การตรวจวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีน ในน้ำลาย ด้วยเทคนิค GC - FID

โดย

นางสาวสุชัญญา พูลสุข

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2552

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การตรวจวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีน ในน้ำลาย ด้วยเทคนิค GC - FID

โดย
นางสาวสุชัญญา พูลสุข

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2552
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

DETERMINATION OF METHAMPHETAMINE IN SALIVA BY GC - FID

By

Suchanya Poolsuk

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree

MASTER OF SCIENCE

Program of Forensic Science

Graduate School

SILPAKORN UNIVERSITY

2009

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร อนุมัติให้วิทยานิพนธ์เรื่อง “ การตรวจวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนในน้ำลาย ด้วยเทคนิค GC - FID ” เสนอโดย นางสาวสุชัญญา พูลสุข เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

…….....

(รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริชัย ชินะตังกูร)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

1. อาจารย์ ดร.ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี
2. อาจารย์ ดร.ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ พ.ต.อ.สันติ์ สุขวัจน์)

...../...../.....

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. วีรชัย พุทธะวงศ์)

...../...../.....

..... กรรมการ

(อาจารย์ ดร.ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี)

...../...../.....

.....กรรมการ

(อาจารย์ ดร.ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง)

...../...../.....

50312333 : สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์
คำสำคัญ : เมทแอมเฟตามีน/น้ำลาย/แก๊สโครมาโตกราฟฟี

สุชัญญา พูลสุข : การตรวจวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนในน้ำลาย ด้วยเทคนิค GC - FID. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : อ.ดร.ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี และ อ.ดร.ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง. 42 หน้า.

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณเมทแอมเฟตามีนในน้ำลาย โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟฟี ชนิดตัวตรวจวัดเฟรมไอออไนเซชัน (GC-FID) เป็นวิธีที่สามารถยืนยันการใช้สารเสพติดได้ จากการทดลองพบว่าเมื่อใช้สารละลายมาตรฐานแอมเฟตามีน, เมทแอมเฟตามีนและ Diphenylamine ซึ่งใช้เป็น internal standard ด้วยเทคนิค GC-FID สารดังกล่าวจะแยกออกที่ retention time 3.5 , 4.4 และ 11.5 นาที ตามลำดับ จากกราฟสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนในช่วงความเข้มข้น 0.1-0.8 mg/ml มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.998 ขีดต่ำสุดของการวัด (LOD) มีค่า 0.0264 mg/ml ขณะที่ขีดจำกัดต่ำสุดของการหาปริมาณ (LOQ) มีค่า 0.0642 mg/ml ค่าความเที่ยงของการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (intra - day) แสดงในรูปร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) มีค่าเท่ากับ 0.3014 % เมื่อทำตรวจวิเคราะห์หาปริมาณเมทแอมเฟตามีนในน้ำลายหลังการเสพยาบ้า ที่เวลา 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90 และ105 นาที ด้วยเทคนิค GC-FID และใช้ strip test (JSP METH STRIP) ผลการวิเคราะห์พบปริมาณของเมทแอมเฟตามีนในช่วง 0 - 60 นาที หลังการเสพด้วยวิธี GC-FID ขณะที่ตรวจพบในช่วงเวลา 0 -15 นาที ด้วย strip test และเมื่อนำตัวอย่างน้ำลาย ของผู้เสพยาบ้า 30 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-FID พบว่าสามารถตรวจพบเมทแอมเฟตามีน 1 ราย ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการวิเคราะห์น้ำลายด้วย GC-FID เพื่อหาเมทแอมเฟตามีนอาจใช้ได้กับตัวอย่างที่เก็บในระยะแรกของการเสพ นั่นคือภายในเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากเสพยา

สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ปีการศึกษา 2552

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ 1. ..... 2. .....

50312333 : MAJOR : FORENSIC SCIENCE
KEY WORDS : METHAMPHETAMINE/SALIVA/GC-FID
SUCHANYA POOLSUK : DETERMINATION OF METHAMPHETAMINE SALIVA BY GC - FID. THESIS ADVISORS : SUPACHAI SUPALUKNARI, Ph.D. AND SIRIRAT CHOOSAKOONKRIANG, Ph.D. 42 pp.

The determination of methamphetamine in a sample of saliva using gas chromatography with a flame ionization detector (GC-FID) can provide a confirmed result of drug usage. The chromatogram from GC-FID analysis of a standard mixture of amphetamine, methamphetamine and internal standard, diphenylamine displayed well separated peaks at retention times of 3.5, 4.4 and 11.5 min respectively. For the standard solutions of methamphetamine, a linearity of the calibration curve was obtained over the 0.1- 0.8 mg/ml concentration range with a correlation coefficient (r^2) of 0.998. The limit of detection (LOD) was 0.0264 mg/ml while the limit of quantification (LOQ) was 0.0642 mg/ml. The intra-day precision was also examined giving the calculated relative standard deviation (%RSD) of 0.3014 %. The saliva samples collected at 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90 and 105 min after drug usage were analysed by the method of GC-FID and strip test (JSP METH STRIP). It was found that the amounts of methamphetamine can be determined from the samples collected within the time range of 0-60 min by the GC-FID analysis while the strip test gave positive results for the samples collected at the basal time and 15 min. Thirty samples collected from drug abusers were analysed by the GC-FID technique. Only one sample can be analysed for the methamphetamine by the GC-FID method. The results thus suggested that the GC-FID analysis of methamphetamine in the saliva sample may be applicable only to the sample collected at the early stage of drug usage, that is within one hour after drug administration.

Program of Forensic Science Graduate School, Silpakorn University Academic Year 2009
Student's signature .....
Thesis Advisors' signature 1. ..... 2. .....

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำวิทยานิพนธ์เรื่องการตรวจหาเมทแอมเฟตามีนในน้ำลายด้วยเทคนิค GC-FID สำเร็จลุล่วงเพราะได้รับความร่วมมือและความช่วยเหลือ รวมถึงคำแนะนำและข้อเสนอแนะต่างๆที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการพัฒนางานวิจัยฉบับนี้

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี และอาจารย์ ดร.ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำแนะนำ ดูแลและให้ความช่วยเหลือในการแก้ไขวิทยานิพนธ์อย่างเต็มที่ ขอขอบพระคุณอาจารย์ทั้งสองท่านเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณ พ.ต.อ.วัชรพงษ์ ดำรงค์ศรี ที่ให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างและคำแนะนำในการสอบประวัติ และเจ้าหน้าที่สถานีตำรวจนครบาลท่าเรือทุกท่าน

สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณ คุณอาที่ช่วยเหลือในการศึกษาต่อครั้งนี้ ขอบคุณครอบครัว พี่ๆ เพื่อนๆทุกคนที่ให้คำแนะนำ ให้ความช่วยเหลือทุกอย่าง ขอบคุณมหาวิทยาลัยศิลปากรที่ทำให้เราทุกคนได้พบกัน และทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จไปด้วยดี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญภาพ..... ฎ

บทที่

1 บทนำ..... 1

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... 4

สมมติฐานของงานวิจัย..... 4

ขอบเขตของงานวิจัย..... 4

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย..... 4

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 5

ยาเสพติด..... 5

ความหมายของยาเสพติด..... 5

ประเภทของยาเสพติด..... 5

ยาบ้า (Amphetamine)..... 6

ความหมายของยาบ้า..... 6

อาการผู้เสพ..... 8

โทษที่ได้รับ..... 8

ระยะเวลาในการออกฤทธิ์..... 9

การวินิจฉัยผู้ที่เสพยาบ้า..... 9

การตรวจยาบ้าในปัสสาวะ..... 9

การตรวจพิสูจน์ขั้นต้น..... 9

การตรวจยืนยันผล..... 12

การตรวจยาบ้าในสารคัดหลั่งอื่น ๆ..... 13

บทที่ หน้า

Gas Chromatography (GC)..... 15
หลักการของเทคนิค Gas Chromatography..... 15
องค์ประกอบสำคัญของเครื่อง GC..... 16
การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ..... 18
การวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วย Internal Standardization Method..... 22
ทบทวนวรรณกรรม..... 23

3 วิธีดำเนินการวิจัย..... 26
เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง..... 26
วิธีการวิจัย..... 27
การวิเคราะห์ข้อมูล..... 32

4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล..... 33
การศึกษาความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์..... 33
การทำกราฟสารละลายมาตรฐาน MA..... 34
การศึกษาความคงอยู่ของสารMA ตามระยะเวลาหลังการเสพ..... 36

5 อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ..... 41

บรรณานุกรม..... 43

ภาคผนวก..... 44
ภาคผนวก ก..... 45

ประวัติผู้วิจัย..... 58

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ระยะเวลาในการออกฤทธิ์หลังจากเสพยาบ้า.....	9
2	ช่วงเวลาน้อยที่สุดและมากสุดหลังการเสพ ที่สามารถตรวจพบยาเสพติดได้ ในปัสสาวะของคนส่วนใหญ่.....	13
3	การเตรียมสารมาตรฐาน MA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อเตรียม Calibration curve.....	27
4	ค่า Retention Time ของสารมาตรฐานจากการวิเคราะห์.....	34
5	อัตราส่วนระหว่างพื้นที่ใต้ peak ของสารมาตรฐาน MA และสารมาตรฐาน DFA (IS) ที่ความเข้มข้นต่างๆของสารมาตรฐาน MA	34
6	Retention time ของสารมาตรฐาน Methamphetamine ที่ความเข้มข้น 0.33 mg/ml....	27
7	ผลการตรวจเปรียบเทียบ MA ในน้ำลาย และในปัสสาวะ โดยการทดสอบแบบใช้ Strip และการทดสอบโดยใช้เทคนิค GC-FID	28
8	ประวัติเบื้องต้นของผู้ต้องหาคดีเสพยาบ้า.....	57

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	โครงสร้างของ Amphetamineและอนุพันธ์.....	3
2	ลักษณะโครงสร้างของ sympathomimetic amines	7
3	ปฏิกิริยาการเปลี่ยน ephedrine เป็น methamphetamine	8
4	การแปลผลในการตรวจด้วย strip test	11
5	เปรียบเทียบระยะเวลาที่สามารถตรวจพบสารเสพติดในชีววัตถุแต่ละชนิด.....	15
6	ส่วนประกอบพื้นฐานของ Gas Chromatography.....	18
7	Chromatogram ที่แสดง retention time.....	19
8	การแยกองค์ประกอบของสารภายในคอลัมน์ของเครื่อง GC.....	19
9	Detector ชนิด Flame Ionization Detector (FID).....	20
10	ลักษณะและส่วนประด้านหน้าของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี Shimadzu รุ่นGC-17A	21
11	ขั้นตอนการทดลอง.....	30
12	ชุดตรวจยาบ้าเบื้องต้น ชนิดรวดเร็วแบบแผ่นตรวจ (Rapid test for screening of methamphetamine)……..	31
13	การอ่านผลการทดสอบด้วย strip test ……	31
14	Chromatogram ของสารมาตรฐาน Amphetamine, Methamphetamine และ Diphenylamine (Internal Standard).....	33
15	กราฟมาตรฐานระหว่างอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐานMA และสารมาตรฐาน DFA กับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน MA (mg/ml)……..	35
16	Chromatogram ของตัวอย่างน้ำลายที่เวลา 0 นาที.....	38
17	Chromatogram ของตัวอย่างน้ำลายที่เวลา 60 นาที.....	39
18	Chromatogram ของตัวอย่างน้ำลายที่ 40B จากผู้ต้องหาคดีเสพยาบ้า.....	40
19	ทดสอบน้ำลายหลังการเสพยาบ้าที่เวลา 0 นาที ด้วย strip test (ครั้งที่ 1).....	47
20	ทดสอบน้ำลายหลังการเสพยาบ้าที่เวลา 15 นาที ด้วย strip test (ครั้งที่ 1)	47
21	ทดสอบน้ำลายหลังการเสพยาบ้าที่เวลา 30 นาที ด้วย strip test (ครั้งที่ 1).....	48

ภาพที่		หน้า
22	ทดสอบปัสสาวะหลังการเสพยาบ้าที่เวลา 90 นาที ด้วย strip test (ครั้งที่ 1)……..	48
23	Chromatogram จากน้ำลายหลังการเสพ ที่เวลา 0 นาที……...	49
24	Chromatogram จากน้ำลายหลังการเสพ ที่เวลา 15 นาที…… ……	50
25	Chromatogram จากน้ำลายหลังการเสพ ที่เวลา 30 นาที…….	51
26	Chromatogram จากน้ำลายหลังการเสพ ที่เวลา 45 นาที…….	52
27	Chromatogram จากน้ำลายหลังการเสพ ที่เวลา 60 นาที.....	53
28	Chromatogram จากน้ำลายหลังการเสพ ที่เวลา 75 นาที……	54
29	Chromatogram จากน้ำลายหลังการเสพ ที่เวลา 0 นาที (ครั้งที่ 2)……...	55
30	Chromatogram จากน้ำลายหลังการเสพที่เวลา 75 นาที (ครั้งที่ 2)……..	56

บทที่ 1

บทนำ

1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ยาบ้า มีการแพร่ระบาดในกลุ่มผู้ใช้แรงงาน กลุ่มนักเรียนนักศึกษา และคนว่างงานทั่วประเทศ ปัจจุบันยาบ้าได้ก่อปัญหาทางสังคมมากมายทั้งปัญหาก่ออาชญากรรม ผลกระทบต่อระบบเศรษฐกิจ โดยที่มีการลักลอบผลิต นำเข้า และจำหน่าย ดังที่ปรากฏเป็นข่าวตามหน้าหนังสือพิมพ์อยู่บ่อย ๆ ยาบ้า คือยากลุ่ม Amphetamines ซึ่งมีสารเคมีหลาย ๆ ชนิดเพราะมีโครงสร้างใกล้เคียงกัน รวมถึง สารAmphetamines สาร Methamphetamines และอนุพันธ์ที่มีสารหมู่ Methylenedioxy (กองควบคุมวัตถุเสพติด สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา)ประเทศไทยเราได้มีการควบคุมโดยจัดให้ทั้ง Amphetamine และอนุพันธุ์ของ Amphetamine เป็นวัตถุที่ออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาทกลุ่มที่ 2 หลังการควบคุมได้มีความพยายามที่จะนำสารตัวอื่นมาใช้ทดแทนเช่น caffeine, ephedrine เพราะมีฤทธิ์กระตุ้นคล้ายคลึงกัน แต่ไม่รุนแรงเท่า และสุดท้ายที่ปัจจุบันถือว่าเป็นตัวแทนของยาบ้าอย่างแท้จริงคือ methamphetamine hydrochloride และเมื่อนำเม็ดยาบ้าที่จำหน่ายในปัจจุบันมาวิเคราะห์พบว่าเป็นmethamphetamine ผสมกับ ephedrine หรือ caffeine ในการวิเคราะห์หาปริมาณ Methamphetamine (MA) สามารถตรวจวิเคราะห์ได้อย่างเฉพาะเจาะจง ซึ่งในการป้องปรามการระบาดของยาเสพติดวิธีหนึ่งที่ได้กระทำมาอย่างต่อเนื่อง ก็คือการสุ่มตรวจหาสารเสพติดในปัสสาวะในประชาชนทั่วไปที่อยู่ในกลุ่มเสี่ยง เช่น นักเรียน นักศึกษา เป็นต้น ดังนั้นกาตรวจหายาบ้าในปัสสาวะจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ผู้เกี่ยวข้องต้องศึกษาให้เข้าใจถึงวิธีและข้อจำกัดในการตรวจเพื่อให้ได้ผลที่ถูกต้อง โดยยาบ้าเมื่อเข้าไปในร่างกาย ร่างกายจะขับออกทางไต พร้อมๆกับปัสสาวะ นอกจากนี้ยังสามารถตรวจจากเลือดได้แต่ไม่นิยม เพราะระดับ Methamphetamine ในเลือดจะต่ำมาก จึงมีโอกาสผิดพลาดสูง และมีค่าใช้จ่ายสูงด้วย ด้วยเหตุนี้ การตรวจยาบ้าจึงนิยมตรวจในปัสสาวะปัจจุบันมีวิธีตรวจหลายวิธี เช่น วิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี (thin-layer chromatography)แก๊สโครมาโตรกราฟฟี/แมสสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (GC/MS) และ

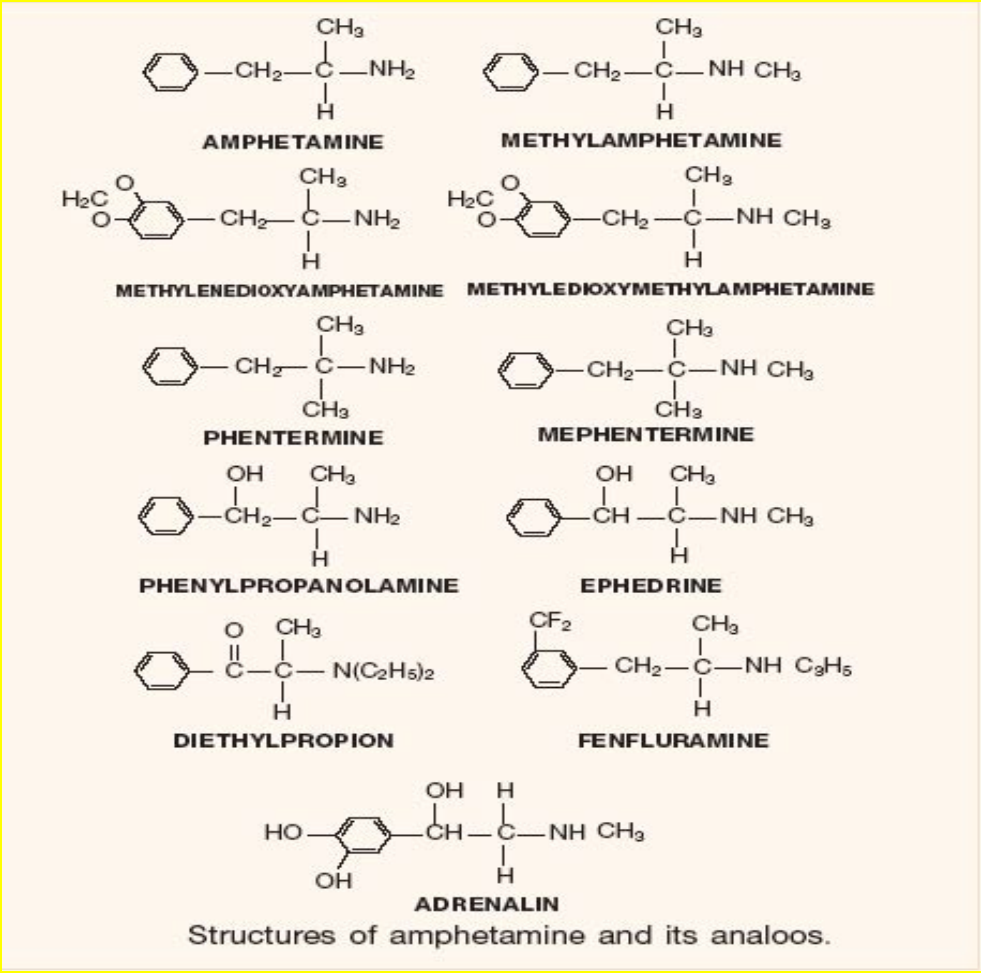
จำเป็นต้องใช้เจ้าหน้าที่ที่มีความชำนาญ ให้ผลการตรวจที่แม่นยำถูกต้องสูง แม้จะมีระดับสารเสพติดในปริมาณต่ำๆก็สามารถตรวจได้

ถ้าทำการตรวจสารเสพติดในเลือด ในการสุ่มตรวจตามสถานที่ต่างๆ จะเกิดความยุ่งยากเนื่องจากการตรวจในจำนวนมากทำให้ไม่สามารถทำได้ทันที และการเก็บตัวอย่างจะทำให้เจ้าหน้าที่ที่มีความชำนาญในการเก็บตัวอย่างเป็นผู้ทำเท่านั้น

อย่างไรก็ตามในการตรวจสารเสพติดจากปัสสาวะก็พบปัญหา ทำให้ผลการตรวจผิดพลาดไป เนื่องจากเหตุผลหลายประการไม่ว่าจะเป็นการใช้น้ำเจือจางลงในปัสสาวะ หรือเติมสารบางอย่างลงไปทำให้ตรวจไม่พบหรืออาจมียาในกลุ่มอื่นที่ทำให้เกิดผลบวกลวง (False Positive) เช่น ยาที่มีสูตรทางเคมีบางส่วนคล้ายสาร Methamphetamine ดังภาพที่ 1 ได้แก่ ยาแก้แพ้-ยาแก้หวัด เช่น ซูโดเอฟรีดีน, คลอร์เฟนนิรามีน และ เฟนิลโพรพานอรามีน ยาแก้ไอ เช่น เดซ์โตรเมโทรแฟน และโคดีอีน ยาที่ออกฤทธิ์ต่อจิตประสาท ได้แก่ อิมิปรามีน อะมิทริปทัยลีน และคลอโปรมาซีน เป็นต้น

2.ปัญหาทางด้านนิติเวชศาสตร์

การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อให้ได้ผลสรุปว่าผู้ป่วยหรือผู้ต้องสงสัยได้รับยากลุ่ม Amphetamine หรือไม่ สามารถทำได้เป็น 2 ระดับ คือ การตรวจระดับแรกหรือการตรวจแบบคัดกรอง (screening test) และการตรวจแบบเฉพาะเพื่อยืนยันผลหลังได้รับการคัดกรอง (specific test) การตรวจแบบคัดกรองจะต้องมีข้อได้เปรียบคือ ตรวจได้ง่าย เครื่องมือน้อย ความไวสูง (sensitivity) ครอบคลุมสารกลุ่มที่ต้องสงสัยจำนวนมาก แต่ข้อเสียคือ ความจำเพาะ (specificity) ต่ำ คุณภาพน้ำยาไม่คงที่ มีความคลาดเคลื่อนพอสมควร ไม่สามารถนำมาแทนการตรวจเพื่อยืนยันผลหรือผลทางนิติเวชได้ การตรวจแบบเฉพาะจะมีข้อได้เปรียบคือ เป็นการตรวจที่มีความจำเพาะสูง สามารถบอกทั้งปริมาณและคุณภาพของสารที่ต้องสงสัยได้ ผิดพลาดต่ำ สามารถแยกสารที่ให้ผลตรวจใกล้เคียงในการตรวจแบบคัดกรองออกไปได้ แต่ข้อเสียคือ เครื่องมือราคาแพงและเคลื่อนย้ายยาก ต้องใช้น้ำยาหลายชนิดประกอบการทดลอง ค่าทำการตรวจแพง โดยทั่วไปจะทำการตรวจตัวอย่างเพื่อคัดกรองตัวอย่างที่ให้ผลบวกก่อน เช่น การตรวจ color test เป็นการตรวจที่อาศัยหลักการเกิดสีในตัวอย่างปัสสาวะ ซึ่งรู้จักกันอย่างแพร่หลายในชื่อชุดตรวจปัสสาวะสีม่วง ซึ่งต้องมีปริมาณของสารในกลุ่ม MA ตั้งแต่ 3,000 ng ขึ้นไปในปัสสาวะ 1 ml และเมื่อพบผลบวกซึ่งแสดงถึงการมี MA ในปัสสาวะ จากนั้นจึงนำไปทำการทดสอบแบบที่ 2 คือการตรวจขั้นยืนยันผลซึ่งต้องใช้เครื่องมือวิเคราะห์ (confirmation test) เป็นขั้นตอนการตรวจระดับห้องปฏิบัติการเพื่อให้ได้ผลการตรวจที่ถูกต้องแน่นอน ซึ่งมีความแม่นยำมากกว่าการทำ screening test



ภาพที่ 1 โครงสร้างของAmphetamine และอนุพันธ์

ที่มา : ปัสสาวะสีม่วง, [ออนไลน์]. เข้าถึงเมื่อ 19 มีนาคม 2553 เข้าถึงได้จาก http://www.sirirajmedj.com/content_table.php?journal_id=8

ขั้นตอนการตรวจที่อาจเกิดการผิดพลาดคือ การเก็บปัสสาวะ ซึ่งอาจมีการเปลี่ยนแปลงบุคคล การเติมสารพิเศษเพื่อเบี่ยงเบนการตรวจ หรือทำลายชุดตรวจ ซึ่งการตรวจคัดกรองจะมีการตรวจเพิ่มคือการอุณหภูมิของปัสสาวะ การตรวจความเป็นกรด - ด่าง การตรวจความถ่วงจำเพาะ การตรวจเช็คสีและกลิ่นที่ผิดปกติก่อนการตรวจทุกครั้ง ในการตรวจค้นเพื่อการจับกุมจะต้องมีการพิสูจน์ตัวบุคคลและมีการควบคุมการเก็บตัวอย่างสารอย่างเป็นระบบ

ในการเก็บตัวอย่างปัสสาวะผู้เข้ารับการตรวจเป็นผู้เก็บตัวอย่างเอง เจ้าหน้าที่ที่ทำการตรวจไม่สามารถสังเกตเห็นได้ รวมไปถึงหากผู้เสพเพิ่งเสพสารเสพติดมาใหม่ ๆ ภายในเวลาไม่ถึง

45 นาที ก็ทำให้ไม่สามารถตรวจพบได้เช่นกัน และในกรณีที่ต้องทำการตรวจหาสารเสพติดในคนจำนวนมากตามสถานบันเทิงต่างๆ จะเสียเวลามาก หรือผู้ที่ถูกตรวจอาจจะเพิ่งปัสสาวะไปแล้ว

ในงานวิจัยนี้ การตรวจหา MA ในน้ำลาย โดยคาดว่าการตรวจในน้ำลาย จะสามารถตรวจพบ MA ได้เช่นเดียวกับการตรวจในปัสสาวะ เนื่องจากการเก็บตัวอย่างน้ำลาย สามารถเก็บง่าย สะดวก รวดเร็ว

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

2.1 เพื่อศึกษาและวิเคราะห์หา MA ในน้ำลาย ด้วยเทคนิค Gas Chromatography-flame ionization detector (GC-FID)

2.2 ศึกษาระยะเวลาที่สามารถตรวจพบสาร MA ในน้ำลาย ด้วยเทคนิค Gas Chromatography-flame ionization detector (GC-FID)

3. สมมติฐานของการวิจัย

3.1 ปริมาณ MA ที่พบในน้ำลาย

3.2 ระยะเวลาของ MA คงอยู่ในน้ำลาย หลังจากการเสพยาบ้า

4. ขอบเขตของการวิจัย

4.1 ศึกษาการตรวจพิสูจน์เพื่อหาสารกลุ่ม MA ในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณแบบ Internal Standardization Method ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟฟี

4.2 ศึกษาเวลาที่สามารถตรวจพบสารเสพติดในน้ำลายหลังเสพใหม่ ๆ ผ่านไป 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 และ 120 นาที

5. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

ประโยชน์ของงานวิจัยนี้สามารถที่จะยืนยันการตรวจสอบหา MA ในน้ำลายได้ด้วยเทคนิค Gas Chromatography-flame ionization detector (GC-FID)

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. ยาเสพติด

1.1 ความหมายของยาเสพติด

สิ่งเสพติด หรือที่เรียกกันว่า “ยาเสพติด” ในความหมายของ องค์การอนามัยโลก (World Health Organization or WHO) จะหมายถึง ยาหรือสารเคมี หรือวัตถุชนิดใด ๆ ที่อาจเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ หรือจากการสังเคราะห์ ซึ่งเมื่อเสพเข้าสู่ร่างกายไม่ว่าจะโดยวิธีการกิน ดม สูบ ฉีด หรือวิธีใดๆก็ตาม เป็นช่วงระยะเวลาๆ หรือนานติดกัน จนทำให้ร่างกายทรุดโทรมและตกอยู่ไต้อำนาจหรือเป็นทาสของสิ่งนั้น ทั้งด้านร่างกายและจิตใจ หรือจิตใจเพียงอย่างเดียว เนื่องจาก

1.1.1 ต้องเพิ่มขนาดการเสพมากขึ้นเรื่อย ๆ เพราะเมื่อเสพเข้าไปสักระยะจะเกิดภาวะดื้อยา ปริมาณยาเดิมไม่สามารถทำให้เมาได้

1.1.2 เมื่อถึงเวลาเสพ หากไม่ได้เสพจะทำให้เกิดอาการขาดยา ทำให้ทรมานทั้งทางด้านร่างกายและจิตใจ หรือจิตใจเพียงอย่างเดียว

1.2 ประเภทของยาเสพติด

ยาเสพติดที่พบในปัจจุบันสามารถจัดกลุ่ม ได้ดังนี้

1.2.1 การออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลาง (central nervous system)

1.2.1.1 ออกฤทธิ์กดประสาท ได้แก่ ฝิ่น มอร์ฟีน เฮโรอีน ยากล่อมประสาท สารระเหย ยานอนหลับ กระท่อม (higher doses)

1.2.1.2 ออกฤทธิ์กระตุ้นประสาท ได้แก่ แอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน กระท่อม (small doses) โคคาอีน ยาอี

1.2.1.3 ออกฤทธิ์หลอนประสาท ได้แก่ แอลเอสดี ดีเอ็มที เห็ดขี้ควาย ยาเค

1.2.1.4 ออกฤทธิ์ผสมผสาน (อาจกด กระตุ้น หรือหลอนประสาทร่วมกัน) ได้แก่ กัญชา

1.2.2 ตามแหล่งที่มาของยาเสพติด แบ่งตามแหล่งที่เกิด ซึ่งจะแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

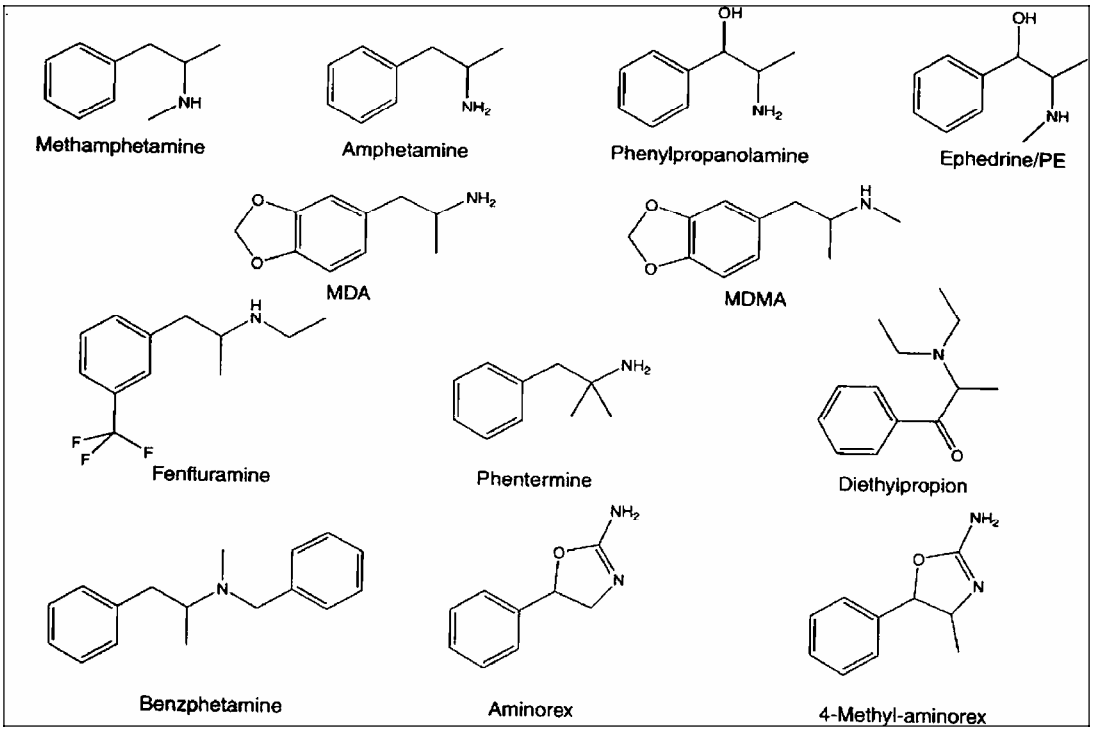
1.2.2.1 จากธรรมชาติ เช่น ฝิ่น มอร์ฟีน กระท่อม กัญชา ฯลฯ

1.2.2.2 จากการสังเคราะห์ เช่น เฮโรอีน แอมเฟตามีน ยาอี เอ็คตาซี

2. ยาบ้า (Amphetamine)

2.1 ความหมายของยาบ้า

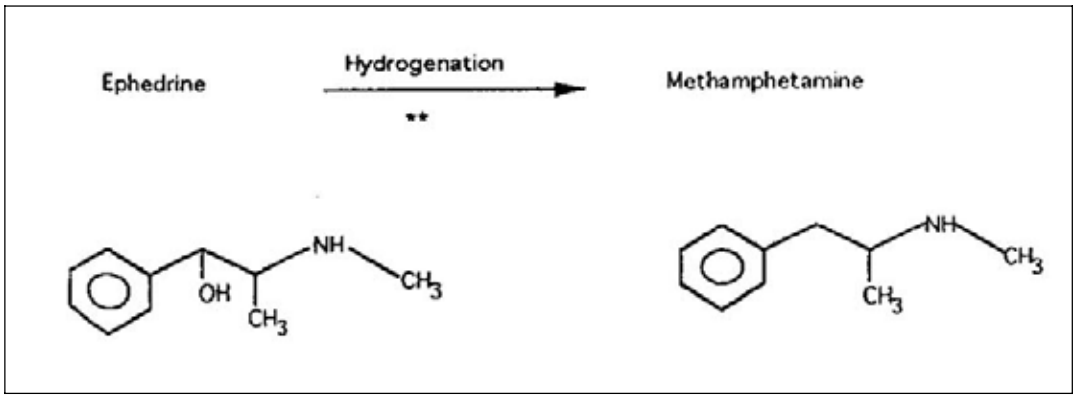
ยาบ้า นับว่าเป็นยาเสพติดที่เป็นปัญหาในสังคมไทยปัจจุบันเนื่องจากมีการใช้กันอย่างกว้างขวางในกลุ่มผู้ใช้แรงงาน ผู้ขับขี่ยานพาหนะ ตลอดจนระบาดไปในกลุ่มเยาวชน ยาบ้าที่ระบาดในประเทศไทยมีลักษณะเป็นเม็ดกลม เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 – 0.7 เซนติเมตร หนาประมาณ 0.2 – 0.3 เซนติเมตร มีหลายสี หลายกลิ่น เช่น กลิ่นสตรอเบอร์รี่ กลิ่นช็อกโกแลต กลิ่นใบเตย เป็นต้น ในปัจจุบันปัญหาของประเทศไทย คือ Methamphetamine Hydrochloride ซึ่งระเหิดได้ง่ายเมื่อใช้ไฟหรือความร้อนจึงสะดวกในการเผาและสูบ เป็นยาประเภทกระตุ้นระบบประสาททำให้ไม่ง่วงนอน ส่วนประกอบที่สำคัญในเม็ดยาบ้าคือสาร Methamphetamine พบถึงร้อยละ 95.5 ของตัวยาบ้าในตลาดมืด 335 ตัวอย่างที่สุ่มมาตรวจ (ชนิด พลานุเวช และคณะ 2540 : 73-80) โดยมี Methamphetamine เฉลี่ย 17.2 + 5.1 มิลลิกรัม ต่อเม็ด รองลงมาพบสาร caffeine เป็นส่วนประกอบถึงร้อยละ 91 ของตัวอย่างที่นำมาตรวจ โดยร้อยละ 67.5 มีประมาณ caffeine อยู่ระหว่าง 45-60 มิลลิกรัมต่อเม็ด นอกจากนี้อาจมีสาร ephedrine เป็นส่วนประกอบในบางเม็ด มีเพียง 3 ตัวอย่างจาก 386 ตัวอย่างของยาบ้าที่มีเฮโรอีนผสมอยู่ประมาณ 1.1, 1.5 และ 2.3 มิลลิกรัม (ชนิด พลานุเวช และคณะ 2540 : 81-87) สามารถเสพเข้าสู่ร่างกายโดยวิธีกินหรือวิธีสูบควัน ในบางประเทศนิยมเสพยาบ้าด้วยการฉีดเข้าเส้นเลือด โดยการเสพยาบ้าในปริมาณมาก ๆ จนเกินขนาด (overdoes) อาจทำให้ผู้ป่วยชักหมดสติ การหายใจถูกกด และเสียชีวิต ปริมาณ Methamphetamine (MA) ต่ำสุดที่ทำให้ตายได้ในการเสพครั้งเดียวในคนที่ไม่ติดยาคือ ประมาณ 200 มิลลิกรัม หรือประมาณ 10 เม็ด ของยาบ้าที่อยู่ในประเทศไทย



ภาพที่ 2 ลักษณะโครงสร้างของ sympathomimetic amines

ที่มา : A. Dasgupta. “Interpretation of Amphetamines Screening and Confirmation testing.” Handbook of Drug Monitoring Methods(2008)

ยาบ้าอย่างแท้จริงคือ Methamphetamine hydrochloride และเมื่อนำเม็ดยาบ้าที่จำหน่ายในปัจจุบันมาวิเคราะห์พบว่า เป็น methamphetamine ผสมกับ ephedrine หรือ caffeine amphetamine, methamphetamine, ephedrine และ pseudoephedrine มีสูตรโครงสร้างเป็นลักษณะของ phenyl amine เหมือนกัน แตกต่างกันที่ side chain บางจุด เช่น methamphetamine และ ephedrine จะต่างกันเฉพาะกลุ่ม hydroxy ทำให้สามารถเปลี่ยน ephedrine เป็น methamphetamine ด้วยปฏิกิริยาง่ายๆ (ภาพที่ 2) ดังนั้น ephedrine จึงเป็นสารตั้งต้น (precursor) ที่สำคัญในการผลิต methamphetamine ซึ่ง methamphetamine จะมีอยู่ 2 isomers คือD-methamphetamine และL-enantiomer ซึ่งลักษณะของ D-methamphetamine เป็นแบบที่พบเห็นและมีการออกฤทธิ์ต่อระบบประสาท



ภาพที่ 3 ปฏิกิริยาการเปลี่ยน ephedrine เป็น methamphetamine
ที่มา : สรุปจากการประชุมวิชาการรามาธิบดี ,[ออนไลน์] เข้าถึงเมื่อ 22 มีนาคม 2553 เข้าถึงได้จาก http://www2.ra.mahidol.ac.th/poisoncenter/bulletin/bul97/v5n2/Amphetamine.html

Methamphetamine เป็นสารเสพติดประเภท Amphetamine เป็นสารเสพติดให้โทษร้ายแรงประเภทที่ 1 ตามพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษปี พ.ศ. 2522 มีฤทธิ์กระตุ้นระบบประสาทส่วนกลาง และระบบประสาทส่วนปลาย ทำให้ตื่นตัว กระปรี้กระเปร่า (วิโรจน์ สุ่มใหญ่ 2543) Methamphetamine ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลางสูงกว่า Amphetamine เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะถูกขับออกทางปัสสาวะเป็นส่วนใหญ่ ในรูปของสารเมทาบอไลท์ ระยะเวลาในการกำจัดยายังขึ้นกับความเป็นกรด-เบสของปัสสาวะ (Moore, 2003)

2.2 อาการผู้เสพ

ผู้เสพจะมีอาการหัวใจเต้นเร็ว ความดันโลหิตสูงขึ้น ไม่รู้สึกอ่อนเพลีย รู้สึกมีกำลังมาก ไม่อยากรับประทานอาหารปากแห้ง ชอบเลียริมฝีปาก อาจทำให้เกิดความครื้มใจ ครึกครื้น หรือเกิดอาการเคลิบเคลิ้ม ประสาทหลอน หลงผิด เกิดความวิตกกังวล หรือเกิดอาการ โรคจิต (psychosis) ขึ้น

2.3 โทษที่ได้รับ

ทำให้เกิดภาวะอุณหภูมิในร่างกายสูงมากกว่าปกติ หรือเลือดออกในสมองได้ ทำให้ความดันโลหิตสูง สุขภาพทรุดโทรม ประสาทเครียดถึงขั้นโรคจิตหวาดระแวง ส่วนผลทางอ้อมที่ได้รับคือ จะไปกดภูมิคุ้มกันของร่างกาย หากพิจารณาว่ายาชนิดใดจะออกฤทธิ์ได้แรงกว่ากันต้องพิจารณาจากวิธีการเสพ

2.4 ระยะเวลาในการออกฤทธิ์

ตารางที่ 1 ระยะเวลาในการออกฤทธิ์หลังจากเสพยาบ้า

วิธีการเสพ	การออกฤทธิ์
วิธีการสูบควันหรือไอระเหย	ออกฤทธิ์ทันที
วิธีสูดผงยาเข้าโพรงจมูก	ออกฤทธิ์ภายใน 3-5 วินาที
วิธีฉีดเข้าหลอดเลือดดำ	ออกฤทธิ์ภายใน 15-30 วินาที
วิธีกิน	ออกฤทธิ์ภายใน 30 นาที

โดยสามารถออกฤทธิ์ได้อย่างยาวนาน 8-24 ชั่วโมง ดังนั้นการเสพซ้ำหลายๆครั้งภายใน 1 วัน จะส่งผลให้มีปริมาณ MA ในเลือดสูงขึ้น

2.5 การวินิจฉัยผู้ที่เสพยาบ้า

นอกจากการซักถามประวัติและการตรวจร่างกายว่ามีอาการที่เกิดจากฤทธิ์ของยาบ้าหรือไม่แล้ว การยืนยันว่ามีการเสพยาบ้าโดยตรวจทางห้องปฏิบัติการ คือการตรวจหาสาร MA ในปัสสาวะซึ่งจะเริ่มตรวจพบได้ภายใน 1 ชั่วโมงหลังการเสพ ในคนปกติทั่วไปพบว่า 70% ของยาบ้าที่เข้าสู่ร่างกายจะขับออกภายใน 1 วัน และ 90% ของยาบ้าที่เข้าสู่ร่างกายจะขับออกในปัสสาวะภายในเวลาประมาณ 3-4 วัน สภาพความเป็นกรดด่างของปัสสาวะมีผลต่อการขับออกของยาบ้า โดยปัสสาวะมีความเป็นกรดมากจะทำให้ MA ถูกขับออกมาได้มากขึ้นและเร็วขึ้น

3. การตรวจยาบ้าในปัสสาวะ

แบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ

3.1 การตรวจพิสูจน์ขั้นต้น (Screening Test)

ที่นิยมใช้มี 2 วิธี

3.1.1. Color Test (ชุดน้ำยาตรวจยาบ้าในปัสสาวะของกระทรวงสาธารณสุข) หากมีสารในกลุ่มยาบ้าอยู่ในปัสสาวะ น้ำยาที่ทดสอบจะให้สีม่วงหรือม่วงแดงสารเสพติดในกลุ่มอื่น ๆ บางตัวก็ให้ผลบวกกับชุดตรวจนี้ได้ เช่น เฮโรอีน มอร์ฟีน โคเคอีน เคตามีน วิธี color test นี้มีความจำเพาะต่อการตรวจน้อยมีโอกาสเกิดผลบวกเท็จได้สูงโดยหากนำปัสสาวะของผู้ที่ได้รับยาบางอย่าง เช่น ยาแก้หวัดที่มีองค์ประกอบของ Pseudoephedrine, Phenylpropanolamine, ยาลดความอ้วน เช่น Phentermine, ยารักษาโรคกระเพาะอาหารที่มีตัวยา Ranitidine, Cimetidine, ยารักษาโรคมาลาเรียที่มี Quinine หรือ Chloroquine ยาแก้อาการซึมเศร้า เช่น Amineptin, Mitryptyline จะทำให้น้ำยาเกิดสีม่วงเช่นกัน

วิธีทำการทดสอบ

3.1.1.1 นำปัสสาวะของผู้ที่ต้องการตรวจสอบมาใส่ภาชนะที่สะอาด

3.1.1.2 ใช้หลอดดูดที่แนบมา ดูดปัสสาวะหยดลงในหลอดทดสอบ จนถึงขีดที่กำหนด (ประมาณ 1 ml)

3.1.1.3 ปิดฝาหลอดให้สนิท เขย่าหลอดขึ้นลงไปมาประมาณ 5 - 10 เที่ยว เพื่อให้สารเคมีในหลอด ละลายจนหมด

3.1.1.4 ใช้กรรไกรตัดปลายหลอดบรรจุน้ำยาสำหรับทดสอบ

3.1.1.5 เปิดฝาหลอดทดสอบ และบีบหลอดน้ำยาลงไปจนหมด หรือในกรณีเป็นชุดแบบขวดหยดให้ใช้ที่ดูด หยดน้ำยาลงไปประมาณ 5 หยด ปิดฝาหลอดทดสอบให้สนิท

3.1.1.6 สังเกตสีของน้ำยาเฉพาะที่ก้นหลอดทดสอบ โดยเปรียบเทียบกับตารางสี

การแปลผลตรวจ

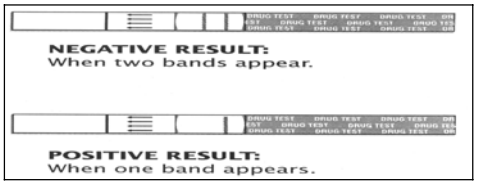
ระดับสีปกติ ไม่จัดว่ามีสารเสพติดในตัวอย่างปัสสาวะ
ไม่มีสารเสพติดในตัวอย่างปัสสาวะ = ชั้นล่างเป็นสีเหลือง / เหลืองเขียว / น้ำตาลอ่อน

ระดับสีไม่ปกติ ที่สงสัยว่าจะมีสารเสพติดในตัวอย่าง
สงสัยว่าจะมี Methamphetamine (ยาบ้า) ในตัวอย่างปัสสาวะ = ชั้นล่าง จะเป็นสีม่วงแดง-ม่วงน้ำเงิน เนื่องจากมีสารเคมี และยาบางชนิด เช่น ยาลดน้ำมูก ยาแก้แพ้ ยาแก้หวัด สามารถให้ผลบวกได้เช่นกัน แต่ต้องมีการทานติดต่อกันสักระยะหนึ่งก่อนที่จะมีการนำตัวอย่างปัสสาวะมาทำการทดสอบ

การตัดสินใจในการแปลผล จึงต้องใช้ประกอบรวมกับการซักถามประวัติ อาการและพฤติกรรมร่วมด้วย ในกรณีที่ต้องการผลการยืนยันให้แน่นอนมากขึ้น ให้นำตัวอย่างปัสสาวะอันเดิมไปทำการตรวจต่อในขั้นที่ 2 หรือ ส่งต่อยังโรงพยาบาลข้างต้นเพื่อทำการพิสูจน์ยืนยันต่อไป โอกาสให้ผลบวกปลอมโดยวิธีนี้ประมาณ 5- 10 %

3.1.2 Immunoassay Test Kit มีความจำเพาะต่อสารที่ต้องการตรวจดีขึ้นกว่าวิธี color test และมีความไวในการตรวจมากกว่า สามารถตรวจได้ถึงแม้ในปัสสาวะจะมีปริมาณยาบ้าน้อยกว่าการตรวจด้วยวิธี color test

โดยชุดตรวจชนิดเร็วแบบขั้นตอนเดียว สามารถอ่านผลได้ด้วยตาเปล่าใช้สำหรับตรวจหา Methamphetamineในปัสสาวะตั้งแต่ความเข้มข้น 1,000 ng/ml ซึ่งในตลับทดสอบจะมี Methamphetamine ที่จับกับโปรตีน เคลือบอยู่ (drug-protein conjugate) Methamphetamineนี้จะแย่งกับ Methamphetamine และเมทตาบอไลท์ ที่มีอยู่ในปัสสาวะ ในการจับกับแอนติบอดีที่มีอยู่จำกัด ดังนั้น ในตลับทดสอบประกอบด้วย แผ่นทดสอบที่เคลือบด้วย drug-protein conjugate ในตำแหน่ง “T” และมีแอนติบอดีต่อMethamphetamine ที่ติดฉลากด้วยอนุภาคโกลด์ (antibody-dye conjugate) อยู่ระหว่างส่วนดูดซับกับแผ่นทดสอบ ซึ่งแอนติบอดีเหล่านี้ จะช่วยในการตรวจหา Methamphetamine และเมตาบอไลท์ในปัสสาวะ ได้อย่างจำเพาะเจาะจงด้วยความไวสูง



ภาพที่ 4 การแปลผลในการตรวจด้วย strip test

ที่มา: ชุดทดสอบหาสารเสพติดในปัสสาวะ, [ออนไลน์] เข้าถึงเมื่อ 23 มีนาคม 2553 เข้าถึงได้จาก http://businesschat.reocities.com/HotSprings/oasis/6080/drugabus.htm

การตรวจเบื้องต้นนอกจากจะมีคุณสมบัติดังที่กล่าวแล้วยังมีคุณสมบัติที่มีความไว (Sensitivity) สูง แต่มีความจำเพาะ (Specificity) อาจไม่สูงนัก

ข้อจำกัดของการทดสอบ

1.การทดสอบนี้ให้ผลการวิเคราะห์ในเบื้องต้นเท่านั้น ในกรณีที่ต้องการผลยืนยันแน่นอนต้องนำวิธีทางเคมีที่มีความจำเพาะมากกว่ามาใช้ เช่น Gas Chromatography (GC)/Mass Spectrophotometry (MS)เมื่อผลการตรวจเบื้องต้นเป็นบวกควรนำการพิจารณาอาการทางคลีนิคและการตัดสินใจของผู้เชี่ยวชาญมาประกอบกับผลการทดสอบ

2.การทดสอบนี้เป็นการทดสอบเบื้องต้นที่ให้ผลเชิงคุณภาพไม่ใช่เชิงปริมาณ

3.แม้ว่าชุดทดสอบนี้จะมีความเที่ยงตรง แต่บางครั้งอาจถูกรบกวนจากสารต่างๆในปัสสาวะ ได้ทำให้ผลผิดพลาดไป

4. สารบางอย่าง เช่น สารฟอกขาวหรือสารออกซิไดล์ซิงอย่างแรง ทำให้ผลการทดสอบผิดพลาดได้จึงควรเก็บตัวอย่างตรวจและทำการทดสอบใหม่บางครั้งการทดสอบนี้อาจให้ผลบวกได้ทั้งๆที่ตัวอย่างตรวจมีปริมาณยาบ้าและเมตาบอไลด์ น้อยกว่า 1,000 นก/มล.

3.2 การตรวจยืนยันผล (Confirmation Test)

อาศัยเทคนิคการตรวจที่มีความไวและความจำเพาะสูง ได้แก่ วิธี TLC (Thin – Layer Chromatography) และ วิธี GC (Gas Chromatography)

การตรวจยืนยันผลเป็นการตรวจวิเคราะห์ที่สามารถแยกชนิด และระบุชื่อของยาเสพติดหรือยาที่ตรวจพบได้อย่างถูกต้องแม่นยำและมีความละเอียดสูง คือ สามารถตรวจหาสารเสพติดที่มีปริมาณน้อยๆได้ จึงใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจยืนยันผลเพื่อยืนยันว่าการตรวจกรองขั้นต้นมีความถูกต้อง แต่การตรวจค่อนข้างยุ่งยาก ต้องใช้ผู้มีประสบการณ์และความชำนาญเฉพาะทาง ใช้เวลานานและเสียค่าใช้จ่ายสูง

โดยการแปลผลการตรวจพบสารเสพติดในร่างกาย (บวก/พบ) อาจแสดง หรือ อาจบอกได้ว่าผู้รับการตรวจได้ใช้สารเสพติดตัวที่ตรวจพบไม่นานก่อนเก็บปัสสาวะ แต่จะไม่สามารถระบุได้ว่าเสพเข้าสู้ร่างกายด้วยวิธีใด เสพในปริมาณมากหรือน้อย และการตรวจไม่พบสารเสพติดในร่างกาย (ลบ/ไม่พบ) นั้น อาจเกิดจากผู้รับการตรวจไม่ได้ใช้สารเสพติดชนิดที่ทำการตรวจหา หรือเกิดจากผู้รับการตรวจใช้สารเสพติดมาก่อนหน้ารับการตรวจปัสสาวะหลายวัน จนทำให้ปริมาณสารเสพติดที่ค้างอยู่ในปัสสาวะเหลือน้อยจนตรวจไม่พบ

ดังนั้นผู้รับการตรวจพิสูจน์รายใดมีพฤติกรรมน่าสงสัย ไม่ควรตรวจปัสสาวะเพียงครั้งเดียว ควรตรวจเป็นระยะๆ เพื่อติดตามให้แน่ใจว่าใช้สารเสพติดจริงหรือไม่โดยระยะเวลาที่สามารถตรวจสารเสพติดแต่ละชนิดในปัสสาวะแตกต่างกัน (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ช่วงเวลาน้อยสุดและมากสุดหลังการเสพที่สามารถตรวจพบยาเสพติดได้ในปัสสาวะของคนส่วนใหญ่

ยาเสพติด	ช่วงเวลาที่น้อยที่สุด	ช่วงเวลาที่มากที่สุด
แอลกอฮอล์	0-4 ชั่วโมง	12-24 ชั่วโมง
นิโคติน	4-6 ชั่วโมง	7-10 วัน
กลุ่มแอมเฟตามีน	2-7 ชั่วโมง	2-4 วัน
กลุ่มโอปิเอท(เฮโรอีน ฝิ่น มอร์ฟีน)	2 ชั่วโมง	2-3 วัน
กัญชา	6-18 ชั่วโมง	ใช้เป็นครั้งคราว 1-10 วัน ใช้ประจำ 30 วันหรือนานกว่า
โคเคน	1-4 ชั่วโมง	2-3 วัน 2-4 วัน
เมธาโดน	2 ชั่วโมง	3-8 วัน
เฟนไซคลิดีน	5-7 ชั่วโมง	3 วัน
กลุ่มบาร์บิทูเรต	2-4 ชั่วโมง	ฟีโนบาร์บิทอล 2 สัปดาห์ หรือนานกว่า
กลุ่มเบนไซไดอาซีปีน	2-7 ชั่วโมง	1 วัน - 2 สัปดาห์

4. การตรวจยาบ้าในสารคัดหลั่งอื่น ๆ

การตรวจการใช้สารเสพติดโดยตรวจหาว่ามีสารเสพติดหรืออนุพันธ์ของสารเสพติดนั้นในร่างกาย โดยทั่วไปจะตรวจหาสารเสพติดจากเลือดหรือปัสสาวะของผู้ที่สงสัยว่าเสพสารเสพติด การตรวจหาสารเสพติดในเลือดมีข้อดีคือ ช่วยระบุถึงการเพิ่งใช้สารมาในระยะเวลาไม่นาน โดยทั่วไปจะตรวจพบสารในเลือดได้ตั้งแต่ 1 ชั่วโมง ถึง 7-8 ชั่วโมง ขึ้นไป สารเสพติดแต่ละชนิดเมื่อระยะเวลาผ่านไป สารเสพติดในเลือดจะถูกเปลี่ยนแปลงและขับถ่ายออกจากร่างกายซึ่งส่วนใหญ่จะถูกขับออกทางปัสสาวะ ทำให้สามารถตรวจพบสารเสพติดหรืออนุพันธ์ได้ในปัสสาวะภายใน 24 ชั่วโมง หลังเสพ และจะตรวจพบได้เฉลี่ยประมาณ 3 วัน หลังการเสพครั้งสุดท้าย ซึ่งในปัจจุบันได้มีทางเลือกในการตรวจสารเสพติด คือ

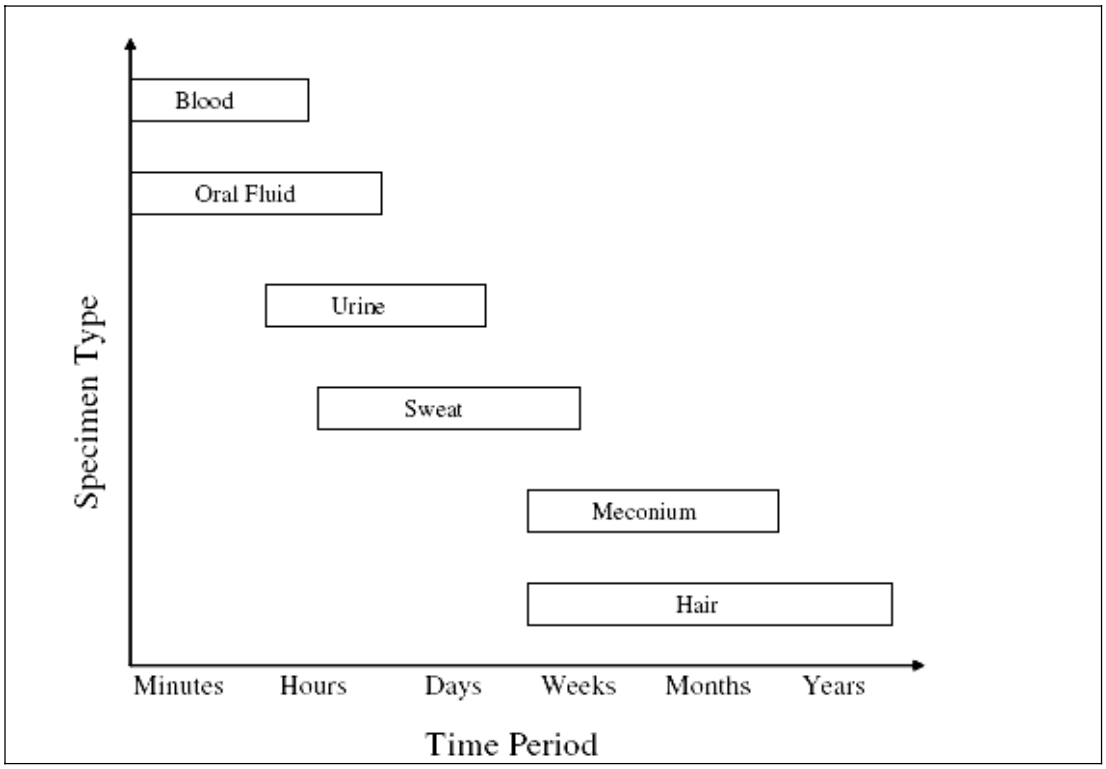
4.1ได้มีการพัฒนาการตรวจหาสารเสพติดจากชีววัตถุอื่น ๆ เพื่อช่วยในการวินิจฉัยการเสพสารเสพติด เช่นการตรวจจากน้ำลาย จากเส้นผม เป็นต้น

4.2 มีการพัฒนาวิธีการตรวจหาสารเสพติดต่าง ๆ ในเส้นผม ด้วยวิธีที่มีความรวดเร็วมากขึ้น เช่น การตรวจหาสารเสพติดกลุ่มอนุพันธ์เฮโรอีนด้วยวิธีวิเคราะห์ที่เรียกว่า Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS)

4.3 การตรวจหาสารเสพติดกลุ่ม Methamphetamine ด้วยวิธี GC/MS

4.4 การตรวจหาสารเสพติดกลุ่มAmphetamine, Methamphetamine, Metthylenedioxy methamphetamine (ส่วนประกอบในยาอี) โคเคน เคตามีน ด้วยวิธี Solid Phase Microextraction ตามด้วย GC/MS

ยาบ้า สามารถเสพเข้าสู่ ร่างกายทั้งการรับประทาน ฉีดเข้าเส้นเลือด และสูดดมไอ แต่การออกฤทธิ์และความรุนแรงจะแตกต่างกัน หากใช้โดยวิธีรับประทานกว่ายาจะผ่านกระเพาะอาหาร เข้าสู่กระแสเลือดแล้วไปออกฤทธิ์ที่สมองต้องใช้ระยะเวลาประมาณ 20-30 นาที และยาบางส่วนจะถูกทำลายที่กระเพาะอาหารและที่ตับ ทำให้ความรุนแรงของยาลดน้อยลง การฉีดเข้าเส้นเลือด และการสูบไอ ฤทธิ์ของยาจะผ่านเข้าสู่สมองเร็วมากในระยะเวลาไม่กี่วินาที ทำให้ผู้เสพเกิดอาการกระชุ่มกระชวย และมีความสุข (Euphoria) ทันที เป็นเหตุให้ผู้เสพติดใจในฤทธิ์ของยาอย่างรวดเร็ว ยาบ้าจะออกฤทธิ์อยู่ในร่างกายประมาณ 1 วัน ขึ้นอยู่กับปริมาณการขับถ่ายออกจากร่างกาย การขับจะเร็วกว่าเมื่อปัสสาวะเป็นกรด ดังนั้นการ รักษาผู้ที่มีอาการจากฤทธิ์ยาบ้า เราจึงให้วิตามินซี หรือสารอื่นๆ ที่ทำให้ปัสสาวะเป็นกรด เพื่อเร่งการ ขับถ่ายทางปัสสาวะ การตรวจสารเสพติดจึงสามารถตรวจได้ในชีววัตถุหลายชนิด ซึ่งขึ้นอยู่กับวิธีการเสพและระยะเวลาในการเสพ ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 5 เปรียบเทียบระยะเวลาที่สามารถตรวจพบสารเสพติดในชีววัตถุแต่ละชนิด
ที่มา : A. Dasgupta Humana, “Hair Oral Fluid Sweat and Meconium testing for drug of abuse”, Handbook of Drug Monitoring Methods ,2008 .

5. Gas Chromatography (GC)

5.1 หลักการของเทคนิค Gas Chromatography (GC)

Gas Chromatography (GC) เป็นเทคนิคการแยกสารพวกที่มี polarity ต่ำ ซึ่งอยู่ในสภาวะที่เป็นแก๊สหรือไอ โดยใช้ carrier gas เป็น mobile phase และ nonvolatile liquid หรือ solid เป็น stationary phase เทคนิค GC ใช้หลัก partition และ adsorption ในการแยกสารออกจากกัน ดังภาพที่ 5 ซึ่งมี sensitivity สูง และให้ผลในการแยกสารที่ดี ถ้า stationary phase เป็น active solid เรียกเทคนิคนี้ว่า Gas Solid Chromatography (GSC) ถ้า stationary phase เป็น liquid ที่เคลือบบางๆ บนผิวของ inert granular solid support เทคนิคนี้เรียกว่า Gas Liquid Chromatography (GLC) ในการวิเคราะห์สารด้วยเทคนิค gas chromatography ว่าเป็นสารอะไร มักใช้การเปรียบเทียบค่า retention time ของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐาน

5.1.1 Gas Solid Chromatography (GSC)

ใช้หลักการ adsorption โดย stationary phase เป็นของแข็ง ที่สามารถดูดซับสารที่เป็นแก๊สหรือไอที่ต้องการแยกได้ ใช้แยกสารที่มีโมเลกุลเล็กๆที่สามารถเปลี่ยนเป็นแก๊สหรือไอ โดยมี active solids (adsorptive particles) ที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์เป็น molecular sieves หรือ porous polymers, silica gel, alumina และ activated carbon

5.1.2 Gas Liquid Chromatography (GLC)

ใช้หลักการ partition สารผสมที่ต้องการแยกอยู่ในสภาพที่เป็น แก๊ส หรือไอ เมื่อผ่านเข้าสู่คอลัมน์จะแยกออกจากกันโดยความแตกต่างในการกระจายตัวอยู่ใน mobile phase (carrier gas) และ stationary phase ที่เป็นของเหลวที่เคลือบอยู่บนผิวของ inert solid support โดยอาศัยคุณสมบัติที่มีของ Solid support และ Carrier gas ดังนี้

5.1.2.1 คุณสมบัติของ Solid support

5.1.2.1.1 Inert มี large surface area, regular shape หรือ uniform size

5.1.2.1.2 Solid support ที่นิยมใช้คือ celite หรืออาจใช้ glass beads

5.1.2.2. คุณสมบัติของ Carrier gas

5.1.2.1.1 Inert ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการแยกหรือ stationary phase

5.1.2.1.2 มีการแพร่น้อยและมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ

5.1.2.1.3 หาง่าย ราคาถูก และมีความบริสุทธิ์สูง

Solvent ที่ใช้ละลายสารตัวอย่าง ได้แก่ ether, heptane หรือ methanol อุณหภูมิของ injection port ต้องสูงพอที่จะทำให้สารตัวอย่างเกิดการกลายเป็นไอได้อย่างรวดเร็ว แต่ต้องไม่ทำให้สารตัวอย่างสลายตัวและสูงกว่าอุณหภูมิของคอลัมน์

5.1.3 หน้าที่ของ gas

5.1.3.1 ทำหน้าที่พา volatile component ในคอลัมน์ มีคุณสมบัติ inert ไม่ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง หรือ stationary phase

5.1.3.2 ทำหน้าที่พา separated component ไปยัง detector

5.2 องค์ประกอบที่สำคัญของเครื่อง GC

สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ส่วน ได้แก่

5.2.1 Injector

คือ ส่วนที่สารตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าสู่เครื่องและระเหยเป็นไอ ก่อนที่จะเข้าสู่ Column อุณหภูมิที่เหมาะสมของ Injector ควรเป็นอุณหภูมิที่สูงพอที่จะทำให้สารตัวอย่างสามารถระเหยได้ แต่ต้องไม่ทำให้สารสลายตัว ตัวอย่างของ Injector ได้แก่ Split , Splitless , On column

5.2.2 Oven

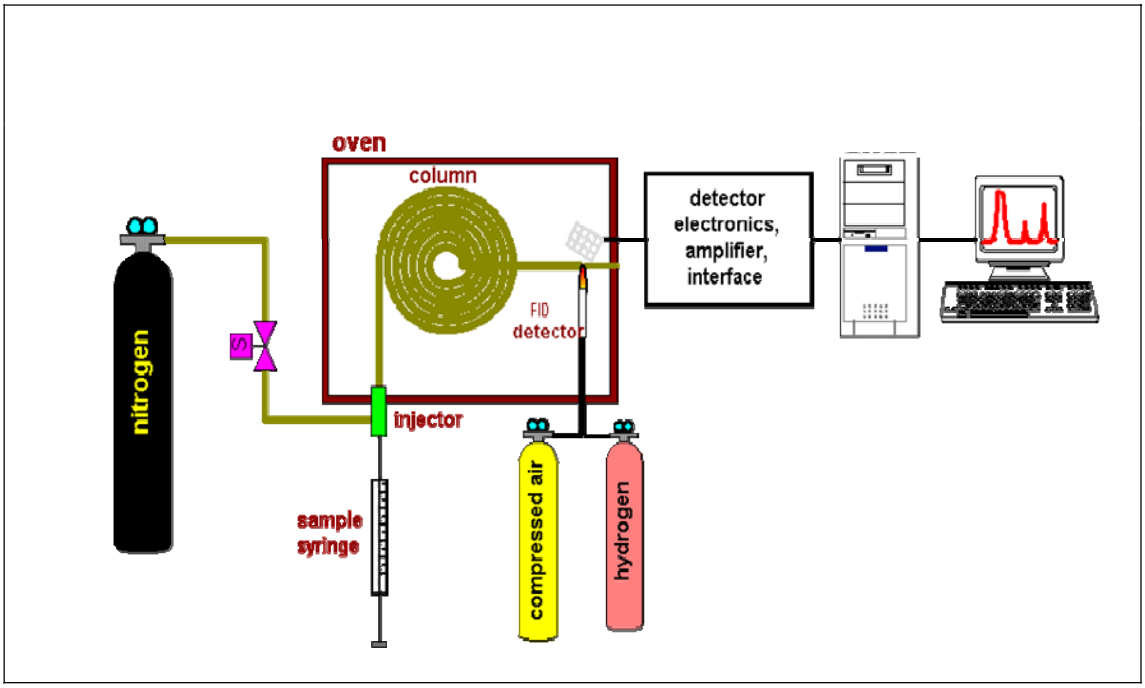
คือ ส่วนที่ใช้สำหรับบรรจุ Column และเป็นส่วนที่ควบคุมอุณหภูมิของ Column ให้เปลี่ยนไปตามความเหมาะสมกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ซึ่งการควบคุมอุณหภูมิของ Oven นั้นมี 2 แบบ คือ

5.2.2.1 Isocratic Temperature

5.2.2.2 Gradient Temperature

5.2.3 Detector

คือ ส่วนที่ใช้สำหรับตรวจวัดองค์ประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่างและดูว่าสารตัวอย่างชนิดที่เราสนใจมีปริมาณอยู่เท่าใด ซึ่ง จะให้รายละเอียดของโครมาโตแกรม ข้อมูลของพีค (พื้นที่ ความสูง ความกว้าง เป็นต้น) การสอบเทียบ การคำนวณ การรายงานผล และสถิติ เครื่องตรวจวัดมี หลายประเภท แต่ละประเภทมีลักษณะเฉพาะตัวแปรในการทำงาน และประสิทธิภาพที่แตกต่างกันออกไป ในตารางที่ 2 แสดงเครื่องตรวจวัดทั่วๆ ไป ที่ใช้ในเครื่องมือแก๊สโครมาโตกราฟีเครื่องตรวจวัดและท่อที่เชื่อมระหว่างคอลัมน์ กับเครื่องตรวจวัดจะต้องรักษาอุณหภูมิให้สูงกว่าอุณหภูมิของตู้อบไม่เกิน 15 องศาเซลเซียส ทั้งนี้เพื่อป้องกันไม่ให้ตัวอย่างเกิดการควบแน่นตรงบริเวณท่อ หรือเครื่องตรวจวัดซึ่งจะส่งผลให้เกิดสัญญาณรบกวนและลดประสิทธิภาพในการ ตอบสนองของเครื่องตรวจวัดได้

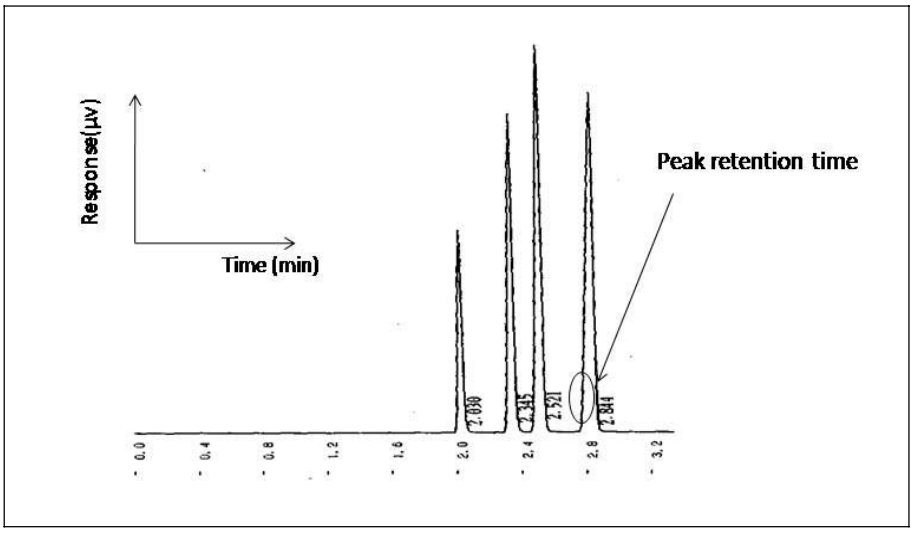


ภาพที่ 6 ส่วนประกอบพื้นฐานของ Gas Chromatography

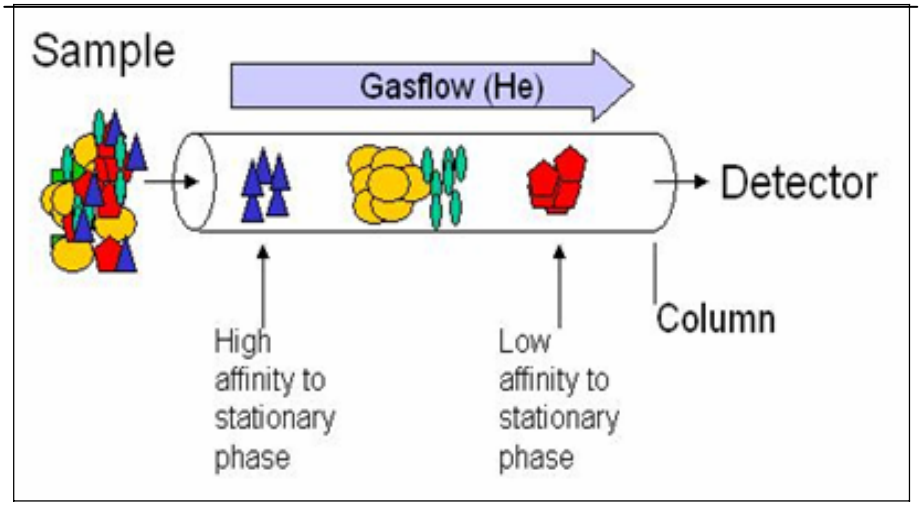
ที่มา : การหา alcohol ในผลิตภัณฑ์สารให้กลิ่นรส โดยเทคนิคGas Chromatography [ออนไลน์], เข้าถึงเมื่อ 22 มีนาคม 2553. เข้าถึงได้จาก http://www.LAB_TODAY.GC.htm

6. การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ

6.1 Retention time หมายถึง เวลาที่สารแต่ละชนิดใช้ผ่านคอลัมน์จากจุดเริ่มต้นถึงจุดสูงสุดของ peak โดย retention time เป็นคุณสมบัติเฉพาะของสารในสภาวะการวิเคราะห์เดียวกันทั้งชนิดของ column และอุณหภูมิที่ใช้ ค่า retention time ของสารชนิดเดียวกันที่วิเคราะห์ได้ควรจะต้องคงที่หรือมีค่าใกล้เคียงกันมากที่สุด ดังนั้น การตรวจพิสูจน์ชนิดของสารองค์ประกอบใด ๆ ในของผสมตัวอย่างสามารถทำได้โดยการเปรียบเทียบค่า retention time ระหว่างสารองค์ประกอบในของผสมตัวอย่าง (unknown) กับสารองค์ประกอบมาตรฐาน และขนาดของ peak อาจเป็นพื้นที่หรือความสูงของ peak สามารถนำไปใช้คำนวณหาปริมาณของสารได้

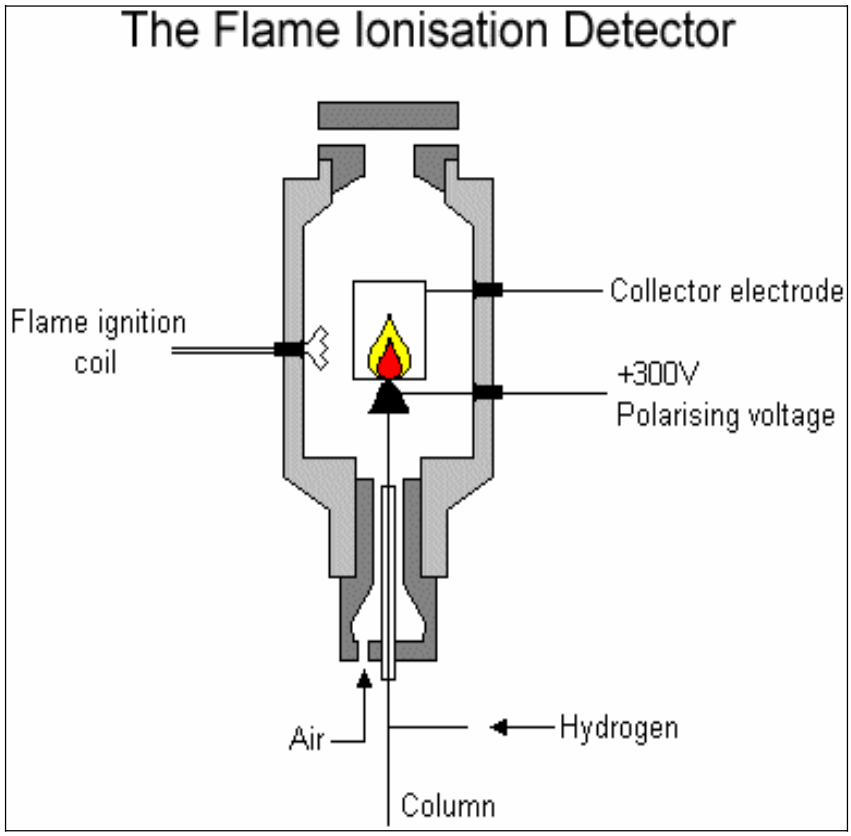


ภาพที่ 7 Chromatogram ที่แสดง retention time



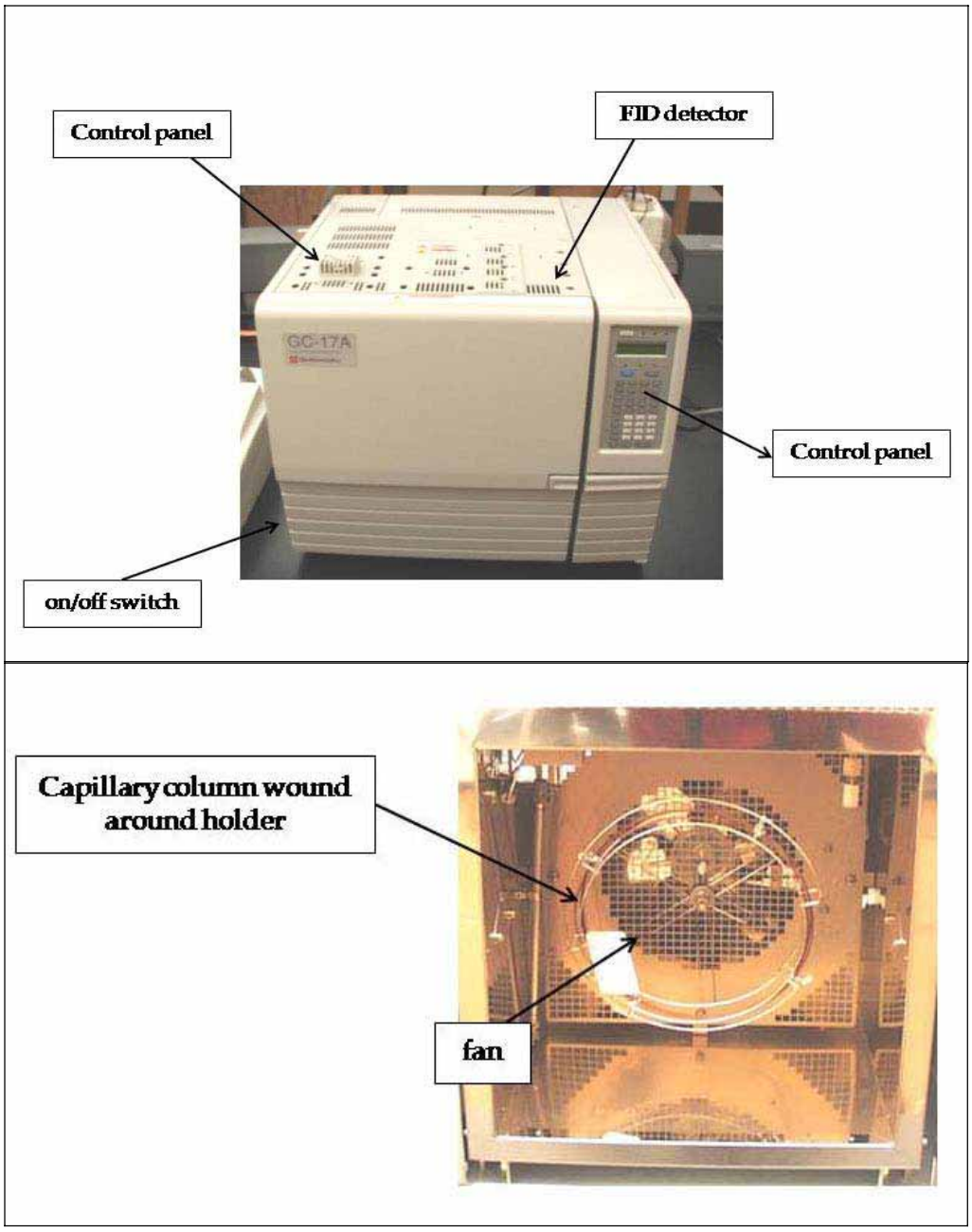
ภาพที่ 8 การแยกองค์ประกอบของสารภายในคอลัมน์ของเครื่อง GC

ที่มา: Chromatography [Online], Accessed 23 March 2553. Available from http://www.chromatography-online.org.



ภาพที่ 9 Detector ชนิด Flame Ionization Detector (FID)

ที่มา: Gas Chromatography [Online], Accessed 22 March 2553. Available from http://teaching.shu.ac.uk/hwb/chemistry/tutorials/chrom/gaschrm.htm



ภาพที่ 10 ลักษณะและส่วนประกอบด้านหน้าของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี Shimadzu รุ่น GC- 17A

6.2 ปริมาณของสารตัวอย่าง

ปริมาณของสารตัวอย่างมีความสำคัญอย่างมากในการวิเคราะห์ซึ่งถ้าฉีดสารตัวอย่างเข้าไปมากเกินไปจะทำให้เกิด column overloaded ซึ่ง peakที่ตรวจวัดได้จะเปลี่ยนไป ทำให้ ค่า retention time เปลี่ยนไป ซึ่งต้องลดขนาดของสารตัวอย่าง ลงให้เหมาะสมกับการวิเคราะห์เพื่อแก้ไขปัญหานี้

6.3 อุณหภูมิของคอลัมน์

อุณหภูมิของคอลัมน์มีส่วนสำคัญต่อการแยกสารตัวอย่าง เมื่ออุณหภูมิของคอลัมน์เพิ่มขึ้นจะทำให้องค์ประกอบของสารมีการเคลื่อนที่เร็วขึ้น ช่วย ให้การวิเคราะห์เร็วขึ้น ในขณะที่เมื่ออุณหภูมิของคอลัมน์ลดลงจะช่วยให้เกิดการแยก องค์ประกอบต่างๆดีขึ้น ดังนั้นเพื่อให้เกิดการแยกที่ดี และมี retention time ไม่นาน เกินไปควรเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสม ซึ่งโดยทั่วไปแล้วจะเลือกใช้อุณหภูมิเฉลี่ยของจุดเดือดของสารตัวอย่างนั้นๆแต่ควรระวังไม่ให้สูงเกินกว่าอุณหภูมิของ packing ที่จะทนได้

7. การวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วย Internal standard method

การวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วย Internal standardization method เป็นวิธีที่ใช้หาปริมาณสารได้ถูกต้องที่สุด แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับการเลือกใช้ internal standard โดยสารที่จะ ใช้เป็น internal standard นั้นต้องมีคุณสมบัติดังนี้ (ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยศิลปากร, 2547)

7.1 สารนั้นต้องมีคุณสมบัติคล้ายกับสารที่จะวิเคราะห์

7.2 สารนั้นต้องถูกชะออกจากคอลัมน์หมด

7.3 สารนั้นต้องให้ peak ที่แยกอยู่ต่างหากโดย peak จะไม่ซ้ำหรือเหลื่อมทับ peak อื่นๆและอยู่ใกล้ peak ที่ต้องการหา

7.4 สารนั้นต้องไม่ทำปฏิกิริยากับสารอื่นๆที่เกี่ยวข้อง

โดยสามารถหาอัตราส่วนของพื้นที่ peak (ratio peak area) ได้คือ

$$\text{อัตราส่วนพื้นที่ peak} = \frac{\text{พื้นที่ peak ของสารมาตรฐาน}}{\text{พื้นที่ peak ของ internal standard}}$$

เมื่อเขียนกราฟระหว่างอัตราส่วนพื้นที่ peak กับความเข้มข้นต่างๆของสารมาตรฐาน จะได้ calibration curve ของการวิเคราะห์

8. ทบทวนวรรณกรรม

ได้มีผู้ทำการวิจัยในต่างประเทศเกี่ยวกับการตรวจสารเสพติดในน้ำลาย ได้แก่

การหาระดับเมทแอมเฟตามีนในร่างกายสามารถทำได้โดยการตรวจวัดจากปัสสาวะ เลือด เหงื่อ เส้นผมและเล็บของผู้เสพ (Jirovsky et al., 1998)

ได้มีทำการวิเคราะห์หา Methamphetamine ในเส้นผม เล็บ และน้ำลายด้วย เครื่อง mass fragmentography ซึ่งสามารถตรวจพบสารเสพติด ในน้ำลาย และพบว่ามีความเข้มข้นมากกว่าการตรวจในเลือด (S.Suzuki .et al.,1989)

การตรวจสารเสพติดจาก oral fluid และ เหงื่อซึ่งสามารถตรวจวัดได้โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ขับขี่ยานพาหนะ (N.Samyn .et al., 2002)

วิธีการตรวจสารเสพติดสามารถใช้ GC, HPLC, GC-MS, LC-MS/MS (Kikura and Nakahara, 1995 ; Sato and Mitsui, 1997 ; Okajima et al., 2001 ; Nishida et al., 2002)

การเปรียบเทียบการตรวจหา MA และ Amphetamine ใน oral fluid 590 ตัวอย่าง และเลือด 200 ตัวอย่าง จากอาสาสมัครหลังจากใช้ยา โดยหลังจากที่ใช้ยา เริ่มแรกตรวจพบ MAในเลือดที่เวลา 0.25 -2 ชั่วโมง ค่าความเข้มข้นอยู่ที่ 14.5-33.8 μg/L และที่ 2-12 ชั่วโมง ความเข้มข้น 26.2-44.3 μg/L ส่วนใน oral fluid ได้ทันทีตั้งแต่ 0.08 – 2 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้น 24.7-312.2 μg/L งานวิจัยนี้ได้ใช้เทคนิค solid phase extraction และ GC-MS ซึ่งในการเก็บตัวอย่างจะใช้วิธีการในการวินิจฉัย ความดันเลือด อัตราการเต้นของหัวใจ อัตราการหายใจที่เวลาก่อนการได้รับยา 15 นาที และที่ 5, 10, 15, 30, 45, 60, 75, 90 และ 105 นาที และหลังจากได้รับยา ที่ 2, 4, 8 จนถึง 11.5 ชั่วโมง (RAF J.F. Schepers. et al., 2003)

มีงานวิจัยที่สามารถวิเคราะห์แยกสารผสม Amphetamine และอนุพันธุ์ 6 ชนิด ด้วยเทคนิค GC-FID โดยใช้ diphenylamine เป็น internal standard ซึ่งการทดสอบนี้เป็นวิธีที่รวดเร็วและแม่นยำ เช่นเดียวกับเทคนิค TLC, IR, HPLC (Blagoj Mi trevski 2005) สามารถวัดความเข้มข้นของ MA และ THC ในช่วงประมาณ 1000 ng/ml และ 4000 ng/ml ตามลำดับและได้มีการศึกษาหาค่าเฉลี่ย ความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของสารเสพติดระหว่าง oral fluid กับเลือดโดยที่ (M.A. Huestis .et al.,2004) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ความเข้มข้นของ Delta 9 –tetrahydrocananinol ใน oral fluid และเลือด หลังจากที่ใช้มาตรฐานการเปรียบเทียบการทดลองการเสพกัญชา (O.H.Drummer .et al., 2005)

มีการรวบรวมข้อมูลและแสดงให้เห็นว่า ความเข้มข้นของยาใน oral fluid จะใกล้เคียงหรือสูงกว่าในเลือด โดยการดูดซับของยาในช่องปากจะเพิ่มขึ้นในช่วงหลังการเสพ ซึ่งขึ้นกับ

วิธีการใช้ยา โดยเทคนิคที่ใช้ตรวจยืนยันผลโดยส่วนมากจะใช้ LC-MS ซึ่งจะเหมาะกับตัวอย่างที่มีปริมาณน้อย และความเข้มข้นต่ำ (Olaf Drummer 2006)

ได้มีการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของยาใน oral fluid และในเลือดของผู้ขับขี่ที่มีการใช้ยาเสพติด โดยมีการเก็บตัวอย่างเลือดและ oral fluid จากผู้ขับขี่ที่ต้องสงสัยว่ามีการใช้ยาในประเทศเบลเยี่ยม เยอรมัน ฟินแลนด์ และนอร์เวย์ ซึ่งเลือดจะนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC/MS หรือ LC/MS บางครั้งใช้กระบวนการตรวจในเลือดหรือปัสสาวะด้วยวิธี screening ส่วนใน oral fluid จะใช้การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC/MS หรือ LC/MS(/MS) ซึ่งผลการศึกษานี้จะแสดงให้เห็นว่าค่า ratio ของ ความเข้มข้นยาเสพติดใน oral fluid และเลือด ค่อนข้างที่จะกว้างเกินไป และปัจจัยที่หลากหลาย(Lillsunde 2009)

วิธีการวิเคราะห์ amphetamine (AM), methamphetamine(MAM), MDA, MDMA ในน้ำลายด้วยเครื่อง ultrasonic liquid phase chromatography โดยมีค่า LOD ที่ 0.1 μg/ml และค่าความแม่นยำอยู่ที่ 80-120% ซึ่งสามารถที่จะนำไปใช้เป็นวิธีในการตรวจยืนยันใน body fluid ได้ (Huaxue Tongbao 2009)

มีงานพัฒนาที่ทำการศึกษาการตรวจสอบ morphine และ methamphetamine ในน้ำลายด้วย colloidal gold-based โดยใช้เทคนิค immunochromatography ซึ่งในการคิดค้นนี้เป็นการทำ strip test ที่มีความไวและความจำเพาะสูง (Chen,Guiyong 2009)

งานวิจัยนี้เป็นวิธีพัฒนาการตรวจสอบ amphetamine(AM), methamphetamine(MAM), MDA, MDMA ในน้ำลายโดยเทคนิค gas chromatography/selected ion monitoring-mass spectrometry ในการทดลองนี้ใช้วิธีการ spike น้ำลายในการวิเคราะห์ โดยมีค่า RSD 15% , ค่า LOD 0.05 μg/ml และค่าความแม่นยำอยู่ที่ 80-115% วิธีการนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการทดสอบสารอนุพันธ์ของ amphetamine ใน body fluid ได้ (Wang, Yan-yan.et al.,2009)

มีการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณของการตรวจหา MA และสารเมทาบอไลท์ของ amphetamine ในoral fluid โดยมีตัวยา 11 ชนิด ที่ทำการตรวจใน oral fluid ซึ่งใช้วิธีการเก็บตัวอย่างด้วยวิธีการ swab ในแต่ละตัวอย่างจะทำการด้วยด้วยวิธี screening แบบ Fluorescence Polarization Immunoassay โดยการวิเคราะห์เชิงปริมาณของ MA และ AM ในน้ำลายจะใช้เทคนิคGC-MS(Kim,Eunmi.et al.,2009)

ซึ่งในประเทศไทยได้มีงานวิจัยที่ทำในน้ำลาย โดยศึกษาการตรวจแอลกอฮอลล์ในน้ำลายเปรียบเทียบกับเลือด ศึกษาเปรียบเทียบความไว (sensitivity) ความจำเพาะ (specificity) ความถูกต้อง (accuracy) และความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของแอลกอฮอล์ในน้ำลายปรียบเทียบกับเลือดด้วยวิธี Gas Chromatography - Flame Ionization (GC-FID) และวิธี enzyme alcohol

dehydrogenase (ชุดตรวจแอลกอฮอล์สำเร็จรูป) โดยเก็บน้ำลายและทำการเจาะเลือดในผู้ป่วยสุราที่มีประวัติดื่มสุราภายใน 24 ชั่วโมงและเข้ามาบำบัดรักษาที่สถาบันธัญญารักษ์ พบว่าตรวจแอลกอฮอล์ในน้ำลายวิธี GC-FID มีความไวเท่ากับ 95.71%ความจำเพาะเท่ากับ 100% ความถูกต้องเท่ากับ 75.83 % ความเข้มข้นแอลกอฮอล์ในน้ำลายตรวจด้วยวิธี GC- FID แอลกอฮอล์ในน้ำลายที่ตรวจด้วยชุดตรวจสำเร็จรูป มีความไวเท่ากับ 88.57% ความจำเพาะเท่ากับ 12.50% ความถูกต้องเท่ากับ 54.17% จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่าการเก็บตัวอย่างน้ำลายเพื่อตรวจหาแอลกอฮอล์ มีขั้นตอนวิธีง่ายๆ รวดเร็ว ไม่ต้องอาศัยผู้ชำนาญ สามารถเก็บตัวอย่างได้ด้วยตนเอง ไม่มีความเจ็บปวด ได้รับความร่วมมือจากตัวอย่างมากกว่าการเจาะเลือด

จากการศึกษางานวิจัยเบื้องต้นจึงคาดว่า การตรวจพิสูจน์ Methamphetamine ในน้ำลายด้วยเครื่องมือ Gas Chromatography - FID เป็นเรื่องที่ควรศึกษาและทำการวิจัยหาสภาวะที่เหมาะสมในการทดลองต่อไป

บทที่3

วิธีดำเนินการวิจัย

1. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

อุปกรณ์และสารเคมี	แหล่งที่มา
Gas-chromatography (GC)	Shimadzu (GC-17A)
Column	HP-5 (30m x0.25mm i.d.; 5% diphenyl/95% dimethyl polysiloxane)
Syringes	EXMS , Japan (10µl)
Ultrasonic	Elma (transonic Digitals)
Strip	JSP METH STRIP
Methanol	BHD
สารมาตรฐาน Amphetamine Hydrochloride (AP) 99.9%	Sigma
สารมาตรฐาน Methamphetamine Hydrochloride (MA) 99.9%	Sigma
Diphenylamine (internal standard)	Fluka
Autopipette ขนาด 200 ul	gilson

2. วิธีการวิจัย

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Amphetamine, Methamphetamine และ Diphenylamine เพื่อการทดสอบความถูกต้องของการวิเคราะห์

2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

2.1.1 เตรียมสารมาตรฐาน Amphetamine 0.08 mg/ml โดยชั่งสารมาตรฐาน Amphetamine 0.08 mg ละลายด้วย methanol แล้วปรับปริมาตรในขวดปริมาตร 1 ml ด้วย methanol

2.1.2 เตรียมสารมาตรฐาน Methamphetamine (MA) 1 mg/ml โดยชั่งสารมาตรฐาน Methamphetamine 25 mg ละลายด้วย methanol แล้วปรับปริมาตรในขวดปริมาตร 25 ml ด้วย methanol

2.1.3 เตรียมสารมาตรฐาน Diphenylamine (DFA) 1 mg/ml โดยชั่งสารมาตรฐาน DFA 50 mg ละลายด้วย methanol แล้วปรับปริมาตรในขวดปริมาตร 50 ml ด้วย methanol

2.1.4 นำสารละลาย MA มาเตรียมความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ DFA เป็น Internal Standard (IS) โดยเตรียมความเข้มข้นของสารมาตรฐาน MA 0.1, 0.2, 0.4, 0.6 และ 0.8 mg/ml ด้วยการปิเปตจาก Stock Solution มา 0.5 ml, 1 ml, 2 ml, 3 ml และ 4 ml ตามลำดับ จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐาน DFA จาก Stock Solution มา 1 ml โดยเติมทุกความเข้มข้น แล้วปรับปริมาตรในขวดปริมาตร 5 ml ด้วย methanol ดังตารางที่.....เพื่อเตรียม Calibration curve โดยใช้ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ในการทดลอง

ตารางที่ 3 การเตรียมสารมาตรฐาน MA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อเตรียม Calibration curve

ความเข้มข้น MA (mg/ml)	**สารมาตรฐาน MA ความเข้มข้น 1 mg/ml (ml)**	**สารมาตรฐาน DFA ความเข้มข้น 1 mg/ml (ml)**	**ปรับปริมาตรด้วย Methanol (ml)**
0.1	0.5	1	3.5
0.2	1	1	3
0.4	2	1	2
0.6	3	1	1
0.8	4	1	-

2.2 การทดสอบความใช้ได้ของวิธีและหาสภาวะในการทดลองในการแยก Amphetamine, Methamphetamine และ Diphenylamine โดยเทคนิค GC-FID

โดยมีสภาวะดังนี้

Column : HP-5 (30m x 0.25mm i.d.; 5% diphenyl/95% dimethyl polysiloxane)

Temperature program : เริ่มต้นที่อุณหภูมิ 120 °C คงที่ เป็นเวลา 4 min จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิ ด้วยอัตรา 20 °C /min จนถึงอุณหภูมิ 250 °C แล้วคงที่ไว้ 5 min

Injector temperature : 200 °C

Detector temperature : 300 °C

Carrier gas : He

Flow rate : 1.6 ml/min

Column pressure : 150 kpa

Split ratio (1:X) : 50

2.3 การวิเคราะห์หาค่า LOD และ LOQ

โดยนำสารละลายมาตรฐาน MA มาวิเคราะห์หาปริมาณสารที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องสามารถอ่านได้ โดยทำซ้ำ 7 ครั้ง นำ area ของ peak มาคำนวณหาค่า SD เมื่อได้ไปคำนวณหาค่า LOD และค่า LOQ ได้ดังนี้

$$LOD = 3*SD$$

$$LOQ = 10*SD$$

2.4 ศึกษาค่าความเที่ยง (precision) ของการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (intra- day)

โดยการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐาน MA ที่ความเข้มข้น 0.03 mg/ml ในสารละลาย Methanol โดยทำการทดสอบจำนวน 7 ซ้ำ โดยทำการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน

2.5 การเตรียมตัวอย่างน้ำลาย

2.5.1 การเตรียมตัวอย่างในการเสพยาบ้า

2.5.1.1 นำยาบ้าจำนวน 1 เม็ด วางลงบนกระดาษ foil ที่ห่อให้มีลักษณะคล้ายเรือ จากนั้นใช้ไฟลนด้านล่างของกระดาษ foil โดยจะมีควันลอยขึ้นมา

2.5.1.2 สูดควันที่ลอยขึ้น ทำจนยาบ้าละลายหมด 1 เม็ด จึงทำการเก็บตัวอย่างน้ำลายต่อไป

2.5.2 เก็บตัวอย่างน้ำลาย ตามระยะเวลาหลังการเสพยาบ้า

2.5.2.1 เก็บตัวอย่างน้ำลาย จากอาสาสมัครที่เสพยาจำนวน 1 เม็ด บ้วนน้ำลายลงใน falcon tube ประมาณ 1 ml หลังจากเสพตามระยะเวลา 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 และ120 นาที (ทำการทดลอง 2 ซ้ำ)

2.5.2.2ใช้ชุดตรวจสอบแบบ strip test มาทดสอบน้ำลายที่เก็บตามระยะเวลาหลังเสพแล้วบันทึกผล

2.5.2.3 นำตัวอย่างน้ำลายที่จะวิเคราะห์มาทำให้แห้งด้วย วิธี Dry Nitrogen จากนั้นเติมสารละลาย Methanol ปริมาตร 30 µl แล้วนำ ไป sonicate นาน 5 นาที

2.5.2.4 นำตัวอย่างน้ำลาย ที่เก็บตามระยะเวลา มาตรวจยืนยันด้วยเทคนิค GC-FID

2.5.3. เก็บตัวอย่างปัสสาวะเมื่อทำการทดสอบด้วย strip test

2.5.3.1 เก็บปัสสาวะจากอาสาสมัครที่เสพยาจำนวน 1 เม็ด ที่เวลา 0, 30, 60, 90 และ120 นาที

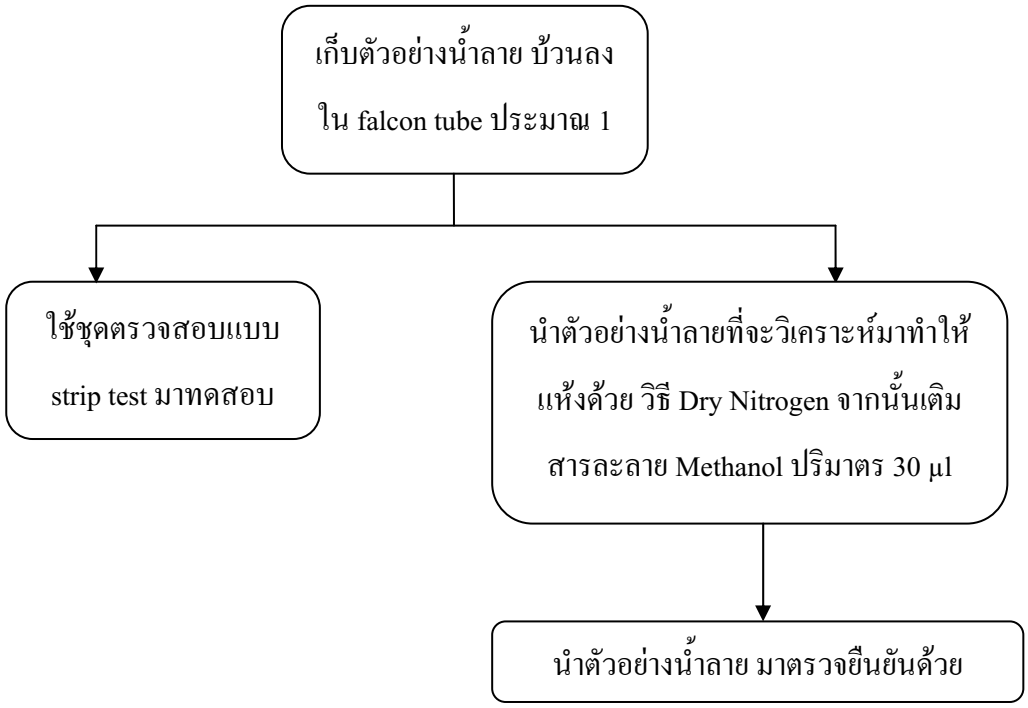
2.5.3.2ใช้ชุดทดสอบ strip test มาทดสอบปัสสาวะที่เก็บตามระยะเวลาหลังเสพ แล้วทำการบันทึกผล

2.5.3.3 นำตัวอย่างปัสสาวะประมาณ 1 ml ที่ได้มาทำตามขั้นตอนในข้อ 2.5.2.3 จากนั้นนำมาทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-FID

2.5.4 เก็บตัวอย่างน้ำลายจากผู้ต้องหาคดีเสพยาบ้า

2.5.4.1 เก็บตัวอย่างน้ำลายผู้ต้องหาในคดีเสพยาบ้าจาก สถานีตำรวจนครบาลท่าเรือ 30 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นเพศชาย 17 ราย และ เพศหญิง 13 ราย ในผู้ต้องหาที่ตรวจพบยาบ้าในปัสสาวะ (ปัสสาวะสีม่วง) โดยให้ผู้ต้องหาบ้วนน้ำลายลงใน falcon tube ประมาณ 1 ml แล้ว ทำการติดฉลาก นำหลอด falcon tube ที่ได้ไปแช่ในน้ำแข็ง และนำมาเก็บที่อุณหภูมิ -20 °C จนจะทำการทดลอง ทำการบันทึกประวัติของผู้ต้องหาทุกราย เพื่อนำมาเป็นข้อมูลในการวิเคราะห์ผลต่อไป

2.5.4.2 นำตัวอย่างที่ต้องการจะวิเคราะห์มาไว้ที่อุณหภูมิห้อง แล้ววิเคราะห์ตามขั้นตอนในข้อ 2.5.2.3



ภาพที่ 11 ขั้นตอนการทดลอง

3.วิธีการทดสอบด้วยวิธี strip test

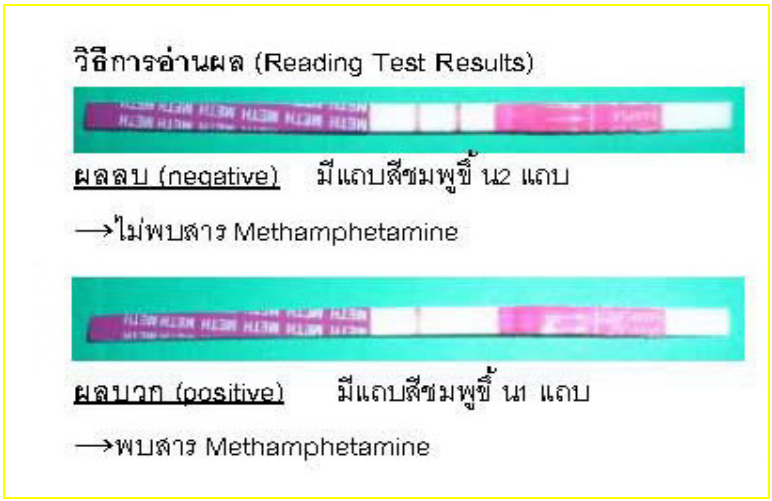
3.1 ลักษณะของชุดตรวจยาบ้าเบื้องต้นชนิดรวดเร็วแบบแผ่นตรวจ (meth strip) ดังภาพที่11

3.2 เก็บตัวอย่างน้ำลายที่ต้องการตรวจสอบ จากนั้นจุ่มแถบทดสอบลงในน้ำลาย โดยจุ่มไม่เกินระดับขีดลูกศรที่ระบุไว้ตรงปลาย จุ่มแถบทดสอบนาน 5- 10 นาที (เนื่องจากการใช้ strip ที่ตรวจปัสสาวะมาทำการทดสอบกับน้ำลาย จะใช้เวลาในการจุ่มแถบทดสอบนานกว่าทดสอบในปัสสาวะ เพราะในน้ำลายมีความหนืดมากกว่า จึงทำให้การเคลื่อนที่ของสารช้ากว่า)

3.3 นำแถบทดสอบขึ้นมาวางในแนวราบหรือวางพาดบนภาชนะที่ใส่ตัวอย่าง

3.4 อ่านผลการทดสอบดังภาพที่ 12

ภาพที่ 12 ชุดตรวจยาบ้าเบื้องต้น ชนิดรวดเร็วแบบแผ่นตรวจ (Rapid test for screening of methamphetamine)



ภาพที่ 13 การอ่านผลการทดสอบด้วย strip test

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 ทำการทดสอบในขั้นตอนการตรวจยืนยันผล (confirmation test) ทางห้องปฏิบัติการด้วยเทคนิค GC-FID เพื่อทดสอบว่าสามารถตรวจสารเสพติดในน้ำลายได้จริง โดยทำการวิเคราะห์ความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์

4.2 วิเคราะห์โดยทำกราฟสารมาตรฐาน MA ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน จากนั้นนำมาทดสอบหาค่า LOD และ LOQ ของเทคนิคในการวิเคราะห์

4.3 นำค่าต่ำสุดที่เครื่องยอมรับได้มาทำการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน เพื่อทดสอบความเที่ยงของการวิเคราะห์

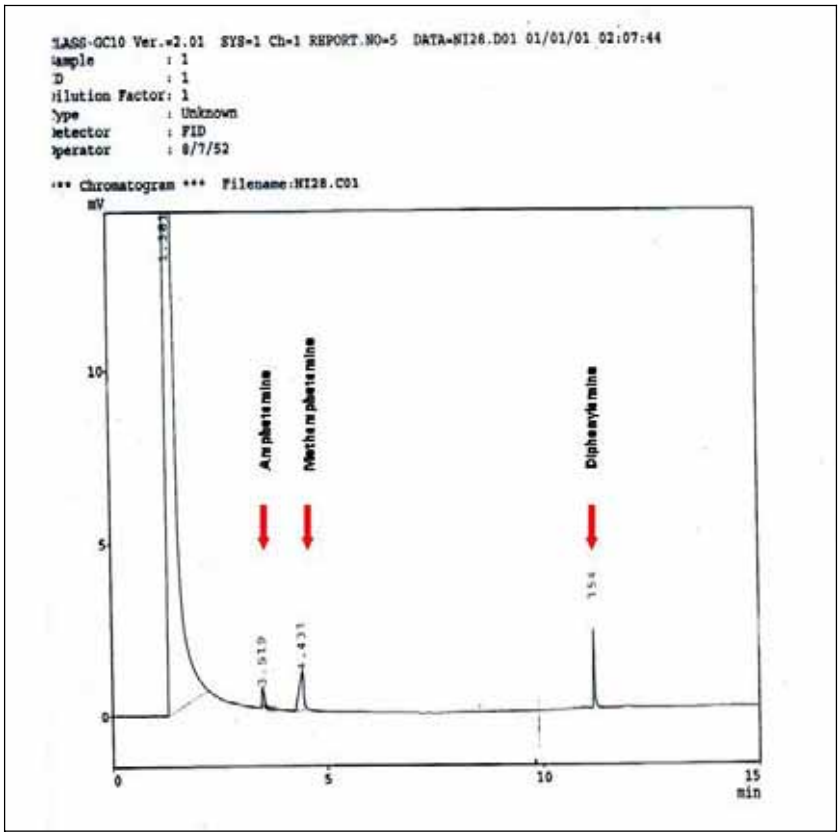
4.4 การตรวจสารเสพติดในน้ำลาย ตามระยะเวลาภายหลังการเสพ โดยทำการเปรียบเทียบการตรวจแบบ screening ในน้ำลาย และในปัสสาวะ โดยการใช้ strip test ในการทดสอบ และยืนยันผลด้วยการทดสอบด้วยเทคนิค GC-FID

บทที่4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

1. การศึกษาความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์ (Specificity)

นำสารมาตรฐาน Amphetamine และ Methamphetamine (MA) ที่ความเข้มข้น 1 mg/ml ในสารละลาย Methanol โดยใช้สาร Diphenylamine (DPA) เป็น internal standard และทำการวิเคราะห์โดยเทคนิค GC – FID ให้ผลดังโครมาโตแกรมในภาพที่ 13 จากโครมาโตแกรมพบว่าที่สภาวะในการทดลองสามารถแยก Amphetamine และ Methamphetamine (MA) และ Diphenylamine ที่ค่า retention time ดังตารางที่ 4 เมื่อนำมาคำนวณค่า Resolution (R) ได้เท่ากับ 4.28



ภาพที่14 Chromatogram ของสารมาตรฐาน Amphetamine, Methamphetamine และ Diphenylamine (Internal standard) ตามลำดับ

ตารางที่ 4 ค่า Retention Time ของสารมาตรฐานจากการวิเคราะห์

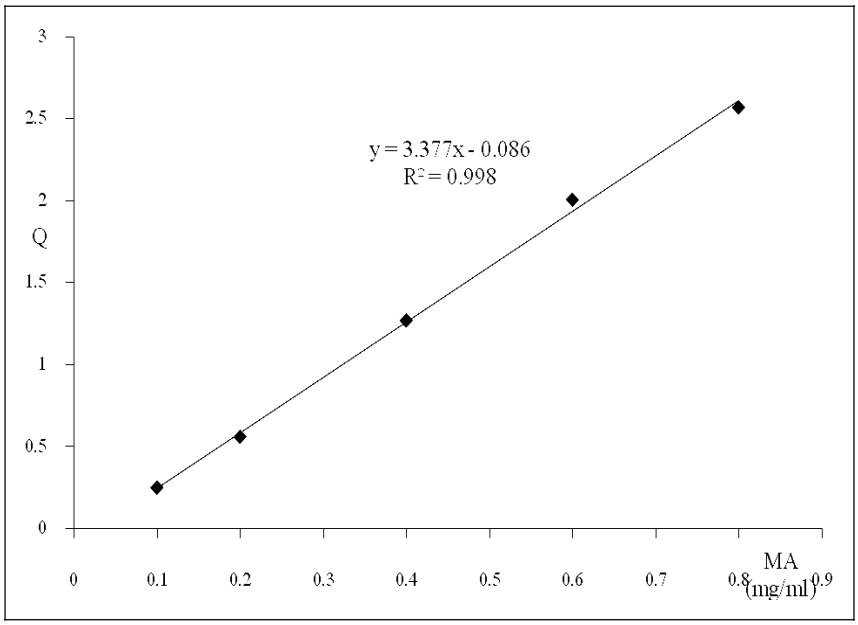
สารมาตรฐาน	Retention Time (mins)
Amphetamine	3.51
Methamphetamine	4.43
Diphenylamine	11.63

2. การทำกราฟสารละลายมาตรฐาน MA

นำสารละลายมาตรฐาน MA ที่ความเข้มข้น คือ 0.1, 0.2, 0.4, 0.6 และ 0.8 mg/ml โดยทำการทดลองความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ และนำมา plot กราฟ ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้ peak ของ MA ต่อพื้นที่ใต้ peak ของ DFA และความเข้มข้นของ MA ดังตารางที่ 5 โดยนำความเข้มข้นที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย และนำมา plot กราฟระหว่าง peak area กับ ความเข้มข้นของ MA (mg/ml)ได้กราฟดังรูปที่ 14 จากกราฟพบว่ามีค่าความเป็นเส้นตรงได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.998 และได้สมการแสดงความสัมพันธ์คือ $y = 3.377x - 0.086$

ตารางที่ 5 แสดงอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ใต้ peak ของสารมาตรฐาน MA และสารมาตรฐาน DFA (IS) ที่ความเข้มข้นต่างๆของสารมาตรฐาน MA

ความเข้มข้น MA(mg/ml)	**อัตราส่วนระหว่างพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน MA และสารมาตรฐาน DFA (IS)**				
	ครั้งที่1	**ครั้งที่ 2**	**ครั้งที่ 3**	**เฉลี่ย**	**SD**
0.1	0.2647	0.2482	0.2444	0.2524	**0.0108**
0.2	0.5482	0.5497	0.5876	0.5618	**0.0223**
0.4	1.2652	1.2925	1.2538	1.2704	**0.0198**
0.6	1.9434	2.0738	2.0037	2.0069	**0.0652**
0.8	2.5227	2.5587	2.6262	2.5692	**0.0526**



ภาพที่ 15 กราฟมาตรฐานระหว่างอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐานMA และสารมาตรฐาน DFA กับ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน MA (mg/ml)

เมื่อนำสัญญาณการ spike sample blank โดยการเติมสารละลายมาตรฐานลงใน blank ที่ค่าต่ำสุดที่ยอมรับได้ จำนวน 7 ซ้ำ นำค่าที่ได้มาหาค่า SD จากนั้นนำมาหาค่า LOD และ LOQ โดยแทนในสูตร

$$LOD = 3\ (SD)$$

$$LOQ = 10(SD)$$

จากการทดลองพบว่าค่า LOD เท่ากับ 0.00307 จากนั้นนำค่ามาแทนในสมการที่ได้จากการทำ Calibration curve of std. Methamphetamine พบว่าได้ค่า LOD และค่า LOQ ที่ความเข้มข้น 0.0264 mg/ml และ 0.0642 mg/ml ตามลำดับ

เมื่อนำสารละลายมาตรฐาน MA ที่ความเข้มข้น 0.03 mg/ml ในสารละลาย Methanol ซึ่งเป็นค่าต่ำสุดที่เครื่องยอมรับได้ ทำการทดสอบความเที่ยงของการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน จำนวน 7 ซ้ำ แล้วนำค่า retention time ของ MA ที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย และคำนวณค่า SD ได้ผลดังตารางที่ 6 จากตารางพบว่าค่าเฉลี่ยของ Retention time เท่ากับ 4.347 และค่า Relative Standard Deviation (%RSD) มีค่าเท่ากับ 0.3014 แสดงว่าค่า RSD มีความที่ยง และอยู่ในระดับที่ยอมรับได้

ตารางที่ 6 Retention time ของสารมาตรฐาน Methamphetamine ที่ความเข้มข้น 0.03 mg/ml

ครั้งที่	**ค่า Retention time ของ Methamphetamine ความเข้มข้น 0.03 mg/ml**
1	4.355
2	4.359
3	4.347
4	4.347
5	4.321
6	4.342
7	4.358
Average	**4.347**
SD	**0.0131**
% RSD	**0.3014**

3. การศึกษาความคงอยู่ของสาร MA ตามระยะเวลาหลังการเสพ

เมื่อนำน้ำลายจากอาสาสมัครเพศหญิง อายุช่วง 25 – 30 ปี และไม่เคยมีประวัติการเสพยาบ้า โดยให้อาสาสมัครรายนี้ เสพยาบ้าจำนวน 1 เม็ด จากนั้นเก็บน้ำลายตามระยะเวลาหลังการเสพที่เวลา 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 และ 120 นาที และเก็บปัสสาวะที่เวลา 30, 60 และ 90 นาทีมาตรวจสอบเปรียบเทียบโดยใช้การตรวจสอบแบบ strip test และมาตรวจยืนยันด้วยเทคนิค GC-FID ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 7

จากผลการทดลองเมื่อนำมาคำนวณหาปริมาณของ MA ที่ตรวจพบพบว่ามีปริมาณ MA อยู่ในช่วง เวลา 0 – 60 นาที หลังเสพยาบ้าและมาคำนวณปริมาณของ MA ที่พบอยู่ในช่วง 1.439 – 0.035 mg/ml และมีโครมาโตแกรมดังภาพที่ 15 และ 16

ตารางที่ 7 ผลการตรวจเปรียบเทียบ MA ในน้ำลาย และในปัสสาวะ โดยการทดสอบแบบใช้ strip และทดสอบโดยใช้เทคนิค GC-FID

เวลา (นาที)	**ปัสสาวะ**		**น้ำลาย**	
	ทดสอบด้วย strip	**ทดสอบด้วย GC-FID**	**ทดสอบด้วย strip**	**ทดสอบด้วย GC-FID**
0	−	−	+	+
15	*	*	+	+
30	−	−	−	+
45	*	*	−	+
60	−	−	−	+
75	*	*	−	−
90	+	+	−	−

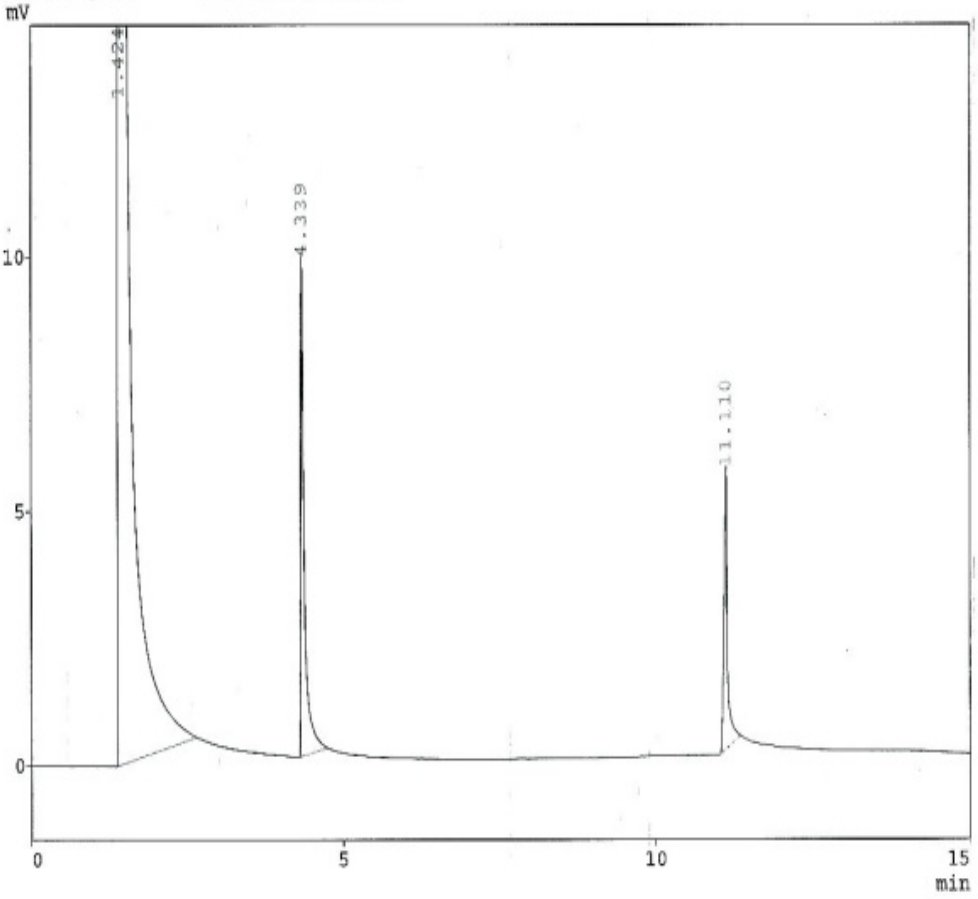
หมายเหตุ + หมายถึง ตรวจพบ

− หมายถึง ตรวจไม่พบ

* หมายถึง ไม่ได้ตรวจ

CLASS-GC10 Ver.=2.01 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=6 DATA=SM01.D01 01/01/01 02:46:30
Sample : saliva 0 min
ID : 1
Dilution Factor: 1
Type : Unknown
Detector : FID
Operator : 13/09/52

*** Chromatogram *** Filename:SM01.C01



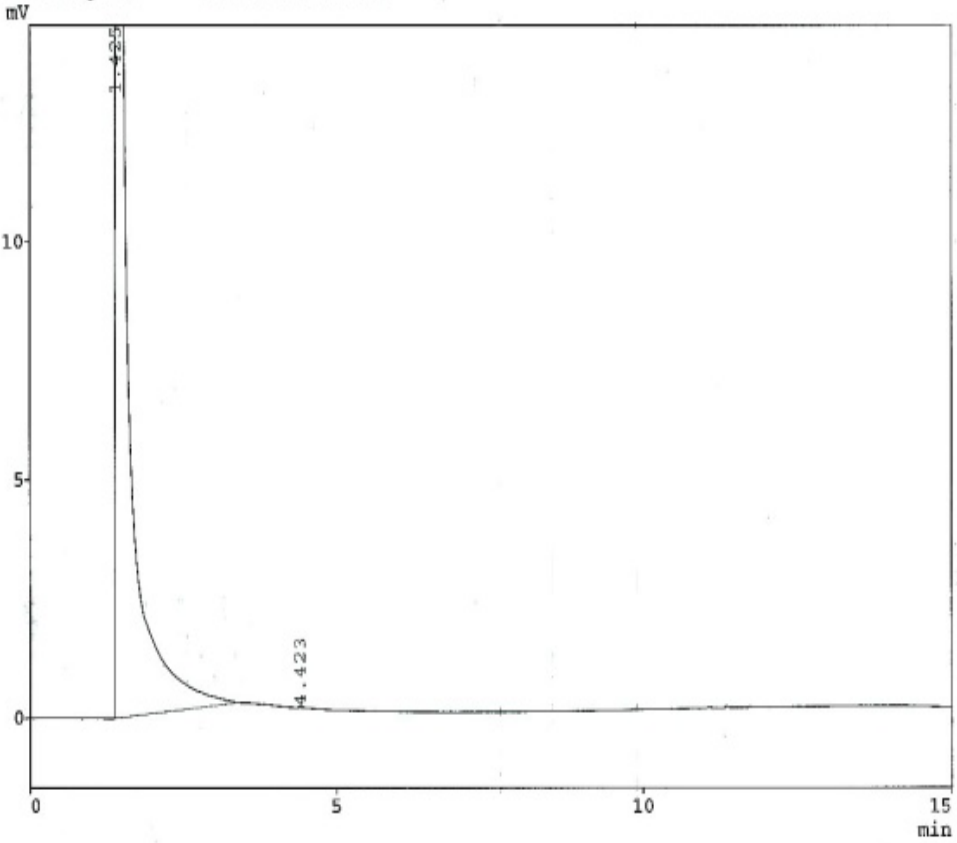
*** Peak Report ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1.424	2969854	1032723	E		98.0494	
2	4.339	38438	9905			1.2690	
3	11.110	20645	5549			0.6816	
		3028937	1048177			100.0000	

ภาพที่ 16 chromatogram ของตัวอย่างน้ำลาย ที่ระยะเวลา 0 นาที

CLASS-GC10 Ver.=2.01 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=28 DATA=SM60.D01 01/01/01 00:52:02
Sample : saliva60
ID : 1
Dilution Factor: 1
Type : Unknown
Detector : FID
Operator : 13/09/52

*** Chromatogram *** Filename:SM60.C01



*** Peak Report ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1.425	2638147	1019526	E		99.9931	
2	4.423	181	32			0.0069	
		2638329	1019558			100.0000	

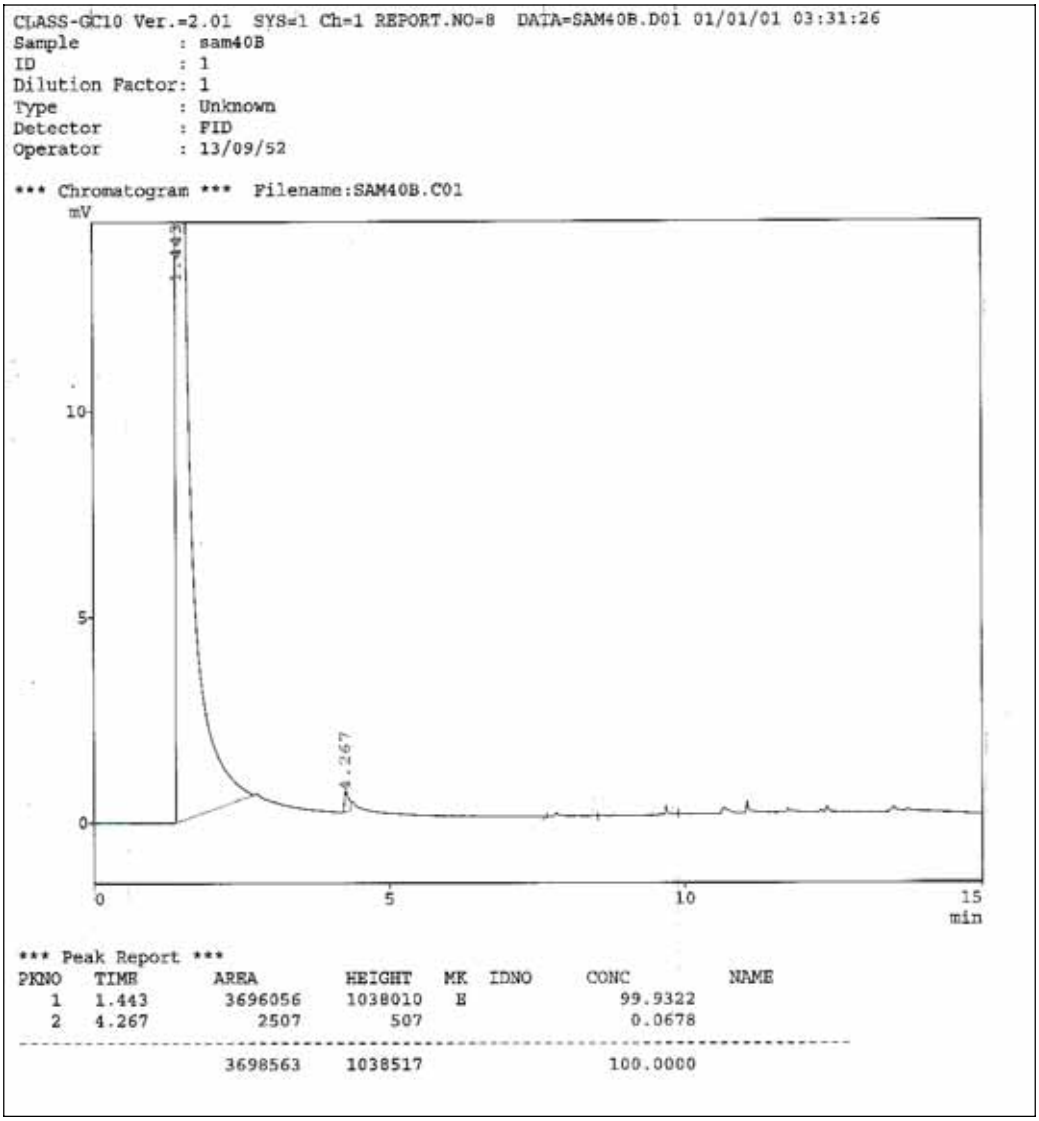
*** Calibration Result ***
** ID Table **

IDNO	NAME	TIME	CONC	RF1	RF2

ภาพที่ 17 chromatogram ของตัวอย่างน้ำลาย ที่ระยะเวลา 60 นาที

และเมื่อนำตัวอย่างน้ำลายของผู้ต้องหาคดีเสพยาบ้า ที่ให้ผลการตรวจปัสสาวะสีม่วง 30 ราย ที่เก็บตัวอย่างจากสถานีตำรวจนครบาลท่าเรือ เป็นเพศชาย 17 ราย และเพศหญิง 13 ราย ประมาณ 1 ml แล้วทำการตรวจวิเคราะห์หา MA ด้วยเทคนิค GC-FID พบว่าสามารถตรวจพบได้ใน

น้ำลาย จำนวน 1 ราย เท่านั้น โดยทำการเปรียบเทียบ peak ของในตัวอย่างที่พบ กับสารมาตรฐาน MA ซึ่งมีค่า retention time ใกล้เคียงกัน แสดงโครมาโตแกรม ดังภาพที่ 17



ภาพที่ 18 Chromatogram ของตัวอย่างน้ำลายที่ 40B จากผู้ต้องหาคดีเสพยาบ้า

บทที่5

อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

อภิปรายผล

จากผลการทดลองพบว่าวิธีการวิเคราะห์สาร Amphetamine และ Methamphetamine (MA) ซึ่งเป็นองค์ประกอบของยาบ้า โดยเทคนิค GC – FID มีความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์ (specificity) เนื่องจาก chromatogram ของสารมาตรฐานพีคของ Amphetamine และ Methamphetamine แยกออกจากพีคของสาร DFA ซึ่งเป็น internal standard อย่างชัดเจน โดยค่า resolution (R) ของการแยก Amphetamine และ MA เท่ากับ 4.28

จากการวิจัยที่กล่าวมา ปรากฏว่า กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน MA โดยเทคนิค GC-FID ได้ค่าความเป็นเส้นตรงได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.998 และได้สมการแสดงความสัมพันธ์คือ y = 3.377x – 0.086 ซึ่งค่าความเที่ยงของการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-FID โดยใช้สารมาตรฐาน Methamphetamine ที่ความเข้มข้น 0.03 mg/ml ในสารละลาย Methanol โดยทำการทดสอบจำนวน 7 ซ้ำ โดยทำการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน พบว่า ค่าเฉลี่ยของ Retention time เท่ากับ 4.347 และค่า Relative Standard Deviation (%RSD) มีค่าเท่ากับ 0.3014 ซึ่งค่า %RSD อยู่ในเกณฑ์ยอมรับ 1 – 2 % (SOFT/AAFS Forensic Laboratory Guidelines – 2006) และจากการวิเคราะห์หา MA ในน้ำลายที่เก็บจากอาสาสมัคร หลังการเสพยาบ้า จำนวน 1 เม็ด โดยเก็บที่เวลา 0-120 นาที สามารถตรวจพบ MA ที่เวลา 0 – 60 นาที โดยที่การวิเคราะห์ได้ทำการตรวจเปรียบเทียบกับ strip test ที่ใช้ตรวจปัสสาวะ ซึ่งในการตรวจด้วย strip test นั้นแสดงผลบวก ที่เวลา 0-15 นาที และทำการตรวจปัสสาวะเปรียบเทียบด้วยที่เวลา 30, 60 และ 90 นาที และนำมาตรวจด้วย strip test พบว่าให้ผลบวกที่เวลา 90 นาที จากการทดลองนี้ แสดงให้เห็นว่าการตรวจด้วยเทคนิค GC-FID สามารถตรวจหา MA ได้ดีกว่าการตรวจด้วย strip test เนื่องจากในน้ำลาย strip testไม่สามารถตรวจพบ MA ที่เวลา 30, 45 และ 60 นาที แต่เมื่อใช้เทคนิค GC-FID ตรวจยืนสามารถตรวจพบได้ โดยค่า cut off ของ strip test ที่ใช้มีค่า 1,000 ng เท่านั้น

จากตัวอย่างน้ำลายในผู้ต้องหาที่เสพยาบ้าจำนวน 30 ตัวอย่าง ตรวจพบ MA ในน้ำลาย จำนวน 1 ตัวอย่างโดยมีค่า retention time ที่ 4.3 นาที ที่เดียวกับสารมาตรฐาน MA จากการสอบประวัติผู้ต้องหาคดีเสพยาบ้า 1 ราย ที่ให้ผลบวกจากการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-FID นั้น ผู้ต้องหารายนี้ได้มีการเสพยาบ้ามาประมาณ 9.00 น ในปริมาณ 1 เม็ด ด้วยวิธีสูบ (รมควัน) ก่อนที่จะโดนเจ้าหน้าที่ตำรวจจับกุม ผู้วิจัยทำการเก็บตัวอย่างน้ำลาย ในเวลา 17.00 น แต่สามารถตรวจพบ เนื่องจากผู้ต้องหารายนี้ได้เสพยาบ้าทุกวันต่อเนื่องกันเป็นระยะเวลาประมาณ 5 เดือน แสดงให้เห็นว่า การใช้ยาเป็นเวลานาน อย่างต่อเนื่องจะมียาบ้าสะสมอยู่ในน้ำลาย และเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างอื่นๆจากการสอบถามผู้ต้องหามีการเสพมาแล้ว 1 และ 2 วัน ก่อนเก็บตัวอย่างเป็นอย่างน้อย

สรุปผลการทดลอง

การตรวจวัด MA ในน้ำลาย โดยใช้ GC-FID เป็นวิธีการที่สามารถยืนยันปริมาณ MA ที่ตรวจพบในบุคคลที่เสพ MA ได้และสามารถใช้ยืนยันผลการตรวจวัดในกรณีที่มีการเสพยาภายในไม่เกิน 1 ชั่วโมงได้ซึ่งไม่สามรถตรวจได้ในปัสสาวะ การตรวจในน้ำลายจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการตรวจสารเสพติดและในการเก็บตัวอย่างไม่จำเป็นต้องใช้ความชำนาญในการเก็บ สามารถเก็บได้ด้วยตนเอง อีกทั้งการตรวจวัดโดยใช้ GC-FID เป็นเครื่องมือที่ใช้กันแพร่หลายในห้องปฏิบัติการทั่วไป และให้ประโยชน์ต่องานด้านนิติวิทยาศาสตร์

ข้อเสนอแนะ

ผลการศึกษาข้างต้นยังคงมีข้อจำกัดบางประการที่เป็นอุปสรรคในการทดลอง

1.การศึกษาครั้งนี้มีข้อจำกัดในเรื่องการเก็บตัวอย่างของผู้ต้องหาที่เสพยาบ้าที่นำมาทำการทดลอง เนื่องจากกลุ่มตัวอย่างที่เก็บไม่สามารถควบคุมระยะเวลาในการเก็บได้

2.ในการวิจัยในน้ำลาย ซึ่งต่อไป ควรมีการควบคุม สภาวะ ของน้ำลาย และศึกษาความคงตัวของ MA ในน้ำลาย

3. ในอนาคตควรมีการวิจัย วิเคราะห์หา MA ในน้ำลาย ด้วยเทคนิคอื่น เพื่อเป็นการพัฒนางานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์

บรรณานุกรม

ภาษาไทย

วิโรจน์ สุ่มใหญ่. ยาบ้ามหันตภัยข้ามสหัสวรรษ. ธีระการพิมพ์: กรุงเทพฯ, 2543.

ภาษาอังกฤษ

A. Dasgupta Humana. “Hair Oral Fluid Sweat and Meconium testing for drug of abuse.”Handbook of Drug Monitoring Methods ,(2008).

Chen, Guiyong. “Collodial gold competitive inhibition immunochromatographic assay test strip for simulataneous determination of morphine and methamphetamine in saliva.”Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu (2009)

David Jirovsky.“Methamphetamine — properties and analytical methods of enantiomer determination.” Forensic Science International 96(1998): 61 – 70

Jirovsky D., K. Lemra, J. Sevcıka, B. Smyslc, and Z. Stra´nsky. “Methamphetamine - Properties and Analytical Methods of Enantiomer Determination.” Forensic Science International 96 (1998): 61–70.

Kim, Eunmi. “Analysis of methamphetamine and amphetamine in oral fluid of eleven drug abusers.” Pharmaceutical Society of Korea 52(2008):419-425.

Kikura, R. and Nakahara. “Hair Analysis for Drugs of Abuse. XI. Disposition of Benzphetamine and Its Methabolites into Hair and Composition of Benzphetamine Use and Methamphetamine Use by Hair Analysis.” Biol. Pharm. Bull 18 (1995): 1694 – 1699.

Lillsunde, Pirjo. “Relationship Between Oral Fluid and Blood Concentrations of Drugs of Abuse in Drivers Suspected of Driving Under the Influence of Drugs.”Therapeutic Drug Monitoring 31(2009):511-519.

Logan, B.K. and F.L. Couper. “Methamphetamine- Effect on Human Performance and Behavior.” Forensic Science Review 14 (2002): 134 - 151.

Moore, K.A. “Amphetamine/Sympathomimetic Amine.” In: Principles of Forensic Toxicology 2nd Ed. Washington D.C.: AACC. (2003) : 245 - 264.

Nishida, M., A. Namera, M. Yashiki, and T. Kojima. “On-column Derivatization for Determination of Amphetamine and Methamphetamine in Human Blood by Gas

Chromatography–Mass Spectrometry." Forensic Science International 125(2002): 156–162.

Okajima, K., A. Namera, M. Yashiki, I. Tsukue, and T. Kojima. "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(2001): 15 – 22.

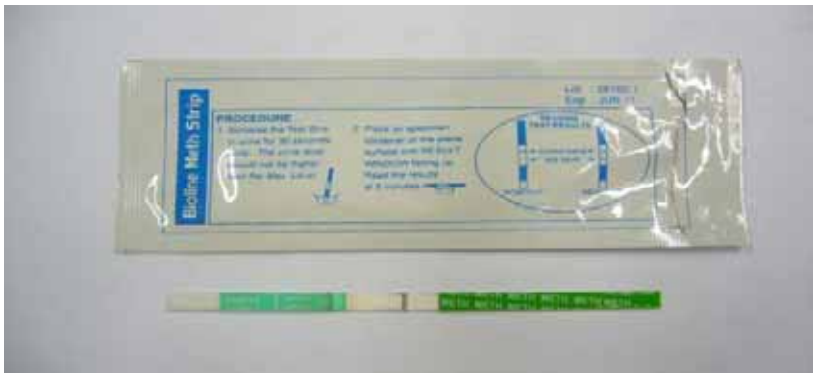
Sato, M. and T. Mitsui. "Rapid and Simple Determination of Methamphetamine and Amphetamine in Blood by Simultaneousextraction-Derivatization." Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 16 (1997): 139-45.

Wang, Yan-yan ."Determination of amphetamines in saliva by gas chromatography/selected ion monitoring-mass spectrometry." Fenxi Shiyanshi Bianjibu 28(2009):27-31

Wang, Yan-yan ."Detection of amphetamines in saliva samples by liquid-phase small- extraction-gas chromatography/selected ion monitoring-mass spectrometry."Huaxue Tongbao Bianjibu 72(2009) :449-453.

ภาคผนวก

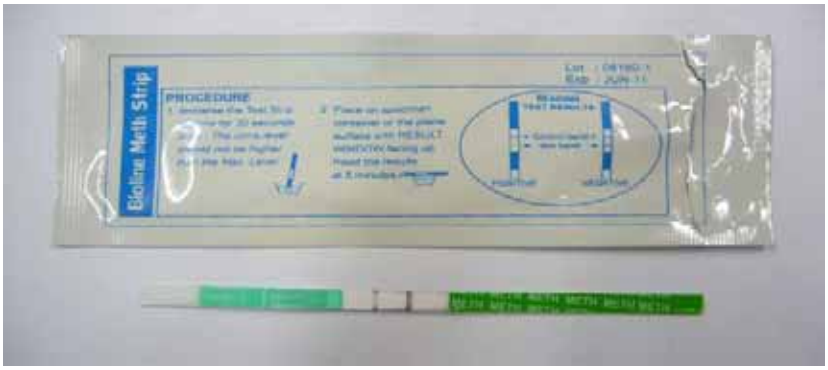
ภาคผนวก ก



ภาพที่ 19 ทดสอบน้ำลายหลังการเสพยาบ้าที่เวลา 0 นาที ด้วย strip test (ครั้งที่ 1)

ภาพที่ 20 ทดสอบน้ำลายหลังการเสพยาบ้าที่เวลา 15 นาที ด้วย strip test (ครั้งที่ 1)

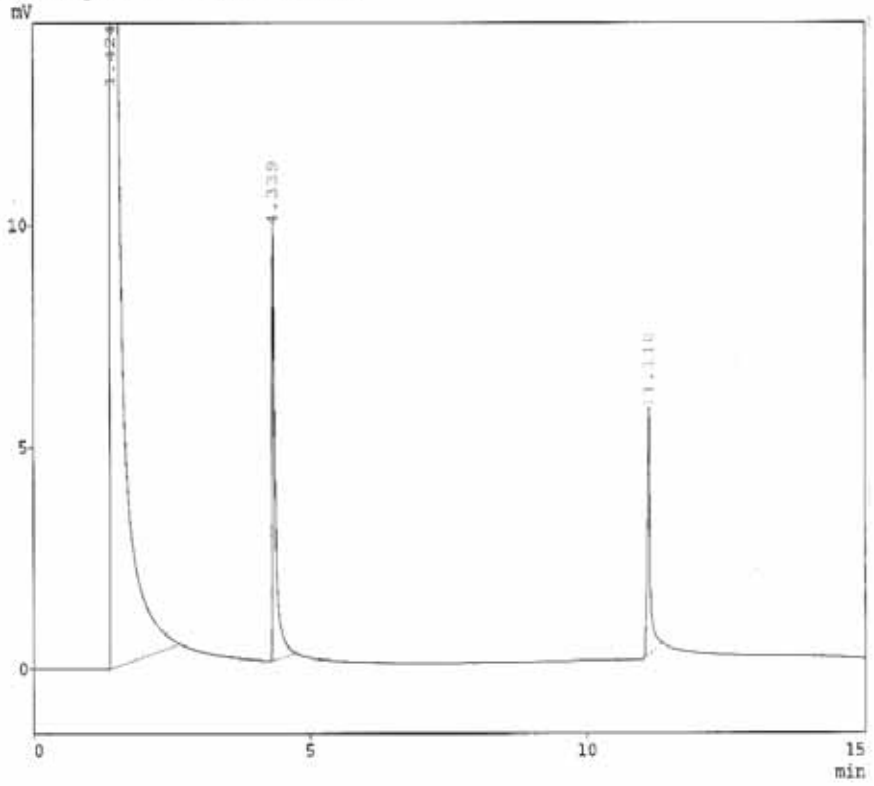
ภาพที่ 21 ทดสอบน้ำลายหลังการเสพยาบ้าที่เวลา 30 นาที ด้วย strip test (ครั้งที่ 1)



ภาพที่ 22 ทดสอบปัสสาวะหลังการเสพยาบ้าที่เวลา 90 นาที ด้วย strip test (ครั้งที่ 1)

CLASS-GC10 Ver.=2.01 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=6 DATA=SM01.D01 01/01/01 02:46:30
Sample : saliva 0 min
ID : 1
Dilution Factor: 1
Type : Unknown
Detector : PID
Operator : 13/09/52

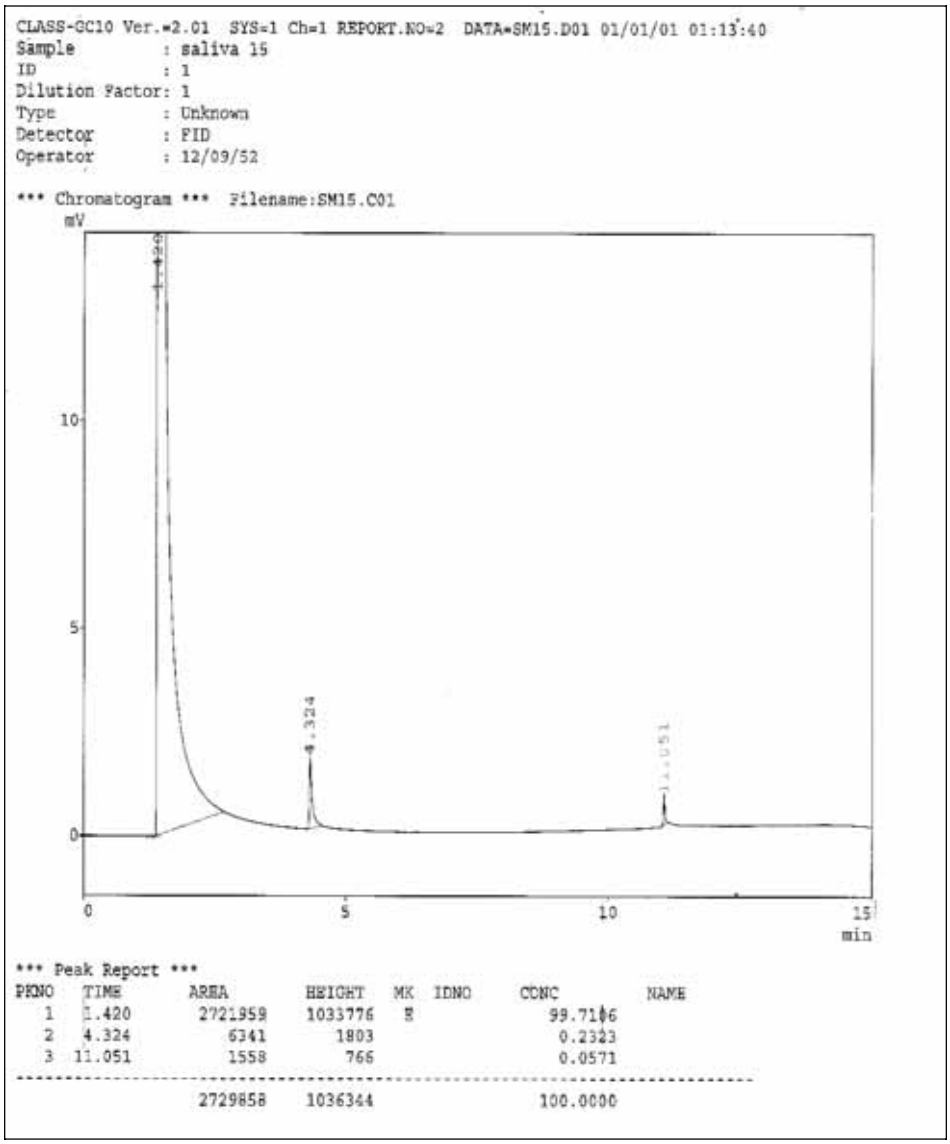
*** Chromatogram *** Filename:SM01.C01



*** Peak Report ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1.424	2969854	1032723	E		98.0494	
2	4.339	38438	9905			1.2690	
3	11.110	20645	5549			0.6816	
		3028937	1048177			100.0000	

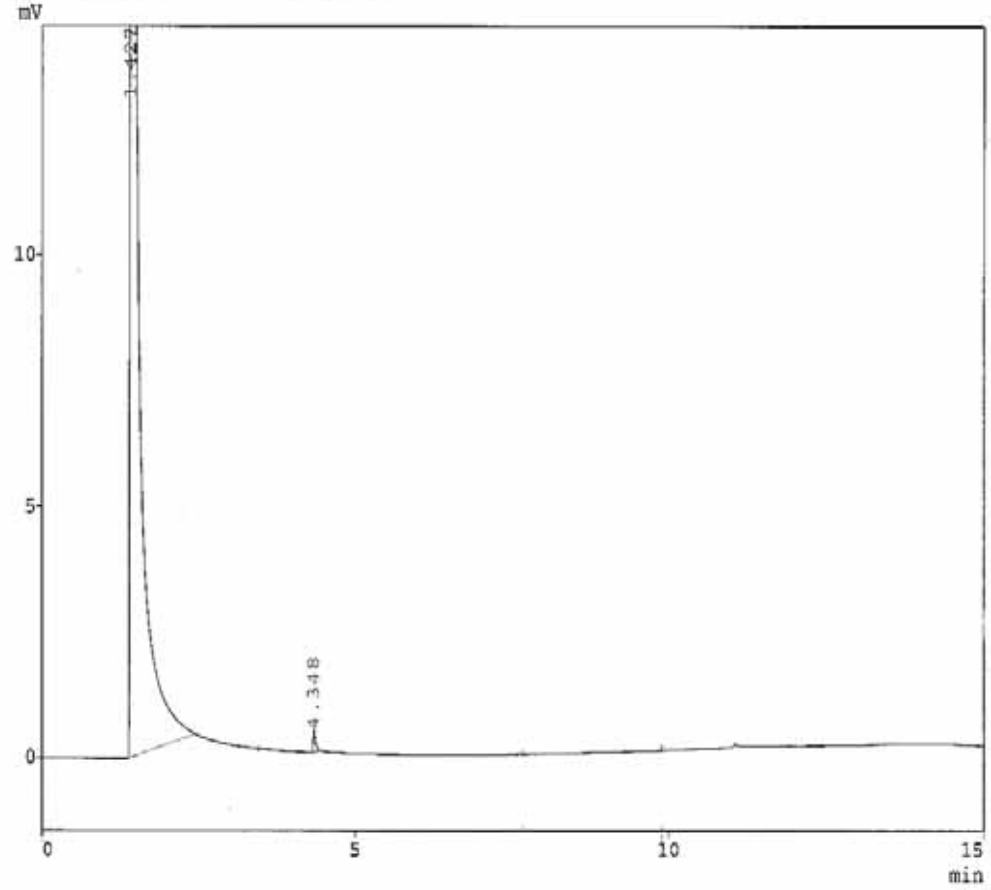
ภาพที่23 Chromatogram จากน้ำลายหลังการเสพ ที่เวลา 0 นาที



ภาพที่ 24 Chromatogram จากน้ำลายหลังการเสพ ที่เวลา 15 นาที

CLASS-GC10 Ver.=2.01 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=3 DATA=SM30.D01 01/01/01 01:35:30
Sample : saliva 30
ID : 1
Dilution Factor: 1
Type : Unknown
Detector : FID
Operator : 12/09/52

*** Chromatogram *** Filename:SM30.C01



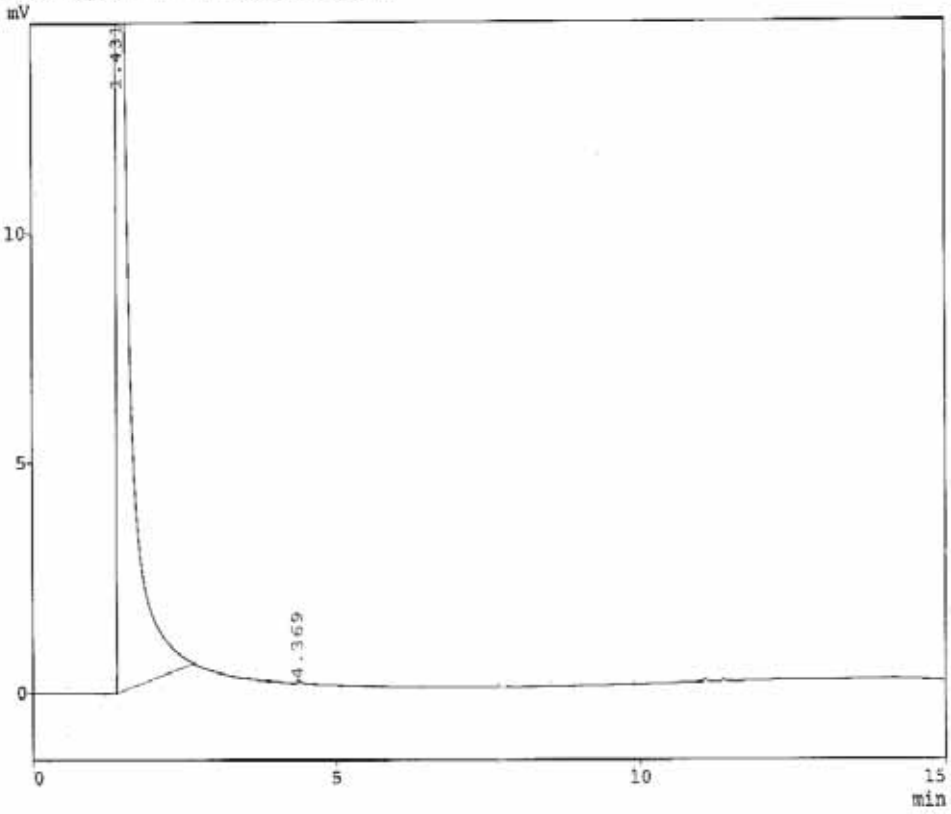
*** Peak Report ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1.427	2116642	1013933	B		99.9452	
2	4.348	1161	448			0.0548	
		2117802	1014381			100.0000	

ภาพที่ 25 Chromatogram จากน้ำลายหลังการเสพ ที่เวลา 30 นาที

CLASS-GC10 Ver.=2.01 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=11 DATA=SM45.D01 01/01/01 02:40:50
Sample : saliva45
ID : 1
Dilution Factor: 1
Type : Unknown
Detector : FID
Operator : 12/09/52

*** Chromatogram *** Filename:SM45.C01



*** Peak Report ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1.431	3164460	1036272	E		99.9917	
2	4.369	263	91			0.0083	
		3164722	1036363			100.0000	

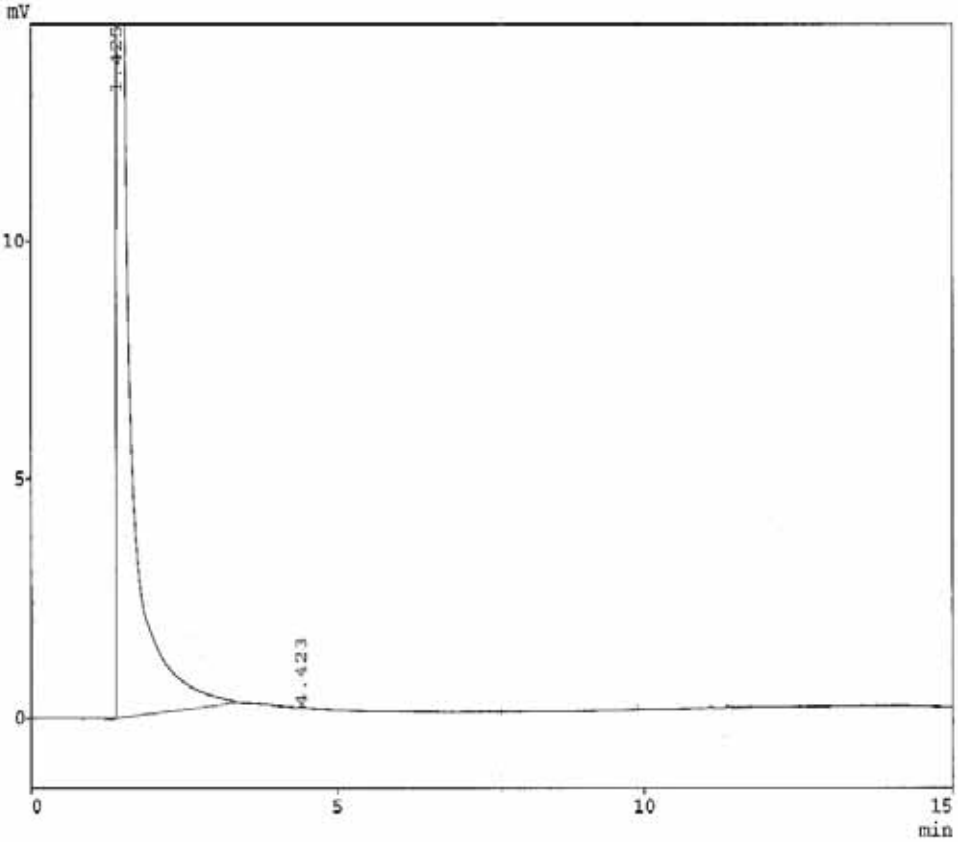
*** Calibration Result ***
** ID Table **

IDNO	NAME	TIME	CONC	RF1	RF2

ภาพที่ 26 Chromatogram จากน้ำลายหลังการเสพ ที่เวลา 45 นาที

CLASS-GC10 Ver.=2.01 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=28 DATA=SM60.D01 01/01/01 00:52:02
Sample : saliva60
ID : 1
Dilution Factor: 1
Type : Unknown
Detector : FID
Operator : 13/09/52

*** Chromatogram *** Filename:SM60.C01



*** Peak Report ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1.425	2638147	1019526	E		99.9931	
2	4.423	181	32			0.0069	
		2638329	1019558			100.0000	

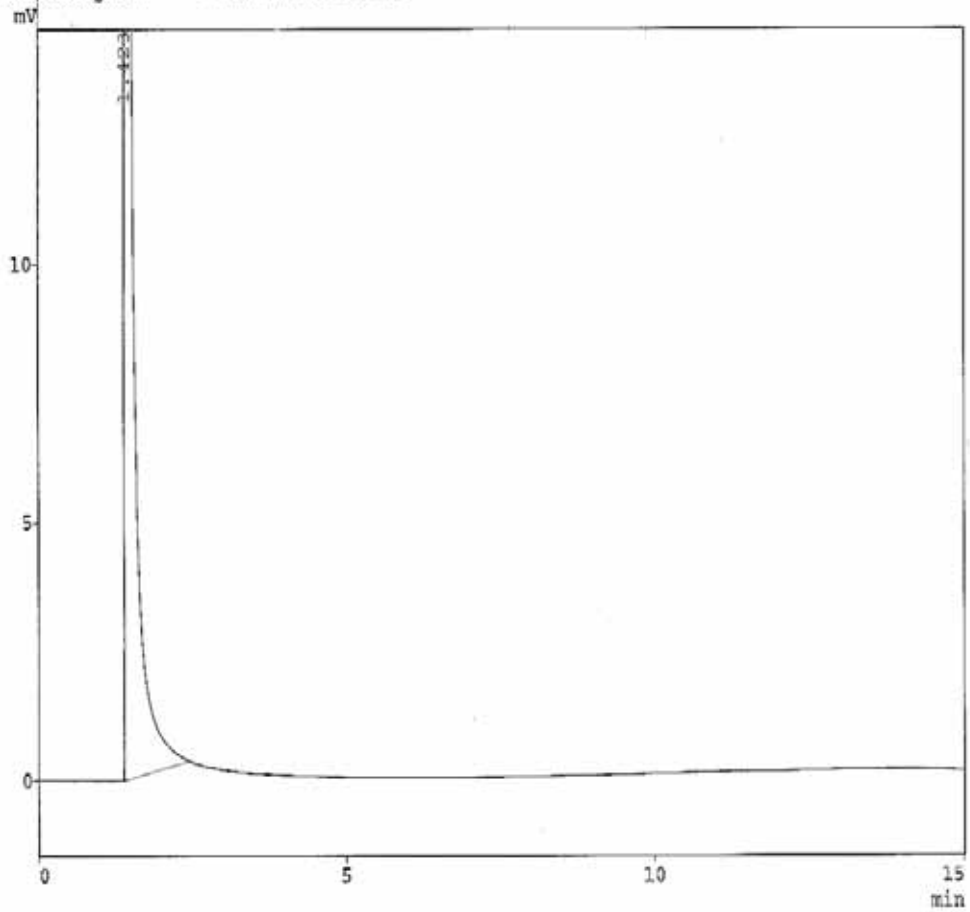
*** Calibration Result ***
** ID Table **

IDNO	NAME	TIME	CONC	RF1	RF2

ภาพที่ 27 Chromatogram จากน้ำลายหลังการเสพ ที่เวลา 60 นาที

CLASS-GC10 Ver.=2.01 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=2 DATA=SM75.D01 01/01/01 01:14:16
Sample : saliva1.15min
ID : 1
Dilution Factor: 1
Type : Unknown
Detector : FID
Operator : 13/09/52

*** Chromatogram *** Filename:SM75.C01



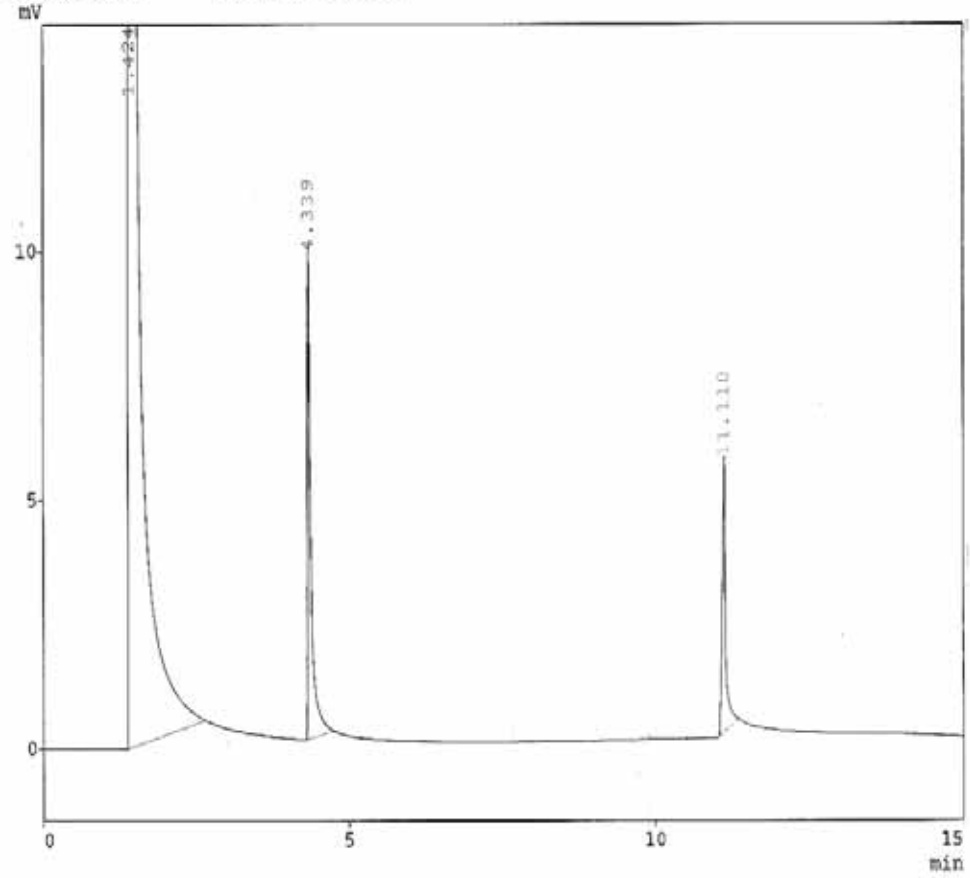
*** Peak Report ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1.423	1881714	556131			100.0000	
		1881714	556131			100.0000	

ภาพที่ 28 Chromatogram จากน้ำลายหลังการเสพ ที่เวลา 75 นาที

```
CLASS-GC10 Ver.=2.01  SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=6  DATA=SM01.D01 01/01/01 02:46:30
Sample          : saliva 0 min
ID              : 1
Dilution Factor: 1
Type            : Unknown
Detector        : FID
Operator        : 13/09/52

*** Chromatogram ***  Filename:SM01.C01
```



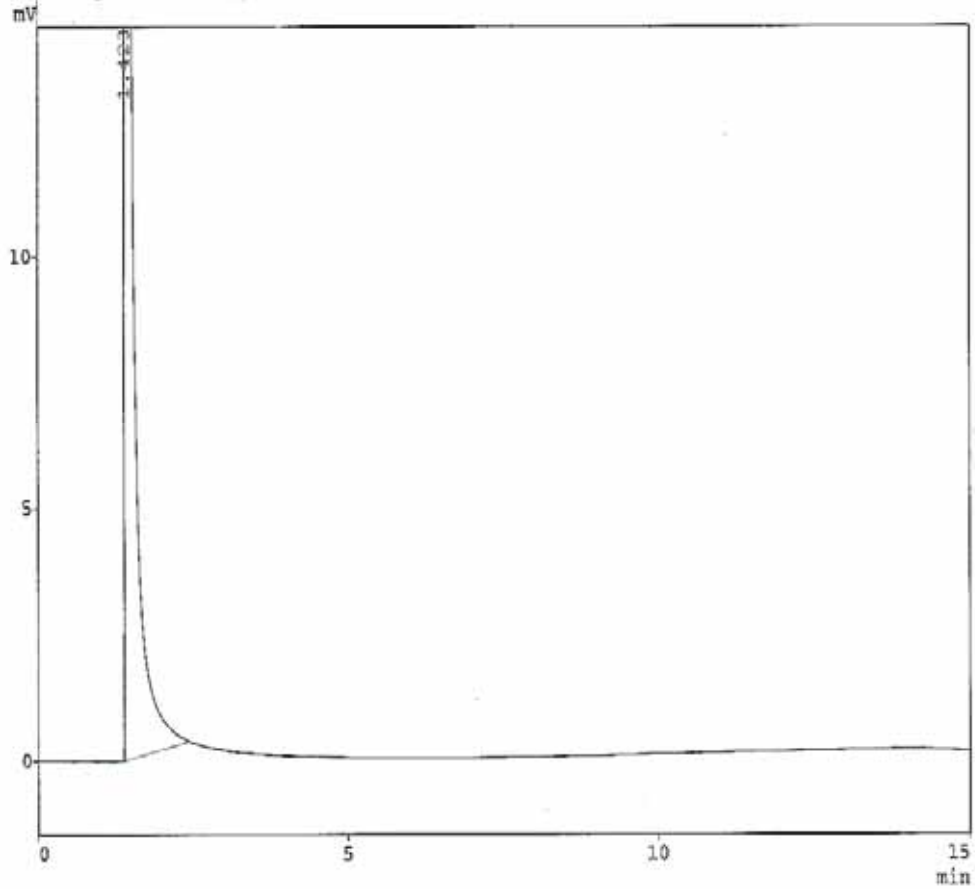
*** Peak Report ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1.424	2969854	1032723	E		98.0494	
2	4.339	38438	9905			1.2690	
3	11.110	20645	5549			0.6816	
		3028937	1048177			100.0000	

ภาพที่ 29 Chromatogram จากน้ำลายหลังการเสพ ที่เวลา 0 นาที (ครั้งที่ 2)

CLASS-GC10 Ver.=2.01 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=2 DATA=SM75.D01 01/01/01 01:14:16
Sample : saliva1.15min
ID : 1
Dilution Factor: 1
Type : Unknown
Detector : FID
Operator : 13/09/52

*** Chromatogram *** Filename:SM75.C01



*** Peak Report ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1.423	1881714	556131			100.0000	
		1881714	556131			100.0000	

ภาพที่ 30 Chromatogram จากน้ำลายหลังการเสพที่เวลา 75 นาที (ครั้งที่ 2)

ตารางที่ 8 ประวัติเบื้องต้นของผู้ต้องหาคดีเสพยาบ้า

ตัวอย่าง	เพศ (ช/ญ)	อายุ(ปี)	ปริมาณยาบ้าที่เสพ(เม็ด)	วิธีการเสพ	สถานที่เก็บตัวอย่าง
1B	ช	19	1	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
2B	ญ	21	0.5	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
3B	ช	21	1	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
4B	ช	28	0.5	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
5B	ช	29	1	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
6B	ญ	29	2	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
7B	ญ	31	1	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
8B	ญ	20	1	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
9B	ช	24	2	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
10B	ญ	15	2	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
11B	ญ	21	2	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
12B	ช	31	1	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
26B	ช	21	1	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
27B	ญ	27	2	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
28B	ช	19	1	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
29B	ญ	22	1	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
39B	ญ	33	0.5	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
40B	ช	26	1	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
42B	ช	30	2	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
43B	ช	30	1	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
44B	ญ	19	2	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
45B	ญ	18	0.5	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
46B	ช	52	1	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
47B	ช	37	0.5	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
49B	ช	24	2	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
50B	ช	38	1	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
51B	ช	45	1	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
52B	ช	26	1	สูบควัน	สน.ท่าเรือ
53B	ญ	21	1	สูบควัน	สน.ท่าเรือ

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ – ชื่อสกุล	นางสาวสุชัญญา พูลสุข
ที่อยู่	193 ซอยอรุณอมรินทร์ 11 ถนนอรุณอมรินทร์ เขตบางกอกใหญ่ กรุงเทพ 10600
สถานที่ทำงาน	หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิสม โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2548	สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ จากมหาวิทยาลัยรามคำแหง
พ.ศ. 2550	ศึกษาต่อระดับปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ประวัติการทำงาน	
พ.ศ. 2549	นักวิทยาศาสตร์ หน่วยวิจัยแป้งและไซโคลเด็กทรินซ์ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2551 - ปัจจุบัน	นักวิทยาศาสตร์ หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิสม โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย