวลาในการเตรียมตัวอย่าง และผลที่ได้มีความถูกต้องแม่นยำมากขึ้น อีกทั้งยังเหมาะสำหรับทำเป็นงานประจำ นอกจากนี้ยังเป็นประโยชน์ในการพัฒนาการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนจากตัวอย่างสิ่งส่งตรวจอื่นๆ ไม่ว่าจะเป็นการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนในผู้ป่วย ผู้ต้องหา หรือผู้เสียชีวิต

บทที่ 4

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

การศึกษาหาตัวทำละลายที่เหมาะสม สำหรับการเตรียมตัวอย่างเมทแอมเฟตามีนด้วยวิธีการตกตะกอนโปรตีน พบว่า เมทานอลเป็นตัวทำละลายที่ใช้ในการตกตะกอนโปรตีน เมทแอมเฟตามีนในพลาสมาได้ดีที่สุด โดยค่าความเที่ยงของเมทแอมเฟตามีนที่ใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย มีค่าอยู่ในช่วง 4.68 - 9.07% ซึ่งมีค่าความใกล้เคียงของพื้นที่ฟิคเมทแอมเฟตามีนที่ได้จากการตรวจวัดซ้ำหลาย ๆ ครั้งอยู่ในเกณฑ์ที่ดี (Taverniers *et al.*, 2004) ดังนั้นเมทานอลจึงเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างเพื่อหาเมทแอมเฟตามีนในพลาสมาด้วยวิธีการตกตะกอนโปรตีนและเป็นตัวทำละลายที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างทั้งเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในพลาสมาได้ จากการทดลองของ Wood และคณะ (2000) ได้ใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายในการตกตะกอนโปรตีน เพื่อตรวจหาสารกลุ่มแอมเฟตามีนในเลือด อย่างไรก็ตามการตกตะกอนโปรตีนโดยทั่วไป อาจมีพีครบกวนการวิเคราะห์ได้ (Gergov, 2004) แต่ทั้งนี้ขึ้นกับสารที่ต้องการและตัวทำละลายที่ใช้ในการตกตะกอนโปรตีนด้วย นอกจากนี้พบว่าน้ำยังเป็นตัวทำละลายที่สามารถใช้ในการตกตะกอนโปรตีนได้ดีเช่นกัน เพราะมีสภาพความเป็นขั้วสูง (Syndex, 1997) แต่ไม่เหมาะสมที่จะใช้ในการวิเคราะห์กับ GC เพราะจะทำให้เกิดออกไซด์ของสนิมเหล็ก (Agilent Technologies, 2006) ทำให้เครื่องมือเกิดการชำรุดเสียหายได้

การศึกษาความจำเพาะเจาะจงและความสามารถในการเลือก (specificity/selectivity) ของวิธีการวิเคราะห์ ในการตรวจวัดเฉพาะเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีน พบว่า วิธีการวิเคราะห์สามารถแยกเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนออกจากสารอื่นได้อย่างชัดเจน โดยเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนแสดงพีคออกมาที่เวลา 3.62 และ 3.34 นาที ตามลำดับ รวมทั้งสามารถตรวจวัดสารได้หลายชนิด โดยไม่มีผลการรบกวนต่อกัน แสดงว่าวิธีการวิเคราะห์นี้ มีความเหมาะสมในการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีน

การศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ พบว่า กราฟมาตรฐานมีความเป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้น 0.10 - 50.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของเมทแอมเฟตามีนและ 0.10 - 2.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของแอมเฟตามีน ให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9999 ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) เมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนมีค่า 0.0123 และ 0.0264 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ขีดจำกัดต่ำสุดของการหาปริมาณ (LOQ) เมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนมีค่า 0.0409 และ 0.0882 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ค่าร้อยละของการคืนกลับ (%recovery) ของเมทแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 0.10, 0.50, 2.50, 10.00 และ 50.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 0.10, 0.25, 0.50, 1.00

และ 2.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าอยู่ในช่วง 81 - 109% และ 93 - 104% ตามลำดับ ซึ่งค่าที่อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ คือ 80 - 120 % (Taverniers *et al.*, 2004) ค่าความเที่ยง (%RSD) ของการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (intraday) และระหว่างวัน (interday) มีค่าอยู่ในช่วง 1.66 - 8.95% และ 3.91 - 8.68% สำหรับเมทแอมเฟตามีน 0.82 - 4.34% และ 3.44 - 8.11% สำหรับแอมเฟตามีน โดยค่าที่ยอมรับได้ต้องไม่เกิน 15% (Taverniers *et al.*, 2004) ผลการศึกษาเสถียรภาพของเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในพลาสมา ซึ่งเสถียรภาพทั้ง 4 แบบ ได้แก่ Freeze-thaw stability, Long-term stability, Short-term stability และ Post-preparative stability ที่ความเข้มข้น 0.50 และ 1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยเปรียบเทียบร้อยละความเข้มข้นของตัวอย่างที่ตรวจวัดได้หลังจากเก็บตัวอย่างตามระยะเวลาที่กำหนดไว้ กับร้อยละความเข้มข้นของตัวอย่างที่เตรียมขึ้นใหม่ พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) แสดงว่าเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในพลาสมา ไม่มีการสลายตัว (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2547) เมื่อมีการเก็บตัวอย่างที่ระยะเวลาต่างๆ กัน

การตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในตัวอย่างพลาสมาคนที่ได้จากกรณีเสียชีวิต 6 ตัวอย่าง ซึ่งพบว่า มีปริมาณเมทแอมเฟตามีนอยู่ในช่วง 0.24 - 1.31 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและแอมเฟตามีนอยู่ในช่วง 0.23 - 0.32 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ในการศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงขั้นตอนในการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในพลาสมาโดยใช้ GC-FID ซึ่งวิธีการที่ง่ายและรวดเร็ว โดยไม่ต้องทำอนุพันธ์เมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนสามารถแยกออกจากกันภายในเวลา 5 นาที ซ้ำดจำกัดต่ำสุดของการหาปริมาณอยู่ในระดับต่ำกว่า 100 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร โดยไม่มีการเพิ่มความเข้มข้น (pre-concentration) ของสาร แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนด้วย GC-FID อีกทั้งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดสารกลุ่มแอมเฟตามีนในปัสสาวะ เส้นผมหรือตัวอย่างชีววัตถุอื่น โดยเลือกวิธีการสกัดที่เหมาะสมสำหรับแต่ละตัวอย่าง การตรวจวัดโดยใช้ GC-FID เป็นเครื่องมือที่ใช้กันแพร่หลายในห้องปฏิบัติการทั่วไป เหมาะที่จะใช้เป็นงานประจำ ซึ่งมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างที่ไม่ยุ่งยาก แต่ข้อจำกัดของเทคนิค GC-FID คือ สารตัวอย่างต้องเป็นสารที่ระเหยง่าย เมื่อฉีดเข้าเครื่อง GC-FID แล้วต้องมีความเสถียร ไม่เกิดการสลายตัวเมื่อถึงอุณหภูมิที่ทำการระเหย นอกจากนี้ในการวิเคราะห์สารโมเลกุลไม่มีขั้วหรือสารโมเลกุลที่มีขั้วเพียงเล็กน้อย ระบบตรวจวัดสามารถแยกแยะโมเลกุลของสารได้เพียง 20 เปอร์เซ็นต์ แต่สามารถทำการวิเคราะห์สารได้เพิ่มขึ้นด้วยวิธีการทำอนุพันธ์ (พรธนทิพย์ ห่อศรีสัมพันธ์, 2549) และสิ่งสำคัญสำหรับการวิเคราะห์ด้วย GC-FID คือ การตรวจวัดต้องไม่มีพีคอื่นอยู่ตรงตำแหน่งหรือใกล้เคียงกับเวลา (retention time) ของสารที่วิเคราะห์ หากมีจำเป็นต้องใช้เทคนิค GC-MS ในการยืนยันผลแทน

GC-FID เป็นเครื่องมือที่มีใช้แพร่หลาย เนื่องจากมีความไวต่อสารประกอบทุกชนิด โดยเฉพาะสารอินทรีย์ และค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ไม่สูงมาก สำหรับแนวทางการพัฒนาเกี่ยวกับ GC-FID ในงานทางด้านนิติพิษวิทยา ในปัจจุบันควรคำนึงถึงความสามารถในการนำไปใช้งานได้จริง และค่าใช้จ่ายที่สามารถยอมรับได้ เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่องานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ต่อไป

บรรณานุกรม

- กองควบคุมยา สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. 2547. หลักการและแนวปฏิบัติในการศึกษาชีวสมมูลของยาสามัญ (Criteria and Guideline for the Bioequivalence Study of Genetic Drug). ISBN # 974-8071-64-2. หน้า 1-46.
- กำพล เครือคำขาวและวิชาญ เกี่ยวการค้า. 2551. ผลบวกลวงของการใช้ชุดทดสอบเมทแอมเฟตามีนในปัสสาวะ โดยวิธีเทียบสี และวิธีภูมิคุ้มกัน. ลำปางเวชสาร. 29, 1 (มกราคม - มิถุนายน): 1-10.
- กิติ ฉายศิริกุลและวนิดา พุ่มไพศาลชัย. 2542. สารกระตุ้นประสาทยาบ้า. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพยาบาลสวนปรุง. เชียงใหม่.
- ชวณี ทองโรจน์, วีระศักดิ์ สามิและนริศา คำแก่น. 2548. การจัดทำสารมาตรฐานแห่งชาติของตัวยาเมทแอมเฟตามีน. ศรีนครินทรวิโรฒเภสัชสาร. 10, 1 (พฤษภาคม): 1-9.
- ณัฐ ตันศรีสวัสดิ์และศิรินันท์ เอี่ยมภักดิ์. 2550. นิติพิษวิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 1. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย: กรุงเทพฯ.
- ทรงเกียรติ ปิยะกะ. 2544. ยี่มสู้เรียนรู้ยาเสพติด. พิมพ์ครั้งที่ 7. สำนักพิมพ์มติชน: กรุงเทพฯ.
- ปัญญา อินทรอุดม. 2551. ลัดเลาะชายแดนภาคเหนือ ดูสถานการณ์ยาเสพติด สกัดกั้น-อุดช่องทางนำเข้า. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก:
http://www.navy.mi.th/intel/news/in_news/IN7_250308.doc
 (วันที่สืบค้น 20 พฤษภาคม 2552)
- พงษ์รักษ์ ศรีบัณฑิตมงคลและศุภรัตน์ ธรรมพิทักษ์. 2552. สารเสพติด. ใน: นิติเวชศาสตร์. คณาจารย์ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่: เชียงใหม่. 223-231.
- พรรณทิพย์ ห่อศรีสัมพันธ์. 2549. แยกและวิเคราะห์สารด้วย GC. LAB TODAY. 5, 34: 21-26.

- เพิ่มพงษ์ เชาวลิต. 2550. “การเชื่อมโยงข้อมูลยาเสพติดและการใช้ประโยชน์” รายงานสรุปการประชุมวิชาการสารเสพติดระดับชาติ ครั้งที่ 4 3-5 กรกฎาคม 2550. ชานเมืองการพิมพ์: สงขลา. 178-181.
- ไพฑูริย์ ณรงค์ชัยและสิริพันธ์ ณรงค์ชัย. 2548. นิติพิษวิทยา. ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่: เชียงใหม่. 232-245.
- ไพฑูริย์ แสงพุ่ม และธนระวีชต์ นามผลดี. 2550. “ปกิณกะสาระ เส้นทางชีวิตผู้ติดยาเสพติด” เอกสารเผยแพร่. ISBN: 978-974-9867-57-0. รุ่งศิลป์การพิมพ์: กรุงเทพมหานคร.
- มงคล รายนาค. 2537. แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมตรี. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่: จังหวัดเชียงใหม่. 1-50.
- แมน อมรสิทธิ์และอมร เพชรสม. 2539. หลักการและเทคนิควิเคราะห์เชิงเครื่องมือ. ชวนชม: กรุงเทพฯ. 632-713.
- วิโรจน์ สุ่มใหญ่. 2543. ยาบ้ามหันตภัยข้ามศตวรรษ. ธีระการพิมพ์: กรุงเทพฯ. 1-115.
- ศุภรัตน์ ธรรมพิทักษ์. 2550. สารเสพติดกลุ่มแอมเฟตามีนและอื่นๆ ใน: นิติเวชศาสตร์และนิติเวชปฏิบัติ. คณาจารย์ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่: เชียงใหม่. 363-374.
- สำนักงานคณะกรรมการป้องกันและปราบปรามยาเสพติด. 2545. เร็ยรู้เรื่องยาเสพติดชีวิตปลอดภัย. พิมพ์ครั้งที่ 3. ส่วนพัฒนาสื่อและเทคโนโลยี: กรุงเทพฯ.
- สำนักงานคณะกรรมการป้องกันและปราบปรามยาเสพติด. 2550. สรุปสถานการณ์ยาเสพติดปี 2549 และแนวโน้มของปัญหา. 23 , 1 (ธันวาคม 2549 - 31 มีนาคม 2550): 9-14.
- สมศรี ไชยการมณ. 2549. ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการติดแอมเฟตามีนของผู้ป่วยยาเสพติด ศูนย์บำบัดรักษายาเสพติดแม่ฮ่องสอน. รายงานการวิจัยศูนย์บำบัดรักษายาเสพติดแม่ฮ่องสอน. กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.

สำนักวิทยาศาสตร์. 2552. สถานการณ์ปัญหายาเสพติดปี 2552 และแนวโน้มของปัญหา
ประกอบการจัดทำแผนป้องกันและแก้ไขปัญหายาเสพติด ปี 2553. [ออนไลน์]
เข้าถึงได้จาก:

<http://www.nccd.go.th/upload/content/situationtrendin2009%28published%29.pdf>
(วันที่สืบค้น 15 มีนาคม 2553)

สำนักวิทยาศาสตร์. 2553. สถานการณ์ปัญหายาเสพติดปี 2553 และแนวโน้มของปัญหา.
[ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก: <http://www.nccd.go.th/upload/content/suj.pdf>
(วันที่สืบค้น 1 ตุลาคม 2553)

Agilent Technologies. 2006. คู่มือการใช้งาน GC รุ่น GC 6890. กรุงเทพฯ.

Balu, K. and Halket, J. M. 1993. Handbook of Derivatives For Chromatography, 2nd Ed.
USA: John Wiley & Sons. pp 4-8.

Chiang, W. K. 2006. Amphetamine. In: Goldfrank's Toxicologic Emergencies, 8th Ed.
USA: The McGraw-Hill Companies. pp 1118-1132.

Chou, L. and Lee, M. 2005. Solid phase microextraction with liquid chromatography–
electrospray ionization–tandem mass spectrometry for analysis of amphetamine
and methamphetamine in serum. *Analytica Chimica Acta* 538: 49-56.

Dawling, S., Jickells, S. and Negrusz, A. 2008. Gas chromatography. In: Clarke's
Analytical of Forensic Toxicology. London: The Pharmaceutical Press. 469-512.

Dayrit, F.M. and Dumlao, M.C. 2004. Impurity profiling of methamphetamine
hydrochloride drugs seized in the Philippines. *Forensic Science International*
144: 29-36.

Drummer, O. H. 2004. Postmortem toxicology of drugs of abuse. *Forensic Science
International* 142: 101-113.

- Fenton, J.J. 2003. Forensic Toxicology. In: Forensic Science An Introduction to Scientific and Investigative Techniques. USA: CRC Press. pp 45-60.
- Gergov, M. 2004. Library search-based drug analysis in forensic toxicology by liquid chromatography-mass spectrometry. Ph.D. Thesis, Department of Forensic Medicine, University of Helsinki, Finland.
- Inoue, H., Ikeda, N., Kudo, K., Ishida, T., Terada, M. and Matoba, R. 2006. Methamphetamine-related sudden death with a concentration which was of a "toxic level". *Legal Medicine*. 8: 150-155.
- Jiménez, C., Torre, R., Ventura, M., Segura, J. and Ventura, R. 2006. Stability studies of amphetamine and ephedrine derivatives in urine. *Journal of Chromatography B* 843: 84-93.
- Jirovsky D., Lemra K., Sevcika J., Smyslc B., Stransky Z. 1998. Methamphetamine - properties and analytical methods of enantiomer determination. *Forensic Science International* 96: 61-70.
- Kraemer T. and Maurer HH. 1998. Determination of amphetamine, methamphetamine and amphetamine derived designer drugs or medicaments in blood and urine. *Journal of Chromatography B, Biomedical sciences and applications* 713: 163-87.
- Karch, S.B. 2008. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic of Abused Drugs. UK: CRC. 25-64.
- Kikura, R. and Nakahara, Y. 1995. Hair analysis for drugs of abuse. XI. Disposition of benzphetamine and its metabolites into hair and comparison of benzphetamine use and methamphetamine use by hair analysis. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 18: 1694-1699.

- Levine, B. 2003. Postmortem Forensic Toxicology. In: Principles of Forensic Toxicology 2nd Ed. Washington D.C.: AACCC. pp 3-14.
- Logan, B.K. 2002. Methamphetamine-Effect on human performance and behavior. Forensic Science Review 14: 134-151.
- Mills, G.A. and Walker, V. 2000. Headspace solid phase microextraction procedures for gas chromatographic analysis of biological fluid and materials. Journal of Chromatography A 902: 267-287.
- Mitra, S. 2001. Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry. USA: John Wiley & Sons.
- Mitrevski, B. and Zdravkovski, Z. 2005. Rapid and simple method for direct determination of several amphetamine in seized tablets by GC-FID. Forensic Science International 152: 199-203.
- Moffat, A.C., Jackson, J.V., Moss, M.S. and Widdop, B. 1986. Clarke's isolation and identification of drugs in pharmaceuticals, body fluid and post-mortem material. 2nd Ed. London: The Pharmaceutical Press. pp 287-763.
- Moore, K. A. 2003. Amphetamine/Sympathomimetic Amine. In: Principles of Forensic Toxicology 2nd Ed. Washington D.C.: AACCC. pp 245-264.
- Nishida, M., Namera, A., Yashiki, M. and Kojima, T. 2002. On-column derivatization for determination of amphetamine and methamphetamine in human blood by gas chromatography-mass spectrometry. Forensic Science International 125: 156-162.
- Okajima, K., Namera, A., Yashiki, M., Tsukue, I. and Kojima, T. 2001. Highly sensitive analysis of methamphetamine and amphetamine in human whole blood using headspace solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. Forensic Science International 116: 15-22.

- Ortuño, J., Pizarro, N., Ferré, M., Segura, J., Camí, J., Brenneisen, R. and Torre, R. 1999. Quantification of 3,4-methylenedioxymethamphetamine in plasma and urine by gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection. *Journal of Chromatography B* 723: 221-232.
- Polson, C., Sarkar, P., Incledon, B., Raguvaran, V., and Grant, R. 2003. Optimization of protein precipitation based upon effectiveness of protein removal and ionization effect in liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B* 785: 263-275.
- Pujadas, M., Pichini, S., Civit, E., Santamarina, E., Perez, M. and Torre, R. 2007. A simple and reliable procedure for the determination of psychoactive drugs in oral fluid by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 44: 594-601.
- Puthaviriyakorn, V., Siriviriyasomboon, N., Phorachata, J., Pen-ox, W., Sasaki, T. And Tanaka, K. 2002. Identification of impurities and statistical classification of methamphetamine tablets (Ya-Ba) seized in Thailand. *Forensic Science International* 126: 105-113.
- Sato, M. and Mitsui, T. 1997. Rapid and simple determination of methamphetamine and amphetamine in blood by simultaneous extraction- derivatization. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 16: 139-145.
- Saito, T., Yamamoto, I., Kusakabe, T., Huang, X. L., Yukawa, N. and Takeichi, S. 2000. Determination of chronic methamphetamine abuse by hair analysis. *Forensic Science International* 112: 65-71.
- Scott, R. 2008. Thin- layer chromatography. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก: <http://www.chromatography-online.org/TLC/Introduction.html>
(วันที่สืบค้น 20 สิงหาคม 2552)

Siek, T.J. 2003. Specimen Preparation. In: Principles of Forensic Toxicology 2nd Ed. Washington D.C.: AACC. pp 67-78.

Supelco. 1998. Solid Phase Microextraction: Theory and Optimization of Conditions. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก: <http://www.sigmaaldrich.com/Graphics/Supelco/objects/4600/4547.pdf> (วันที่สืบค้น 20 มีนาคม 2553)

Syndex, L.R. 1997. Practical HPLC Method Development. 2nd Ed. 722-723.

Taverniers, I., Loose, M.D. and Bockstaele, E.V. 2004. Trends in quality in the analytical laboratory II. Analytical method validation and quality assurance. Trends in Analytical Chemistry 23: 535-552.

Thurman, E. M. and Mills, M. S. 1998. Solid Phase Extraction: Principles and Practice. USA: John Wiley & Sons. pp 243-272.

United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC). 2008. Amphetamines and Ecstasy [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก: <http://www.unodc.un.or.th/publications/Global-ATS-Assessment-2008.pdf> (วันที่สืบค้น 6 มิถุนายน 2552)

Wercinski, S.A.S. 1999. Ed. Solid Phase Microextraction: A Practical Guide. New York: Marcel Decker.

Wood, M., Morris, M., Cooper, D., Claereboudt, J., Samyn, N. and Boeck, G. D. 2000. Development of a rapid and sensitive method for the quantitation of amphetamine in human plasma. 17th Montreux Symposium. 8-10th November. Switzerland.

Wikipedia. 2009. Blood Plasma. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก: http://en.wikipedia.org/wiki/Blood_plasma (วันที่สืบค้น 9 กันยายน 2552)

ภาคผนวก

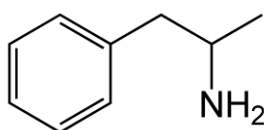
ภาคผนวก 1

สมบัติของสารกลุ่มอนุพันธ์แอมเฟตามีน

1. Amphetamine

ชื่อวิทยาศาสตร์: 1-phenyl-2-aminopropane

สูตรโครงสร้าง :

สูตรโมเลกุล : C₉H₁₃N

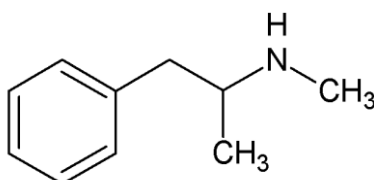
มวลโมเลกุล : 135.21 กรัมต่อโมล

จุดหลอมเหลว : 281-285°C , (กลายเป็นไอง่าย ที่อุณหภูมิห้อง)

2. Methamphetamine

ชื่อวิทยาศาสตร์: 1-phenyl-2-methylaminopropane

สูตรโครงสร้าง :

สูตรโมเลกุล : C₁₀H₁₅N

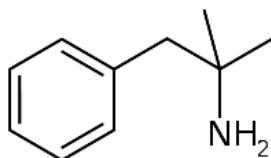
มวลโมเลกุล : 149.23 กรัมต่อโมล

จุดหลอมเหลว : 172-174°C

3. Phentermine

ชื่อวิทยาศาสตร์: 2-methyl-1-phenylpropan-2-amine

สูตรโครงสร้าง :



สูตรโมเลกุล : $C_{10}H_{15}N$

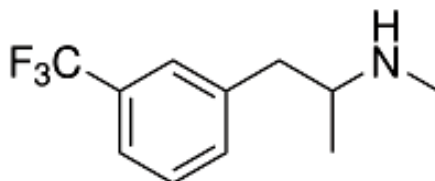
มวลโมเลกุล : 149.233 กรัมต่อโมล

จุดหลอมเหลว : $205^{\circ}C$

4. Fenfluramine

ชื่อวิทยาศาสตร์: N-ethyl- 1-[3-(trifluoromethyl)phenyl]propan- 2-amine

สูตรโครงสร้าง :



สูตรโมเลกุล : $C_{12}H_{16}F_3N$

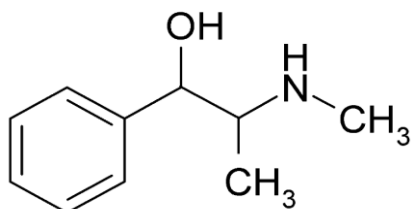
มวลโมเลกุล : 231.26 กรัมต่อโมล

จุดหลอมเหลว : $108-112^{\circ}C$

5. Ephedrine

ชื่อวิทยาศาสตร์: (1R,2S)-2-methylamino-1-phenylpropan-1-ol

สูตรโครงสร้าง :



สูตรโมเลกุล : $C_{10}H_{15}NO$

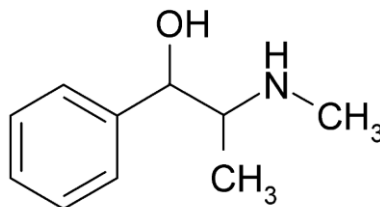
มวลโมเลกุล : 165.23 กรัมต่อโมล

จุดหลอมเหลว : $34^{\circ}C$

6. Pseudoephedrine

ชื่อวิทยาศาสตร์: (1S,2S)-2-methylamino-1-phenylpropan-1-ol

สูตรโครงสร้าง :



สูตรโมเลกุล : $C_{10}H_{15}NO$

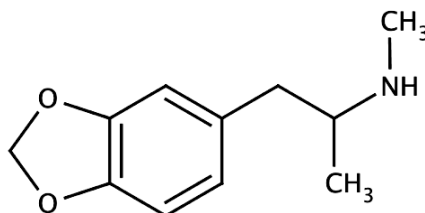
มวลโมเลกุล : 165.23 กรัมต่อโมล

จุดหลอมเหลว : $117-118^{\circ}C$

7. 3,4-methylenedioxyamphetamine

ชื่อวิทยาศาสตร์: 1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-N-methylpropan-2-amine

สูตรโครงสร้าง :



สูตรโมเลกุล : $C_{11}H_{15}NO_2$

มวลโมเลกุล : 193.24 กรัมต่อโมล

จุดหลอมเหลว : $148-149^{\circ}C$

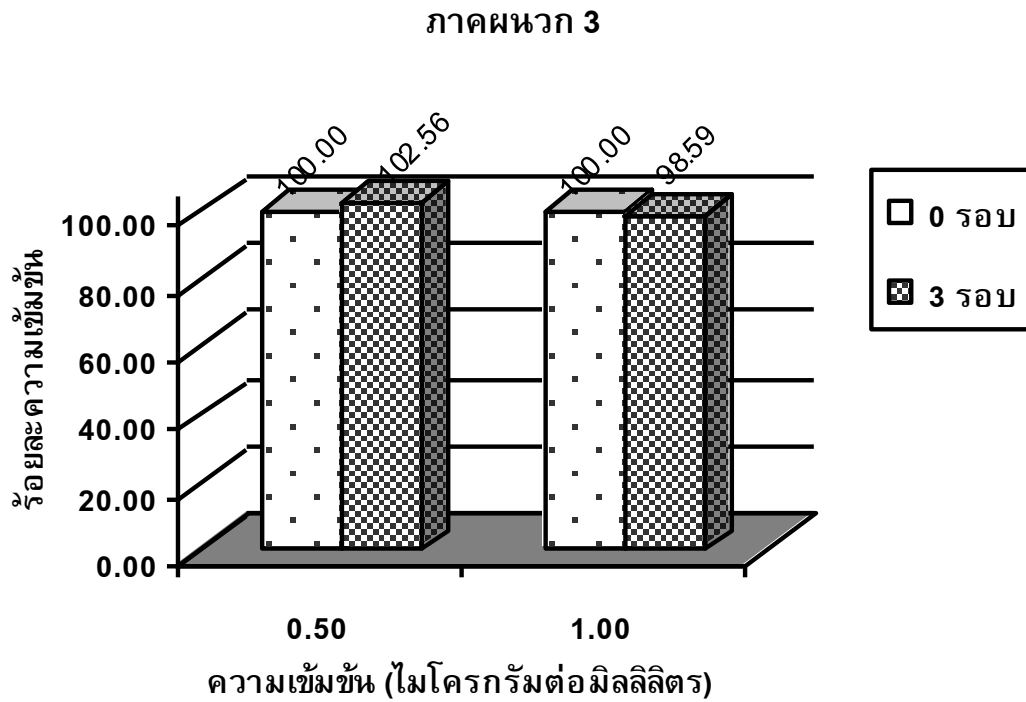
ภาคผนวก 2

ตารางที่ 1 แสดงข้อมูลของกราฟมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนในพลาสมา

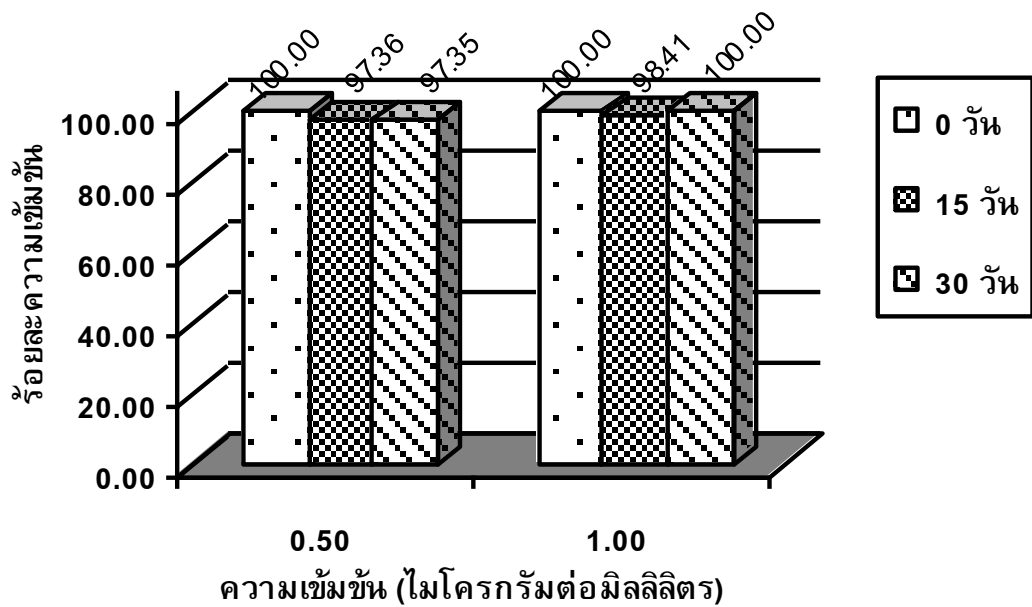
ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$)	พื้นที่พีค	ค่าเฉลี่ย พื้นที่พีค	S.D.	%RSD
0.10	0.38 0.37 0.34 0.35 0.30	0.35	0.03	8.95
0.50	0.96 1.00 0.99 0.99 1.00	0.99	0.02	1.66
2.50	4.90 5.10 5.00 5.00 5.00	5.00	0.07	1.41
10.00	20.30 20.40 21.70 20.50 20.80	20.74	0.57	2.74
50.00	113.70 111.50 107.10 103.00 105.60	108.18	4.36	4.03

ตารางที่ 2 แสดงข้อมูลของกราฟมาตรฐานแอมเฟตามีนในพลาสมา

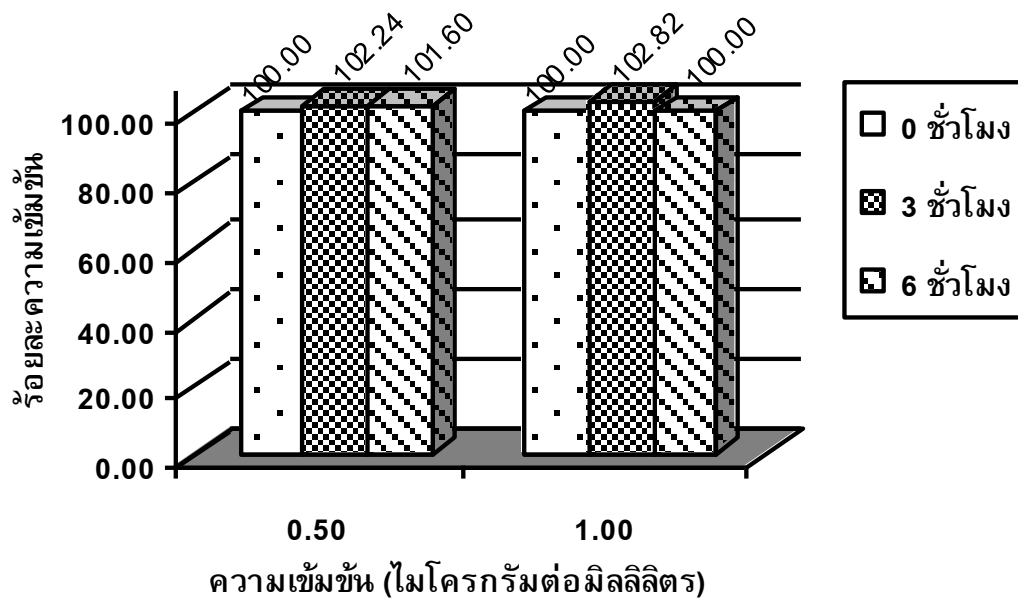
ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$)	พื้นที่พีค	ค่าเฉลี่ย พื้นที่พีค	S.D.	%RSD
0.10	0.20 0.22 0.21 0.20 0.20	0.21	0.01	4.34
0.25	0.32 0.35 0.32 0.32 0.34	0.33	0.01	4.29
0.50	0.60 0.62 0.57 0.60 0.58	0.59	0.02	3.28
1.00	1.10 1.10 1.10 1.08 1.10	1.10	0.01	0.82
2.00	2.10 2.10 2.20 2.10 2.00	2.10	0.07	3.37



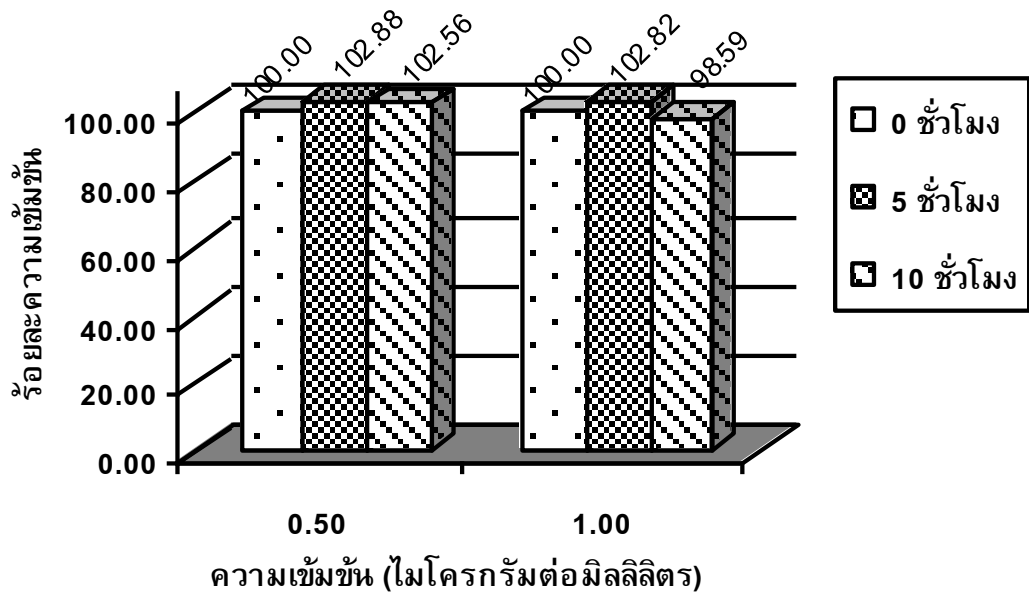
แผนภูมิแท่งที่ 1 แสดงร้อยละความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ Freeze-thaw stability



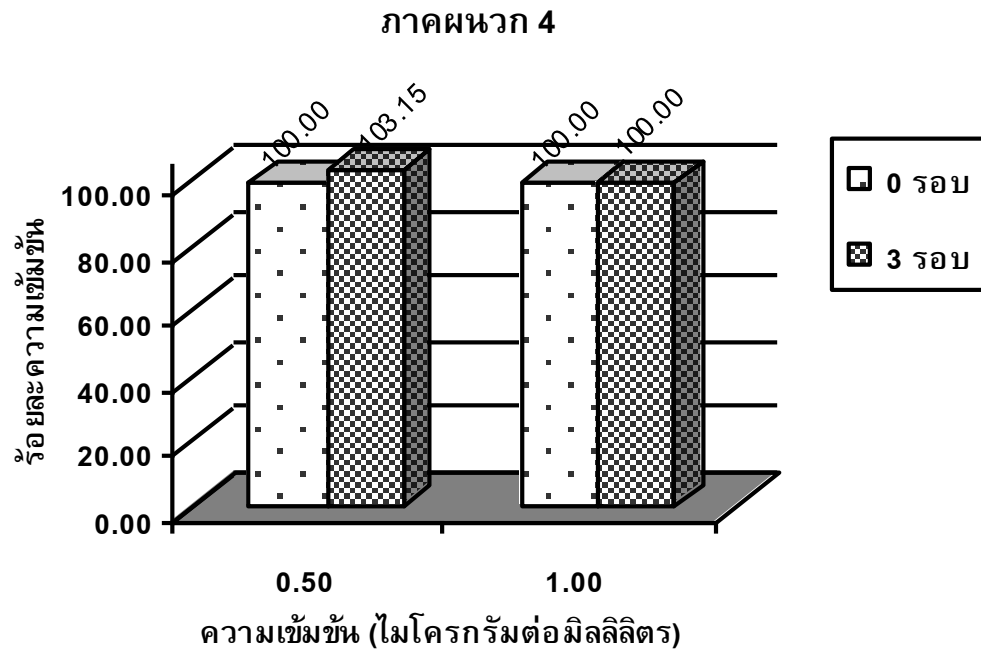
แผนภูมิแท่งที่ 2 แสดงร้อยละความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ Long-term stability



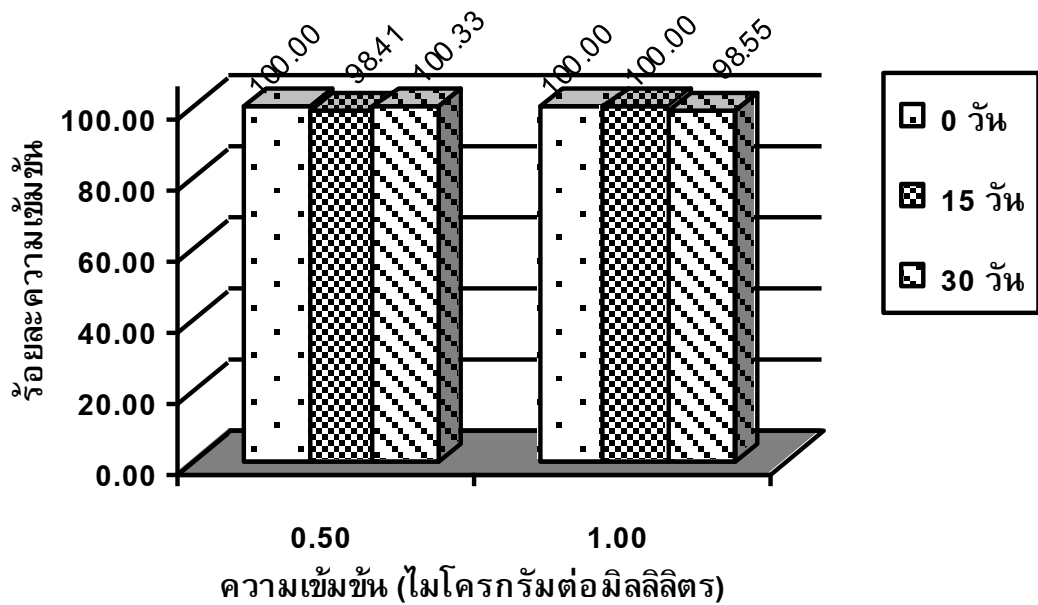
แผนภูมิแท่งที่ 3 แสดงร้อยละความชื้นของเมทแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ Short-term stability



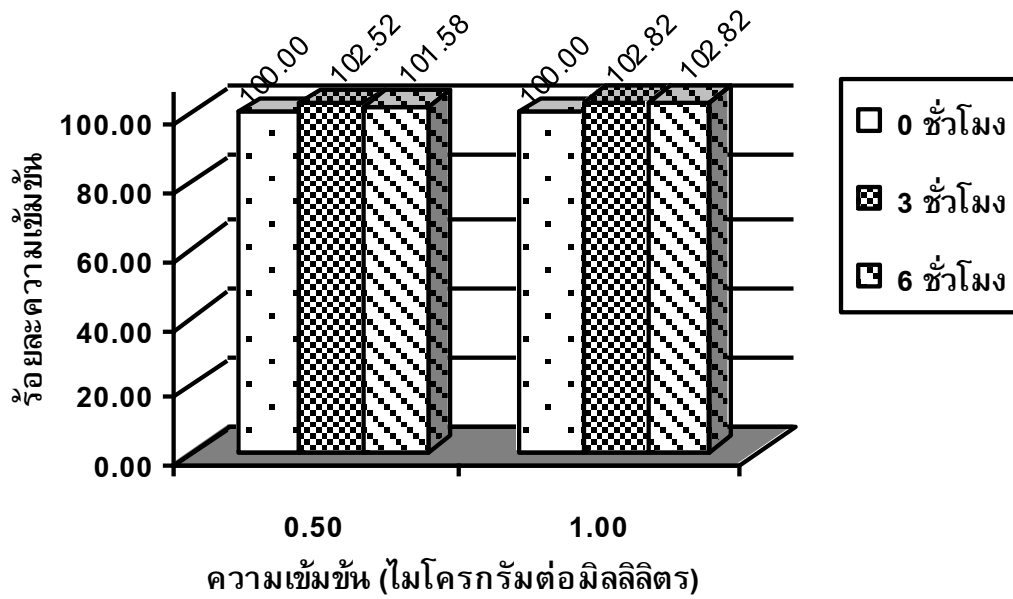
แผนภูมิแท่งที่ 4 แสดงร้อยละความชื้นของเมทแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ Post-preparative stability



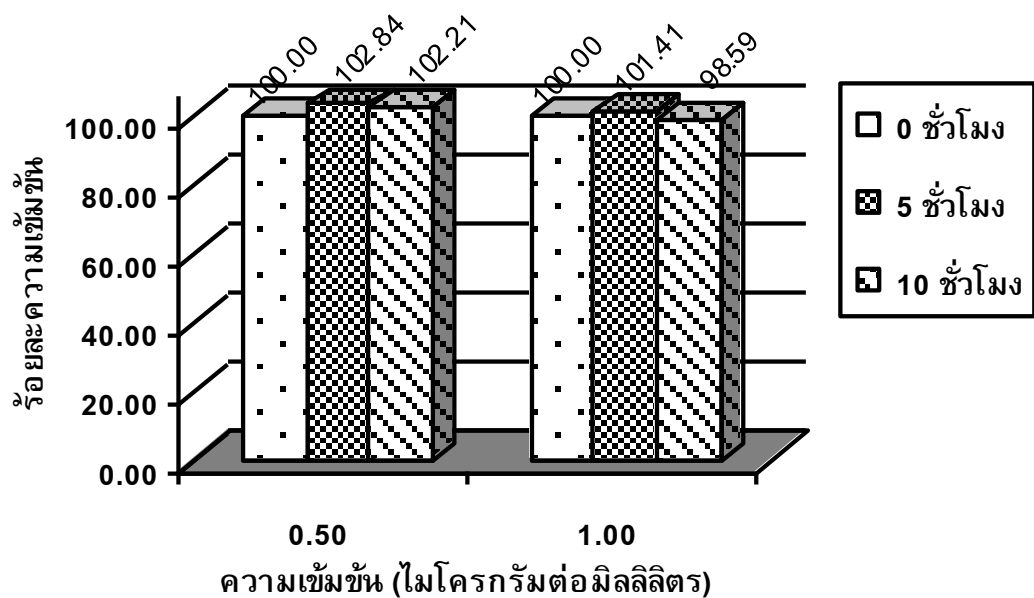
แผนภูมิแท่งที่ 1 แสดงร้อยละความเข้มข้นของแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ Freeze-thaw stability



แผนภูมิแท่งที่ 2 แสดงร้อยละความเข้มข้นของแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ Long-term stability



แผนภูมิแท่งที่ 3 แสดงร้อยละความเข้มข้นของแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ Short-term stability



แผนภูมิแท่งที่ 4 แสดงร้อยละความเข้มข้นของแอมเฟตามีนเมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพแบบ Post-preparative stability

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล	นางสาวเกษศิรินทร์พร กุลเกื้อ	
รหัสประจำตัวนักศึกษา	4822149	
วุฒิการศึกษา		
	วุฒิ	ชื่อสถาบัน
วิทยาศาสตร์บัณฑิต (ศึกษาศาสตร์)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	ปีที่สำเร็จการศึกษา
		2547

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

เกษศิรินทร์พร กุลเกื้อ และวิระชัย สมัย. การตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนในพลาสมาคนโดยใช้แก๊สโครมาโทกราฟีตัวตรวจวัดชนิดเฟรมไอออไนเซชัน. การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ครั้งที่ 1. 26 – 27 พฤศจิกายน พ.ศ. 2552.