บทที่ 3

ผลการวิจัย

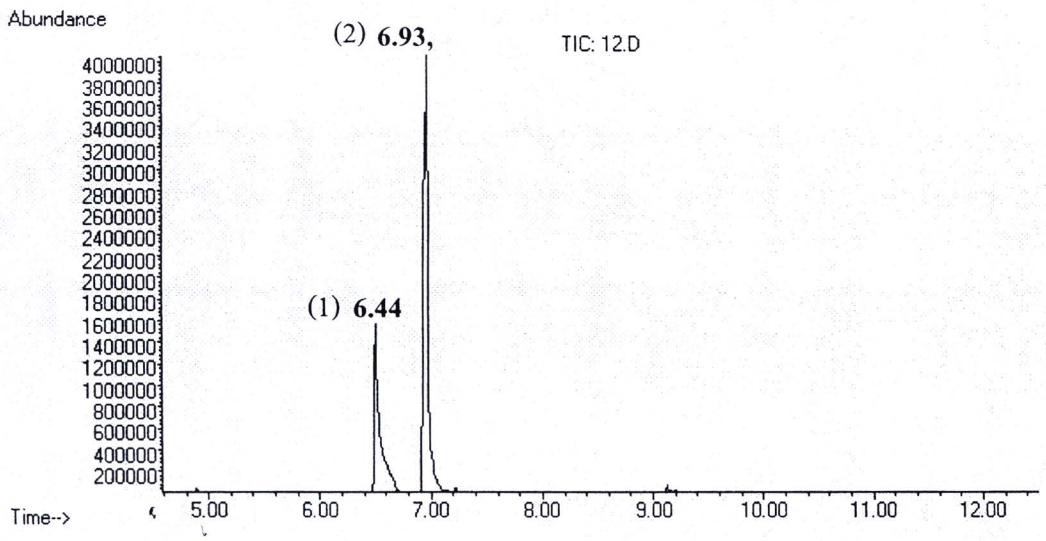
3.1 สภาวะของเฮดสเปซโซลิดเฟสไมโครเอ็กซแทรกชัน (HS-SPME) และแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมตรี (GC-MS)

การตรวจวิเคราะห์แอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน และ MA-d5 เพื่อเก็บข้อมูลการวิเคราะห์ของเวลาที่สารแต่ละชนิดใช้ผ่านคอลัมน์ (Retention time; RT) และการเก็บข้อมูลแบบ SIM mode โดยนำสภาวะในหัวข้อ 2.4.1 มาทดสอบ ก่อนนำไปใช้ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของขั้นตอนการสกัดเส้นผมต่อไป

ตาราง 3.1 RT และการเก็บข้อมูลแบบ SIM mode ของแอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน และ MA-d5

สารมาตรฐาน	RT (นาที)	ไอออนเบสพีค (m/z)	ไอออนอ้างอิง (m/z)
แอมเฟตามีน	6.44	44	91, 65
เมทแอมเฟตามีน	6.95	58	91, 65
MA-d5	6.93	62	92, 63

ผลการตรวจวิเคราะห์แอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน และ MA-d5 โดยเก็บข้อมูลแบบ SIM mode มีค่า RT คือ 6.44, 6.91 และ 6.93 นาที ตามลำดับ ดังแสดงในตาราง 3.1 และรูป 3.1



รูป 3.1 โครมาโทแกรมแบบเก็บไอออนทั้งหมด (Total chromatogram; TIC) ของวิธีการเก็บข้อมูลแบบ SIM ของแอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน และ MA-d5 จากสารละลายมาตรฐานผสมแอมเฟตามีน ความเข้มข้น 4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมทแอมเฟตามีน และ MA-d5 ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากภาพ

(1) พีคของแอมเฟตามีนที่เวลา 6.44 นาที

(2) พีคของเมทแอมเฟตามีนและ MA-d5 ที่เวลา 6.95 และ 6.93 นาที ตามลำดับ

3.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของขั้นตอนการสกัดเส้นผม

การวิเคราะห์หาสารเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมผู้ที่เสพยาบ้าด้วยเทคนิค HS-SPME GC-MS โดยใช้วิธีในหัวข้อที่ 2.4.2 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยสารละลายที่เป็นกรดและด่าง ศึกษาสภาวะที่เหมาะสม 3 สภาวะ คือ ระยะเวลาที่ใช้สกัดเส้นผมด้วยสารละลายที่เป็นกรดหรือด่างในช่วงเวลา 20, 30, 40, 50 และ 60 นาที จากนั้นศึกษาอุณหภูมิที่ใช้สกัดเส้นผมด้วยสารละลายที่เป็นกรดหรือด่างในช่วงอุณหภูมิ 60, 70, 80 และ 90 องศาเซลเซียส และศึกษาความเข้มข้นของสารละลายสำหรับการสกัดเส้นผมด้วยสารละลายที่เป็นกรดหรือด่างในช่วงความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1.0 และ 1.5 โมลาร์

3.2.1) ศึกษาระยะเวลาที่ใช้สกัดเส้นผมด้วยสารละลายกรด

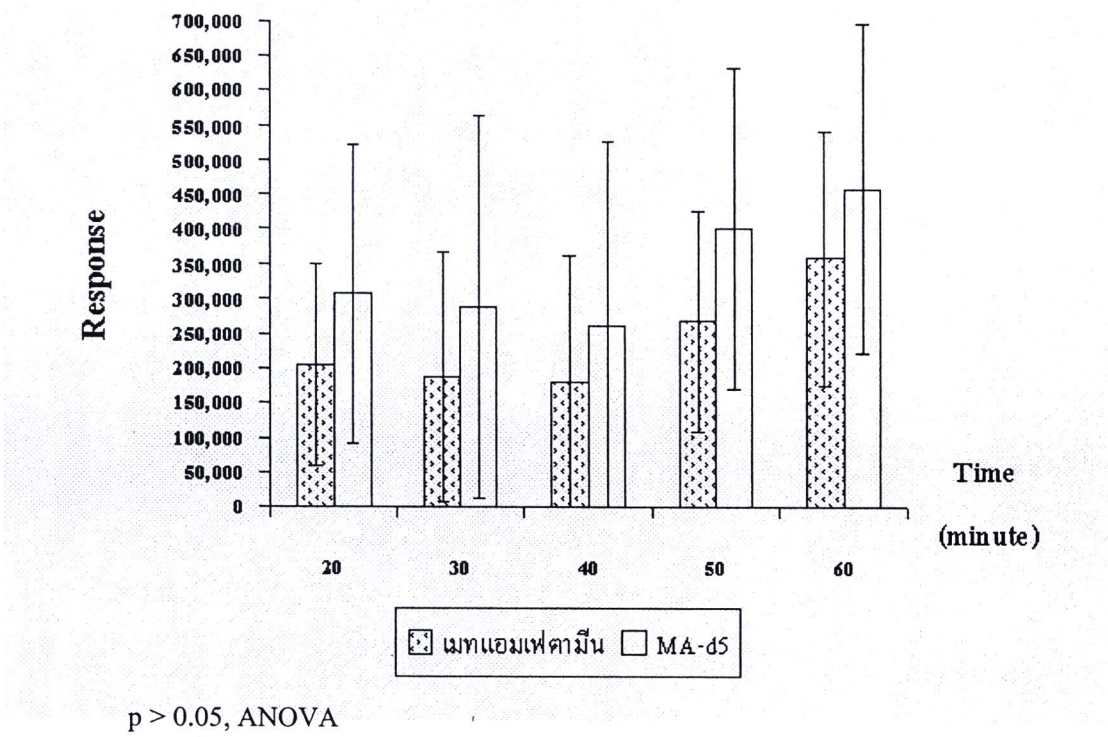
ระยะเวลาที่ใช้สกัดเส้นผมด้วยสารละลายที่เป็นกรดอยู่ในช่วง 20, 30, 40, 50 และ 60 นาที โดยกำหนดให้สภาวะอุณหภูมิคงที่ 60 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของสารละลายกรด HCl คงที่ 1 โมลาร์ จากผลการตรวจพบเมทแอมเฟตามีนที่ตรวจวัดได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ตามรูป 3.2 และตาราง 3.2 โดยผู้วิจัยได้เลือกใช้ระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดเส้นผม คือ 60 นาที เนื่องจากให้ผลการตรวจเมทแอมเฟตามีนสูงกว่าระยะเวลาการสกัดอื่นๆ นอกจากนี้การเพิ่มระยะเวลาของการสกัดเส้นผมด้วยกรด จะช่วยดึงสารที่สะสมอยู่ภายในเส้นผมออกมาได้มากขึ้น โดยไม่ย่อยสลายเส้นผม (Nakahara, 1995; Nakahara, 1999) จากนั้นนำระยะเวลาการสกัด 60 นาที ไปใช้กำหนดสภาวะเวลาการสกัดสำหรับการศึกษาอุณหภูมิและความเข้มข้นของสารละลายกรดที่ใช้ในการสกัดต่อไป

3.2.2) ศึกษาอุณหภูมิที่ใช้สกัดเส้นผมด้วยสารละลายกรด

อุณหภูมิที่ใช้สกัดเส้นผมด้วยสารละลายที่เป็นกรดอยู่ในช่วง 60, 70, 80 และ 90 องศาเซลเซียส โดยใช้ระยะเวลาการสกัด 60 นาที ตามหัวข้อ 3.2.1 และกำหนดให้ความเข้มข้นของสารละลายกรด HCl คงที่ 1 โมลาร์ จากผลการตรวจพบเมทแอมเฟตามีนที่ตรวจวัดได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ตามรูป 3.3 และตาราง 3.3 โดยผู้วิจัยได้เลือกใช้อุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดเส้นผม คือ 60 องศาเซลเซียส เนื่องจากการใช้ระยะเวลาที่ทำให้ตัวอย่างเย็นลง (cool down) สั้นกว่าอุณหภูมิอื่นๆ จากนั้นนำอุณหภูมิการสกัด 60 องศาเซลเซียสไปใช้กำหนดสภาวะอุณหภูมิการสกัดสำหรับการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายกรดที่ใช้ในการสกัดต่อไป

ตาราง 3.2 ระยะเวลาที่ใช้สกัดเส้นผมด้วยสารละลายกรด HCl

sample time (min)	peak area MA (n=5)		response ratio (MA/MA-d5)	
	mean	(±SD)	mean	(±SD)
20	204,812.80	144,449.94	0.6708	0.0276
30	186,971.20	179,096.79	0.6533	0.0199
40	178,875.20	182,123.81	0.6862	0.0084
50	268,118.40	159,072.11	0.6653	0.0141
60	357,920.00	182,489.43	0.7820	0.0089



$p > 0.05$, ANOVA

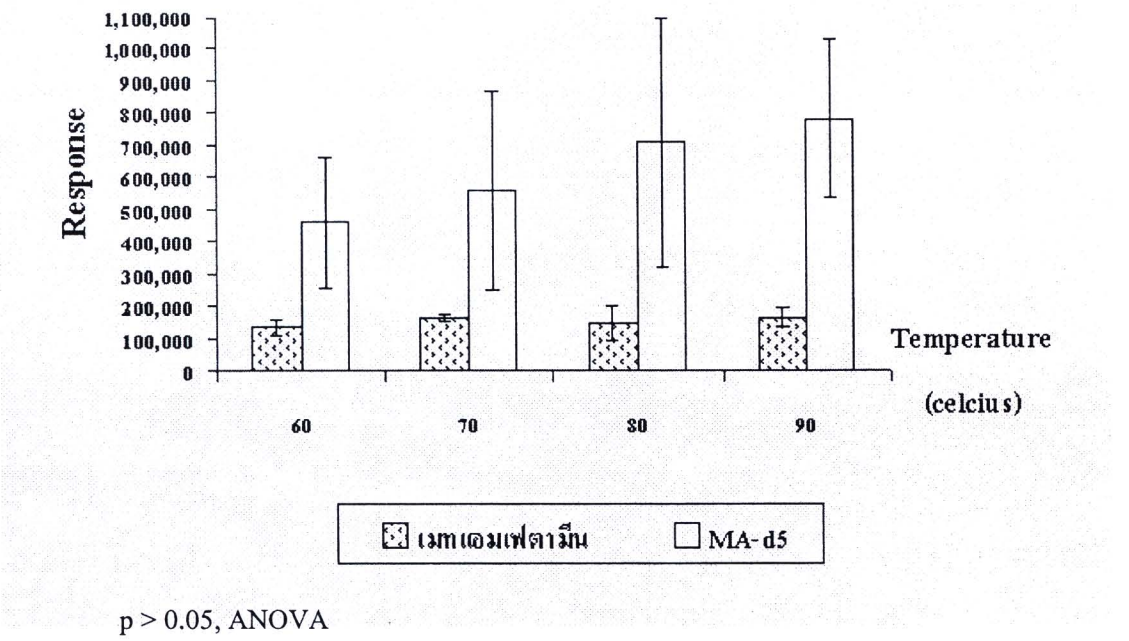
รูป 3.2 แผนภูมิแท่งแสดงการเปรียบเทียบระยะเวลาที่ใช้สกัดเส้นผมด้วยสารละลายกรด HCl

(⊡) แสดงค่าการตอบสนองของเมทแอมเฟตามีน

(□) แสดงค่าการตอบสนองของ MA-d5

ตาราง 3.3 อุณหภูมิที่ใช้สกัดเส้นผมด้วยสารละลายกรด HCl

sample temperature (°C)	peak area MA (n=5)		response ratio (MA/MA-d5)	
	mean	(±SD)	mean	(±SD)
60	134,698.00	25,119.41	0.3036	0.0547
70	164,551.25	12,237.41	0.3041	0.0610
80	147,445.00	54,069.46	0.2195	0.0418
90	164,077.00	28,902.34	0.2089	0.0149



$p > 0.05$, ANOVA

รูป 3.3 แผนภูมิแท่งแสดงการเปรียบเทียบอุณหภูมิที่ใช้สกัดเส้นผมด้วยสารละลายกรด HCl

(⊡) แสดงค่าการตอบสนองของเมทแอมเฟตามีน

(□) แสดงค่าการตอบสนองของ MA-d5

3.2.3) ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายกรดที่ใช้สกัดเส้นผม

3.2.3) ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายกรดที่ใช้สกัดเส้นผม

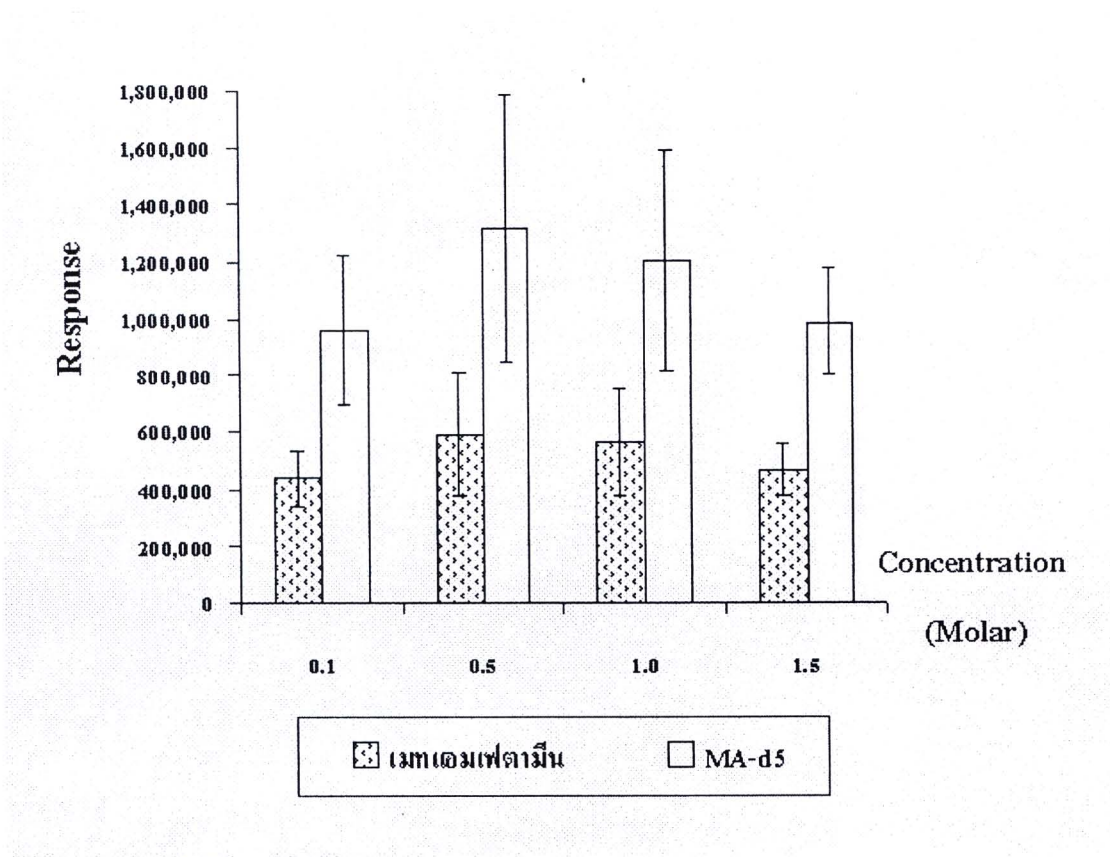
ความเข้มข้นของสารละลายกรดสำหรับการสกัดเส้นผมอยู่ในช่วง 0.1, 0.5, 1.0 และ 1.5 โมลาร์ โดยใช้ระยะเวลาการสกัดที่ 60 นาที ตามหัวข้อ 3.2.1 และใช้อุณหภูมิการสกัดที่ 60 องศาเซลเซียส ตามหัวข้อ 3.2.2 จากผลการตรวจพบเมทแอมเฟตามีนที่ตรวจวัดได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ตามรูป 3.4 และตาราง 3.4 โดยผู้วิจัยได้เลือกใช้ความเข้มข้นของสารละลายกรดที่เหมาะสมในการสกัดเส้นผม คือ 1 โมลาร์ เนื่องจากให้ผลการตรวจเมทแอมเฟตามีนสูงกว่าความเข้มข้น 0.1 และ 1.5 โมลาร์ และมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ของการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนน้อยกว่าความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ จากนั้นนำสภาวะที่เหมาะสมของขั้นตอนการสกัดเส้นผมด้วยสารละลายกรด คือ ระยะเวลา 60 นาที อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และความเข้มข้น 1 โมลาร์ ตามตางราง 3.10 ไปใช้ศึกษาสารเตรียมอนุพันธ์ที่เหมาะสมในการตรวจหาแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมด้วยวิธี HS-SPME GC-MS ต่อไป

3.2.4) ศึกษาระยะเวลาที่ใช้สกัดเส้นผมด้วยสารละลายด่าง

ระยะเวลาที่ใช้สกัดเส้นผมด้วยสารละลายที่เป็นด่างอยู่ในช่วง 20, 30, 40, 50 และ 60 นาที โดยกำหนดให้อุณหภูมิคงที่ 60 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของสารละลายด่าง NaOH คงที่ 1 โมลาร์ จากผลการตรวจพบเมทแอมเฟตามีนที่ตรวจวัดได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ตามรูป 3.5 และตาราง 3.5 โดยผู้วิจัยได้เลือกใช้ระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดเส้นผม คือ 30 นาที เนื่องจากให้ผลการตรวจเมทแอมเฟตามีนสูงกว่าระยะเวลาการสกัดอื่นๆ จากนั้นนำระยะเวลาการสกัด 30 นาที ไปใช้กำหนดสภาวะเวลาการสกัดสำหรับการศึกษาอุณหภูมิและความเข้มข้นของสารละลายด่างที่ใช้ในการสกัดต่อไป

ตาราง 3.4 ความเข้มข้นของสารละลายกรด HCl สำหรับการสกัดเส้นผม

sample concentration (M)	peak area MA (n=5)		response ratio (MA/MA-d5)	
	mean	(±SD)	mean	(±SD)
0.1	437,052.00	99,527.18	0.4600	0.0247
0.5	592,089.00	213,741.92	0.4504	0.0164
1.0	562,912.25	188,600.32	0.4670	0.0180
1.5	465,370.00	89,338.40	0.4716	0.0229

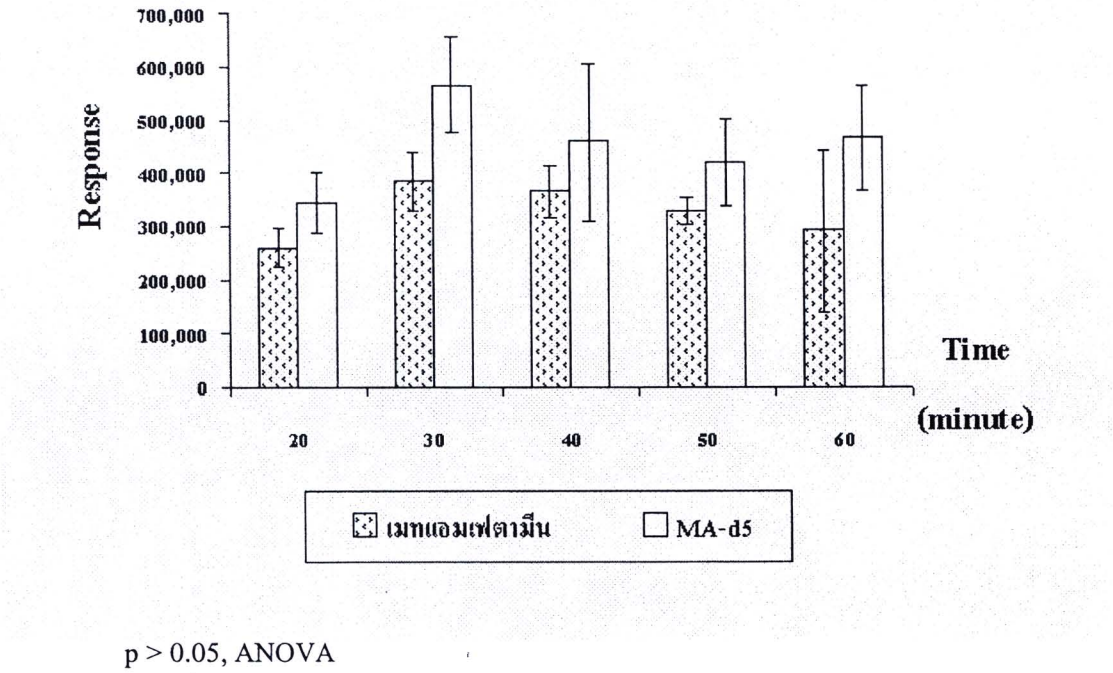


$p > 0.05$, ANOVA

รูป 3.4 แผนภูมิแท่งแสดงการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารละลายกรด HCl ที่ใช้สกัดเส้นผม
(⊠) แสดงค่าการตอบสนองของเมทแอมเฟตามีน
(□) แสดงค่าการตอบสนองของ MA-d5

ตาราง 3.5 ระยะเวลาที่ใช้สกัดเส้นผมด้วยสารละลายด่าง NaOH

sample time (min)	peak area MA (n=5)		response ratio (MA/MA-d5)	
	mean	(±SD)	mean	(±SD)
20	260,142.67	38,181.22	0.7587	0.0543
30	385,060.67	55,818.01	0.6843	0.1017
40	365,834.00	48,196.90	0.8386	0.1979
50	328,584.00	26,195.93	0.8009	0.1526
60	292,114.00	152,070.53	0.5988	0.2500



$p > 0.05$, ANOVA

รูป 3.5 แผนภูมิแท่งแสดงการเปรียบเทียบระยะเวลาที่ใช้สกัดเส้นผมด้วยสารละลายด่าง NaOH

(⊡) แสดงค่าการตอบสนองของเมทแอมเฟตามีน

(□) แสดงค่าการตอบสนองของ MA-d5

3.2.5) ศึกษาอุณหภูมิที่ใช้สกัดเส้นผมด้วยสารละลายด่าง

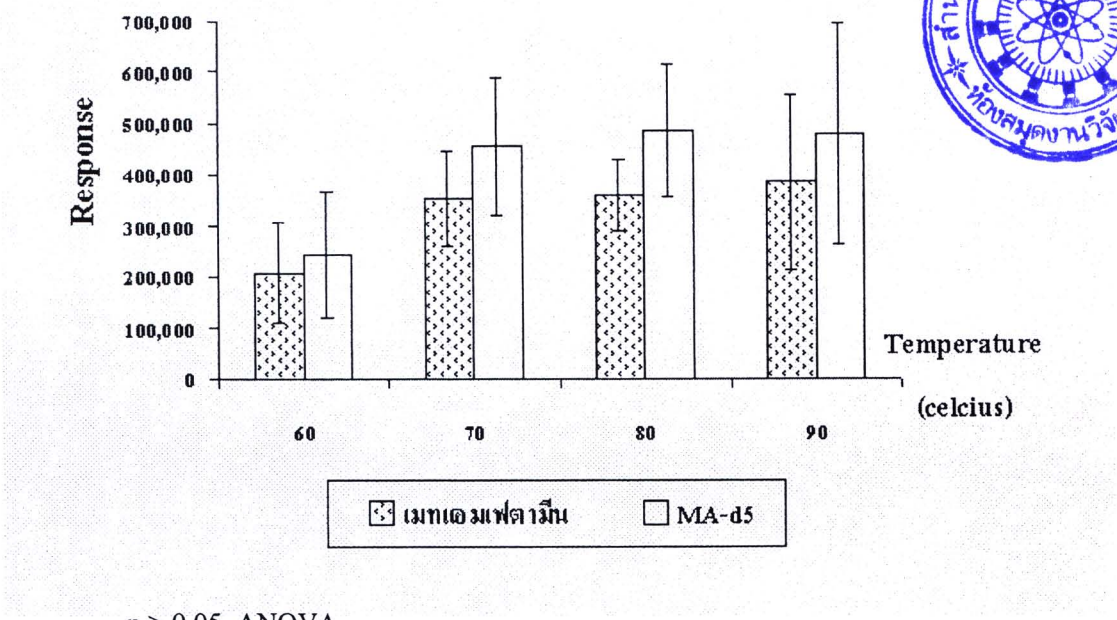
อุณหภูมิที่ใช้สกัดเส้นผมด้วยสารละลายที่เป็นด่างอยู่ในช่วง 60, 70, 80 และ 90 องศาเซลเซียส โดยใช้ระยะเวลาการสกัดที่ 30 นาที ตามหัวข้อ 3.2.4 และกำหนดให้ความเข้มข้นของสารละลายด่าง NaOH คงที่ 1 โมลาร์ จากผลการตรวจพบเมทแอมเฟตามีนที่ตรวจวัดได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ตามรูป 3.6 และตาราง 3.6 โดยผู้วิจัยได้เลือกใช้อุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดเส้นผม คือ 70 องศาเซลเซียส เนื่องจากให้ผลการตรวจเมทแอมเฟตามีนสูงกว่าอุณหภูมิการสกัด 60 องศาเซลเซียส นอกจากนี้จากการเพิ่มอุณหภูมิของการสกัดเส้นผมด้วยด่าง จะเพิ่มการย่อยสลายสารที่สะสมอยู่ภายในเส้นผมออกมาได้มากขึ้นจึงทำให้มีพีครบกวนมาก (Nakahara, 1995; Pragst *et al.*, 2006) จากนั้นนำอุณหภูมิการสกัด 70 องศาเซลเซียส ไปใช้กำหนดสภาวะอุณหภูมิการสกัดสำหรับการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายด่างที่ใช้ในการสกัดต่อไป

3.2.6) ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายด่างที่ใช้สกัดเส้นผม

ความเข้มข้นของสารละลายด่างสำหรับการสกัดเส้นผมอยู่ในช่วง 0.1, 0.5, 1.0 และ 1.5 โมลาร์ โดยใช้ระยะเวลาการสกัดที่ 30 นาที ตามหัวข้อ 3.2.4 และใช้อุณหภูมิการสกัดที่ 70 องศาเซลเซียส ตามหัวข้อ 3.2.5 จากผลการตรวจพบเมทแอมเฟตามีนที่ตรวจวัดได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ตามรูป 3.7 และตาราง 3.7 โดยผู้วิจัยได้เลือกใช้ความเข้มข้นของสารละลายด่างที่เหมาะสมในการสกัดเส้นผม คือ 0.5 โมลาร์ เนื่องจากให้ผลการตรวจเมทแอมเฟตามีนสูงกว่าความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ และมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ของการตรวจวัดเมทแอมเฟตามีนน้อยกว่าความเข้มข้น 0.1 และ 1.5 โมลาร์ จากนั้นนำสภาวะที่เหมาะสมของขั้นตอนการสกัดเส้นผมด้วยสารละลายด่าง คือ ระยะเวลา 30 นาที อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส และความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ตามตาราง 3.10 ไปศึกษาสารเตรียมอนุพันธ์ที่เหมาะสมในการตรวจหาแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมด้วยวิธี HS-SPME GC-MS ต่อไป

ตาราง 3.6 อุณหภูมิที่ใช้สกัดเส้นผมด้วยสารละลายด่าง NaOH

sample temperature (°C)	peak area MA (n=5)		response ratio (MA/MA-d5)	
	mean	(±SD)	mean	(±SD)
60	207,460.60	97,634.95	0.9225	0.3051
70	352,902.80	93,621.60	0.7847	0.1513
80	359,017.00	69,670.00	0.7588	0.1203
90	385,777.60	169,554.75	0.8169	0.1769



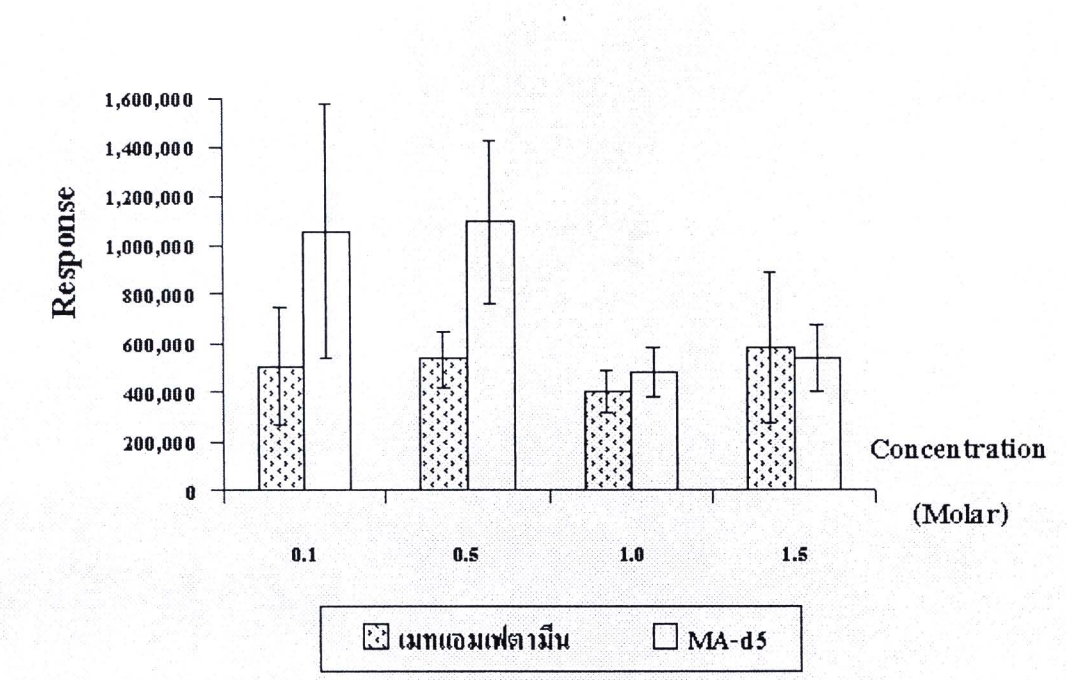
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย

p > 0.05, ANOVA

รูป 3.6 แผนภูมิแท่งแสดงการเปรียบเทียบอุณหภูมิที่ใช้สกัดเส้นผมด้วยสารละลายด่าง NaOH
(▨) แสดงค่าการตอบสนองของเมทแอมเฟตามีน
(□) แสดงค่าการตอบสนองของ MA-d5

ตาราง 3.7 ความเข้มข้นของสารละลายด่าง NaOH สำหรับการสกัดเส้นผม

sample concentration (M)	peak area MA (n=5)		response ratio (MA/MA-d5)	
	mean	(±SD)	mean	(±SD)
0.1	507,565.20	240,220.38	0.4859	0.0320
0.5	532,233.20	119,045.55	0.5004	0.0567
1.0	402,467.40	87,232.43	0.8292	0.0679
1.5	581,853.40	307,159.64	1.0397	0.5308



$p > 0.05$, ANOVA

รูป 3.7 แผนภูมิแท่งแสดงการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารละลายด่าง NaOH ที่ใช้สกัดเส้นผม

(⊡) แสดงค่าการตอบสนองของเมทแอมเฟตามีน

(□) แสดงค่าการตอบสนองของ MA-d5

จากผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของระยะเวลา อุณหภูมิ และความเข้มข้นของสารละลายกรดและด่างในการสกัดเส้นผม จึงได้สภาวะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยสารละลายกรดและด่างแสดงดังตาราง 3.8

ตาราง 3.8 สภาวะการสกัดด้วยสารละลายกรดและด่างที่เหมาะสม ในการตรวจหาเมทแอมเฟตามีนในเส้นผม

สารละลาย	ระยะเวลา (นาที)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความเข้มข้น (โมลาร์)
กรดไฮโดรคลอริก	60	60	1.0
โซเดียมไฮดรอกไซด์	30	70	0.5

3.3 การศึกษาสารเตรียมอนุพันธ์ (derivatizing reagents) ที่เหมาะสมสำหรับการตรวจหาแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนในเส้นผม

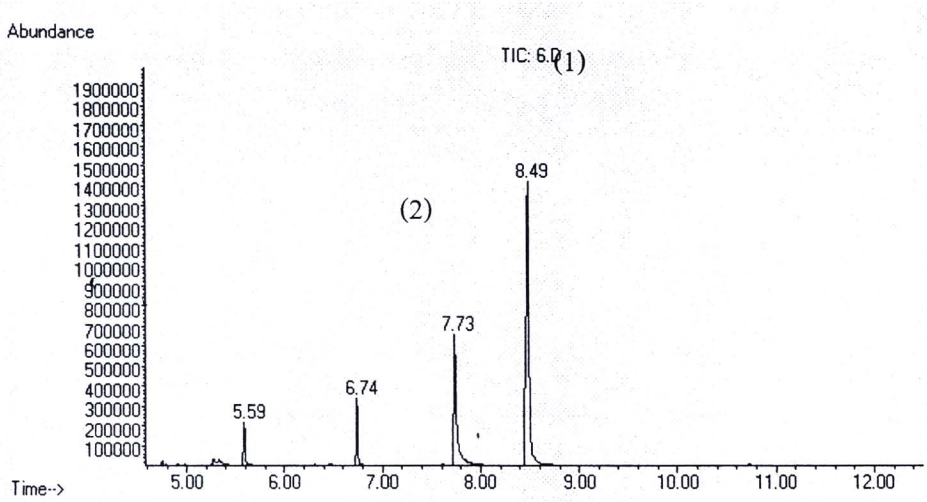
ผู้วิจัยได้ศึกษาการวิเคราะห์ด้วย direct injection GC-MS โดยตั้งค่าการเก็บข้อมูลแบบสแกน (scan mode) ซึ่งเตรียมตัวอย่างสารอนุพันธ์ของแอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีนและ MA-d5 จากสารเตรียมอนุพันธ์ทั้ง 5 ชนิด ตามวิธีการในข้อ 2.4.3.1 จากนั้นจึงนำไอออนเบสพีคและไอออนอ้างอิงที่ได้มาตั้งค่าการเก็บข้อมูลแบบ selected ion monitoring (SIM mode) แสดงในรูป 3.8-3.11 และตาราง 3.9-3.12

การศึกษาครั้งนี้ เพื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณของแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วยสารเตรียมอนุพันธ์ทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ HFBA, HFBCl, TFAA และ MBTFA ร่วมกับ MSTFA+1%TMCS ด้วยวิธี direct injection GC-MS จากนั้นนำสารเตรียมอนุพันธ์ที่คัดเลือกมาศึกษาร่วมกับสภาวะการสกัดกรดและด่างที่เหมาะสมจากหัวข้อ 3.2 และวิเคราะห์ด้วยวิธี HS-SPME GC-MS ต่อไป

3.3.1 ศึกษาเปรียบเทียบสารเตรียมอนุพันธ์ที่เหมาะสมในการตรวจหาแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนด้วยวิธี direct injection GC-MS

เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์สารเตรียมอนุพันธ์ที่เหมาะสมในการตรวจสารอนุพันธ์แอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีน ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามวิธีการในข้อ 2.4.3.1 โดยสารเตรียมอนุพันธ์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ได้แก่ HFBA, HFBCl, TFAA และ MBTFA ร่วมกับ MSTFA+1%TMCS แสดงในรูป 3.12 และตาราง 3.13 จากผลการตรวจวิเคราะห์สารอนุพันธ์แอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBA ให้ผลการตรวจที่มีค่ามากที่สุด รองลงมาคือ HFBCl เมื่อเปรียบเทียบแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBA และ HFBCl โดยใช้สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way analysis of variance: One-way ANOVA) ในการทดสอบ พบว่าแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBA มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 222,194 (±21,557.40) มีค่ามากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 171,328 (±17,415.94) ที่ค่า $p < 0.05$ และเมื่อเปรียบเทียบเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBA มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 788,281 (±80,476.75) กับแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 508,523 (±24,031.68) พบว่าให้ผลเช่นเดียวกับการตรวจแอมเฟตามีน โดยมีค่า $p < 0.05$ ส่วนแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์

ด้วย TFAA และ MBTFA ร่วมกับ MSTFA+1%TMCS ไม่สามารถตรวจพบที่ระดับความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากผลการทดลองข้างต้นสามารถกล่าวได้ว่า HFBA ให้ผลการตรวจสูงสุด ในการตรวจวัดแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ ที่ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



รูป 3.8 โครมาโทแกรมแบบ TIC ของวิธีการเก็บข้อมูลแบบ SIM ของแอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน และ MA-d5 ที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย TFAA จากสารละลายมาตรฐานผสมแอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน และ MA-d5 ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

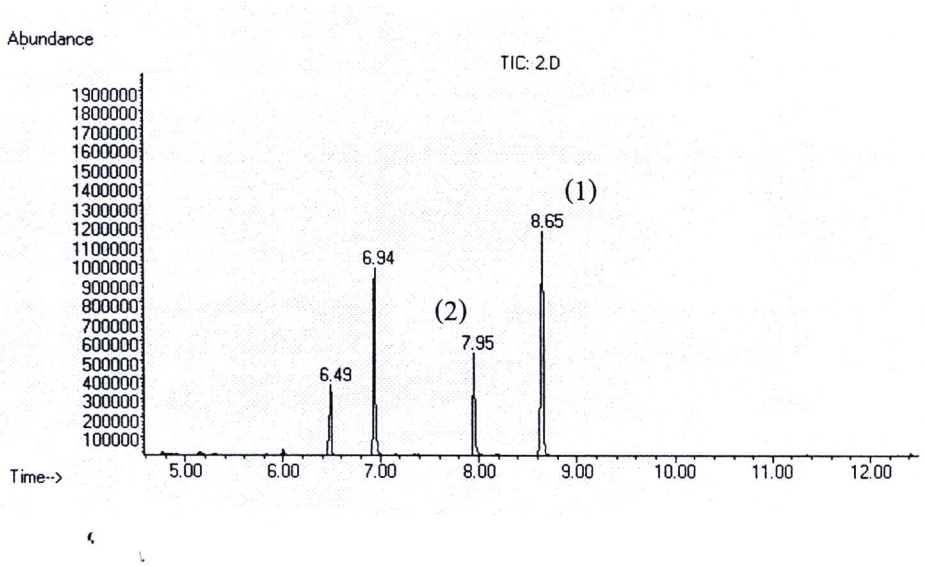
(1) พีคของอนุพันธ์เมทแอมเฟตามีนและ MA-d5 ที่เวลา 8.49 และ 8.47 นาที ตามลำดับ

(2) พีคของอนุพันธ์แอมเฟตามีน ที่เวลา 7.73 นาที

ตาราง 3.9 RT และการเก็บข้อมูลแบบ SIM mode ของแอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน และ MA-d5 ที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย TFAA

สารอนุพันธ์	retention time (นาที)	ไอออนเบสพีค (m/z)	ไอออนอ้างอิง (m/z)
แอมเฟตามีน	7.73	140	118, 91
เมทแอมเฟตามีน	8.49	154	118, 110
MA-d5	8.47	158	122

TFA = trifluoroacetamide derivative



รูป 3.9 โครมาโทแกรมแบบ TIC ของวิธีการเก็บข้อมูลแบบ SIM ของแอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน และ MA-d5 ที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBA จากสารละลายมาตรฐานผสมแอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน และ MA-d5 ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

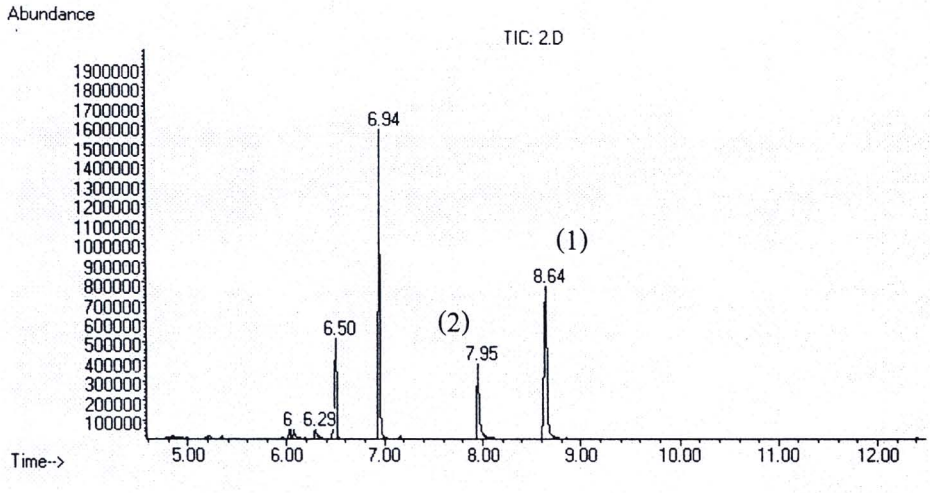
(1) พีคของอนุพันธ์เมทแอมเฟตามีนและ MA-d5 ที่เวลา 8.65 และ 8.63 นาที ตามลำดับ

(2) พีคของอนุพันธ์แอมเฟตามีน ที่เวลา 7.95 นาที

ตาราง 3.10 RT และการเก็บข้อมูลแบบ SIM mode ของสารอนุพันธ์แอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน และ MA-d5 ที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBA

สารอนุพันธ์	retention time (นาที)	ไอออนเบสพีค (m/z)	ไอออนอ้างอิง (m/z)
แอมเฟตามีน	7.95	118	240, 91
เมทแอมเฟตามีน	8.65	254	210, 118
MA-d5	8.63	258	213

HFB = heptafluorobutyryl derivative



รูป 3.10 โครมาโทแกรมแบบ TIC ของวิธีการเก็บข้อมูลแบบ SIM ของแอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน และ MA-d5 ที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl จากสารละลายมาตรฐานผสมแอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน และ MA-d5 ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

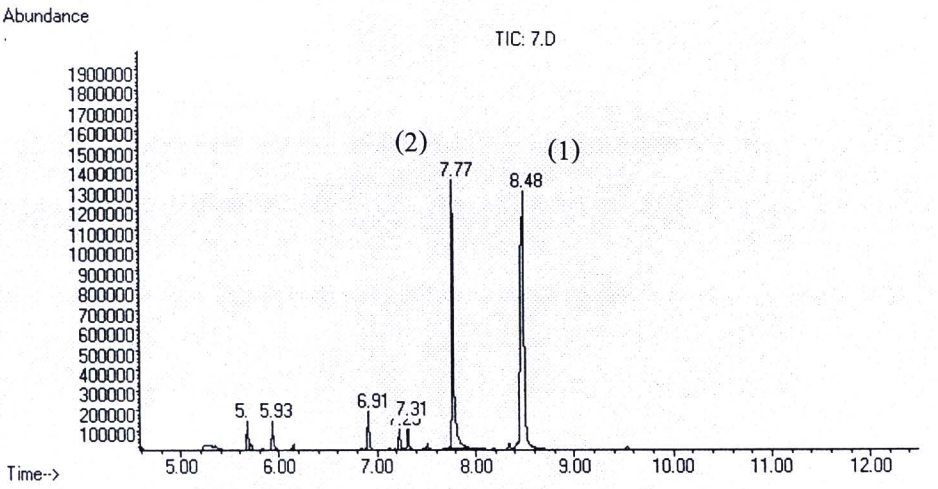
(1) พีคของอนุพันธ์เมทแอมเฟตามีนและ MA-d5 ที่เวลา 8.64 และ 8.62 นาที ตามลำดับ

(2) พีคของอนุพันธ์แอมเฟตามีน ที่เวลา 7.95 นาที

ตาราง 3.11 RT และการเก็บข้อมูลแบบ SIM mode ของสารอนุพันธ์แอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน และ MA-d5 ที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl

สารอนุพันธ์	retention time (นาที)	ไอออนเบสพีค (m/z)	ไอออนอ้างอิง (m/z)
แอมเฟตามีน	7.95	240	118, 91
เมทแอมเฟตามีน	8.64	254	210, 118
MA-d5	8.62	258	213

HFB = heptafluorobutyryl derivative



รูป 3.11 โครมาโทแกรมแบบ TIC ของวิธีการเก็บข้อมูลแบบ SIM ของแอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน และ MA-d5 ที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย MBTFA ร่วมกับ MSTFA 1%TMCS จากสารละลายมาตรฐานผสมแอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน และ MA-d5 ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

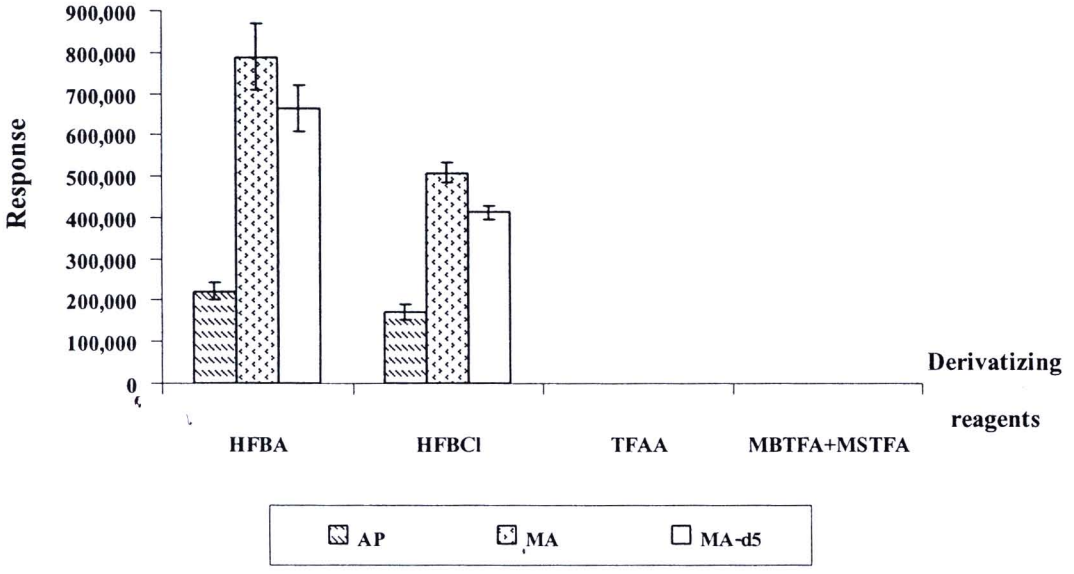
(1) พีคของอนุพันธ์เมทแอมเฟตามีนและ MA-d5 ที่เวลา 8.48 และ 8.46 นาที ตามลำดับ

(2) พีคของอนุพันธ์แอมเฟตามีน ที่เวลา 7.77 นาที

ตาราง 3.12 RT และการเก็บข้อมูลแบบ SIM mode ของสารอนุพันธ์แอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน และ MA-d5 ที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย MBTFA + MSTFA with 1%TMCS

สารอนุพันธ์	retention time (นาที)	ไอออนเบสพีค (m/z)	ไอออนอ้างอิง (m/z)
แอมเฟตามีน	7.77	118	140, 91
เมทแอมเฟตามีน	8.48	154	118, 110
MA-d5	8.46	158	113

TFA = trifluoroacetamide derivative

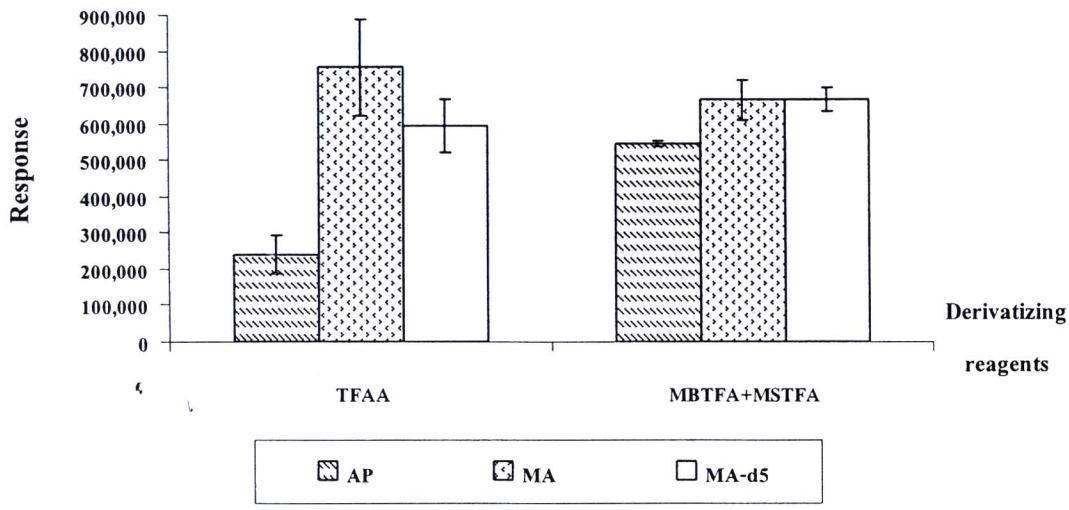


* $p < 0.05$, ANOVA

รูป 3.12 แผนภูมิแท่งเปรียบเทียบการวิเคราะห์แอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีน ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBA, HFBCl, TFAA และ MBTFA ร่วมกับ MSTFA+1%TMCS

เนื่องจากแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย TFAA และ MBTFA ร่วมกับ MSTFA+1%TMCS ไม่สามารถตรวจพบได้ที่ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จึงตรวจวิเคราะห์ที่ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงดังรูป 3.13 และตาราง 3.13 เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์อนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีน โดยใช้สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way ANOVA) ในการทดสอบ พบว่าเมื่อเปรียบเทียบแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย TFAA มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 239,787 (±51,960.80) ให้ผลการตรวจที่มีค่าน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย MBTFA ร่วมกับ MSTFA+1%TMCS ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 546,592 (±7,195.52) ที่ค่า $p < 0.05$ การเตรียมอนุพันธ์แอมเฟตามีนด้วย MBTFA ร่วมกับ MSTFA+1%TMCS ให้ผลการวิเคราะห์ได้ดีกว่าการเตรียมอนุพันธ์ด้วย TFAA แต่เมื่อเปรียบเทียบเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย TFAA มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 756,693 (±131,895.64) กับเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย MBTFA ร่วมกับ MSTFA+1%TMCS ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 666,336 (±54,894.11) มีค่า $p > 0.05$ แสดงให้เห็นว่าผลการตรวจไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากผลการศึกษานี้ สารเตรียมอนุพันธ์ที่เหมาะสมสำหรับตรวจอนุพันธ์แอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนตามวิธีการในข้อ 2.4.3.1 โดยวิธี direct injection GC-MS สารเตรียมอนุพันธ์ที่ให้ผลการตรวจดีที่สุดคือ HFBA และรองมาคือ HFBCl จึงมีความเหมาะสมสำหรับการประยุกต์ใช้ในเทคนิค SPME ในการศึกษาต่อไป



* $p < 0.05$, ANOVA

รูป 3.13 แผนภูมิแท่งเปรียบเทียบการวิเคราะห์แอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีน ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย TFAA และ MBTFA ร่วมกับ MSTFA+1%TMCS

3.3.2 การศึกษาเปรียบเทียบสาร HFBA, HFBCl และ HFBCl:HFBA (8:2 v/v) ร่วมกับสภาวะการสกัดด้วยสารละลายกรดและด่างที่เหมาะสม ในการตรวจหาแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนด้วยวิธี HS-SPME GC-MS

ภายหลังการเก็บข้อมูลแบบ scan ของการวิเคราะห์ด้วย HS-SPME GC-MS โครมาโทแกรมของแอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีนและ MA-d5 ที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBA หรือ HFBCl หรือ HFBCl:HFBA (8:2 v/v) ตามวิธีการในข้อ 2.4.3.2 จากนั้นจึงนำไอออนเบสพีคและไอออนอ้างอิงที่ได้มาตั้งค่าการเก็บข้อมูลแบบ selected ion monitoring (SIM mode) ดังตาราง 3.14-3.16

ตาราง 3.14 RT และการเก็บข้อมูลแบบ SIM mode ของแอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน และ MA-d5 ที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBA

สารอนุพันธ์	retention time (นาที)	ไอออนเบสพีค (m/z)	ไอออนอ้างอิง (m/z)
แอมเฟตามีน	8.02	118	240, 91
เมทแอมเฟตามีน	8.69	254	210, 118
MA-d5	8.67	258	213

HFB = heptafluorobutyryl derivative

ตาราง 3.15 RT และการเก็บข้อมูลแบบ SIM mode ของแอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน และ MA-d5 ที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl

สารอนุพันธ์	retention time (นาที)	ไอออนเบสพีค (m/z)	ไอออนอ้างอิง (m/z)
แอมเฟตามีน	7.95	240	118, 91
เมทแอมเฟตามีน	8.65	254	210, 118
MA-d5	8.63	258	213

HFB = heptafluorobutyryl derivative

ตาราง 3.16 RT และการเก็บข้อมูลแบบ SIM mode ของแอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน และ MA-d5 ที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl:HFBA (8:2 v/v)

สารอนุพันธ์	retention time (นาที)	ไอออนเบสพีค (m/z)	ไอออนอ้างอิง (m/z)
แอมเฟตามีน	7.95	240	118, 91
เมทแอมเฟตามีน	8.65	254	210, 118
MA-d5	8.63	258	213

HFB = heptafluorobutyryl derivative

ผลการตรวจหาแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 20 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ตามวิธีการในข้อ 2.4.3.2 ที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBA หรือ HFBCl หรือ HFBCl:HFBA (8:2 v/v) โดยใช้สภาวะการสกัดที่เหมาะสมของสารละลายด่าง NaOH จากผลการศึกษาในข้อ 3.2 ที่ระยะเวลาในการสกัด 30 นาที อุณหภูมิในการสกัดเลือกใช้ 70 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของสารละลายด่างเลือก 0.5 โมลาร์ เมื่อเปรียบเทียบการวิเคราะห์พบว่าแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl:HFBA (8:2 v/v) ให้ผลการตรวจมากที่สุด รองลงมาคือสาร HFBCl และ HFBA ตามลำดับ แสดงในรูป 3.14 และตาราง 3.17 เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์อนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีน โดยใช้สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way analysis of variance: One-way ANOVA) ในการทดสอบ พบว่าแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl:HFBA (8:2 v/v) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 172,510 (±10,059.08) มีค่ามากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 121,093 (±4,477.58) ที่ค่า $p < 0.05$ และแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl:HFBA (8:2 v/v) มีค่ามากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBA ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 24,667 (±10,755.17) ซึ่งมีค่า p น้อยกว่า 0.05 แสดงให้เห็นว่าผลการตรวจมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อเปรียบเทียบเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl:HFBA (8:2 v/v) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 499,646 (±12,497.28) กับเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 421,086 (±6,354.00) พบว่ามีค่ามากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ค่า $p < 0.05$ และเมื่อเปรียบเทียบเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl:HFBA (8:2 v/v) กับเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBA ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 58,974.33 (±32,475.70) พบว่ามีค่ามากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งมีค่า p น้อยกว่า 0.05 แสดงให้เห็นว่าผลการตรวจมีความแตกต่างกันอย่างมี

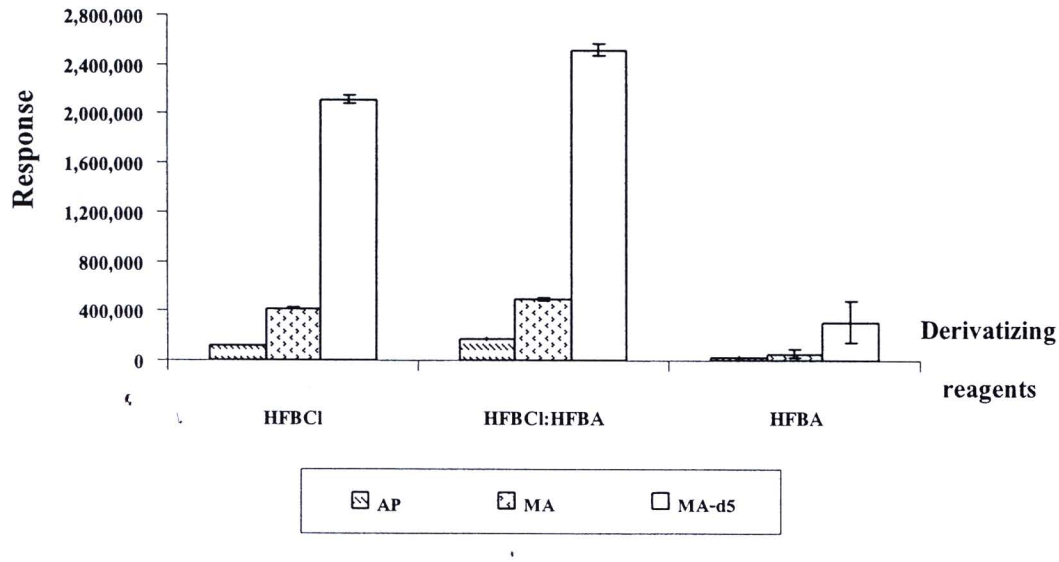
นัยสำคัญทางสถิติ จากผลการทดลองข้างต้นสามารถกล่าวได้ว่า HFBCl:HFBA (8:2 v/v) ให้ผลการตรวจดีที่สุดในการวิเคราะห์อนุพันธ์แอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีน ความเข้มข้น 20 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ภายใต้สภาวะการสกัดด้วยสารละลายด่าง NaOH

ตาราง 3.17 เปรียบเทียบการวิเคราะห์แอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีน ความเข้มข้น 20 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBA, HFBCl และ HFBCl:HFBA (8:2 v/v) ร่วมกับสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยสารละลายด่าง NaOH

Derivatizing reagents in NaOH	AP derivatives				MA derivatives			
	Area		Ratio		Area		Ratio	
	Mean	(±SD)	Mean	(±SD)	Mean	(±SD)	Mean	(±SD)
HFBCl	121,093	4,477.58	0.0572	0.0013	421,086	6,354.00	0.1989	0.001
HFBCl:HFBA	172,510	10,059.08	0.0685	0.0049	499,646	12,497.28	0.1984	0.0018
HFBA	24,668	10,755.17	0.0809	0.0084	58,974	32,475.70	0.1866	0.0032

ตาราง 3.18 เปรียบเทียบการวิเคราะห์แอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีน ความเข้มข้น 20 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBA, HFBCl และ HFBCl:HFBA (8:2 v/v) ร่วมกับสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยสารละลายกรด HCl

Derivatizing reagents in HCl	AP derivatives				MA derivatives			
	Area		Ratio		Area		Ratio	
	Mean	(±SD)	Mean	(±SD)	Mean	(±SD)	Mean	(±SD)
HFBCl	42,319	20,374.98	0.0487	0.0079	179,008	66,944.68	0.2134	0.0021
HFBCl:HFBA	12,996	2,726.85	0.1204	0.0311	25,762	12,022.32	0.2197	0.0053
HFBA	854	230.36	0.6392	0.2692	270	280.81	0.1419	0.0537



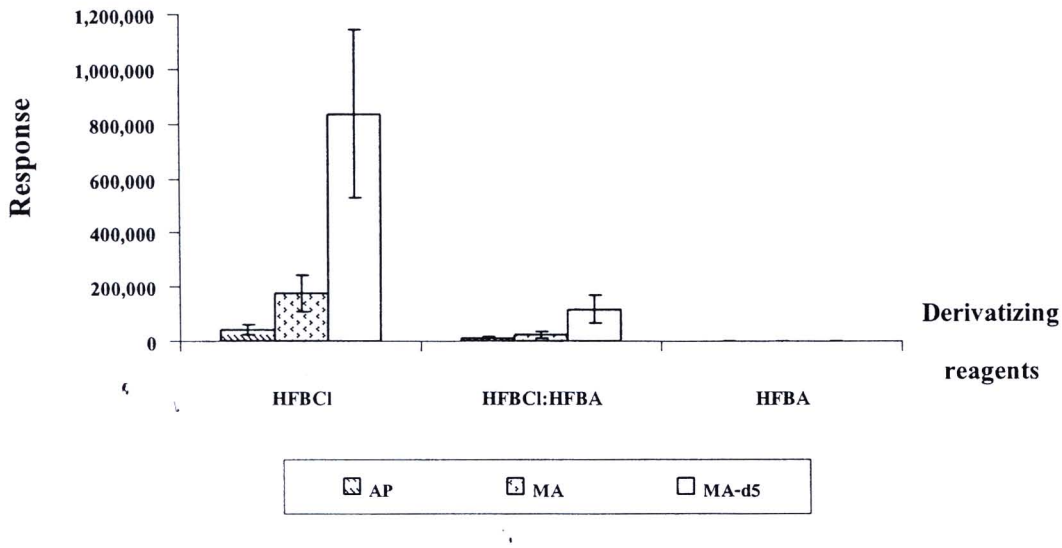
* $p < 0.05$, ANOVA

รูป 3.14 แผนภูมิแท่งเปรียบเทียบการวิเคราะห์แอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีน ความเข้มข้น 20 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBA, HFBCl และ HFBCl:HFBA (8:2 v/v) ร่วมกับสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยสารละลายด่าง NaOH

สำหรับการเปรียบเทียบผลการตรวจหาแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 20 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ตามวิธีการในข้อ 2.4.3.2 ที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBA หรือ HFBCl หรือ HFBCl:HFBA (8:2 v/v) โดยใช้สภาวะการสกัดที่เหมาะสมของสารละลายกรด HCl จากผลการศึกษาในข้อ 3.2 ที่ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที อุณหภูมิในการสกัดเลือกใช้ 60 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของสารละลายกรดเลือก 1.0 โมลาร์ เมื่อเปรียบเทียบการวิเคราะห์พบว่าแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl ให้ผลการตรวจมากที่สุด รองลงมาคือสาร HFBCl:HFBA (8:2 v/v) และ HFBA ตามลำดับ แสดงในรูป 3.15 และตาราง 3.18 เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์อนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีน โดยใช้สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way analysis of variance: One-way ANOVA) ในการทดสอบ พบว่าแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 42,319 (±20,374.98) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl:HFBA (8:2 v/v) ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 12,996 (±2,726.85) ที่ค่า $p > 0.05$ และเมื่อเปรียบเทียบเมทแอมเฟตามีนที่เตรียม

อนุพันธ์ด้วย HFBCl มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 179,008 (±66,944.67) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl:HFBA (8:2 v/v) ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 25,762 (±12,022.31) มีค่า p มากกว่า 0.05 แสดงให้เห็นว่าผลการตรวจไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการวิเคราะห์แอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBA ให้ค่าการตอบสนอง (response) ต่ำมาก จึงไม่สามารถนำมาวิเคราะห์ได้ จากผลการทดลองข้างต้นสามารถกล่าวได้ว่า HFBCl มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการตรวจวัดสารอนุพันธ์แอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนภายใต้สภาวะการสกัดด้วยสารละลายกรด HCl ความเข้มข้น 20 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการศึกษานี้สารเตรียมอนุพันธ์ที่เหมาะสมสำหรับตรวจหาอนุพันธ์แอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนภายใต้สภาวะการสกัดด้วยสารละลายด่างที่เวลาในการสกัด 30 นาที อุณหภูมิในการสกัดเลือกใช้ 70 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของสารละลายด่างเลือก 0.5 โมลาร์ คือ HFBCl:HFBA (8:2 v/v) และภายใต้สภาวะการสกัดด้วยสารละลายกรดที่ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที อุณหภูมิในการสกัดเลือกใช้ 60 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของสารละลายกรดเลือก 1.0 โมลาร์ สารเตรียมอนุพันธ์ที่เหมาะสม คือ HFBCl จากนั้นนำสภาวะของการสกัดด้วยด่าง NaOH ร่วมกับการเตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl:HFBA (8:2 v/v) และการสกัดด้วยกรด HCl ร่วมกับการเตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl มาศึกษาเปรียบเทียบการวิเคราะห์แอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนในเส้นผม ตามวิธีในข้อ 2.4.3.3 ต่อไป โดยกำหนดให้มีสภาวะการตรวจวิเคราะห์ใกล้เคียงกับการสกัดและตรวจวิเคราะห์แอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมจากผู้เสพยาบ้า เพื่อประโยชน์ในการคัดเลือกสภาวะที่มีเหมาะสมที่สุด ก่อนนำไปทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ต่อไป



P > 0.05, ANOVA

รูป 3.15 แผนภูมิแท่งเปรียบเทียบการวิเคราะห์แอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีน ความเข้มข้น 20 นาโนต่อมิลลิลิตร ที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBA, HFBCl และ HFBCl:HFBA (8:2 v/v) ร่วมกับสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยสารละลายกรด HCl

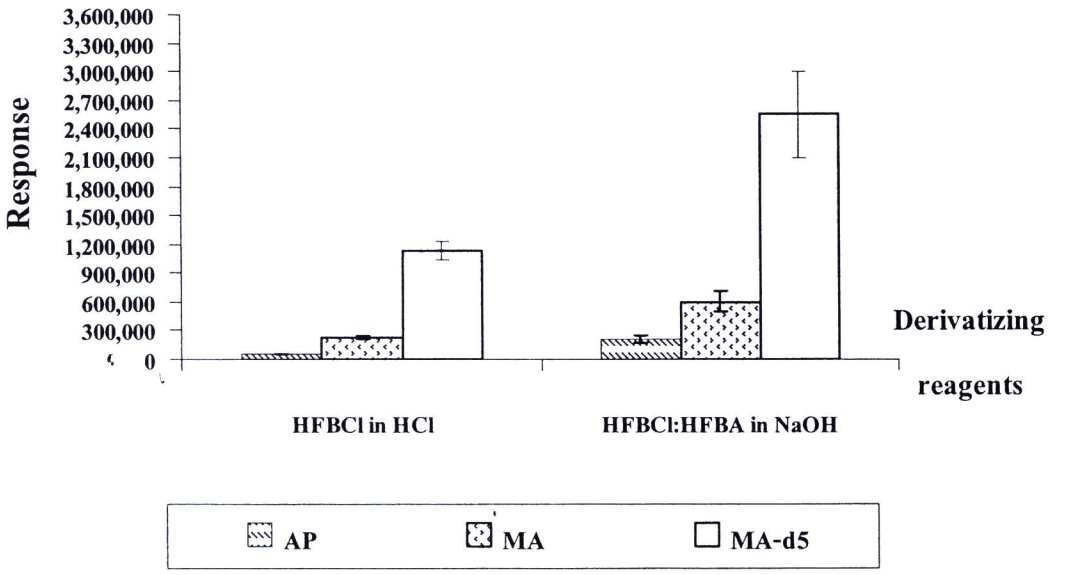
3.3.3 เปรียบเทียบการวิเคราะห์แอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมด้วยวิธี HS-SPME GC-MS โดยใช้สภาวะการสกัดด้วยสารละลายกรดร่วมกับ HFBCl และสภาวะการสกัดด้วยสารละลายด่างร่วมกับ HFBCl:HFBA (8:2 v/v)

ผลเปรียบเทียบการวิเคราะห์อนุพันธ์แอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมที่ความเข้มข้นเทียบเท่า 0.2 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม ตามวิธีการในข้อ 2.4.3.3 ซึ่งอ้างอิงตามเกณฑ์ที่ยอมรับในการตรวจวิเคราะห์สารกลุ่มแอมเฟตามีนของ SoHT ที่ระดับความเข้มข้น 0.2 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม โดยใช้สภาวะการสกัดด้วยสารละลายกรดที่ระยะเวลา 60 นาที อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของสารละลายกรด HCl 1.0 โมลาร์ ร่วมกับการเตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl โดยเปรียบเทียบกับสภาวะการสกัดด้วยสารละลายด่างที่เวลา 30 นาที อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส์ และความเข้มข้นของสารละลายด่าง NaOH 0.5 โมลาร์ ร่วมกับการเตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl:HFBA (8:2 v/v) เมื่อเปรียบเทียบการวิเคราะห์พบว่าแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl:HFBA (8:2 v/v) ภายใต้สภาวะการสกัดด้วยสารละลายด่าง ให้ผลการตรวจมากกว่าแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl ภายใต้สภาวะการสกัดด้วยสารละลายกรด แสดงในรูป 3.16 และตาราง 3.19 เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์อนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีน โดยใช้สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way analysis of variance: One-way ANOVA) ในการทดสอบ พบว่าแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl:HFBA (8:2 v/v) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 212,188 (±42,995.76) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 59,579 (±3,751.26) ที่ค่า $p > 0.05$ ส่วนการวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl:HFBA (8:2 v/v) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 602,469 (±103,490.93) พบว่ามีค่ามากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 231,871 (±18,456.51) ที่ค่า $p < 0.05$

ดังนั้นผู้วิจัยจึงกำหนดให้วิธีการวิเคราะห์แอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนในเส้นผม คือ การสกัดเส้นผมด้วยสารละลายด่าง NaOH ที่ระยะเวลา 30 นาที อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของสารละลายด่างที่ 0.5 โมลาร์ จากนั้นเตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl:HFBA (8:2 v/v) เป็นวิธีการสำหรับนำไปทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ และนำวิธีการวิเคราะห์นี้ไปวิเคราะห์หาปริมาณแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างเส้นผมจากผู้ที่เสพยาบ้า 45 รายต่อไป

ตาราง 3.19 เปรียบเทียบการตรวจวัดสารอนุพันธ์แอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนในเส้นผม ความเข้มข้นเทียบเท่า 0.2 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัม เส้นผม โดยใช้สภาวะการสกัดด้วยสารละลายด่างร่วมกับ HFBCl:HFBA (8:2 v/v) และสภาวะการสกัดด้วยสารละลายกรดร่วมกับ HFBCl

Derivatizing reagents	AP derivatives				MA derivatives			
	Area		Ratio		Area		Ratio	
	Mean	(±SD)	Mean	(±SD)	Mean	(±SD)	Mean	(±SD)
HFBCl in HCl	59,580	3,751.26	0.0525	0.0013	231,871	18,456.51	0.2041	0.0041
HFBCl:HFBA in NaOH	212,189	42,995.76	0.0829	0.0021	602,470	103,490.93	0.2362	0.0034



* $p < 0.05$, ANOVA

รูป 3.16 แผนภูมิแท่งเปรียบเทียบการตรวจวัดสารอนุพันธ์แอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนในเส้นผม ความเข้มข้นความเข้มข้นเทียบเท่า 0.2 นาโนต่อมิลลิกรัมเส้นผม โดยใช้สภาวะการสกัดด้วยสารละลายด่างร่วมกับ HFBCl:HFBA (8:2 v/v) และสภาวะการสกัดด้วยสารละลายกรดร่วมกับ HFBCl

3.4 การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation)

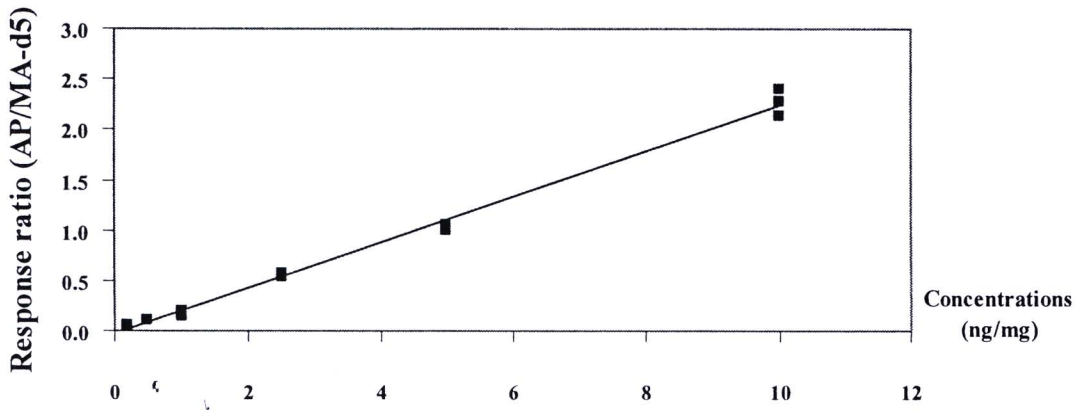
นำวิธีการวิเคราะห์สารอนุพันธ์แอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนในเส้นผม จากผลการศึกษาในข้อ 3.3.3 มาทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ตามแนวปฏิบัติของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (US FDA, 2001) ดังนี้

3.4.1 การหาค่าความเป็นเส้นตรง (linearity) และช่วงของการวัด (working range)

ความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนในเส้นผม ที่ความเข้มข้น 0.2, 0.5, 1, 2.5, 5 และ 10 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม ตามวิธีการในข้อ 2.5 โดยทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นละ 3 ครั้งต่อวัน และวิเคราะห์ต่อเนื่องกัน 5 วัน รวมทั้งหมด 15 ครั้ง ซึ่งแอมเฟตามีนมีช่วงของการวัด 0.2-10 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม ค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9971 ดังตาราง 3.20 และแสดงกราฟมาตรฐานของแอมเฟตามีนวันที่ 1 ในรูป 3.17 ส่วนเมทแอมเฟตามีนมีช่วงของการวัด 0.2-10 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม ค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9992 ดังตาราง 3.21 และแสดงกราฟมาตรฐานของเมทแอมเฟตามีนวันที่ 1 ในรูป 3.18

ตาราง 3.20 สมการความเป็นเส้นตรงและค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์ของแอมเฟตามีน

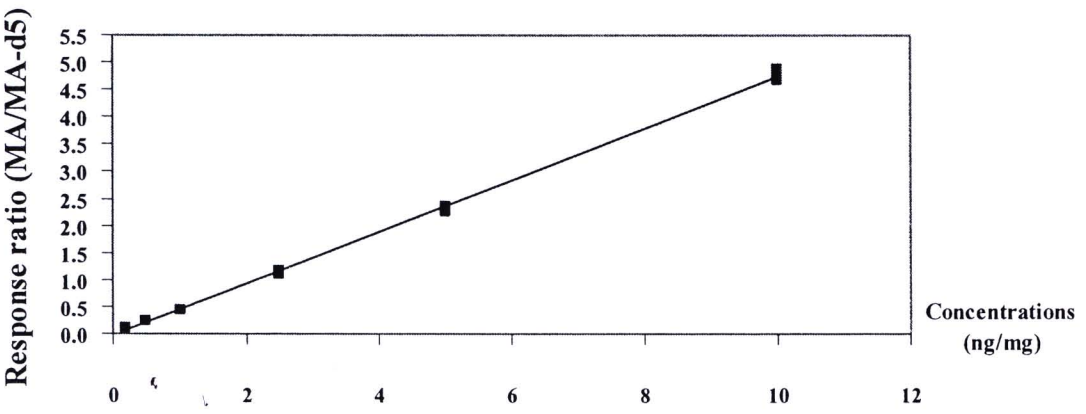
Analyze	Date	Set	a	b	r^2
แอมเฟตามีน	1	1	0.2126	0.0026	0.9998
		2	0.2261	0.0342	0.9963
		3	0.2392	0.0535	0.9939
	2	1	0.2160	0.0257	0.9964
		2	0.2060	0.0153	0.9996
		3	0.2000	0.0187	0.9981
	3	1	0.2490	0.0408	0.9982
		2	0.2000	0.0241	0.9981
		3	0.1980	0.0068	0.9951
	4	1	0.1930	0.0069	0.9974
		2	0.2030	0.0205	0.9960
		3	0.1980	0.0010	0.9977
	5	1	0.219	0.0402	0.9986
		2	0.209	0.0511	0.9945
		3	0.249	0.0632	0.9973
Mean			**0.2145**	**0.0270**	**0.9971**
SD			**0.0185**	**0.0196**	**0.0017**



รูป 3.17 กราฟมาตรฐานของแอมเฟตามีนในเส้นผมในวันที่ 1 ช่วงของการวัด 0.2-10 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม โดยทำการวิเคราะห์ทั้งหมด 3 ครั้งต่อความเข้มข้น ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9938

ตาราง 3.21 สมการความเป็นเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเมทแอมเฟตามีน

Analyze	Date	Set	a	b	r^2
เมทแอมเฟตามีน	1	1	0.4833	0.0333	0.9998
		2	0.4673	0.0278	0.9998
		3	0.4871	0.0682	0.9985
	2	1	0.4770	0.0529	0.9990
		2	0.4450	0.0097	0.9997
		3	0.4540	0.0259	0.9994
	3	1	0.4930	0.0758	0.9984
		2	0.4790	0.0611	0.9983
		3	0.4780	0.0544	0.9986
	4	1	0.4680	0.0479	0.9989
		2	0.4550	0.0277	0.9995
		3	0.4600	0.0306	0.9994
	5	1	0.472	0.0482	0.9996
		2	0.461	0.0392	0.9998
		3	0.465	0.0416	0.9995
Mean			**0.4696**	**0.0430**	**0.9992**
SD			**0.0134**	**0.0178**	**0.0005**



รูป 3.18 กราฟมาตรฐานของเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมในวันที่ 1 ช่วงของการวัด 0.2-10 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม โดยทำการวิเคราะห์ทั้งหมด 3 ครั้งต่อความเข้มข้น ค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์ (r2) เท่ากับ 0.9989

3.4.2 การหาความแม่น (accuracy) และความเที่ยง (precision) ของการวิเคราะห์

การทดสอบความแม่นและความเที่ยงของแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนในเส้นผม ตามวิธีการในข้อ 2.5 โดยกำหนดความเข้มข้นที่ระดับต่ำ กลาง และสูง ของกราฟมาตรฐานเท่ากับความเข้มข้นที่ 0.5, 2.5 และ 10 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม ตามลำดับ สำหรับการทดลองภายในวันเดียวกัน (intra-day) จะทดสอบ 7 ครั้งในแต่ละความเข้มข้น และการทดลองระหว่างวัน (inter-day) จะทดสอบ 3 ครั้งต่อหนึ่งความเข้มข้นและทำต่อเนื่องกัน 4 วัน พบว่าแอมเฟตามีนมีค่าความเที่ยงในการทดลองภายในวันเดียวกันเท่ากับ 96.50-110.36% และการทดลองระหว่างวันเท่ากับ 93.82-100.68% มีค่าความแม่นในการวิเคราะห์แอมเฟตามีนของการทดลองภายในวันเดียวกันเท่ากับ 6.79-12.12% และการทดลองระหว่างวันเท่ากับ 6.37-14.93% แสดงดังตาราง 3.22 ส่วนเมทแอมเฟตามีนมีค่าความเที่ยงในการทดลองภายในวันเดียวกันเท่ากับ 96.16-109.55% และการทดลองระหว่างวันเท่ากับ 96.89-109.32% มีค่าความแม่นในการวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนของการทดลองภายในวันเดียวกันเท่ากับ 2.19-2.63% และการทดลองระหว่างวันเท่ากับ 1.76-4.00% แสดงดังตาราง 3.22

ตาราง 3.22 การทดสอบความแม่น (accuracy) และความเที่ยง (precision) ของแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนในเส้นผม สำหรับการทดลองภายในวันเดียวกัน (intra-day) และการทดลองระหว่างวัน (inter-day)

Analyze	expected conc. (ng/mg)	measured conc. (ng/mg) (± SD)		C.V. (%)		R.R. (%)	
		intra-day (n = 7)	inter-day (n = 12)	intra-day (n = 7)	inter-day (n = 12)	intra-day (n = 7)	inter-day (n = 12)
แอมเฟตามีน	0.5	0.55 (±0.04)	0.50 (±0.06)	6.79	12.52	110.36	100.68
	2.5	2.62 (±0.32)	2.35 (±0.15)	12.12	6.37	104.87	93.82
	10	9.65 (±0.92)	10.04 (±1.50)	9.58	14.93	96.50	100.42
เมทแอมเฟตามีน	0.5	0.55 (±0.01)	0.55 (±0.02)	2.45	4.00	109.55	109.32
	2.5	2.40 (±0.05)	2.42 (±0.04)	2.19	1.76	96.16	96.89
	10	9.83 (±0.26)	10.01 (±0.21)	2.63	2.07	98.33	100.09

C.V. = coefficient of variation

R.R. = relative recovery

3.4.3 การหาค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection; LOD) และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (limit of quantitation; LOQ)

การทดสอบค่า LOD และ LOQ ของแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนในเส้นผม ตามวิธีการในข้อ 2.5 โดยกำหนดความเข้มข้นที่ทดสอบเท่ากับ 0.10, 0.15 และ 0.2 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม ในการทดลองภายในวันเดียวกัน จะทำ 10 ครั้งในแต่ละความเข้มข้น แสดงดังตาราง 3.23 โดยใช้กราฟมาตรฐานของแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนที่ระดับความเข้มข้น 0.2-5 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมของเส้นผม เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์แอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 0.15 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม พบว่าค่า %CV และ %RR มีค่าเท่ากับ 17.11% และ 150.50% ตามลำดับ ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นอันดับแรกที่มีค่าเกิน 20% และพิจารณาจาก mass ratio ของแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 0.15 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม พบว่ามีค่าเท่ากับ 100, 65, 60 ซึ่งตรงกับเอกลักษณ์ของแอมเฟตามีน ดังนั้นค่า LOD ของแอมเฟตามีนเท่ากับ 0.15 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม ส่วนแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 0.20 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม เมื่อพิจารณาจากค่า %CV และ %RR มีค่าเท่ากับ 14.13% และ 117.35% ตามลำดับ ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นที่มีค่าไม่เกิน 20% และพิจารณาจาก mass ratio ของแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 0.20 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม พบว่ามีค่าเท่ากับ 100, 67, 50 ซึ่งตรงกับเอกลักษณ์ของแอมเฟตามีน ดังนั้นค่า LOQ ของแอมเฟตามีนเท่ากับ 0.20 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม สำหรับแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 0.10 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม ไม่สามารถตรวจวัดได้

พิจารณาเมทแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 0.10 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม พบว่าค่า %CV และ %RR มีค่าเท่ากับ 5.72% และ 71.25% ตามลำดับ ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นอันดับแรกที่มีค่าเกิน 20% และพิจารณาจาก mass ratio ของเมทแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 0.10 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม มีค่าเท่ากับ 100, 30, 40 ซึ่งตรงกับเอกลักษณ์ของเมทแอมเฟตามีน ดังนั้นค่า LOD ของเมทแอมเฟตามีนเท่ากับ 0.10 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม ส่วนเมทแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 0.15 และ 0.20 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม เมื่อพิจารณาจากค่า %CV และ %RR ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4.68% กับ 88.77% และ 3.78% กับ 92.58% ตามลำดับ ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นที่มีค่าไม่เกิน 20% ทั้งสองความเข้มข้น และพิจารณาจาก mass ratio ของเมทแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 0.15 และ 0.20 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม มีค่าเท่ากับ 100, 27, 16 และ 100, 28, 16 ตามลำดับ ซึ่งตรงกับเอกลักษณ์ของเมทแอมเฟตามีน ดังนั้นจึงกำหนดให้ค่า LOQ ของเมทแอมเฟตามีนเท่ากับ 0.15 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม

ตาราง 3.23 ค่า LOD และ LOQ ของแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีน

analyze	expected conc. (ng/mg)	measured conc. (ng/mg) (± SD)	C.V. (%)	R.R. (%)
แอมเฟตามีน	0.20	0.23 (±0.03)	14.13	117.35
	0.15	0.23 (±0.04)	17.11	150.50
	0.10	Not detect	-	-
เมทแอมเฟตามีน	0.20	0.19 (±0.01)	3.78	92.58
	0.15	0.13 (±0.01)	4.68	88.77
	0.10	0.07 (±0.004)	5.72	71.25

3.5 การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างเส้นผมจากผู้ที่เสพยาบ้า

กลุ่มตัวอย่างเส้นผมที่ใช้สำหรับการศึกษาครั้งนี้ เป็นกลุ่มตัวอย่างที่ผ่านการเก็บและตรวจวิเคราะห์หาแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนโดยวิธีของ Monnatee (Monnatee *et al.*, 2008) จากโครงการวิจัยเรื่อง "การลดพฤติกรรมเสี่ยงต่อการ ติดเชื้อ เอช ไอ วี (HIV) และโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ในเยาวชนที่เกี่ยวข้องกับยาเสพติดในภาคเหนือของประเทศไทย: ระยะที่ 2 การแทรกแซง" จำนวน 45 ราย

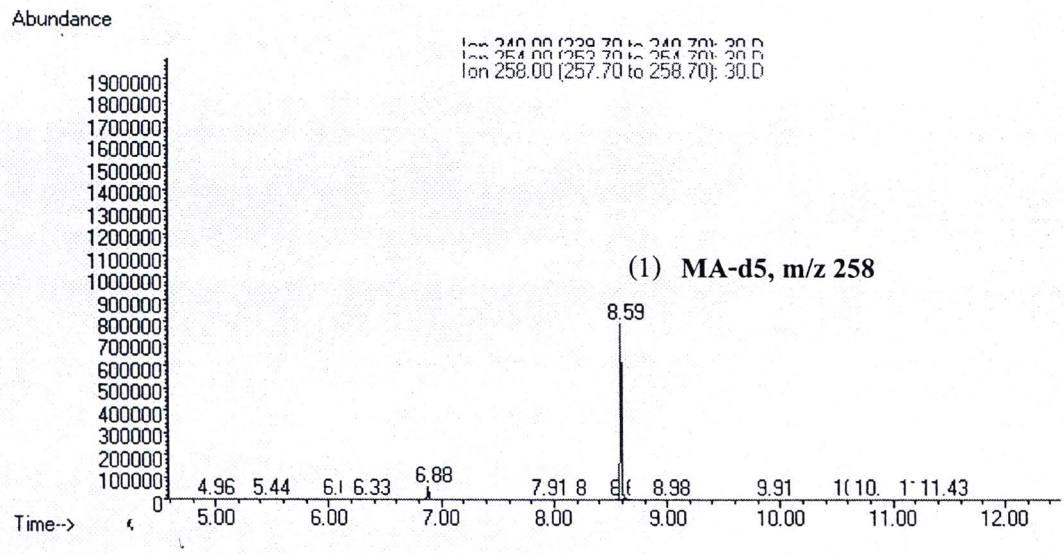
3.5.1 ปริมาณแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างเส้นผมจากผู้ที่เสพยาบ้า

การวิเคราะห์แอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมจากกลุ่มตัวอย่างที่เสพยาบ้า 45 ราย ผลการศึกษาปริมาณแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมของกลุ่มผู้เสพยาบ้าตามตาราง 3.24 ตรวจพบแอมเฟตามีนในเส้นผมผู้เสพยาบ้าจำนวน 15 รายจากทั้งหมด คิดเป็นร้อยละ 33.33 ซึ่งความเข้มข้นของแอมเฟตามีนที่ตรวจพบอยู่ในช่วง 0.22-2.76 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม นอกจากนี้ตรวจพบเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมจำนวน 21 รายจากทั้งหมด คิดเป็นร้อยละ 46.67 ความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนที่ตรวจพบอยู่ในช่วง 0.20-20.06 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม แสดงดังรูป 3.19 (ผลการวิเคราะห์แต่ละรายอยู่ในภาคผนวก ข)

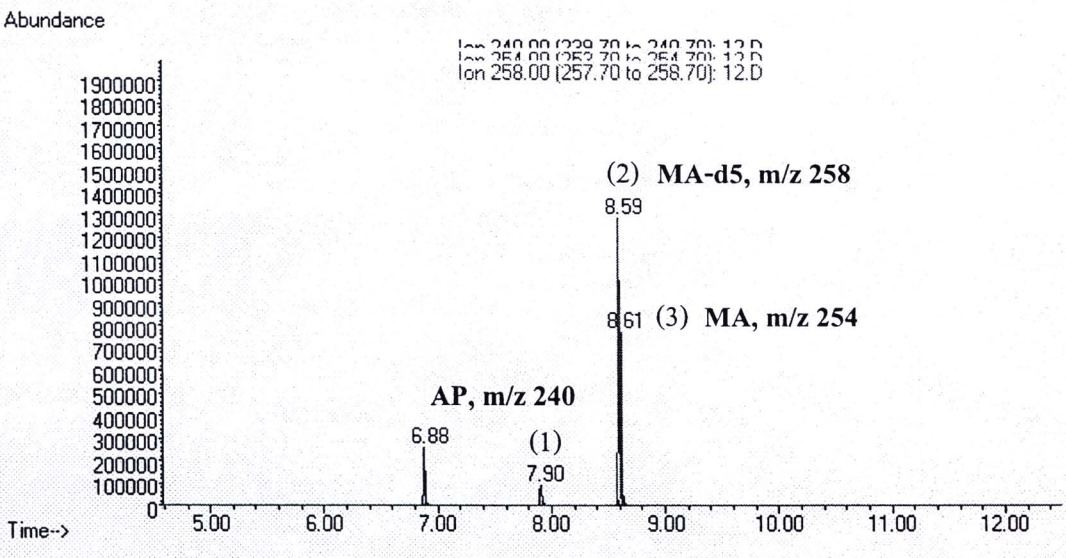
ตาราง 3.24 ปริมาณแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนที่ตรวจพบในตัวอย่างเส้นผมผู้ที่เสพยาบ้า

Hair samples	เมทแอมเฟตามีน	แอมเฟตามีน
No. of positive (%)	21 (46.67)	15 (33.33)
Range (ng/mg of hair)	0.20-20.06	0.22-2.76

(ก)



(ข)



รูป 3.19 โครมาโทแกรมชนิด TIC ของวิธีการเก็บข้อมูลแบบ SIM ในเส้นผมของผู้เสพติดยาบ้า

(ก) แสดงโครมาโทแกรมของวิธีการเก็บข้อมูลแบบ SIM ในเส้นผมของผู้เสพติดยาบ้าที่ให้ผลการตรวจเป็น negative ในภาพแสดงพีค (1) คือ MA-d5

(ข) แสดงโครมาโทแกรมของวิธีการเก็บข้อมูลแบบ SIM ในเส้นผมของผู้เสพติดยาบ้าที่ให้ผลการตรวจเป็น positive ในภาพแสดงพีค (1) คือ แอมเฟตามีน, พีค (2) คือ MA-d5 และพีค (3) คือ เมทแอมเฟตามีน

3.5.2 ศึกษาหาความสอดคล้องกัน (measure of agreement) ของผลการตรวจวัดปริมาณแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนจากตัวอย่างเส้นผมจากผู้ที่เสพยาบ้าในกลุ่มเดียวกัน ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีการศึกษานี้กับวิธีการศึกษาที่รายงานก่อนหน้านี้ (Monnatee *et al.*, 2008)

เมื่อเปรียบเทียบวิธีการวิเคราะห์ปริมาณแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างเส้นผมด้วยวิธีการศึกษานี้กับวิธีการศึกษาที่รายงานก่อนหน้านี้ (ตาราง 3.25) พบว่าวิธีการศึกษานี้ตรวจพบแอมเฟตามีนในเส้นผมจำนวน 15 รายจากทั้งหมด และวิธีการศึกษาที่รายงานก่อนหน้านี้ตรวจไม่พบแอมเฟตามีนในเส้นผม เมื่อนำมาศึกษาความสอดคล้องกันระหว่างผลการตรวจวิเคราะห์แอมเฟตามีนที่ตรวจด้วยวิธีการศึกษานี้กับวิธีการศึกษาที่รายงานก่อนหน้านี้ ปรากฏว่าไม่มีความสอดคล้องกันของวิธีการตรวจวัดปริมาณแอมเฟตามีนทั้ง 2 วิธี เนื่องจากค่า Kappa = 0 ตามตาราง 3.26 ส่วนปริมาณเมทแอมเฟตามีนในเส้นผม พบว่าวิธีการศึกษานี้ตรวจพบเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมจำนวน 21 รายจากทั้งหมด และวิธีการศึกษาที่รายงานก่อนหน้านี้ตรวจพบเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมจำนวน 17 รายจากทั้งหมด เมื่อนำมาศึกษาความสอดคล้องกันระหว่างผลการตรวจวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนที่ตรวจด้วยวิธีการศึกษานี้กับวิธีการศึกษาที่รายงานก่อนหน้านี้ ปรากฏว่ามีความสอดคล้องกันของวิธีการตรวจวัดปริมาณเมทแอมเฟตามีนทั้ง 2 วิธี เนื่องจากค่า Kappa = 0.819 ตามตาราง 3.26

ตาราง 3.25 เปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ตัวอย่างเส้นผมของวิธีการศึกษานี้กับวิธีการศึกษาที่รายงานก่อนหน้านี้

Hair samples 45 cases	วิธีการเตรียมตัวอย่างเส้นผม	
	การศึกษานี้	การศึกษาที่รายงานก่อนหน้านี้
Extraction	เส้นผมผู้ที่เสพยาบ้า 20 mg	เส้นผมผู้ที่เสพยาบ้า 20 mg
	เติม 0.5 M NaOH; 200 µl	เติม 1.0 M HCl; 200 µl
	เติม MA-d5 300 ng/ml; 150 µl	เติม benzaldehyde 0.0001% v/v; 150 µl
	อบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 °C, 30 min	อบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 °C, 60 min
Derivatization	เติมสาร HFBCl:HFBA (8:2 v/v) 50 µl	-
Adjust pH	เติม 1 M K_2CO_3; 1,650 µl	
Analyze	HS-SPME GC-MS	

ตาราง 3.26 ความสอดคล้องกัน (measure of agreement) ของผลการตรวจวัดปริมาณแอมเฟตามีน และเมทแอมเฟตามีนจากวิธีการศึกษานี้กับวิธีการศึกษาที่รายงานก่อนหน้านี้

Previousreports	Current results			
	เมทแอมเฟตามีน[a]		แอมเฟตามีน[b]	
	Positive	Negative	Positive	Negative
Positive	17	0	0	0
Negative	4	24	15	30

[a] Kappa = 0; poor of agreement

[b] Kappa = 0.819; very good of agreement