



การแยก เมทแอมเฟตามีน กับ ไดเมทิลแอมเฟตามีนในตัวอย่างยาบ้าด้วยวิธี Thin Layer
Chromatography (TLC) และวิธี Gas Chromatography (GC)

โดย

ร้อยตำรวจโทหญิงศิริกัญญา เรืองศรี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2552

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การแยก เมทแอมเฟตามีน กับ ไดเมทิลแอมเฟตามีนในตัวอย่างยาบ้าด้วยวิธี Thin Layer
Chromatography (TLC) และวิธี Gas Chromatography (GC)

โดย

ร้อยตำรวจโทหญิงศิริกัญญา เรืองศรี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2552

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

**SEPARATION OF METHAMPHETAMINE AND DIMETHYLAMPHETAMINE IN SEIZED
DRUGS BY THIN LAYER CHROMATOGRAPHY (TLC) AND GAS CHROMATOGRAPHY
(GC)**

**By
Sirikanya Ruangsri**

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 “ การแยก เมทแอมเฟตามีน กับ ไดเมทิลแอมเฟตามีนในตัวอย่างยาบ้าด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) และวิธี Gas Chromatography (GC) ” เสนอโดย ร้อยตำรวจโทหญิงศิริกัญญา เรืองศรี เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริชัย ชินะตั้งกูร)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

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

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นรงค์ ฉิมพาลี)
...../...../.....

..... กรรมการ
(พลตำรวจตรี โกสินทร์ หินเขาวัว)
...../...../.....

..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร.ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง)
...../...../.....

..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร.ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี)
...../...../.....

51312326 : MAJOR : FORENSIC SCIENCE

KEY WORDS : METHAMPHETAMINE/DIMETHYLAMPHETAMINE/THIN LAYER
CHROMATOGRAPHY/GAS CHROMATOGRAPHY

SIRIKANYA RUANGSRI : SEPARATION OF METHAMPHETAMINE AND
DIMETHYLAMPHETAMINE IN SEIZED DRUGS BY THIN LAYER CHROMATOGRAPHY (TLC)
AND GAS CHROMATOGRAPHY (GC). THESIS ADVISORS : SIRIRAT CHOOSAKOONKRIANG,
Ph.D AND SUPACHAI SUPALAKNARI, Ph.D . 78 pp.

Currently, the dimethylamphetamine (DMA) has been increasingly found in seized drugs. It is thus necessary to examine the methods of separation and determination of DMA in the seized drugs. In this work, the methamphetamine (MA) and DMA were separated and analysed by Thin Layer Chromatography (TLC) and Gas Chromatography (GC). The drug sample was extracted by using methanol as a solvent prior to analysis.

In TLC study, it was found that the separation of MA, DMA and Caffeine can be achieved by using a solvent system of ethyl acetate : methanol : ammonia (85:10:6,v/v/v) as a mobile phase and using 1% Fast Black K Salt as a plate developer. For 30 samples analysed, the average R_f values of MA, DMA and caffeine are 0.5315, 0.7629 and 0.6857 respectively.

In the GC analysis, a flame-ionization detector was used with a HP-5 capillary column (0.32 mm i.d. x 30 m, 0.25 μ m film thickness). The MA and DMA peaks can be separated with a resolution greater than 1.5 . Linearities of the calibration curves for MA, DMA and caffeine were obtained with acceptable results ($R^2 > 0.9995$ in all cases). Limits of detection were determined for the three analytes as follows MA: 0.0489 g/L, DMA: 0.0431 g/L and caffeine: 0.0462 g/L. Limits of quantitation were 0.0503 g/L for MA, 0.0439 g/L for DMA and 0.0527 g/L for caffeine. GC analyses of 20 samples of seized drugs revealed that the contents of MA, DMA and caffeine were in the ranges of 19.65-34.65 mg/tablet, 11.70-34.30 mg/tablet and 24.90-52.90 mg/tablet respectively.

กิตติกรรมประกาศ

ในการจัดทำวิทยานิพนธ์เรื่อง การแยก เมทแอมเฟตามีน กับ ไดเมทิลแอมเฟตามีน ในตัวอย่างยาบ้าด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) และวิธี Gas Chromatography (GC) สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีเพราะได้รับความร่วมมือและช่วยเหลือจากบุคคลหลายท่าน ที่ได้สละเวลาให้คำแนะนำ ข้อคิดและความรู้ต่างๆ อันเป็นประโยชน์ต่อการทำวิจัยเป็นอย่างยิ่ง

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง และอาจารย์ ดร.ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี ที่ได้กรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา และให้คำแนะนำช่วยเหลือ และตรวจสอบข้อบกพร่องต่างๆ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งและขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณกลุ่มงานตรวจยาเสพติด กองพิสูจน์หลักฐานกลาง สำนักงานตำรวจแห่งชาติ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในด้านเครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีในการวิเคราะห์ในงานวิจัยนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ทุกคนที่ให้ความร่วมมือ ช่วยเหลือ แนะนำในส่วนต่างๆ จนทำให้วิทยานิพนธ์นี้ประสบผลสำเร็จไปได้ด้วยดี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ	ฎ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
สมมติฐานของการวิจัย	3
ขอบเขตของการวิจัย.....	4
นิยามศัพท์เฉพาะที่ใช้ในการวิจัย	4
กรอบแนวความคิดในการวิจัย.....	5
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย.....	5
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	6
ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับยาบ้า.....	6
ความหมายของยาบ้า.....	6
ประวัติความเป็นมาของยาบ้า.....	7
ลักษณะทั่วไปของยาบ้า	8
โครงสร้างทางเคมีของยาบ้า	9
องค์ประกอบของยาบ้า.....	10
การออกฤทธิ์ของยาบ้า.....	11
โทษของการเสพยาบ้า.....	12
คุณสมบัติทางเคมีของสารประกอบในยาบ้า.....	13
Amphetamine	13
Methamphetamine	14
Caffeine	15
Dimethylamphetamine	16

บทที่	หน้า
หลักการพื้นฐานของเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์	17
Thin Layer Chromatography (TLC)	17
Gas Chromatography (GC)	19
การทดสอบความใช้ได้ของวิธี.....	23
ความจำเพาะเจาะจง (Specificity/selectivity).....	23
ช่วงของการวัด (Working range) และความเป็นเส้นตรง (Linearity)	24
ความแม่นยำ (Accuracy)	25
ความเที่ยง (Precision).....	26
ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection) และขีดจำกัดของ	
การตรวจพบเชิงปริมาณ (Limit of quantitation)	28
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	31
3 วิธีดำเนินการวิจัย	33
เครื่องมือ/อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	33
สารเคมี	34
วิธีการทดลอง	34
การเก็บตัวอย่าง.....	34
การวิเคราะห์	35
4 ผลการทดลอง.....	44
วิธี TLC.....	44
การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยก Methamphetamine กับ	
Dimethylamphetamine.....	44
การแยก Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ในตัวอย่างยาบ้า..	45
การศึกษาหาความถูกต้องของวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์	47
วิธี GC.....	47
การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยก Methamphetamine กับ	
Dimethylamphetamine.....	47
การศึกษาหาความถูกต้องของวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์	50
การแยก Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ในตัวอย่างยาบ้า..	55

บทที่	หน้า
5 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง	57
การศึกษาในเทคนิค TLC	57
การศึกษาในเทคนิค CG	58
ข้อเสนอแนะ.....	60
บรรณานุกรม.....	61
ภาคผนวก.....	64
ประวัติผู้วิจัย.....	78

สารบัญญัตินำ

ตารางที่		หน้า
1	สถิติการเผาทำลายยาเสพติดให้โทษของกลาง ตั้งแต่ปี พ.ศ.2520-2552	2
2	คุณสมบัติทางเคมีของ Amphetamine	13
3	คุณสมบัติทางเคมีของ Methamphetamine.....	14
4	คุณสมบัติทางเคมีของ Caffeine	15
5	คุณสมบัติทางเคมีของ Dimethylamphetamine	16
6	ความแตกต่างระหว่าง Dimethylamphetamine และ N-Ethylamphetamine.....	16
7	รายละเอียดของ Dimethylamphetamine.....	17
8	แสดงเกณฑ์การยอมรับของ AOAC และ Codex กับ EU.....	27
9	เกณฑ์การยอมรับของค่า LOD และ LOQ	30
10	รายชื่อสารเคมี และแหล่งที่มา ของสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....	34
11	แสดงอัตราส่วนของ mobile phase ที่ใช้ในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสม	35
12	แสดงปริมาณสารที่ใช้ในการเตรียมสารละลายมาตรฐาน ที่ความเข้มข้น ระดับต่าง ๆ.....	42
13	ผล R_f ของสารมาตรฐาน Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine.....	44
14	แสดงค่า R_f ของสารที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างยาบ้า จำนวน 30 ตัวอย่าง ...	46
15	แสดงค่า R_f ของสารมาตรฐานที่ได้จากการศึกษาหาความถูกต้องของวิธี	47
16	ผล Retention Time (min.) ของสารมาตรฐาน.....	48
17	ผล Resolution ของสารมาตรฐาน	49
18	หมายเลขพีคและ Retention time (R_t) ของสารละลายมาตรฐาน	50
19	ความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ย พื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน/พื้นที่ใต้พีคของ Internal standard กับความเข้มข้นของสาร Methamphetamine	51
20	ความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ย พื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน/พื้นที่ใต้พีคของ Internal standard กับความเข้มข้นของสาร Dimethylamphetamine	51
21	ความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ย พื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน/พื้นที่ใต้พีคของ Internal standard กับความเข้มข้นของสาร Caffeine	52
22	แสดงความสัมพันธ์ของค่า R^2 , ค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) และ ค่าขีดจำกัดของการตรวจพบเชิงปริมาณ (LOQ) ของสารแต่ละชนิด	55

ตารางที่		หน้า
23	แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณ methamphetamine, dimethylamphetamine และ caffeine ในตัวอย่างยาบ้าจำนวน 20 ตัวอย่าง	56
24	ผล R _f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85 : 10 : 3 จากการทดลอง ครั้งที่ 1	66
25	ผล R _f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85 : 10 : 3 จากการทดลอง ครั้งที่ 2	66
26	ผล R _f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85 : 10 : 3 จากการทดลอง ครั้งที่ 3	67
27	ผล R _f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85 : 10 : 4 จากการทดลอง ครั้งที่ 1	67
28	ผล R _f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85 : 10 : 4 จากการทดลอง ครั้งที่ 2	68
29	ผล R _f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85 : 10 : 4 จากการทดลอง ครั้งที่ 3	68
30	ผล R _f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85 : 10 : 5 จากการทดลอง ครั้งที่ 1	69
31	ผล R _f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85 : 10 : 5 จากการทดลอง ครั้งที่ 2	69
32	ผล R _f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85 : 10 : 5 จากการทดลอง ครั้งที่ 3	70
33	ผล R _f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85 : 10 : 6 จากการทดลอง ครั้งที่ 1	70
34	ผล R _f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85 : 10 : 6 จากการทดลอง ครั้งที่ 2	71
35	ผล R _f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85 : 10 : 6 จากการทดลอง ครั้งที่ 3	71
36	ผล R _f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85 : 10 : 7 จากการทดลอง ครั้งที่ 1	72

ตารางที่		หน้า
37	ผล R_f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85 : 10 : 7 จากการทดลอง ครั้งที่ 2	72
38	ผล R_f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85 : 10 : 7 จากการทดลอง ครั้งที่ 3	73
39	ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน/พื้นที่ใต้พีคของ Internal standard กับความเข้มข้นของสาร Methamphetamine	75
40	ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน/พื้นที่ใต้พีคของ Internal standard กับความเข้มข้นของสาร Dimethylamphetamine	76
41	ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน/พื้นที่ใต้พีคของ Internal standard กับความเข้มข้นของสาร Caffeine	76
42	ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน/พื้นที่ใต้พีคของ Internal standard กับความเข้มข้นของสาร Methamphetamine ที่ Spike	77
43	ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน/พื้นที่ใต้พีคของ Internal standard กับความเข้มข้นของสาร Dimethylamphetamine ที่ Spike	77
44	ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน/พื้นที่ใต้พีคของ Internal standard กับความเข้มข้นของสาร Caffeine ที่ Spike	77

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	กรอบแนวความคิดในการวิจัย เรื่องการแยกสาร Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ในตัวอย่างยาบ้าด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) และวิธี Gas Chromatography (GC)	5
2	แสดงลักษณะทางกายภาพของยาบ้า.....	9
3	องค์ประกอบของเครื่อง Gas Chromatograph (GC).....	20
4	สรุปขั้นตอนการวิเคราะห์ด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC)	38
5	TLC Plate ของสารมาตรฐาน Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine โดยใช้อัตราส่วนของ Ethyl acetate:Methanol:Ammonia (85:10:6) หลังจาก Spray ด้วย 1% Fast Black K Salt.....	45
6	TLC Plate จากการวิเคราะห์ตัวอย่างยาบ้าที่สภาวะ Ethyl acetate : Methanol : Ammonia (85:10:6) ภายใต้แสง UV ที่ 254 nm (A) และภายหลังจาก Spray ด้วย 1% Fast Black K Salt	46
7	ตัวอย่าง Chromatogram ของ Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine ที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม แสดงค่า R_f ของสารที่ได้จาก การวิเคราะห์ตัวอย่างยาบ้า จำนวน 30 ตัวอย่าง.....	49
8	Chromatogram ของ Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine	50
9	กราฟสารละลายมาตรฐาน Methamphetamine	52
10	กราฟสารละลายมาตรฐาน Dimethylamphetamine	53
11	กราฟสารละลายมาตรฐาน Caffeine.....	53
12	Chromatogram ของ Internal standard ที่ใช้เป็นสารละลาย blank สำหรับ การวิเคราะห์หาปริมาณสาร.....	54
13	ตัวอย่าง Chromatogram ของ Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine ที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างยาบ้า.....	55
14	แสดงการคำนวณหาค่า R_f บน TLC Plate ที่ได้ในวิธี Thin Layer Chromatography	65
15	แสดงการคำนวณหาค่า R จาก Chromatogram ที่ได้ในวิธี Gas Chromatography	74

บทที่ 1

บทนำ

1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัญหายาเสพติดเป็นปัญหาที่ทุกประเทศทั่วโลกให้ความสำคัญในการป้องกันและแก้ไข ปัญหาให้หมดไป เพราะปัญหาเสพติดเป็นปัญหาที่ทำลายความมั่นคงของชาติและเป็นปัญหาสำคัญของปัญหาอื่นๆ เช่น ปัญหาอาชญากรรม ปัญหาเยาวชนติดยาเสพติด เป็นต้น ดังนั้น องค์การสหประชาชาติจึงได้กำหนดให้วันที่ 26 มิถุนายนของทุกปีเป็นวัน “ต้านยาเสพติดโลก” เพื่อให้ทุกประเทศทั่วโลกได้ตระหนักถึงปัญหาเสพติดและหาทางป้องกันและแก้ไขปัญหาเสพติดจากประเทศของตน (เคลินิวส์ 2544)

เนื่องจากยาเสพติดเป็นปัญหาสังคมที่มีความซับซ้อน และมีผลกระทบโดยตรงทั้งต่อผู้เสพ ผู้ใกล้ชิดและสังคมประเทศชาติ อันนำมาซึ่งความเสียหายทั้งชีวิตและทรัพย์สินอย่างมหาศาล ปัญหาเสพติด จึงมิใช่เป็นปัญหาเฉพาะของคนใด คนหนึ่งหรือสังคมใดสังคมหนึ่งเท่านั้น หากแต่เป็นปัญหาของทุกคนในสังคม ทั้งภาครัฐและภาคเอกชน ตลอดจนประเทศชาติ ที่จะต้องร่วมมือกันป้องกันและแก้ไข ปัจจุบันปัญหาเสพติดมีแนวโน้มของความรุนแรงที่มากขึ้น ตามการเปลี่ยนแปลงของระบบเศรษฐกิจและสังคมยุคพัฒนา ถึงแม้ว่าจะมีหน่วยงานต่างๆ ทั้งภาครัฐและเอกชนได้เข้ามามีส่วนร่วมในการป้องกันและแก้ไขปัญหายาเสพติดอยู่หลายหน่วยงานก็ตาม และถึงแม้ว่ารัฐบาลจะมีนโยบายอย่างเด่นชัด ในการแก้ไขปัญหายาเสพติดอย่างจริงจังและต่อเนื่อง โดยประกาศสงครามกับยาเสพติดและเร่งรัดการดำเนินงานด้านการปราบปรามป้องกัน และบำบัดรักษาฟื้นฟูผู้ติดยาเสพติด ทำให้การแพร่ระบาดของยาเสพติดบรรเทาเบาบางไปช่วงเวลาหนึ่ง แต่สถานการณ์ปัจจุบันมีแนวโน้มว่าการระบาดของยาเสพติดจะกลับมาอีก และทวีความรุนแรงมากขึ้น ดังจะเห็นได้จากสถิติการเผาทำลายยาเสพติด ดังตารางที่ 1 ในแต่ละปีที่ผ่านมา

ตารางที่ 1 สถิติการทำลายยาเสพติดให้โทษของกลาง ตั้งแต่ปี พ.ศ.2520 - 2552

ครั้งที่ NO.	วันที่ DATE	สถานที่ PLACE	ชนิดของยาเสพติด				น้ำหนักรวม TOTAL WEIGHT (Kg)	มูลค่า VALUE (million Baht)
			เฮโรอีน HEROIN (Kg)	ฝิ่นและอื่นๆ OPIMUM OTHERS (Kg)	ยาเสพติดชนิดอื่น +MARIJUANA +METHUAMPHETAMINE (Kg)	โคเคน-อี ECSTASY (Kg)		
		FROM 1977 - 1987 FROM 1989 - 1997	6,182.071000 8,009.691360	15,695.020000 3,225.289600	36.017815		21,877.073000 11,270.998775	
21	26-ธ.ค.-98	ศูนย์พิทักษ์ชายแดนและสิ่งแวดล้อม USBBY and Environment Management Center	208.063844	170.818650	25.101138		403.783032	
22	11-ธ.ค.-99		880.920790	380.591088	100.948341		1,342.420170	
23	25-ธ.ค.-99		333.106406	1,150.313504	17.600664		1,508.040578	
24	28-ธ.ค.-00		250.530044	114.895980	1,187.324114	4,640.730	1,557.398778	
25	30-เม.ย.-01		1,087.807880	208.811080	982.252782	7.889000	2,286.540552	1,500
26	26-ธ.ค.-01		1,818.643987	1,816.701470	1,889.762348	8.310000	4,333.421506	2,300
27	26-ธ.ค.-02		2,380.143200	1,895.985290	3,817.882320	8.858750	8,002.594410	5,400
28	12-ก.พ.-03		315.186495	341.898650	3,508.181747	2.290980	4,195.398072	3,400
29	26-ธ.ค.-03		327.087133	324.033855	5,254.852370	15.581795	5,915.737786	14,000
30	26-พ.ย.-03		152.508260	40.590001	1,564.306377	0.299650	1,777.695318	2,800
31	25-ธ.ค.-04		378.330648	193.430888	2,066.870789	21.791511	2,666.433337	6,000
32	2-ธ.ค.-04		192.333184	75.888412	3,232.488601	0.028770	3,503.529997	6,200
33	24-ธ.ค.-05		48.528748	80.182410	892.238622	8.340033	1,000.898414	2,700
34	26-ธ.ค.-06		294.181829	365.599431	2,885.991490	13.441773	3,510.194217	10,800
35	26-ธ.ค.-07		59.318372	222.796539	854.210381	6.599071	1,122.914273	3,000
36	27-ธ.ค.-08		1,783.621218	323.47365900	2,913.317506	17.296772	4,377.619381	10,453
		TOTAL WEIGHT	22,913.043980	28,461.238827	31,888.274889	136.224812	86,425.311184	11,760

ที่มา : สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, “พิธีการเผาทำลายยาเสพติดให้โทษของกลาง ครั้งที่ 36.” เอกสารเผยแพร่, 26 มิถุนายน 2551. (จัดสำเนา)

ในประเทศไทย ยาบ้า ยาฆ่า หรือยาขยัน เป็นยาเสพติดที่แพร่ระบาดเป็นส่วนใหญ่ มีสารเสพติดที่สำคัญคือ methamphetamine จัดเป็นยาเสพติดให้โทษประเภท 1 ตามพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ.2522 แต่ในปัจจุบันปัญหาเกี่ยวกับตัวยาเสพติดมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลาในการเปลี่ยนแปลงนั้น มีทั้งที่เปลี่ยนแปลงทางกายภาพซึ่งสามารถสังเกตเห็นได้และนอกจากนี้ยังมีการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของตัวยา ซึ่งต้องใช้การตรวจวิเคราะห์ทางวิทยาศาสตร์เพื่อบอกถึงการเปลี่ยนแปลงของตัวยาเสพติดอย่างถูกต้อง เนื่องจากการผลิตยาบ้าบางแหล่ง อาจใช้วิธีการผลิตสารเคมีที่ใช้ผลิตและเครื่องมือที่นำมาใช้นั้นมีความแตกต่างกัน เป็นผลให้เม็ดยาบ้าที่ได้จากการผลิตในแต่ละแหล่ง จะมีลักษณะเฉพาะบางอย่างแตกต่างกัน เช่น รูปแบบตราประทับ ส่วนประกอบในเม็ดยา สัดส่วนของสารที่ผสม สารปนเปื้อนที่เกิดจากการผลิต เป็นต้น (สถาบันวิชาการและตรวจพิสูจน์ยาเสพติด 2550)

เนื่องจากการตรวจพิสูจน์สารเสพติดถือว่าเป็นกิจกรรมหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการแก้ไขปัญหา ยาเสพติด ประกอบกับในปัจจุบันได้มีสารเสพติดและวัตถุออกฤทธิ์ชนิดใหม่ๆ เกิดขึ้นมาอย่างต่อเนื่องเช่น dimethylamphetamine ได้ถูกตรวจพบว่ามีอยู่ในตัวอย่างยาบ้าและยาไอซ์ร่วมกับ methamphetamine ดังนั้นผู้ทำการวิจัยจึงได้นำความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์เข้ามามีความคิดค้น หาสถานะที่เหมาะสมในการแยกสารทั้ง 2 ชนิดนี้ออกจากกันอย่างชัดเจน เพื่อให้ผลการตรวจวิเคราะห์มีความถูกต้อง แม่นยำ และรวดเร็ว ตลอดจนเพื่อให้เป็นงานพัฒนางานด้านการตรวจพิสูจน์สารเสพติดและวัตถุออกฤทธิ์

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

2.1 เพื่อศึกษาหาสถานะที่เหมาะสม ในการแยกสาร Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine โดยใช้วิธี Thin Layer Chromatography

2.2 เพื่อศึกษาหาสถานะที่เหมาะสม ในการแยกสาร Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine โดยใช้วิธี Gas Chromatography

3. สมมติฐานของการวิจัย

3.1 ในสถานะที่แตกต่างกันความสามารถในการแยกสาร Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ในวิธี Thin Layer Chromatography และวิธี Gas Chromatography จะแตกต่างกัน

3.2 ในสถานะที่เหมาะสมสามารถแยก Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ออกจากกันได้อย่างชัดเจน

4. ขอบเขตของการวิจัย

4.1 ทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสาร Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ในวิธี Thin Layer Chromatography ที่สภาวะต่าง ๆ กัน จำนวน 5 สภาวะ และทำการทดลองกับตัวอย่างยาบ้าจำนวน 30 ตัวอย่าง

4.2 ทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสาร Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ในวิธี Gas Chromatography ที่สภาวะต่าง ๆ กัน จำนวน 3 สภาวะ และทำการทดลองกับตัวอย่างยาบ้าจำนวน 20 ตัวอย่าง ซึ่งมีรายละเอียดเครื่องมือดังนี้

เครื่องมือ : Gas Chromatograph ยี่ห้อ Agilent รุ่น GC 6890

Detector : Flame Ionization Detector (FID)

Column : ชนิด HP-5 Capillary Column (0.32 mm i.d. x 30 m ,
film thickness 0.25 μ m)

Gas System : H₂, Air Zero, N₂ (Make up gas) และ He (Carrier gas)

5. นิยามศัพท์เฉพาะที่ใช้ในการวิจัย

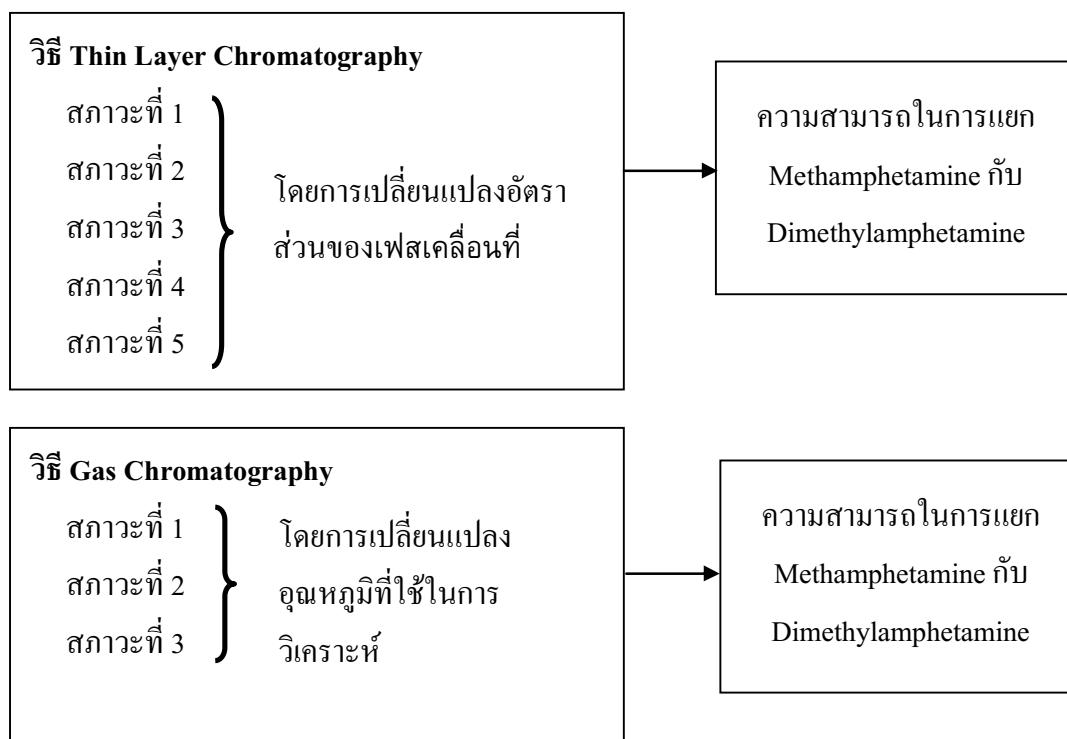
5.1 Thin Layer Chromatography (TLC) หมายถึง เทคนิคที่ใช้ในการแยกสารผสมออกจากกัน โดยสารแต่ละชนิดจะถูกดูดซับ ด้วยตัวดูดซับที่ไม่เท่ากัน จึงทำให้เคลื่อนที่ไปด้วยอัตราเร็วที่ไม่เท่ากัน

5.2 Gas Chromatography (GC) หมายถึง เทคนิคที่ใช้ในการแยกสารผสมออกจากกัน โดยเทคนิคนี้ใช้แยกสารที่สามารถเปลี่ยนให้เป็นแก๊สเฟสได้ที่อุณหภูมิหนึ่ง เมื่อสารผสมนั้นถูกเปลี่ยนให้อยู่ในแก๊สเฟสแล้ว สารเหล่านั้นจะผ่านเข้าไปในคอลัมน์ที่บรรจุด้วยเฟสคงที่ (stationary phase) โดยอาศัยการพาไปของเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) หรือแก๊สตัวพา (carrier gas) สารผสมเหล่านั้นจะเกิดการแยกขึ้น

5.3 ยาบ้า หมายถึง สารที่มีส่วนประกอบสำคัญ คือ caffeine และ amphetamine หรือ methamphetamine ซึ่งมีลักษณะเป็นผงผลึกสีขาว ไม่มีกลิ่น รสขม มีฤทธิ์ในการกระตุ้นระบบประสาทส่วนกลาง จัดเป็นยาเสพติดให้โทษประเภท 1 ตาม พ.ร.บ.ยาเสพติดให้โทษ พ.ศ.2522 มีชื่อทางการค้าต่างๆ กัน เช่น เบนซีนครีน เด็กซ์ครีน ฟีนามีน ฯลฯ แต่ในกลุ่มผู้ใช้นิยมเรียกกันว่า ยา ม้า ยาขยัน ยาแก้ง่วง ยาโด๊ป ยาเพิ่มพลัง เป็นต้น

6. กรอบแนวความคิดในการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการแยกสาร Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ในตัวอย่างยาบ้าด้วยวิธี Thin Layer Chromatography และวิธี Gas Chromatography ในสถานะที่แตกต่างกัน ดังแสดงตามกรอบแนวคิด ดังนี้



ภาพที่ 1 กรอบแนวความคิดในการวิจัย เรื่องการแยกสาร Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ในตัวอย่างยาบ้าด้วยวิธี Thin Layer Chromatography และวิธี Gas Chromatography

7. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย

7.1 สามารถหาสถานะที่เหมาะสมในการแยกสาร Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ในวิธี Thin layer Chromatography และในวิธี Gas Chromatography

7.2 เพื่อเป็นการพัฒนาวิธีการตรวจพิสูจน์หาสารเสพติดชนิด Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine

7.3 สามารถนำผลการวิจัยไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนางานวิจัยที่เกี่ยวข้องต่อไปในอนาคต

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับยาบ้า

1.1 ความหมายของยาบ้า

กระทรวงสาธารณสุข, กรมการแพทย์ (2540 : 5, อ้างถึงใน สุริยา รัตนกาญจน์พันธ์ 2546) ให้ความหมายว่า “สารเสพติดที่มีกฎหมายกำหนดไว้อย่างชัดเจน ในกลุ่มวัตถุที่ออกฤทธิ์ต่อจิตประสาทกลุ่มเดียวกับ แอลเอสดี และยาอี สารออกฤทธิ์ของยาบ้าอยู่ในกลุ่ม amphetamine เช่น methamphetamine และ ephedrine ออกฤทธิ์กระตุ้นประสาทส่วนกลาง”

สำนักงานป้องกันและปราบปรามสิ่งเสพติด (2540 : 39) ได้ให้ความหมาย amphetamine หรือยาบ้า หมายถึง วัตถุออกฤทธิ์ตามพระราชบัญญัติวัตถุที่ออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาท พ.ศ. 2518 (ประเภท 2) แต่เมื่อวันที่ 16 ตุลาคม 2539 ได้มีการบังคับใช้ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 135 (พ.ศ. 2539) ลงวันที่ 23 กรกฎาคม 2539 ระบุชื่อและประเภทยาเสพติดให้โทษตามพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ. 2522 กำหนดให้ amphetamine และวัตถุออกฤทธิ์บางประเภทเป็นยาเสพติดตามพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ. 2522 (ประเภท 1) และเรียกชื่อใหม่ว่า “ยาบ้า”

อุดมศักดิ์ เปลี่ยนขำ (2540 : 19) ได้กล่าวถึงยาบ้าหรือ methamphetamine ว่าเป็นยากระตุ้นประสาทส่วนกลาง ทำให้สมองตื่นตัวอยู่เสมอ มีเรี่ยวแรงไม่เหน็ดเหนื่อย การเสพติดจะทำให้ร่างกายสร้างความเคยชินต่อยาพวกนี้ ผู้เสพจึงต้องเพิ่มปริมาณยาขึ้นทีละน้อย ใช้กันในผู้ที่ทำงานและต้องอดหลับอดนอน ตราคร่ำคร่าตอนกลางคืนหรือผู้ที่ขับขี่ยานพาหนะทางไกลและเคยใช้กันมากในหมู่นักเรียน นักศึกษา เพราะทำให้สมองตื่นตัว อดนอนได้โดยไม่่วงอยู่ชั่วขณะหนึ่ง แต่จะทำให้ร่างกายทรุดโทรมลงทุกที อวัยวะต่าง ๆ ของร่างกายไม่ได้พักผ่อนตามปกติ เมื่อใช้นาน ๆ ฤทธิ์ยาจะไปกดประสาททำให้สติปัญญาเสื่อมสภาพผิดและหลงผิด เป็นอันตรายต่อการตัดสินใจ และสมองขาดการควบคุม อวัยวะส่วนถูกสั่งงานผิดพลาด จึงทำให้เกิดอุบัติเหตุได้

สวัสดี ศรีเกษม (2542 : 15) กล่าวว่า ยาบ้าเป็นวัตถุออกฤทธิ์ทำให้ร่างกายไม่เหน็ดเหนื่อย ความคิดผ่องใสจิตใจเบิกบานในระยะแรกของการเสพ แต่ถ้าหากใช้มากหรือใช้ติดต่อกันเป็นเวลานาน ๆ จะมีอาการตื่นเต้น ใจสั่น มือสั่น ไม่มีสมาธิ ความดันโลหิตสูง สุขภาพทรุด

โทรม และอาจเป็นโรคจิตได้ ดังนั้น สำนักงานกฤษฎาสน์จึงมีประกาศ ฉบับที่ 135 พ.ศ. 2539 ให้เปลี่ยนประเภทยาบ้าจากวัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาทมาเป็นยาเสพติดให้โทษชนิดร้ายแรง ประเภท 1 เช่นเดียวกับเฮโรอีนซึ่งมีผลให้ผู้ผลิต ผู้ค้ามีโทษขั้นสูงถึงประหารชีวิต โดยทั่วไปลักษณะของยาบ้ามีรูปร่างเป็นเม็ดกลมและเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 6-7 mm หนา 1-2 mm ปัจจุบันมีหลายสี เช่น สีน้ำตาล ขาว ม่วง ฟ้า ครีมน้ำตาล และดำ มีน้ำหนักเม็ดละประมาณ 0.06-0.12 g ขายปลีกเม็ดละ 120-220 บาท

1.2 ประวัติความเป็นมาของยาบ้า

ธีระพล บุญธรรม (2546) กล่าวว่า ในอดีตเคยเรียกยาบ้าว่า “ยาม้า” เป็นยาอันตรายที่แพร่ระบาดหลายประเทศทั่วโลก เช่น อเมริกา ยุโรป และเอเชีย เพราะผลิตและจำหน่ายได้ง่าย ยาบ้าถูกสังเคราะห์ขึ้นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1887 โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวเยอรมันชื่อ เอ็ดดีย์เลียน และตั้งชื่อสารนี้ว่า amphetamine สำหรับยาบ้าชนิดแรกของโลกเป็นแบบดม เรียกว่า benzedrine สำหรับ benzedrine 250 mg เท่ากับ 25-50 เม็ด ในปี ค.ศ. 1936 ยาบ้าถูกผลิตขึ้นเป็นเม็ดเรียกว่า ยามีด Benzedrine มีการโฆษณาสรรพคุณว่าสามารถรักษาโรคได้ถึง 39 โรค เช่น โรคจิต โรคประสาท โรคซึมเศร้า โรคปวดศีรษะ โรคความดันโลหิตต่ำ โรคเมารถ อาการแพ้ท้องในหญิงมีครรภ์และโรคอื่น ๆ ขณะที่ใช้ยา ผู้ใช้จะรู้สึกกระฉับกระเฉง มีกำลังวังชาไม่ง่วงนอนและนำมาใช้เป็นยาสามัญประจำบ้าน ใน ค.ศ. 1937 มีการวิจัยพบว่า ชาวชนอเมริกันเริ่มติดยาบ้ากันมากขึ้นเนื่องจากนำไปใช้ผิดวัตถุประสงค์ และในปี ค.ศ. 1939 สำนักงานอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกาจึงประกาศไม่ให้ยาบ้าเป็นยาสามัญประจำบ้าน ใครจะใช้ยาบ้าต้องมีใบสั่งยาโดยตรงจากแพทย์

ยาบ้ามีส่วนประกอบที่สำคัญคือ amphetamine ซึ่งมีการค้นพบครั้งแรกในโลกเมื่อปี ค.ศ. 1927 โดยเภสัชกรชาวแคลิฟอร์เนียชื่อ Gordon Alles ซึ่งขณะนั้นต้องการสังเคราะห์สารเพื่อนำมาใช้รักษาโรคหอบหืดแทน ephedrine ภายหลังการศึกษายาละเอียดพบว่า amphetamine สามารถรักษาโรคหอบหืดได้ จึงจดทะเบียนสิทธิบัตรไว้ และในปี ค.ศ. 1932 ได้ขายลิขสิทธิ์ให้กับบริษัท Smith Kline and French Laboratories ซึ่งต่อมาผลิตยาขายหลอดลมชนิดสูดดม (inhaler) ชื่อ “Benzedrine Inhaler” ภายหลังพบว่ายานี้ทำให้เกิดการเสพติดจึงเลิกใช้ ต่อมาในปี ค.ศ. 1933 Gordon Alles ได้พบสาร amphetamine ซึ่งมีฤทธิ์ในการขยายหลอดลม กระตุ้นการหายใจ กระตุ้นสมอง Prinzmetzer and Bloomberg จึงนำเอาฤทธิ์ของยาในการกระตุ้นสมองของ amphetamine มาใช้รักษาโรควงเวียน (narcolepsy) ลดอาการซุกซนของเด็ก (hyperkinetic syndrome) ลดความอยากอาหาร (appetite suppressant) และเป็นยากระตุ้น (stimulant)

ในช่วงสงครามโลกครั้งที่ 2 ได้มีการนำยาประเภท amphetamine มาใช้โดยให้ทหารที่อยู่เวรยามหรือทหารที่ต้องปฏิบัติงานพิเศษบางอย่างรับประทาน เพื่อให้ปฏิบัติงานได้นาน

จีน ไม่อ่อนเพลียหรือง่วงนอนเร็ว ซึ่งการใช้ยานี้ในกิจกรรมด้านอื่นที่มีใช้ด้านการแพทย์และหลังจากสงครามสิ้นสุดทำให้มีการนำ amphetamine มาใช้อย่างแพร่หลายยิ่งขึ้น เช่น ด้านการกีฬา การแข่งม้า การขับรถยนต์ทางไกล การดูหนังสือสอบ การลดน้ำหนักหรือลดความอ้วน

ในช่วงปี พ.ศ. 2510 ยาบ้าได้แพร่ระบาดเข้ามาในประเทศไทยโดยบริษัทโบโรเวลคัม จำกัด ประเทศเกาหลี ยาบ้าที่ส่งเข้ามาขายตอนแรกนั้นมีเครื่องหมายการค้ารูปหัวม้ามีคำว่า “ลอนดอน” (London) คนจึงเรียกชื่อตามสัญลักษณ์ที่ติดบนเม็ดยาเรื่อยมา และปัจจุบันได้มีการเปลี่ยนชื่อเรียกใหม่ว่า “ยาบ้า” ในช่วงแรกของการแพร่ระบาดเป็นการนำเข้าหัวเชื้อ methamphetamine เข้ามาอัดเม็ดในประเทศไทย แต่มาในระยะหลังตั้งแต่ปี พ.ศ. 2532 ได้มีการผลิตหัวเชื้อและอัดเม็ดภายในประเทศ

1.3 ลักษณะทั่วไปของยาบ้า

ธีระพล บุญธรรม (2546) กล่าวว่า ยาบ้าหรือ methamphetamine มีส่วนประกอบสำคัญคือ caffeine และ amphetamine หรือ methamphetamine ซึ่งมีลักษณะเป็นผงผลึกสีขาว ไม่มีกลิ่น รสขม มีฤทธิ์ในการกระตุ้นประสาทส่วนกลาง จัดเป็นยาเสพติดให้โทษประเภท 1 มีชื่อเรียกทางการค้า เช่น เบนซีครีน เด็กซีครีน ฟีนามีน ฯลฯ แต่ในกลุ่มผู้ใช้หรือเสพนิยมเรียกกันว่า ยาม้า ยาขยัน ยาแก้ง่วง ยาโด้ป ยาเพิ่มพลัง เป็นต้น ผง amphetamine 1 g ละลายในน้ำ 9 mL และละลายได้ในแอลกอฮอล์ 500 mL แต่จะไม่ละลายในอีเทอร์

ยาบ้ามีลักษณะเป็นยาเม็ดกลมแบนขนาดเล็ก รูปเหลี่ยม รูปหัวใจ และแคปซูล เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 6-8 mm ความหนาประมาณ 3 mm น้ำหนักเม็ดยาประมาณ 80-100 mg มีหลายสี เช่น สีส้ม สีน้ำตาล สีม่วง สีชมพู สีเทา สีเหลืองและสีเขียว สัญลักษณ์ที่ปรากฏบนเม็ดยา เช่น พ M PG WY สัญลักษณ์รูปดาว รูปพระจันทร์เสี้ยว 99 รูปหัวม้าและอักษร LONDON หรืออาจเป็นลักษณะของเส้นแบ่งครึ่งเม็ด ซึ่งสัญลักษณ์เหล่านี้อาจปรากฏบนเม็ดยาด้านหนึ่งหรือทั้งสองด้าน หรืออาจเป็นเม็ดเรียบทั้งสองด้านก็ได้



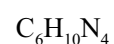
ภาพที่ 2 แสดงลักษณะทางกายภาพของยาบ้า

1.4 โครงสร้างทางเคมีของยาบ้า

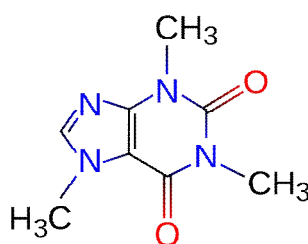
โดยส่วนใหญ่เมื่อวิเคราะห์หาสารเสพติดจากเม็ดยา พบว่าประกอบด้วยสารที่สำคัญ คือ สาร amphetamine, methamphetamine และ caffeine ซึ่งมีสูตรโครงสร้างโมเลกุลดังนี้คือ

1. Caffeine

สูตรทางเคมี

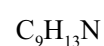


สูตรโครงสร้างโมเลกุล

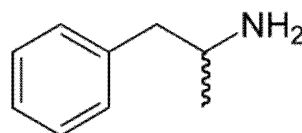


2. Amphetamine

สูตรทางเคมี

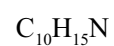


สูตรโครงสร้างโมเลกุล

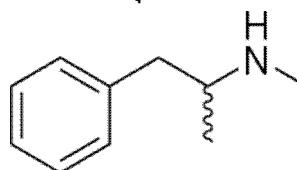


3. Methamphetamine

สูตรทางเคมี



สูตรโครงสร้างโมเลกุล



1.5 องค์ประกอบของยาบ้า

เมื่อทำการตรวจพิสูจน์หาสารออกฤทธิ์ที่มีอยู่ในยาบ้า พบว่าสารออกฤทธิ์นั้นเป็น วัตถุออกฤทธิ์ประเภทที่ 2 หรือประเภทที่ 4 และมีตัวยาคือผสมอยู่ด้วย โดยมีตัวยาคือต่าง ๆ ที่ แพร่หลายมีทั้งแบบรูปยาเม็ดและยาผสม ดังนี้ (สวัสดิ์ ศรีเกษม 2542 : 17)

1. ยาเม็ด ภายในเม็ดยาจะมีสารออกฤทธิ์ชนิดเดียว เช่น amphetamine, methamphetamine, ephedrine และ caffeine เป็นต้น

2. ยาผสม ภายในเม็ดยาจะมีสารออกฤทธิ์ตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไปผสมกันอยู่ เช่น methamphetamine ผสม caffeine, methamphetamine ผสม ephedrine, ephedrine ผสม caffeine, amphetamine ผสม methamphetamine ผสม ephedrine และ caffeine เป็นต้น

โดยทั่วไปมักคิดว่ายาบ้ามี amphetamine เป็นสารออกฤทธิ์อยู่เท่านั้น เนื่องจากในอดีตจะพบสาร amphetamine ในเม็ดยา ปัจจุบันพบว่าร้อยละ 99 ของยาบ้าจะพบสาร methamphetamine เป็นส่วนใหญ่ นอกจาก methamphetamine แล้วยังพบว่า ปัจจุบันมีการนำเอา สารอื่นที่มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการทำงานของระบบประสาทได้ทำนองเดียวกับ amphetamine หรือ อนุพันธ์ของ amphetamine แต่ความรุนแรงของการกระตุ้นประสาทและอาการข้างเคียงที่เกิดขึ้น จากฤทธิ์ของแต่ละตัวซึ่งจะมีความแตกต่างกันดังนี้ (บุญชัย ชื่นสุขน 2538, อ้างถึงใน ชัยโรจน์ คล้ายจินดา 2546 : 19)

1. Ephedrine เป็นยาที่มีฤทธิ์ต่อระบบประสาทกลาง (central nervous system) และ ระบบประสาทข้าง (penpheral nervous system)

2. Caffeine จัดว่าเป็นยาอันตรายเพราะมีฤทธิ์ต่อระบบต่าง ๆ ของร่างกายและมีผล ต่อความพิการของเด็กในครรภ์ได้ถ้ามารดารับประทานขณะตั้งครรภ์ caffeine มีฤทธิ์กระตุ้น ประสาทส่วนกลางทำให้หัวใจเต้นเร็ว แรง บางครั้งเต้นไม่ปกติ เส้นเลือดหัวใจขยายตัว ความดัน โลหิตสูง ทำให้เด็กในครรภ์พิการได้ ถ้ามารดารับประทาน caffeine ในระยะ 3 เดือนแรกของการ ตั้งครรภ์

3. Fennethyline เป็นยาที่มีฤทธิ์กระตุ้นประสาทส่วนกลาง โดยมีสูตรโครงสร้าง ทางเคมีประเภทเดียวกับ amphetamine การมีโครงสร้างเป็นประเภทเดียวกับ amphetamine นั้นทำให้มีการนำยานี้มาใช้แทน amphetamine

4. Amphetamine และ Methamphetamine เป็นยาที่กระตุ้นประสาทส่วนกลาง เมื่อ เสพจะทำให้เคลิบเคลิ้มและเพิ่มปฏิกิริยาการพูด การเคลื่อนไหว สมอต้นตัว ทำให้เกิดภาวะที่ สามารถทำงานได้นานหรือดีกว่าปกติ สำหรับผู้เสพติดแล้วพบว่า จะมีอาการหงุดหงิด คลุ้มคลั่ง การ ตัดสินใจผิดพลาดหรืออาจมีภาพรบกวน จิตสับสนหวาดระแวงและมีอาการประสาทหลอน

5. Phenazone มีลักษณะเป็นผงแวววาว ไม่มีสี มีรสขมเล็กน้อย ยากลุ่มนี้ได้แก่ antipyrine, aminopyrine, dipyrine และ phenazone ซึ่งในจำนวนนี้ dipyrine เป็นยาที่ใช้มากที่สุด ส่วน phenazone มีฤทธิ์เป็นยาบรรเทาปวด ให้ผลข้างเคียงคือ ผื่นแพ้ของผิวหนัง การใช้ยาในปริมาณสูงจะทำให้คลื่นไส้ มึนงง หมดสติและชัก

6. Fenfluramine มีฤทธิ์กดประสาทส่วนกลางมากกว่าส่วนอื่น ๆ และมีประสิทธิภาพในการกดความอยากอาหารส่งผลให้น้ำหนักลด เมื่อใช้จะเกิดอาการเซื่องซึมจึงเหมาะกับคนไข้ที่มีอาการเครียด วิตกกังวล

7. Dextrometorphane มีลักษณะเป็นผงแวววาวหรือสีเหลือง ไม่มีกลิ่น ละลายได้ดี ในคลอโรฟอร์ม มีผลข้างเคียงคือ ทำให้มึนงง ตาพร่า หน้ามืด เวียนศีรษะ

8. Pemoline มีฤทธิ์ในการกระตุ้นประสาทส่วนกลาง มีลักษณะเป็นผงสีขาวแวววาว ไม่มีรส ใช้กับผู้ป่วยที่มีอาการซึมเศร้า หรือในเด็กที่ขาดความสนใจสิ่งแวดล้อม เมื่อใช้แล้วจะทำให้รู้สึกสดชื่น กระปรี้กระเปร่า ผ่อนคลายความเครียด

9. Benzocain มีลักษณะเป็นผลึกใสแวววาวหรือมีสีขาว ไม่มีกลิ่น รสขมเล็กน้อย บางประเทศสามารถหาซื้อได้โดยไม่มีใบสั่งของแพทย์

นอกจากนี้ในปัจจุบันพบว่าการตรวจพบสารเสพติดชนิดใหม่ผสมอยู่ในยาบ้า เช่น การตรวจพบสารชนิด Dimethylamphetamine ในตัวอย่างยาบ้า โดยสารดังกล่าวถือว่าเป็นยาเสพติดให้โทษประเภทที่ 1 ลำดับที่ 40 ในบัญชีแนบท้ายประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 135 (พ.ศ. 2539) เรื่อง ระบุชื่อและยาเสพติดให้โทษตามพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ.2522

1.6 การออกฤทธิ์ของยาบ้า

ยาบ้าจะออกฤทธิ์กระตุ้นประสาท อาการเสพติดทั้งร่างกายและจิตใจ โดยผู้เสพในระยะแรกจะรู้สึกกระชุ่มกระชวย กระฉับกระเฉง ร่างกายตื่นตัว มีพลังมากขึ้น เกิดความมั่นใจ หัวใจเต้นเร็ว ความดันโลหิตสูง ใจสั่น ประสาทตึงเครียด แต่เมื่อหมดฤทธิ์ยาจะพูดมาก ก้าวร้าว ย้ำคิดย้ำทำ กระวนกระวาย บางครั้งมีอาการประสาทหลอนทางสายตาหรือทางหู จะรู้สึกอ่อนเพลียมากกว่าปกติ ประสาทล้าทำให้การตัดสินใจช้าและผิดพลาด

1.7 โทษของการเสพยาบ้า

สาโรจน์ ก้อนพรหม (2546) ศึกษาพบว่า ผลของการใช้ยาบ้าเกิดโทษต่อผู้ใช้คือ

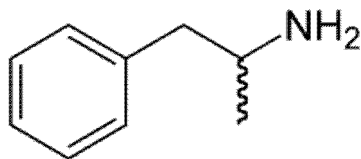
1. **โทษเฉียบพลัน** เป็นอาการที่เกิดขึ้นทันทีทันใดหลังจากได้รับยา อาการส่วนใหญ่มักแสดงออกทางสมอง ได้แก่ เวียนศีรษะ นอนไม่หลับ ตัวสั่น ตกใจง่าย ช่างพูด ประสาทตึงเครียด ประสาทหลอน เป็นต้น

2. **โทษจากการใช้เป็นระยะเวลานาน** การใช้ยาในกลุ่มนี้ติดต่อกันเป็นระยะเวลานานจะทำให้สมองและร่างกายถูกกระตุ้นอยู่เสมอ โดยไม่ได้รับการพักผ่อน ร่างกายจะต้องถูกฝืนให้ทำงานหนักอยู่ตลอดเวลา ในที่สุดก็จะทำให้สุขภาพทรุดโทรมลงทั้งร่างกายและจิตใจ ทำให้เกิดอาการต่าง ๆ เช่นเดียวกับการเกิดโทษเฉียบพลันและทำให้ร่างกายเกิดโรคติดเชื้อได้ง่าย โรคที่พบบ่อย ๆ ได้แก่ โรคตับอักเสบ ไตไม่ทำงาน โรคเกี่ยวกับปอด (จรรยา ลากสิรอนันต์กุล 2543)

2. คุณสมบัติทางเคมีของสารประกอบในยาบ้า

2.1 Amphetamine

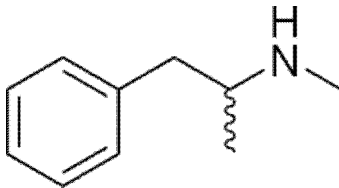
ตารางที่ 2 คุณสมบัติทางเคมีของ Amphetamine

Systematic (IUPAC) name	1-phenylpropan-2-amine
Chemical Abstracts name (boldface italic)	(+)- α -Methylbeneneethanamine ; dl- α -methylphenethylamine ;
Alternate chemical names (lightface)	1-phenyl-2-aminopropane ; (phenylisopropyl)amine ; β -aminopropylbenzene ; racemic desoxy-nor-ephedrine ; Isomyn ; Isoamyne ; Mecodrin ; Norephedrine
Structure	
Molecular formula	C ₉ H ₁₃ N
Molecular weight	135.21 g/mol
Percentage composition	C 79.95%, H 9.69%, N 10.36%
Melt. point	280 – 281 °C (536 – 538 °F)
Solubility in water	50 - 100 mg/mL (16 °C)
Dissociation Constant	pK _a 9.9 (20 °C)
Half life	10 hour for d-isomer, 13 hour for l-isomer

ที่มา : [Amphetamine](http://en.wikipedia.org/wiki/Amphetamine) [Online], accessed 30 November 2008. Available from <http://en.wikipedia.org/wiki/Amphetamine>

2.2 Methamphetamine

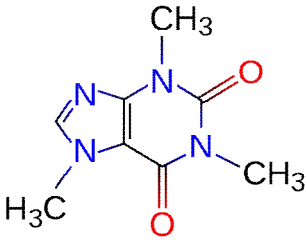
ตารางที่ 3 คุณสมบัติทางเคมีของ Methamphetamine

Systematic (IUPAC) name	(2S)-N-methyl-1-phenyl-propan-2-amine
Chemical Abstracts name (boldface italic)	(S)-N, α -Dimethylbenzene-ethanamine ; (S)-(+)-N, α -dimethylphenethylamine
Alternate chemical names (lightface)	d-N-methylamphetamine ; d-deoxyephedrine ; d-desoxyephedrine ; 1-phenyl-2-methylaminopropane ; d-phenylisopropylmethyl-amine ; methyl- β -phenylisopropylamine ; Norodin
Structure	
Molecular formula	C ₁₀ H ₁₅ N
Molecular weight	149.24 g/mol
Percentage composition	C 80.48%, H 10.13%, N 9.39%
Melt. point	172 – 174 °C
Soluble	1 in 2 of water, 1 in 4 of ethanol, and 1 in 5 of chloroform; practically insoluble in ether
Dissociation Constant	pK _a 10.1
Half life	9 - 15 hour

ที่มา : Methamphetamine [Online], accessed 30 November 2008. Available from <http://en.wikipedia.org/wiki/Methamphetamine>

2.3 Caffeine

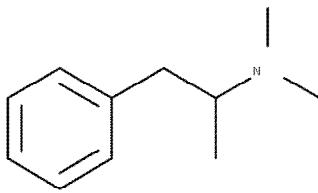
ตารางที่ 4 คุณสมบัติทางเคมีของ Caffeine

Systematic (IUPAC) name	1,3,7-trimethyl- 1 <i>H</i> -purine- 2,6(3 <i>H</i> ,7 <i>H</i>)-dione
Chemical Abstracts name (boldface italic)	1,3,7-trimethylxanthine, trimethylxanthine, theine, methyltheobromine
Structure	
Molecular formula	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂
Molecular weight	194.191 g·mol ⁻¹
Density	1.23 g/cm ³ , solid
Melt. point	227 – 228 °C (anhydrous) 234 – 235 °C (monohydrate)
Soluble	21.7 mg·mL ⁻¹ (25 °C) 180 mg·mL ⁻¹ (80 °C) 670 mg·mL ⁻¹ (100 °C)
Dissociation Constant	pK _a - 0.13 – 1.22

ที่มา : Caffeine [Online], accessed 30 November 2008. Available from <http://en.wikipedia.org/wiki/Caffeine>

2.4 Dimethylamphetamine

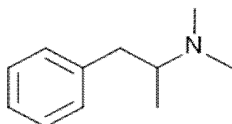
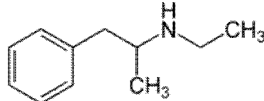
ตารางที่ 5 คุณสมบัติทางเคมีของ Dimethylamphetamine

Systematic (IUPAC) name	N,N-dimethyl-1-phenylpropan-2-amine
Chemical Abstracts name (boldface italic)	N,N,α-Trimethylphenethylamine
Structure	
Molecular formula	C ₁₁ H ₁₇ N
Molecular weight	163.25 g/mol
Dissociation Constant	pK _a 9.8

ที่มา : [Dimethylamphetamine](http://en.wikipedia.org/wiki/Dimethylamphetamine) [Online], accessed 30 November 2008. Available from <http://en.wikipedia.org/wiki/Dimethylamphetamine>

สารชนิด Dimethylamphetamine หรือ N,N-Dimethylamphetamine เป็น Constitution isomer ของ N-Ethylamphetamine ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีสูตรโมเลกุลเหมือนกัน น้ำหนักโมเลกุลเท่ากัน แต่การจัดลำดับของพันธะที่เกาะกันกับอะตอมต่างกัน ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

ตารางที่ 6 ความแตกต่างระหว่าง Dimethylamphetamine และ N-Ethylamphetamine

ชื่อสาร (Substance name)	สูตรโมเลกุล (Molecular Formula)	น้ำหนักโมเลกุล (Molecular weight)	สูตรโครงสร้าง (Structural Formula)
Dimethylanphetamine หรือ N,N-Dimethylamphetamine	C ₁₁ H ₁₇ N	163.2	
N-Ethylamphetamine	C ₁₁ H ₁₇ N	163.2	

Dimethylamphetamine จัดเป็นยาเสพติดให้โทษประเภท 1 ลำดับที่ 40 ในบัญชีท้ายประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 135 (พ.ศ.2539) เรื่อง ระบุชื่อและประเภทยาเสพติดให้โทษตามพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ.2522 ลงวันที่ 23 กรกฎาคม 2539 ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 175) พ.ศ.2545 เรื่องระบุชื่อและประเภทยาเสพติดให้โทษตามพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ.2522 (เพิ่มเติมฉบับที่ 5) ลงวันที่ 10 เมษายน 2545 ดังนี้

ตารางที่ 7 รายละเอียดของ Dimethylamphetamine

ลำดับที่	ชื่อยาเสพติดให้โทษ	ประเภท	ชื่อทางเคมี	เงื่อนไข
40	ยาเสพติดให้โทษในประเภท 1	1	N,N-dimethylamphetamine	ยกเว้น ไอโซเมอร์อื่นของ Dimethylamphetamine ที่เป็นวัตถุออกฤทธิ์ ตาม พ.ร.บ.วัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาท พ.ศ. 2518

3. หลักการพื้นฐานของเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

โครมาโทกราฟีเป็นเทคนิคการแยกของผสมออกจากกัน รวมทั้งระบุชนิดของสารและจำนวนสารองค์ประกอบที่มีในของผสม สำหรับกระบวนการทางโครมาโทกราฟี โมเลกุลของตัวถูกละลายหรือสารที่สนใจกระจายตัวอยู่ระหว่างเฟส 2 เฟสซึ่งไม่ละลายซึ่งกันและกัน โดยเฟสหนึ่งจะเคลื่อนที่เรียกว่า mobile phase และอีกเฟสหนึ่งอยู่กับที่เรียกว่า stationary phase

3.1 Thin Layer Chromatography (TLC)

TLC มีลักษณะคล้ายกับ Paper Chromatography (PC) ซึ่งจะใช้แผ่นกระดาษหรืออะลูมิเนียมหรือแผ่นพลาสติกแทนกระดาษกรอง และมีขนาดที่ต่างกับของ PC โดยจะเคลือบด้วยผงของแข็งที่มีรูพรุนและมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 8-40 μm เฟสคงที่ที่นิยมใช้กันมากคือ silica gel, alumina, cellulose, polyamides และ ion-exchange resins

3.1.1 การเตรียม (preparation) การเตรียมแผ่น TLC สามารถทำได้โดยใช้ผงที่ใช้เคลือบแผ่นกระดาษ ใส่น้ำหรือตัวทำละลายให้เป็น slurry แล้วนำไปเคลือบบนแผ่น TLC ให้มีลักษณะเหมือนกันทั่วทั้งแผ่น โดยใช้เครื่องมือพิเศษคือ moving spreader สารละลายที่เป็น slurry จะผ่านลงมายังแผ่น TLC ความหนาสามารถเปลี่ยนแปลงได้โดยปรับเครื่องให้ทำความหนาตาม

ต้องการ ซึ่งโดยทั่วไปที่ใช้ในการวิเคราะห์ ความหนาจะอยู่ในช่วง 0.2-0.3 mm แต่ถ้าเป็นงานทาง preparative TLC ความหนาจะอยู่ในช่วง 2-10 mm หลังจากเคลือบแผ่น TLC แล้วนำไปทำให้แห้งในอากาศ แล้วนำไปอบให้แห้งอีกครั้งหนึ่งที่อุณหภูมิ 110 °C ในช่วงระยะเวลานั้น ๆ

3.1.2 การดำเนินงาน (operation) หลังจากการ activation ที่อุณหภูมิที่เหมาะสม ในช่วงระยะเวลานั้นแล้ว จากนั้นก็จะเอาสารตัวอย่างใส่ลงไปให้เป็นจุดบนแผ่น TLC และทำการ development โดยปกติแล้วปริมาณของสารตัวอย่างที่ใช้จะอยู่ในช่วง 10-100 g ต่อจุดสำหรับงานทางด้านการวิเคราะห์ แต่ถ้าเป็นทาง preparation TLC ปริมาณตัวอย่างที่ใช้อาจมากถึง 100 mg เมื่อใช้กับแผ่น TLC ขนาด 20 x 20 cm ขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของจุดควรจะอยู่ระหว่าง 2-5 mm การ development สามารถทำได้ทั้งแบบ ascending หรือ decending และแบบ 1 มิติหรือหลายมิติ

3.1.3 การตรวจหา (detection) เนื่องจากสารที่เคลือบบนแผ่น TLC เป็นพวก silica และ alumina ซึ่งมีความเฉื่อย ดังนั้น สารละลายที่ไวต่อปฏิกิริยามากสามารถนำมาใช้ในการบอกตำแหน่งของสารที่แยกออกจากกันได้ และสามารถใส่สารเคมีที่ทำให้เกิดสี เช่น ไอโอดีน หรืออาจใช้วิธีส่องแผ่น TLC ด้วยแสงยูวี สารที่ให้ฟลูออเรสเซนซ์จะมองเห็นได้

ในการตรวจหาจะคำนวณหาค่า Retardation factor (R_f) ซึ่งค่า R_f ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่อไปนี้ เช่นธรรมชาติของตัวดูดซับ ได้แก่ ธรรมชาติทางเคมี ขนาดของอนุภาค พื้นที่และตัวยึด (binder) เป็นต้น นอกจากนี้ยังขึ้นกับธรรมชาติของเฟสเคลื่อนที่ ได้แก่ ความบริสุทธิ์ ความถูกต้องของการผสม ปริมาณความชื้นและการระเหย เป็นต้น และอุณหภูมิของเครื่องมือ ปริมาณของสารตัวอย่างที่ใช้และสมดุลความดันไอ (vapor-pressure equilibrium) ระหว่างแผ่น TLC กับบรรยากาศที่ใช้

3.1.4 ลักษณะการวิเคราะห์หาปริมาณด้วย TLC ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารด้วยเทคนิค TLC นั้น ถ้าจะให้ได้ผลที่มีความแม่นยำและเที่ยงจะต้องให้ความระมัดระวังเป็นอย่างมาก และต้องทำให้ chromatographic condition มีมาตรฐาน การจุด (spot) สารตัวอย่างและสารมาตรฐานลงบนแผ่น TLC จะต้องมีความหนาแน่นและเข้มข้นเท่ากัน การเตรียมตัวทำละลายหรือเฟสเคลื่อนที่ รวมถึงภาชนะจะต้องอยู่ในสมดุลและอื่น ๆ ทั้งหมดนี้ควรจะต้องอยู่ในลักษณะที่เหมือนกัน การใช้สารละลายเพื่อบอกตำแหน่งของจุดที่แยกได้จะต้องเหมือนกัน การใช้สารละลายเพื่อบอกตำแหน่งของจุดที่แยกได้ สามารถวัดได้โดยตรงจากแผ่นกระดาษหรือแผ่น TLC หรือสามารถแยกเอาสารออกมาวัดด้วยวิธีการอย่างอื่น

เทคนิคที่ใช้ในการวัดมีดังนี้

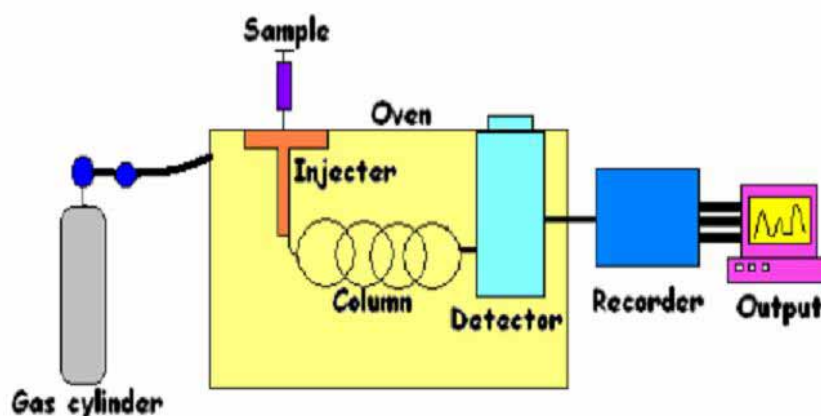
1. การวัดสมบัติทางกายภาพของจุดสี โดยวัดค่าความเข้มของการสะท้อนแสงหรือฟลูออเรสเซนซ์หรือการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง scanning photodensitometer แล้วบันทึกด้วย recorder ซึ่งจะให้ความถูกต้อง 3-5 %
2. การวัดกัมมันตรังสี สำหรับสารกัมมันตรังสีสามารถวัดได้ด้วยเครื่องวัดกัมมันตรังสีหรือใช้เครื่องวัดอัตโนมัติ
3. การวัดพื้นที่ของจุด พื้นที่ของจุดนั้นจะเป็นปฏิภาคโดยตรงกับปริมาณของสาร พื้นที่ของจุดสามารถหาได้โดยใช้กระดาษกราฟที่ใสแล้วนับจำนวนสี่เหลี่ยมที่ครอบคลุมพื้นที่ของจุดนั้น สำหรับสารมาตรฐานก็ทำเช่นเดียวกันและสามารถทำ calibration curve ได้โดยเขียนกราฟระหว่างพื้นที่กับปริมาณสารต่าง ๆ กัน
4. ใช้วิธีการเอาสารออกจากแผ่น TLC โดยใช้วิธีแยกเอา absorbent นั้นออกจากแผ่น TLC โดยนำมาสกัดหรือชะล้างสารออกจาก absorbent แล้วนำไปวัดด้วยวิธีการที่เหมาะสม เช่น ใช้สเปกโตรโฟโตมิเตอร์หรือโพลาริกราฟ เป็นต้น

3.2 Gas Chromatography (GC)

GC เป็นเทคนิคที่ใช้สำหรับแยกสารผสม โดยเทคนิคนี้ใช้แยกสารที่สามารถเปลี่ยนให้เป็นแก๊สเฟสได้ที่อุณหภูมิหนึ่ง ถ้าสารใดเปลี่ยนให้เป็นแก๊สเฟสยากก็อาจใช้เทคนิคอื่น เช่น การเปลี่ยนให้เป็นอนุพันธ์อื่นๆ หรือใช้หลักการแยกสลายด้วยความร้อน (pyrolysis) เมื่อสารนั้นถูกเปลี่ยนให้อยู่ในแก๊สเฟส แล้วให้สารเหล่านั้นผ่านเข้าไปยังคอลัมน์ที่บรรจุด้วย stationary phase โดยอาศัยการพาไปของ mobile phase ทำให้สารผสมเหล่านั้นเกิดการแยกเกิดขึ้น นอกจากนี้เทคนิคนี้ยังมีความสามารถในการวิเคราะห์ได้ทั้งในทางปริมาณ (quantitative analysis) และทางคุณภาพ (qualitative analysis)

3.2.1 องค์ประกอบที่สำคัญของเครื่อง Gas Chromatograph (GC)

Gas Chromatography (GC)



ภาพที่ 3 องค์ประกอบของเครื่อง Gas Chromatograph (GC)

การทำงานของระบบในแต่ละส่วน

1. แก๊สพา (Carrier gas)

เป็นแก๊สที่ใช้สำหรับพาสารตัวอย่างที่ถูกทำให้เป็นไอหรือแก๊สเฟสแล้วที่ injection port ให้เข้าสู่คอลัมน์ต่อไป แก๊สพานี้จะต้องมีการควบคุมอัตราการไหล (flow rate) ให้คงที่เสมอ โดยสามารถเลือกใช้อัตราการไหลให้เหมาะสมตามต้องการ อัตราการไหลของแก๊สพามีส่วนสำคัญต่อการวิเคราะห์ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นจะต้องควบคุมให้คงที่ แก๊สพานิยมใช้กันโดยทั่วไป ได้แก่ แก๊สไนโตรเจน แก๊สฮีเลียม หรือแก๊สไฮโดรเจน ซึ่งควรมีลักษณะดังนี้เช่น มีสมบัติเฉื่อย เพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยากับสารตัวอย่างหรือตัวทำละลายหรือเฟสคงที่ และเป็นแก๊สที่มีการแพร่ร้อยละ มวลโมเลกุลต่ำ นอกจากนี้ควรจะหาได้ง่ายและความบริสุทธิ์สูง ราคาไม่แพง และมีความเหมาะสมกับดีเทคเตอร์ที่ใช้

2. ระบบของการใส่สารตัวอย่าง (Sample Inlet System)

การนำสารตัวอย่างฉีดเข้าไปในเครื่อง GC เพื่อวิเคราะห์ชนิดของสารตัวอย่าง เช่น เป็นแก๊ส ของเหลว ของแข็ง ถ้าเป็นของเหลวหรือของแข็งสารนั้นระเหยยากหรือง่าย คอลัมน์ที่ใช้เป็นอะไร เช่น เป็น packed column หรือ capillary column การเลือกใช้แต่ละวิธีจะแตกต่างกันออกไป เพื่อให้การทำงานตรงตามวัตถุประสงค์และมีประสิทธิภาพ โดยทั่วไป ส่วนที่ฉีดสารตัวอย่างเข้าไป

(inlet) จะมีเครื่องให้ความร้อน (heater) ประกอบอยู่ด้วย เพื่อให้สารตัวอย่างกลายเป็นไอ ซึ่งระบบของการใส่สารตัวอย่างจะขึ้นกับสถานะของสารตัวอย่างดังนี้คือ

2.1 Gas Sample Inlet

โดยทั่วไป ตัวอย่างที่เป็นแก๊สมักจะใช้ฉีดเข้าไปด้วย gas-tight syringes แต่วิธีที่ดีที่สุดคือใช้ gas sampling valve แก๊สตัวอย่างจะฉีดเข้าไปเก็บไว้ใน loop เมื่อหมุน sampling valve แก๊สตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าไปในคอลัมน์

2.2 Liquid Sample Inlet

สารตัวอย่างที่เป็นของเหลวโดยมากจะใช้ microsyringe ฉีดเข้าไปยัง silicone septum ไปยังปลายของคอลัมน์ หรืออาจฉีดเข้าไปที่ flash vaporizer สารตัวอย่างจะถูกเปลี่ยนให้เป็นไอโดยความร้อนจาก heater block โดยทั่วไป อุณหภูมิของ injection port ควรสูงพอที่จะทำให้สารกลายเป็นไอแต่ต้องต่ำกว่าอุณหภูมิจำกัด (temperature limit) ของลิควิดเฟสที่ใช้ในคอลัมน์และไม่ควรสูงเกินไป เพราะจะทำให้ลิควิดเฟสระเหยออกไปหรือเกิดการสลายตัว ซึ่งจะทำให้เกิด base line ไม่คงที่

2.3 สารตัวอย่างที่เป็นของแข็ง (Solid Sample)

การวิเคราะห์ตัวอย่างที่เป็นของแข็งด้วยเทคนิค GC นั้น กระทำได้ค่อนข้างยากกว่าสารตัวอย่างที่เป็นแก๊สหรือเป็นของเหลว เพราะต้องใช้อุณหภูมิในการเปลี่ยนให้กลายเป็นไอสูงกว่า ซึ่งสามารถทำได้โดยนำสารตัวอย่างที่เป็นของแข็งไปละลายในตัวทำละลายเสียก่อน หรืออาจใช้อุปกรณ์ที่สามารถเปลี่ยนสารที่เป็นของแข็งให้กลายเป็นแก๊ส (pyrolysis equipment) โดยเผาที่อุณหภูมิสูงๆ เมื่อเปลี่ยนให้เป็นแก๊สแล้วจึงนำเข้าเครื่อง GC ต่อไป

2.4 ใช้ Headspace Analysis

ในกรณีที่สารตัวอย่างเป็นของแข็งหรือของเหลว โดยที่มีสารที่ระเหยได้และสารที่ระเหยไม่ได้ ถ้าต้องการจะหาส่วนที่ระเหยได้ สามารถทำได้โดยใช้ headspace technique ซึ่งต่างจากเทคนิค GC ทั่วไปตรงที่วิธีการใช้ sample injection เท่านั้น โดยการนำสารที่เป็นไอซึ่งอยู่เหนือส่วนที่ไม่ระเหยที่เป็นของแข็งหรือของเหลวฉีดเข้าเครื่อง GC ต่อไป

สำหรับการวิเคราะห์สารตัวอย่างที่เป็นของเหลวสามารถวิเคราะห์ได้ดังนี้คือ

1. Split Injection เนื่องจากการยากที่จะฉีดสารจำนวนน้อยๆ (0.001-0.5 μL) เข้าไปใน capillary column จึงทำให้ระบบนี้ได้พัฒนาขึ้น โดยสารที่ฉีดเข้าไปถูกเปลี่ยนให้เป็นไอและไอของสารจะมีการผสมกันก่อนที่จะถึงจุดแบ่งแยกสารตัวอย่าง ที่จุดนี้ไอของสารตัวอย่างส่วนน้อยและปริมาณที่แน่นอนจะเข้าไปในคอลัมน์ แต่ส่วนใหญ่จะถูกระบายออกไป โดยส่วนที่เข้าคอลัมน์คำนวณได้จาก split ratio ดังสมการ

$$\text{split ratio} = \frac{\text{ส่วนที่ระบายออกไป}}{\text{ส่วนที่เข้าคอลัมน์}}$$

split ratio จะมีค่าแตกต่างกันไปจาก 10-1000 ต่อ 1

2. Splitless Injection เป็นเทคนิคที่มีประโยชน์มากในการวิเคราะห์สารปริมาณน้อยๆ (trace analysis) โดยที่สารตัวอย่างจะถูกทำให้เจือจางด้วยตัวทำละลายแล้วสารตัวอย่างทั้งหมดจะถูกฉีดเข้าสู่คอลัมน์ การใช้เทคนิคนี้ให้ความถูกต้องดี แต่ต้องใช้เวลาและยุ่งยาก

3. คอลัมน์ (Column)

คอลัมน์ถือเป็นหัวใจของการแยกสารด้วยเทคนิคทาง GC เมื่อแก๊สผสมหรือไอของสารที่ปนกันอยู่ในสารตัวอย่างผ่านคอลัมน์ สารที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์จะทำหน้าที่เป็นตัวแยกแก๊สหรือไอผสมเหล่านั้นออกเป็นส่วนๆ ดังนั้น โครมาโทแกรมที่ได้จึงขึ้นอยู่กับคอลัมน์

ประเภทของคอลัมน์ (Type of Column) โดยทั่วไป มี 2 ประเภทคือ

1. Packed column มีอยู่ 2 ชนิดคือ partition column และ adsorption column สำหรับ partition column เป็นคอลัมน์เปล่าที่บรรจุด้วยอนุภาคของแข็งซึ่งมีคุณสมบัติเฉื่อย (inert solid particles) แล้วฉาบด้วยสารอินทรีย์บางชนิดที่เรียกว่า liquid phase ในส่วนของ adsorption column เป็นคอลัมน์ที่บรรจุด้วยอนุภาคของสารดูดซับ (adsorptive particles) เช่น alumina, activated charcoal, silica gel หรือ molecular sieves เป็นต้น

2. Capillary column คอลัมน์ชนิดนี้มีลักษณะเป็นหลอดเล็กๆ ทำด้วยเหล็กกล้าหรือเหล็กไร้สนิม แก้ว quartz (fused silica) รัศมียาว 0.3-0.6 mm ภายในฉาบด้วย liquid phase เป็นฟิล์มบางๆตลอดรูเล็กๆ ซึ่งอาจมีความยาว 25-100 m คอลัมน์ชนิดนี้แม้ว่ามีประสิทธิภาพของคอลัมน์ต่อหน่วยความยาวค่อนข้างต่ำ แต่เมื่อใช้คอลัมน์ที่มีความยาวมากๆ จะทำให้ประสิทธิภาพในการแยกสูง และเมื่อใช้ในสภาวะที่เหมาะสมแล้ว capillary column จะมีประสิทธิภาพการแยกดีที่สุด

4. เครื่องดีเทคเตอร์ (Detectors)

เป็นเครื่องส่วนที่จะบอกว่ามีสารที่ต้องการวิเคราะห์หรือมีสารอื่นที่แตกต่างไปจากแก๊สพาออกมาจากคอลัมน์หรือไม่ ถ้ามีก็จะสามารถวัดได้ว่ามีปริมาณเท่าใด ดังนั้น ดีเทคเตอร์จึงต้องมีลักษณะเฉพาะสามารถให้สัญญาณกับสารต่างๆ ได้ ให้สภาพไวที่สูงพอ มีการตอบสนองที่ดีในช่วงความเข้มข้นของสารที่กว้างพอและมีหลายชนิดแล้วแต่งานของห้องปฏิบัติการนั้น ดีเทคเตอร์ที่ใช้ในการตรวจหาสารในเครื่อง GC ควรจะมีลักษณะเฉพาะในการตอบสนองต่อสารเคมีที่ต้องการวิเคราะห์ดังต่อไปนี้คือ ควรจะต้องให้สภาพไวสูง (height sensitivity) และควรมีความเฉพาะต่อการตรวจหาสาร (selectivity)

4. การทดสอบความใช้ได้ของวิธี (แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว, กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์)

การตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการที่จะให้ผลถูกต้อง และเป็นที่น่าเชื่อถือนั้นวิธีการวิเคราะห์เป็นองค์ประกอบที่สำคัญ ดังนั้นเมื่อจะเลือกวิธีวิเคราะห์มาใช้ ไม่ว่าจะเป็นวิธีที่ได้รับการยอมรับกันทั่วไป วิธีที่ผู้อื่นพัฒนาขึ้น หรือเป็นวิธีที่พัฒนาขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ จะต้องทดสอบก่อนว่าสามารถใช้วิเคราะห์ตัวอย่างได้ถูกต้องตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้

การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation) เป็นกระบวนการศึกษาทางห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาหรือยืนยันคุณลักษณะเฉพาะของวิธีวิเคราะห์ (method performance characteristics) และประเมินด้วยวิธีการทางสถิติว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความถูกต้องและเหมาะสมตามวัตถุประสงค์ของการใช้งาน คุณลักษณะเฉพาะของวิธีเหล่านี้ ได้แก่ ความจำเพาะเจาะจง (specificity / selectivity) ความแม่นยำ (accuracy) ความเที่ยง (precision) พิสัยหรือช่วงของการใช้งาน (working range) และความเป็นเส้นตรง (linearity) ขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection) และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (limit of quantitation) และความทนของวิธี (ruggedness / robustness) เป็นต้น

4.1 ความจำเพาะเจาะจง (Specificity / selectivity)

การศึกษาความจำเพาะเจาะจงของวิธี คือ การศึกษาวิธีการวิเคราะห์นั้น มีการตอบสนองต่อสารที่กำลังศึกษาเพียงอย่างเดียวหรือตอบสนองต่อสารอื่นที่มีในตัวอย่าง หรือต่อ species อื่นๆ ของสารที่กำลังศึกษาด้วย ดังนั้นถ้าหากวิธีที่ศึกษามีการตอบสนองต่อสารอื่นๆ ที่ไม่ใช่สารที่ศึกษาเพียงอย่างเดียว แสดงว่าวิธีนั้นไม่มีความจำเพาะเจาะจง และสารอื่นๆ เหล่านี้จะทำให้เกิด systematic error

4.1.1 การทดสอบความจำเพาะเจาะจง

กรณีที่มี Matrix blank (ตัวอย่างหรือ matrix ที่ไม่มีสารที่สนใจ)

วิเคราะห์ matrix blank กับ spiked matrix blank ถ้าสัญญาณของ matrix blank น้อยมาก เมื่อเทียบกับสัญญาณของ spiked matrix blank แสดงว่าไม่มีการรบกวนจากสารอื่นในตัวอย่าง ซึ่งการทดสอบความจำเพาะเจาะจงดังกล่าวควรแสดงผลการเปรียบเทียบให้เห็นชัดเจน เช่น chromatogram, spectra หรือ data table เป็นต้น

กรณีที่ไม่มี Matrix blank

วิเคราะห์ตัวอย่างโดยใช้วิธีที่กำลังศึกษา และยืนยันด้วยเทคนิคอื่น โดยเฉพาะเทคนิคที่ให้ spectral data เช่น mass spectrometry (MS), atomic emission spectrometry (AES), NMR, IR, UV, fluorescence เป็นต้น โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ทั้งนี้ต้องทำ method blank ด้วย เพื่อ identify interference อื่นๆ ที่นอกเหนือจาก sample matrix

กรณีที่มีวิธีมาตรฐานที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อ sample matrix นั้นๆ

วิเคราะห์ตัวอย่างด้วยวิธีที่กำลังศึกษา เปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน ถ้าพบว่ามี การรบกวน ต้องหาสาเหตุและแก้ไข หากพบว่ามาจาก matrix จะต้องปรับ (optimize) หรือดัดแปลง (modify) วิธีให้ดีขึ้น

4.2 ช่วงของการวัด (Working range) และความเป็นเส้นตรง (Linearity)

4.2.1 Working range

ช่วงของการใช้งานหรือช่วงของการวัด (working range) เป็นช่วงของความเข้มข้นของสารซึ่งวิธีวิเคราะห์จะใช้ได้

4.2.2 Linearity

ความเป็นเส้นตรงเป็นคุณลักษณะเฉพาะของวิธีวิเคราะห์ที่แสดงความสัมพันธ์อย่างเป็นสัดส่วนโดยตรง ระหว่างสัญญาณจากเครื่องมือตรวจวัดและความเข้มข้นของสารในช่วงของการใช้งาน ช่วงของการใช้งานจะเริ่มต้นจาก LOD (ถ้าทราบค่า LOD) หรือ LOQ ช่วงความเป็นเส้นตรง (linear range) จะเป็นส่วนหนึ่งของช่วงของการใช้งาน และจะเริ่มต้นที่ LOQ ทั้งช่วงของการใช้งานและช่วงความเป็นเส้นตรง เป็นช่วงที่วัดได้ในสารละลายที่วัดค่าด้วยเครื่องมือวัด (final solution) ไม่ใช่ในตัวอย่างตั้งต้น (original sample)

การสร้างกราฟมาตรฐาน

กราฟมาตรฐานสร้างขึ้นจากการ plot ความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณจากเครื่องมือวัดกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานของสารที่กำลังศึกษา สำหรับกราฟมาตรฐานที่เป็นเส้นตรง ปริมาณสารในตัวอย่างหาโดยการคำนวณจากค่า slope และ intercept ของสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน ดังนั้นการสร้างกราฟมาตรฐานจะต้องให้มีความคลาดเคลื่อนสุ่ม (random error) น้อยที่สุด เพื่อลดความคลาดเคลื่อนของ slope และ intercept ซึ่งสามารถทำได้โดยการเพิ่มจำนวนระดับความเข้มข้น (levels of concentration) และการทำซ้ำ (replication) ในแต่ละระดับ การสร้างกราฟมาตรฐานสามารถสร้างได้ดังนี้คือ

1. กำหนดช่วงของกราฟมาตรฐานให้ครอบคลุมความเข้มข้นในความเข้มข้นสุดท้ายของตัวอย่าง

2. เตรียมสารละลายมาตรฐาน ให้มีความเข้มข้นอย่างน้อย 6 ระดับ และระดับให้มีปริมาณเพียงพอสำหรับการทำ 3-4 ซ้ำ และควรเตรียมให้มีความห่างของแต่ละระดับเท่าๆ กัน

3. วัดสัญญาณจากเครื่องมือ และ plot ความเข้มข้นของสารมาตรฐานบน แกน x และสัญญาณที่อ่านได้บนแกน y (รวมทั้งค่า blank ด้วย)

การทดสอบความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

หาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ค่า r ที่ได้ควรเข้าใกล้ 1 กรณีที่ค่า r บอกความสัมพันธ์ได้ไม่ชัดเจน อาจทดสอบด้วย t -test เพิ่มเติม นอกจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) แล้ว การใช้สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) ก็สามารถบอกความสัมพันธ์อย่างเป็นเส้นตรงของความเข้มข้น (x) และสัญญาณจากเครื่องมือวัด (y) ได้โดย r บอกว่า x กับ y มีความสัมพันธ์กันหรือไม่เท่าไร แต่ R^2 บอกถึงอิทธิพลของ x ที่มีต่อ y โดยอธิบายความแปรปรวนของ y ที่เกิดจาก x

4.3 ความแม่นยำ (Accuracy)

ความแม่นยำเป็นคุณลักษณะของวิธีที่แสดงความใกล้เคียงของผลการทดสอบต่อค่าจริงหรือค่าอ้างอิง การทดสอบความแม่นยำทำได้โดยการประเมินทั้ง systematic และ random effect ที่มีต่อผลทดสอบ โดยที่ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์สามารถแสดงด้วยค่า ค่าที่แท้จริง (Trueness) และ เปอร์เซ็นต์การกลับคืน (% Recovery)

4.3.1 Trueness

Trueness คือคุณสมบัติที่บ่งบอกว่า ผลการวิเคราะห์ใกล้เคียงกับค่าจริงมากน้อยเพียงใด ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์กับค่าจริงหรือค่าอ้างอิง เรียกว่า bias การประเมิน trueness ของวิธีวิเคราะห์จึงทำได้โดยการเปรียบเทียบผลจากการวิเคราะห์กับค่าจริงหรือค่าอ้างอิงโดยใช้สถิติที่เหมาะสม

Bias มีองค์ประกอบ 2 อย่างคือ method bias และ laboratory

Method bias เกิดจาก systematic error ที่ติดมากับ method ดังนั้นไม่ว่าห้องปฏิบัติการใดนำวิธีนี้ไปใช้ก็จะมี method bias เกิดขึ้นเสมอ

Laboratory bias เป็น bias ที่นอกเหนือจาก method bias เกิดขึ้นจากห้องปฏิบัติการที่ใช้วิธีนี้ ดังนั้น laboratory bias ของแต่ละห้องปฏิบัติการอาจเท่ากันหรือต่างกันได้ bias ที่แต่ละห้องปฏิบัติการหาได้จึงเป็น overall bias คือเป็นผลารวมกันของ method bias และ laboratory bias

การประเมิน trueness จึงเป็นการเปรียบเทียบค่า overall bias ที่ห้องปฏิบัติการหาได้กับ bias ที่รายงานไว้ในวิธีนั้น โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างที่เป็น known sample

วิธีประเมิน trueness ของวิธีวิเคราะห์

การประเมิน trueness ของวิธีวิเคราะห์สามารถทำได้ด้วยวิธีการทางสถิติ ซึ่งมีหลายวิธีการ ขึ้นอยู่กับข้อมูล เช่น การใช้ t-test หรือ linear regression สำหรับการวิเคราะห์ t-test ก็มีหลายวิธี เช่น กรณีที่เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ที่ได้จากสองวิธี ส่วนการประเมินโดยใช้ linear regression จะใช้เมื่อเป็นการเปรียบเทียบผลของสองวิธีที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

4.3.2 % Recovery

การหาเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (% Recovery) เป็นค่าที่แสดงประสิทธิภาพของวิธีที่มีต่อสารที่สนใจในตัวอย่าง ซึ่งวิธีการหนึ่งที่สามารถจะบอกได้คือ การเติมสารที่มีความเข้มข้นระดับต่างๆ ในช่วงการใช้งานลงใน matrix blank หรือ sample blank จากนั้นจึงวิเคราะห์ตามขั้นตอนที่ระบุในวิธีวิเคราะห์ และคำนวณหาค่า recovery ของสารส่วนที่เติมลงไป (ในทางปฏิบัติ มักพบปัญหาการไม่สามารถหา matrix blank หรือ sample blank ได้ จึงอาจจำเป็นต้องใช้ matrix หรือ sample ที่มีสารที่สนใจในระดับที่ไม่ต่ำมากมาหาค่า recovery กรณีนี้ความเข้มข้นที่เติมควรสูงกว่าความเข้มข้นที่มีอยู่เดิม)

4.4 ความเที่ยง (Precision)

ความเที่ยงเป็นคุณลักษณะเฉพาะของวิธีที่แสดงถึงความใกล้เคียงกันของผลการวิเคราะห์ซ้ำ ภายใต้สภาวะที่กำหนด ความเที่ยงจะบอกถึงความคลาดเคลื่อนสุ่ม (random error) ที่เกิดขึ้น โดยทั่วไป การแสดงความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ แสดงได้หลายแบบ เช่น การทวนซ้ำได้ (repeatability) หรือการทำซ้ำได้ (reproducibility)

4.4.1 Repeatability

เป็นตัวบอกถึงความแปรปรวนที่เกิดขึ้น เมื่อนักวิเคราะห์หนึ่งคนทำการทดลอง ตัวอย่างหนึ่งซ้ำๆ กัน หลายครั้งในเวลาเดียวกันหรือใกล้เคียงกัน โดยใช้เครื่องมือชุดเดิม และวิธีเดียวกัน แสดงค่าในรูปของ RSD_r

4.4.2 Reproducibility

เป็นตัวเลขบอกความแปรปรวนที่จะเกิดขึ้น เมื่อมีการวิเคราะห์ตัวอย่างชุดเดียวกัน ใช้ห้องปฏิบัติการหลายแห่ง โดยใช้วิธีเดียวกัน (นักวิเคราะห์หลายคน เครื่องมือต่างชุดกัน เวลาต่างกัน สิ่งแวดล้อมต่างกัน) แสดงค่าในรูปของ RSD_R

เกณฑ์การยอมรับความเที่ยง

การประเมินการยอมรับสามารถทำได้หลายวิธี เช่น กรณีที่ไม่มีการกำหนดค่าที่ยอมรับได้ไว้อย่างชัดเจน จะประเมินได้โดยเปรียบเทียบกับค่าที่คำนวณได้จาก Horwitz's equation และ HORRAT (Horwitz ratio) ตามที่ระบุใน The AOAC manual for the Peer ก็ใช้ F-test ในการประเมินได้

การประเมินด้วย Horwitz's equation และ HORRAT

Horwitz's equation เป็นสมการที่พัฒนาขึ้นโดย Dr. William Horwitz โดยสร้างขึ้นจากความสัมพันธ์ระหว่าง %RSD กับความเข้มข้นโดยไม่คำนึงถึงวิธีวิเคราะห์ที่ใช้และตัวอย่างที่วิเคราะห์ เนื่องจากพบว่าวิธีวิเคราะห์และลักษณะตัวอย่างไม่มีอิทธิพลต่อ %RSD ดังนั้น Horwitz's equation จึงใช้คาดคะเน %RSD ที่ควรจะเป็นที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ได้

Horwitz's equation

$$\text{สำหรับ reproducibility: } \%RSD_R = 2^{(1-0.5\log C)} = 2C^{-0.1505}$$

$$\text{สำหรับ repeatability : } \%RSD_r = 0.66 \times 2^{(1-0.5\log C)} = 0.66 \times 2C^{-0.1505}$$

โดย C เป็น concentration ratio (ไม่มีหน่วย)

ตารางที่ 8 แสดงเกณฑ์การยอมรับของ AOAC และ Codex กับ EU

Reference	ค่า HORRAT ที่ยอมรับ
AOAC	< 2
Codex, EU	≤ 2

โดย HORRAT หรือ Horwitz ratio คือ อัตราส่วนระหว่างค่า RSD ที่คำนวณได้จากการทดลอง (RSD_{obs}) กับค่า RSD ที่คำนวณจาก Horwitz's equation ($RSD_{expected}$) ใช้ประเมินการยอมรับความเที่ยงได้

$$\text{สำหรับ reproducibility; } HORRAT = \frac{RSD_{obs}}{RSD_{expected}}$$

การประเมินโดยใช้ F-test

ในการประเมินความใช้ได้ของความเที่ยงโดยวิธีนี้ เป็นการเปรียบเทียบค่าความแปรปรวน (S^2) ของวิธีที่กำลังทดสอบกับวิธีมาตรฐาน

4.5 ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection) และขีดจำกัดของการตรวจพบเชิงปริมาณ (Limit of quantitation)

4.5.1 Limit of detection (LOD)

เป็นความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สนใจในตัวอย่างที่วิธีทดสอบสามารถตรวจวัดได้ด้วยเชื่อมั่น 99% โดยที่ความเข้มข้นระดับนี้ไม่อาจบอกปริมาณที่มีความถูกต้องและเที่ยงตรงในระดับที่ยอมรับได้ เนื่องจากความไม่แน่นอนมีค่าสูง

โดยทั่วไปการกำหนดค่า LOD นั้น กำหนดจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณจากการวัดค่า blank (s) ที่ระดับความเชื่อมั่นประมาณ 99% (อาจมีข้อกำหนดที่แตกต่างจากนี้บ้าง) โดยถือว่าผลของการทดสอบมีการแจกแจงแบบปกติ (normal distribution) ดังนั้น LOD จึงมีค่าเป็น $3s$ (ที่ 99% Z มีค่าประมาณ 3) อย่างไรก็ตามในการทดสอบทางเคมีการทำซ้ำมาก ๆ เป็นสิ่งที่เป็นไปได้เนื่องจากต้องใช้ตัวอย่างปริมาณมาก เสียค่าใช้จ่ายในการทดสอบสูง และเสียเวลาโดยไม่จำเป็น จำนวนซ้ำ (n) มักจะมีค่าน้อย การแจกแจงของข้อมูลถือว่าเป็นแบบ t-distribution (ซึ่งคล้ายกับการแจกแจงแบบปกติ) ดังนั้น LOD จึงเท่ากับ $t_{(one-tailed, 0.01, n-1)} \times s$ และเพื่อให้ค่า t มีค่าเท่ากับ 3 โดยประมาณจึงต้องมีการทดสอบ 7-10 ซ้ำ

วิธีการหาค่า s สามารถทำได้หลายวิธีดังต่อไปนี้

1. การคำนวณจากสัญญาณของ sample blank ที่อ่านได้จากเครื่องมือวัด

วิธีนี้ sample blank ต้องสามารถอ่านสัญญาณได้ (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานไม่เท่ากับศูนย์ และสัญญาณที่ได้ต้องไม่ได้มาจากการมีสารที่สนใจ)

1. วิเคราะห์ sample blank 7-10 ซ้ำ ($n = 7-10$) ซ้ำละ 1 ครั้ง

2. คำนวณค่าความเข้มข้นและความเข้มข้นเฉลี่ย ($\bar{x}$) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (s) ของ sample blank

3. คำนวณค่า LOD จากสูตร

$$LOD = \bar{x} + 3s$$

2. การคำนวณจากสัญญาณของ spiked sample blank

ควรใช้วิธีนี้ในกรณีที่ sample blank ไม่สามารถอ่านสัญญาณได้

1. เติมสารมาตรฐานของสารที่สนใจลงใน sample blank โดยเติมที่ระดับต่ำสุดที่ยอมรับได้ เช่น ระดับ LOQ (ถ้าทราบ) หรือระดับต่ำสุดของความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานที่เหมาะสม

2. วิเคราะห์ spiked sample blank จากข้อ 1. จำนวน 7-10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ครั้ง

3. คำนวณค่า s

4. คำนวณค่า LOD จากสูตร

$$\text{LOD} = 3s$$

3. การคำนวณจากจุดตัดของกราฟเส้นตรงที่ plot ระหว่างค่าความเข้มข้นเฉลี่ยของ spiked sample blank กับค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

1. เติมสารมาตรฐานของสารที่สนใจลงใน sample blank ให้มีความเข้มข้นหลายระดับ โดยระดับแรกไม่ควรห่างจากศูนย์มากนักและระดับอื่น ๆ ควรมีระยะห่างเท่า ๆ กัน

2. วิเคราะห์ spiked sample blank ระดับละ 7 ซ้ำ

3. คำนวณค่า $\bar{x}$ และ s ของแต่ละระดับความเข้มข้น

4. plot graph ระหว่าง $\bar{x}$ และ s โดยให้ $\bar{x}$ อยู่บนแกน x และ s อยู่บนแกน y หาสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ระหว่าง $\bar{x}$ และ s

5. ถ้ามีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง ลากเส้นกราฟตัดแกน y จุดตัดคือ s_b (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้นศูนย์)

6. คำนวณค่า LOD จากสูตร

$$\text{LOD} = 3 s_b$$

4. การคำนวณจากจุดตัดของกราฟมาตรฐานที่เตรียมโดยใช้ sample blank

กรณีนี้พิจารณาว่าจุดตัดของกราฟมาตรฐาน (y-intercept) คือสัญญาณซึ่งเกิดจาก blank ดังนั้น การหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ y-intercept ก็คือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ blank สำหรับกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้นโดยใช้ simple least squares method ถือว่าความแปรปรวนบนเส้นกราฟตลอดทั้งช่วงไม่แตกต่างกัน (ช่วงไม่ควรกว้างเกินกว่า 10 เท่า) ดังนั้นจึงสามารถใช้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของเส้นกราฟ ($s_{y/x}$) เป็นค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ y-intercept ได้

4.5.2 Limit of quantitation (LOQ)

เป็นความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สนใจในตัวอย่างที่วิธีทดสอบสามารถตรวจวัดได้ ที่ความเข้มข้นระดับนี้สามารถรายงานเป็นปริมาณที่มีความแม่นยำและเที่ยงตรง ในระดับที่ยอมรับได้ (ประมาณ 30%)

วิธีการกำหนดค่า LOQ มี 2 ขั้นตอนคือ การหาค่า LOQ โดยประมาณและการยืนยันค่า LOQ ที่มีความแม่นยำและความเที่ยงในระดับที่ยอมรับได้

1. หาค่า LOQ โดยประมาณ จาก s_b ที่ได้จากการหาค่า LOD

LOQ (ประมาณ) = ความเข้มข้นของ blank ที่อ่านได้ + 10 s_b หรือ

LOQ (ประมาณ) = 10 s_b

2. ยืนยันค่า LOQ ที่มีความแม่นยำและความเที่ยงในระดับที่ยอมรับได้

เตรียม spiked sample blank ให้มีความเข้มข้นเท่ากับค่า LOQ (ประมาณ) หรือใกล้เคียง โดยทำการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ และคำนวณค่าความเข้มข้นเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน พร้อมทั้งประเมินการยอมรับความแม่นยำและความเที่ยง

ถ้าความแม่นยำและความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้แสดงว่า ระดับความเข้มข้นนี้คือค่า LOQ แต่ถ้ายังไม่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ ให้เตรียม spiked sample blank ใหม่ให้มีความเข้มข้นสูงขึ้น และในกรณีที่ค่าความแม่นยำและความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ แต่คิดว่าค่า LOQ นี้อาจสูงเกินไปก็อาจเตรียม spiked sample blank ใหม่ให้มีความเข้มข้นน้อยลง

เกณฑ์การยอมรับ LOD และ LOQ

ความเหมาะสมของค่า LOD และ/หรือ LOQ ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการใช้งาน อย่างไรก็ตาม Codex Committee on methods and sampling ได้นำเสนอเกณฑ์เกี่ยวกับ LOD และ LOQ สำหรับ trace elements ในอาหารในการประชุม CCMAS ปี 1998 ซึ่งห้องปฏิบัติการอาจใช้เป็นแนวทางสำหรับการพิจารณาความเหมาะสมของ LOD และ LOQ ที่ทดสอบได้ดังนี้

ตารางที่ 9 เกณฑ์การยอมรับของค่า LOD และ LOQ

LOD หรือ LOQ	เกณฑ์การยอมรับ
LOD	< 1/20 ของ target value
LOQ	< 1/10 ของ target value

Target value หมายถึง ค่ามาตรฐานหรือ specification ของผลิตภัณฑ์ เป็นต้น

5. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Kikura et al. (2000) ได้ทำการวิเคราะห์หาสาร Dimethylamphetamine (DMAP), DMAP N-oxide, Methamphetamine (MA) และ Amphetamine (AP) ในตัวอย่าง plasma และ rat hair โดยใช้เทคนิค Gas Chromatography-mass spectrometry (GC-MS) สภาพของเครื่องที่ใช้ในการศึกษาคือ column ชนิด TC-1 (0.25 mm i.d. X length 20 m, film thickness 0.25 μ m) Injection temp คือ 200⁰C (mode splitless) ใช้ Helium gas เป็น carrier gas (5.5 p.s.i. head pressure ที่ flow rate คือ 1.16 ml.min⁻¹) oven temp ตั้งแบบ temperature program เริ่มจากที่อุณหภูมิ 60⁰C (held for 0.5 min) จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิจนถึง 280⁰C (ที่อัตรา 20⁰C/min) สำหรับอุณหภูมิที่ column ใช้ที่ 280⁰C จากการศึกษพบว่าเทคนิคนี้สามารถใช้ในการวิเคราะห์ได้

KATO (2001) ได้ทำการศึกษาการเกิดสีของสารชนิด Dimethylamphetamine และสารพวก tertiary amines บน TLC Plate หลังจากการทำ TLC development โดยทำการศึกษากับสารชนิด Citric acid / Acetic anhydride Reagent (CAR) พบว่าเมื่อนำ TLC Plate หลังจากการทำ TLC development แชล่งในสารละลายผสมที่มีส่วนผสมของสาร phosphoric acid ในสาร acetone จากนั้นนำ TLC Plate ขึ้นและทำให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง และนำ TLC Plate มา Spray ด้วย CAR และทำให้แห้งด้วยความร้อนที่อุณหภูมิห้อง 100⁰C จะให้สีแดงอมชมพูปรากฏขึ้นบน TLC Plate ในกรณีของสารชนิด dimethylamphetamine และสารพวก tertiary amine และพบว่าปริมาณของสาร phosphoric acid ที่ทำให้เกิดสีชัดเจนที่สุด คือ 0.8 mL ของสาร phosphoric acid ใน 100 mL ของสาร acetone

Sato et al. (2002) ได้ทำการวิเคราะห์หาสารชนิด Dimethylamphetamine (DMA) ในตัวอย่างปัสสาวะ โดยใช้วิธี Liquid Chromatography –Electrospray Ionization – Mass Spectrometry (LC-ESI-MS) โดยการ spiked 1 μ g ของ DMA, Dimethylamphetamine N-oxide (DMANO) และ Methamphetamine (MA) ลงในตัวอย่างปัสสาวะ 1 mL สำหรับ Amphetamine (AM) จะ spiked 3 μ g ของ AM ลงในปัสสาวะ 1 mL สำหรับสภาพของเครื่องที่ใช้ในการศึกษาคือ ใช้ mode : full scan , ion monitoring (SIM) mode จากการศึกษพบว่า Limit of detection (signal-to-noise ratio = 5) สำหรับ DMA, DMANO, MA และ AM คือ 20, 20, 20 และ 60 ng ใน 1 mL ของปัสสาวะ ตามลำดับ ดังนั้นสามารถใช้เทคนิคนี้ในการวิเคราะห์หาสาร DMA ในตัวอย่างปัสสาวะได้

Shakleya et al. (2005) ทำการวิเคราะห์หาสาร Dimethylamphetamine (DMA) ที่เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในกระบวนการ methylation of methamphetamine ในตัวอย่างเนื้อเยื่อตับใน case ของศพที่เสียชีวิตจากการใช้สาร methamphetamine ด้วยวิธี LC/MS/MS และ LC/MS/MS/MS จากการวิเคราะห์ เมื่อนำเนื้อเยื่อตับแช่ในสาร formalin (20% v/v) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 hr.

จากนั้นนำส่วน suspension ไป sonicated เป็นเวลา 5 min. และนำไป centrifuge แล้วนำส่วนใสไปวิเคราะห์ด้วย LC/MS/MS และ LC/MS/MS/MS จากการวิเคราะห์พบว่า เนื้อเยื่อตับส่วนที่ fixed ด้วย formalin จะสามารถตรวจพบ DMA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน ซึ่งในทางกลับกันพบว่า ความเข้มข้นของ MA ที่ตรวจพบมีค่าความเข้มข้นลดลงในระดับต่างๆ กัน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า เมื่อนำเนื้อเยื่อตับมา fixed ด้วย formalin จะทำให้ผลการวิเคราะห์หา MA เกิด false negative

Cheng et al. (2006) ได้ทำการวิเคราะห์หาสารชนิด *N,N*-Dimethylamphetamine (DMA), *N,N*-Dimethylamphetamine *N*-oxide (DMANO), Methylamphetamine (MA) และ Amphetamine (A) ในตัวอย่างปัสสาวะ โดยใช้วิธี LC/MS ที่มีสถานะของเครื่องคือ Column ชนิด Alltech Platinum EPS C18 column ใช้สารผสมระหว่าง ammonium formate (0.01 M, pH 3) และ acetonitrile (77 : 23 v/v) เป็น mobile phase ที่ flow rate 0.2 mL/min จากการวิเคราะห์ พบว่าช่วงของการตรวจพบสารชนิดต่างๆ ในตัวอย่างปัสสาวะเป็นคือ 0.10-3.0 µg/mL สำหรับ DMANO, 0.05-3.0 µg/mL สำหรับ DMA, และ 0.05-5.0 µg/mL สำหรับ MA และ A โดยตรวจพบสาร MA/DMA ในตัวอย่างปัสสาวะจำนวน 118 ตัวอย่าง อีก 43 ตัวอย่างตรวจพบ DMANO และในตัวอย่างปัสสาวะจำนวน 11 ตัวอย่างตรวจพบ DMANO และ DMA

Lee et al. (2006) ได้ทำการศึกษาเทคนิค Capillary electrophoresis โดยทำการแยกสารชนิด *N,N*-Dimethylamphetamine (DMA), Methamphetamine (MA), Ephedrine (E), Pseudoephedrine (PE) และ Methylephedrine (Me-E) พบว่าเทคนิคดังกล่าวสามารถใช้แยกสารดังกล่าวได้

Chan et al. ได้ทำการแยกสาร *N,N*-Dimethylamphetamine และ Methamphetamine ที่อยู่ในรูปของผลึก โดยใช้เทคนิคต่างๆ ต่อไปนี้คือ Color Testing, GC/MS, FTIR, HPLC, Melting Point, Optical Rotation จากการศึกษพบว่าเทคนิคดังกล่าวสามารถใช้ในการแยกสารทั้ง 2 ชนิดออกจากกันได้

ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากงานวิจัยต่าง ๆ ที่มีผู้สนใจทำการศึกษาเกี่ยวกับ Methamphetamine และ Dimethylamphetamine ทำให้ผู้วิจัยมีความสนใจที่จะทำการศึกษาการแยก Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ในตัวอย่างยาบ้าด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) และวิธี Gas Chromatography (GC) เพื่อนำความรู้ที่ได้จากการศึกษามาใช้ในการพัฒนางานด้านการตรวจพิสูจน์หาสารเสพติด

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

1. เครื่องมือ / อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1.1 Gas Chromatograph - Flame Ionization Detector (GC-FID)

บริษัท Agilent รุ่น 6890N

1.2 เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง บริษัท OHAUS CORPORATION รุ่น E02140

1.3 เครื่อง Ultrasonics บริษัท Elma รุ่น TRANSSONIC T460/H

1.4 เครื่อง Centrifuge บริษัท ABBOTT LABBORATORIES

1.5 เครื่อง UV light 254 nm. บริษัท DESAGA SARTEDT-GRUPPE รุ่น MinUVIS

1.6 ตู้อบ (Oven) บริษัท TOKYO RIKAKIKAI CO.,LTD. รุ่น NDO-450ND

1.7 TLC tank

1.8 TLC plate (TLC Silica gel 60 F₂₅₄ , 25 Aluminium sheets 20 X 20 cm)

บริษัท Merck

1.9 pipette ขนาด 0.1, 0.2, 1.0, 2.0, 5.0 และ 10 mL

1.10 กระบอกตวง (Cylinder) ขนาด 50 และ 100 mL

1.11 ขวดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 5 , 10, 25 และ 2500 mL

1.12 Vial ขนาด 2 mL

1.13 Capillary Tube

1.14 Sprayer

1.15 ไม้บรรทัดวัดระยะ

1.16 กระดาษกรอง (Filter Paper) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 125 mm เบอร์ 1 Qualitative

บริษัท whatman

2. สารเคมี

ตารางที่ 10 รายชื่อสารเคมี และแหล่งที่มา ของสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

ลำดับ	สารเคมี	แหล่งที่มา
1	Standard (d)-Methamphetamine Hydrochloride ที่มีความบริสุทธิ์ 99.35%	บริษัท Alltech-Applied Science
2	Standard Dimethylamphetamine Hydrochloride ที่มีความบริสุทธิ์ 99.80%	สำนักงานป้องกันและปราบปรามสิ่ง เสพติด (ป.ป.ส.)
3	Standard Caffeine ที่มีความบริสุทธิ์ 99.00 %	บริษัท Alltech-Applied Science
4	Ethyl acetate , Analytical reagent grade	บริษัท Fisher Scientific UK Limited
5	Methanol , Analytical reagent grade	บริษัท Fisher Scientific UK Limited
6	Methanol , grade for liquid chromatography	บริษัท Merck
7	Ammonium Hydroxide, Analytical reagent grade	บริษัท J.T.Baker Neutrakit
8	Fast Black K Salt	บริษัท Fluka Chemie GmbH
9	Sodium Hydroxide pellets	บริษัท Merck
10	Diphenhydramine Hydrochloride	บริษัท Sigma - Aldrich Chemie GmbH P.O.

3. วิธีการทดลอง

3.1 การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างยาบ้าจากกลุ่มงานตรวจยาเสพติด กองพิสูจน์หลักฐานกลาง สำนักงานตำรวจแห่งชาติ ซึ่งเป็นตัวอย่างที่ทางสถานีตำรวจส่งเข้ามาตรวจพิสูจน์ที่กลุ่มงานตรวจยาเสพติด กองพิสูจน์หลักฐานกลาง สำนักงานตำรวจแห่งชาติ จำนวน 30 ตัวอย่าง โดยทำการสุ่มตัวอย่างตามมาตรฐานวิธีการปฏิบัติงานของกลุ่มงานตรวจยาเสพติด กองพิสูจน์หลักฐานกลาง (WI For Sampling) และนำตัวอย่างที่ได้จากการสุ่มบรรจุลงในซองพลาสติกใส พร้อมทั้งปิดปากซองให้สนิท เพื่อป้องกันการปนเปื้อนกับสารอื่นๆ ที่อาจทำให้เกิดความเสียหายต่อตัวอย่าง

3.2 การวิเคราะห์

3.2.1 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Thin Layer Chromatography (TLC)

3.2.1.1 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยก Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ด้วยเทคนิค TLC

การเตรียมสารมาตรฐาน

1. เตรียมสารมาตรฐาน Methamphetamine โดยชั่งสารมาตรฐาน Methamphetamine hydrochloride น้ำหนัก 10 mg (ทราบน้ำหนักที่แน่นอน) ใน Volumetric Flask ขนาด 5 mL ปรับปริมาตรด้วย Methanol จนมีปริมาตรครบ 5 mL และนำไป sonicate เป็นเวลา 3 min.

2. เตรียมสารมาตรฐาน Dimethylamphetamine โดยชั่งสารมาตรฐาน Dimethylamphetamine hydrochloride น้ำหนัก 10 mg (ทราบน้ำหนักที่แน่นอน) ใน Volumetric Flask ขนาด 5 mL ปรับปริมาตรด้วย Methanol จนมีปริมาตรครบ 5 mL และนำไป sonicate เป็นเวลา 3 min.

3. เตรียมสารมาตรฐาน Caffeine โดยชั่งสารมาตรฐาน Caffeine น้ำหนัก 10 mg (ทราบน้ำหนักที่แน่นอน) ใน Volumetric Flask ขนาด 5 mL ปรับปริมาตรด้วย Methanol จนมีปริมาตรครบ 5 mL และนำไป sonicate เป็นเวลา 3 min.

การเตรียม Developing solvent system

ทำการเตรียม Developing solvent system ที่อัตราส่วนของ Ethyl acetate : Methanol : Ammonia แตกต่างกัน ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 11 แสดงอัตราส่วนของ mobile phase ที่ใช้ในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสม

สภาวะที่ศึกษา	ปริมาตรสารที่ใช้ (mL)		
	Ethyl acetate	Methanol	Ammonia
สภาวะที่ 1	85	10	3
สภาวะที่ 2	85	10	4
สภาวะที่ 3	85	10	5
สภาวะที่ 4	85	10	6
สภาวะที่ 5	85	10	7

ในแต่ละ System ให้ผสมสาร Ethyl acetate และ Methanol ให้เข้ากันก่อนแล้วจึงเทลงใน TLC tank สำหรับ Ammonia จะใช้เฉพาะไอระเหย โดยปิด Ammonia ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 10 mL แล้วนำบีกเกอร์นั้นใส่ลงใน TLC tank และทิ้งให้สารผสมมีไอระเหยที่อิ่มตัวก่อนใช้งาน

2. การเตรียม Spray reagents

2.1 เตรียมสารละลาย 1% Fast Black K Salt โดยชั่ง Fast Black K Salt 10 g ละลายในน้ำ 1 L

2.2 เตรียมสารละลาย 1 N NaOH โดยชั่ง Sodium hydroxide 40 g ละลายในน้ำ 1 L

3. การ Spotting และการทำ Developing

3.1 Spot สารมาตรฐานแต่ละชนิดลงในแผ่น TLC plate ให้แต่ละ Spot มีปริมาตรประมาณ 1-5 μL ให้อยู่ในแผ่นเดียวกัน โดยให้อยู่สูงจากขอบล่าง 2 cm. ระยะห่างระหว่าง Spot 1 cm. และอยู่ห่างจากขอบข้าง 1.5 cm. นำ TLC plate ที่ได้แช่ลงใน TLC tank แต่ละสภาวะ โดยทำการศึกษาจำนวน 3 ครั้ง ครั้งละ 6 ชั่วโมง

3.2 นำแผ่น TLC plate ออกจาก TLC tank เมื่อระยะ solvent front เคลื่อนที่ขึ้นมาถึงจุดที่ต้องการ พร้อมทั้งบันทึกระยะทางที่ solvent front เคลื่อนที่มาถึง และทิ้งให้ TLC plate แห้งที่อุณหภูมิห้อง

4. การ Detect

4.1 นำแผ่น TLC plate ส่องแสง UV ที่ 254 nm. แล้ววงจุดที่มองเห็นบน TLC plate ด้วยดินสอ

4.2 นำแผ่น TLC plate มา spray กับ spray reagent โดย spray ด้วยสารละลาย 1% Fast Black K Salt ก่อนและตามด้วยสารละลาย 1 N NaOH

4.3 หาค่า R_f ของสารมาตรฐานแต่ละชนิด

4.4 เปรียบเทียบความสามารถในการแยก Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ที่สภาวะต่างๆ กัน ในวิธี TLC โดยเปรียบเทียบจากค่า Retardation factor (R_f) และหาค่า Standard deviation (SD)

การคำนวณหาค่า R_f

$$R_f = \frac{\text{ระยะทางจากจุดตั้งต้นถึงกึ่งกลางวงของสารที่แยกได้บนแผ่น TLC}}{\text{ระยะทางจากจุดตั้งต้นถึงจุดที่ solvent front เคลื่อนที่ไป}}$$

3.2.1.2 การแยก Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ในตัวอย่างยาบ้าจำนวน 30 ตัวอย่าง โดยใช้สภาวะที่เหมาะสม

1. เตรียมสารตัวอย่างโดยชั่งตัวอย่างยาบ้า น้ำหนัก 20-30 mg (ทราบน้ำหนักที่แน่นอน) ใน Volumetric Flask ขนาด 5 mL ปรับปริมาตรด้วย Methanol จนมีปริมาตรครบ 5 mL และนำไป sonicate เป็นเวลา 3 min.

2. เตรียม Developing solvent system โดยใช้อัตราส่วนของ mobile phase ที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85 : 10 : 6 (โดยปริมาตร) และทิ้งให้สารผสมมีไอระเหยที่อิ่มตัวก่อนการใช้งาน

3. Spot สารมาตรฐานแต่ละชนิดและสารตัวอย่างที่เตรียมไว้จำนวน 30 ตัวอย่าง ลงในแผ่น TLC plate ให้แต่ละ Spot มีปริมาตรประมาณ 1-5 μ L ให้อยู่ในแผ่นเดียวกัน โดยให้อยู่สูงจากขอบล่าง 2 cm. ระยะห่างระหว่าง Spot 1 cm. และอยู่ห่างจากขอบข้าง 1.5 cm. นำ TLC plate ที่ได้แช่ลงใน TLC tank หลังจากนั้นนำแผ่น TLC plate ออกจาก TLC tank เมื่อระยะ solvent front เคลื่อนที่ขึ้นมาถึงจุดที่ต้องการ พร้อมทั้งบันทึกระยะทางที่ solvent front เคลื่อนที่มาถึง และทิ้งให้ TLC plate แห้งที่อุณหภูมิห้อง โดยทำการวิเคราะห์จำนวน 3 ครั้ง

4. การ Detect

4.1 นำแผ่น TLC plate ส่องแสง UV ที่ 254 nm. แล้ววงจุดที่มองเห็นบน TLC plate ด้วยดินสอ

4.2 นำแผ่น TLC plate มา spray กับ spray reagent โดย spray ด้วยสารละลาย 1% Fast Black K Salt ก่อนและตามด้วยสารละลาย 1 N NaOH

4.3 คำนวณหาค่า R_f ของสารแต่ละชนิด และค่า SD



1. ขั้นตอนการเตรียมแผ่น TLC plate



2. ขั้นตอนการ Spotting



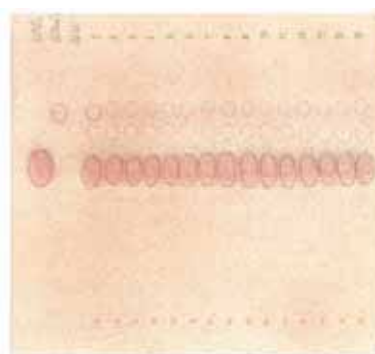
3. ขั้นตอนการ Developing



4. ขั้นตอนการ Detect ได้แสง UV ที่ 254 nm.



5. การ Detect โดยการ spray กับ reagent



6. TLC plate หลังจากการ spray กับ reagent

ภาพที่ 4 สรุปขั้นตอนการวิเคราะห์ด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC)

3.2.1.3 การศึกษาหาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์

1. เตรียม Developing solvent system โดยใช้อัตราส่วนของ mobile phase ที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85 : 10 : 6 (โดยปริมาตร) และทิ้งให้สารผสมมีไอระเหยที่อิ่มตัวก่อนการใช้งาน

2. การ Spotting และการทำ Developing

2.1 Spot สารมาตรฐานแต่ละชนิดที่เตรียมไว้ ลงในแผ่น TLC plate ให้แต่ละ Spot มีปริมาตรประมาณ 1-5 μL ให้อยู่ในแผ่นเดียวกัน โดยให้อยู่สูงจากขอบล่าง 2 cm. ระยะห่างระหว่าง Spot 1 cm. และอยู่ห่างจากขอบข้าง 1.5 cm. นำ TLC plate ที่ได้แช่ลงใน TLC tank โดยทำการศึกษาจำนวน 5 ครั้ง ครั้งละ 6 ชั่วโมง

2.2 นำแผ่น TLC plate ออกจาก TLC tank เมื่อระยะ solvent front เคลื่อนที่ขึ้นมาถึงจุดที่ต้องการ พร้อมทั้งบันทึกระยะทางที่ solvent front เคลื่อนที่มาถึง และทิ้งให้ TLC plate แห้งที่อุณหภูมิห้อง

3. การ Detect

3.1 นำแผ่น TLC plate ส่องแสง UV ที่ 254 nm. แล้ววางจุดที่มองเห็นบน TLC plate ด้วยดินสอ

3.2 นำแผ่น TLC plate มา Spray กับ Spray reagent โดย spray ด้วยสารละลาย 1% Fast Black K Salt ก่อนและตามด้วยสารละลาย 1 N NaOH

3.3 คำนวณหาค่า R_f ของสารมาตรฐานแต่ละชนิดและค่า SD

3.2.2 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Gas Chromatography - Flame Ionization Detector (GC-FID)

3.2.2.1 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยก Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ในเทคนิค GC-FID

การเตรียมสารมาตรฐาน

1. การเตรียมสารละลาย Internal Standard Solution

เตรียมสารละลาย Diphenhydramine hydrochloride โดยชั่ง Diphenhydramine hydrochloride น้ำหนัก 2.500 g (ทราบน้ำหนักที่แน่นอน) และปรับปริมาตรด้วย Methanol จนมีปริมาตรครบ 2500 mL ใน Volumetric flask ขนาด 2500 mL (สารละลายที่ได้มีความเข้มข้น 1 g/L)

2. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Methamphetamine สารละลายมาตรฐาน Dimethylamphetamine และสารละลายมาตรฐาน Caffeine

เตรียม Stock Standard Solution โดยชั่งสารมาตรฐาน Methamphetamine hydrochloride น้ำหนัก 0.2500 g (ทราบน้ำหนักที่แน่นอน) และชั่งสารมาตรฐาน Dimethylamphetamine hydrochloride น้ำหนัก 0.2500 g (ทราบน้ำหนักที่แน่นอน) และชั่งสารมาตรฐาน Caffeine น้ำหนัก 0.2500 g (ทราบน้ำหนักที่แน่นอน) ผสมสารมาตรฐานข้างต้นทั้ง 3 ชนิดเข้าด้วยกัน และปรับปริมาตรด้วยสารละลาย Internal Standard Solution จนมีปริมาตรครบ 25 mL ใน Volumetric Flask ขนาด 25 mL (สารละลายมาตรฐานที่ได้มีความเข้มข้น 10 g/L)

3. นำสารละลายมาตรฐานที่เตรียมได้จากข้อ 2 ไปวิเคราะห์ด้วย GC-FID ในสภาวะต่างๆ โดยทำการวิเคราะห์จำนวน 3 ครั้ง ครั้งละ 6 ชั่วโมง และเปรียบเทียบความสามารถในการแยกของสาร Methamphetamine , Dimethylamphetamine และ Caffeine โดยดูจากค่า Retention Time (min) (R_t), Resolution (R) และหาค่า SD

4. การตั้งค่าสภาวะของเครื่อง มีรายละเอียดดังนี้

เครื่องมือ : Gas Chromatograph ยี่ห้อ Agilent รุ่น GC 6890

Detector : Flame Ionization Detector (FID)

Column : ชนิด HP-5 Capillary Column (0.32 mm i.d. x 30 m, film thickness 0.25 μ m)

Gas System : H_2 , Air Zero , N_2 (Make up gas) ,He (Carrier gas)

สภาวะที่เลือกศึกษามีดังนี้

System I

Gas type : Helium 40 ml/sec
 Temperature : Oven 150 °C Initial time 0 min
 Ramp. 36 °C/min Final temp 265° C hold 2 min
 Injector 265 ° C Inject : 1 uL
 Detector 280 ° C

System II

Gas type : Helium 40 ml/sec
 Temperature : Oven 150 °C Initial time 0 min
 Ramp. 46 °C /min Final temp 265° C hold 2 min
 Injector 265 ° C Inject : 1 uL
 Detector 265 ° C

System III

Gas type : Helium 40 ml/sec
 Temperature : Oven 160 °C Initial time 0 min
 Ramp. 40 °C/min Final temp 250° C hold 2 min
 Injector 250 ° C Inject : 1 uL
 Detector 265 ° C

3.2.2.2 การทดสอบความใช้ได้ของวิธี GC-FID

1. การเตรียมสารมาตรฐาน เพื่อใช้ทดสอบในแต่ละ parameter

นำ Stock Standard Solution ที่เตรียมไว้ที่ความเข้มข้น 10 g/L มาเจือจางให้สารละลายมาตรฐานมีความเข้มข้นที่ระดับต่างๆ ดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 แสดงปริมาณสารที่ใช้ในการเตรียมสารละลายมาตรฐาน ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ

ความเข้มข้นเริ่มต้น (g/L)	ปริมาตรที่ pipet (mL)	ปรับปริมาตร (mL)	ความเข้มข้นสุดท้าย (g/L)
10	5	10	5
5	3	5	3
5	2	5	2
5	1	5	1
5	1	10	0.5
1	1	5	0.2
1	1	10	0.1
0.5	1	10	0.05

2. การหาความเป็นเส้นตรง (Linearity) และช่วงของการวัด

(Range)

นำสารละลายมาตรฐานที่มีระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เตรียมไว้ มาทดสอบทุกขั้นตอนเหมือนการทดสอบตัวอย่าง โดยใช้ระดับความเข้มข้น 8 ระดับ ทำการวิเคราะห์ระดับละ 7 ครั้ง นำค่าความเข้มข้น กับ สัญญาณที่ได้มาเขียนกราฟ โดยให้แกน x เป็นค่าความเข้มข้น และแกน y เป็นค่าพื้นที่ใต้พีค กราฟที่ได้ออกมาต้องเป็นเส้นตรง โดยที่ค่าสัมประสิทธิ์ความเป็นเส้นตรง (R^2) ต้องไม่น้อยกว่า 0.99

3. การหาค่าขีดจำกัดของการตรวจพบเชิงคุณภาพ (Limit of

detection : LOD)

นำ blank ซึ่งในที่นี้คือ Internal Standard มาทำการวิเคราะห์เหมือนตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ถ้า blank ที่ทำการวิเคราะห์ไม่มีพีคของสารที่เราศึกษาอยู่ ก็ทำการ spike สารที่เราศึกษาที่มีความเข้มข้นต่ำๆ ลงไป และทำการวิเคราะห์ จนเครื่องสามารถวัดสัญญาณออกมาได้ ก็ทำการวิเคราะห์จำนวน 7 ซ้ำ และนำค่าสัญญาณที่ได้มาคำนวณหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) แล้วนำค่า SD ที่ได้มาคูณ 3 ค่าที่ได้คือค่า LOD แล้วทำการคำนวณหาค่าความเข้มข้นที่แท้จริง โดยนำค่าที่ได้ไปเทียบกับสมการของกราฟมาตรฐาน

4. การหาค่าขีดจำกัดของการตรวจพบเชิงปริมาณ (Limit of quantitation : LOQ)

ทำการวิเคราะห์เหมือนกับการหาค่า LOD แต่นำค่า SD ที่ได้มาคูณ 10 จะได้ค่า LOQ แล้วทำการคำนวณหาความเข้มข้นที่แท้จริง โดยนำค่าที่ได้ไปเทียบกับสมการของกราฟมาตรฐาน

3.2.2.3 การแยก Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ในตัวอย่างยาบ้าจำนวน 20 ตัวอย่าง โดยใช้สภาวะที่เหมาะสม

เตรียมสารตัวอย่างโดยชั่งตัวอย่างยาบ้า น้ำหนัก 10-25 mg (ทราบน้ำหนักที่แน่นอน) ใส่ลงไปใน Volumetric Flask ขนาด 5 mL เติมสารละลาย Internal Standard Solution ประมาณ 4 mL เขย่าและนำไป sonicate เป็นเวลา 5-10 min. และปรับปริมาตรด้วย Internal Standard Solution จนมีปริมาตรครบ 5 mL ถ่ายสารละลายที่ได้ใส่หลอดทดลองที่เหมาะสมและนำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบของการหมุน 3000 rpm นาน 3 min. นำสารละลายส่วนที่ใส่อายลงใน Vial ขนาด 2 mL แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย GC – FID โดยทำการวิเคราะห์จำนวน 20 ตัวอย่าง จำนวน 3 ครั้ง พร้อมทั้งคำนวณหาปริมาณสารที่ตรวจพบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

บทที่ 4

ผลการทดลอง

จากการทดลองเพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารระหว่าง Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ในตัวอย่างยาบ้า โดยใช้วิธี Thin Layer Chromatography (TLC) และวิธี Gas Chromatography (GC) เนื่องจากสารประกอบภายในเม็ดยาบ้ามีส่วนประกอบหลักที่สำคัญเป็น Caffeine และ Methamphetamine ดังนั้นผู้ทำการวิจัยจึงเลือกศึกษา Caffeine ด้วย ซึ่งให้ผลการทดลองดังนี้

1. วิธี TLC

1.1 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยก Methamphetamine กับ

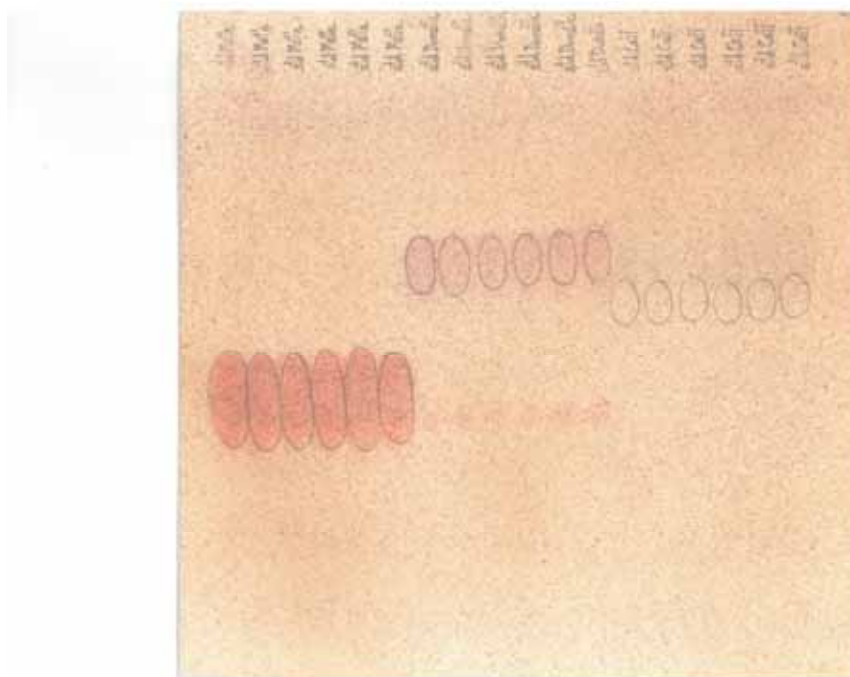
Dimethylamphetamine

จากการทดลองเพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารระหว่าง Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine โดยใช้วิธี TLC โดยทำการศึกษาที่สภาวะต่างๆ กัน จำนวน 5 สภาวะ โดยที่ในแต่ละสภาวะ ทำการวิเคราะห์จำนวน 6 ซ้ำ จำนวน 3 ครั้ง ให้ผลการทดลองดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ผล R_f ของสารมาตรฐาน Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine

สภาวะที่ศึกษา (Ethyl acetate : Methanol : Ammonia)		R_f ของสารมาตรฐาน		
		Methamphetamine	Dimethylamphetamine	Caffeine
(85 : 10 : 3)	Average	0.7091	0.8310	0.8073
	SD	0.0015	0.0019	0.0017
(85 : 10 : 4)	Average	0.8003	0.8789	0.8500
	SD	0.0015	0.0016	0.0017
(85 : 10 : 5)	Average	0.7973	0.8811	0.8610
	SD	0.0016	0.0019	0.0014
(85 : 10 : 6)	Average	0.5298	0.7516	0.6905
	SD	0.0012	0.0018	0.0017
(85 : 10 : 7)	Average	0.5502	0.7787	0.7009
	SD	0.0009	0.0013	0.0016

จากผลการทดลอง การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยก Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine โดยใช้วิธี TLC พบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สามารถนำมาใช้ในการแยก Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine คือที่อัตราส่วน Ethyl acetate:Methanol:Ammonia เป็น 85 : 10 : 6 (โดยปริมาตร) เนื่องจาก เมื่อพิจารณาจากค่า R_f ของสารมาตรฐานทั้ง 3 ชนิด พบว่า ค่า R_f ของ Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine มีค่า 0.5298, 0.7516 และ 0.6905 ตามลำดับ เมื่อคำนวณหาค่า SD ของค่า R_f พบว่าค่า SD ของค่า R_f ของ Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine มีค่า 0.0012, 0.0018 และ 0.0017 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าสารทั้ง 3 ชนิดแยกออกจากกันอย่างชัดเจน ดังภาพที่ 5

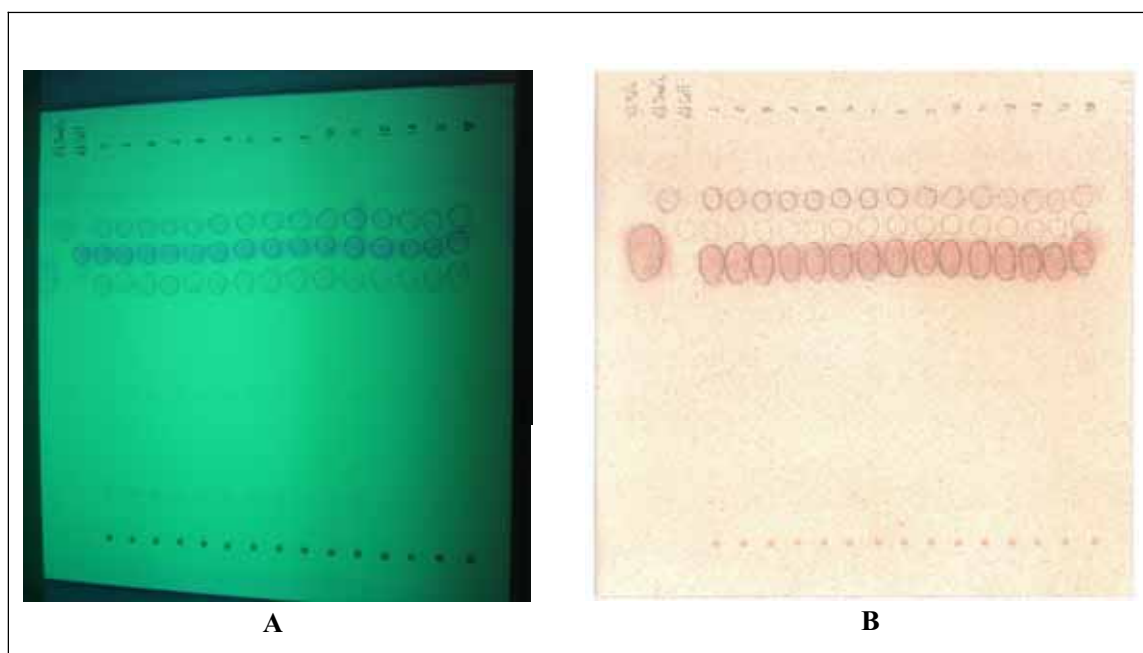


ภาพที่ 5 TLC Plate ของสารมาตรฐาน Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine โดยใช้อัตราส่วนของ Ethyl acetate : Methanol : Ammonia (85 : 10 : 6) หลังจาก Spray ด้วย 1% Fast Black K Salt

1.2 การแยก Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ในตัวอย่างยาบ้า

เมื่อนำสภาวะดังกล่าวมาทำการศึกษากับตัวอย่างยาบ้าจำนวน 30 ตัวอย่าง โดยทำการทดลองจำนวน 3 ครั้ง พบว่า ตรวจพบ Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine ในตัวอย่างยาบ้าทั้ง 30 ตัวอย่าง ดังผลการทดลองในภาพที่ 6 ซึ่งพบว่าค่า R_f เฉลี่ยของ

Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine มีค่า 0.5315, 0.7629 และ 0.6857 ตามลำดับ เมื่อคำนวณหาค่า SD ของค่า R_f พบว่าค่า SD ของค่า R_f ของ Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine มีค่า 0.0035, 0.0058 และ 0.0070 ตามลำดับ ดังตารางที่ 14



ภาพที่ 6 TLC Plate จากการวิเคราะห์ตัวอย่างยาบ้าที่สภาวะ Ethyl acetate : Methanol : Ammonia (85 : 10 : 6) ภายใต้แสง UV ที่ 254 nm (A) และภายหลังจาก Spray ด้วย Fast Black K 1 % (B)

ตารางที่ 14 แสดงค่า R_f ของสารที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างยาบ้า จำนวน 30 ตัวอย่าง

ชนิดของสาร	R_f เฉลี่ยของสาร	SD ของค่า R_f
Methamphetamine	0.5315	0.0035
Dimethylamphetamine	0.7629	0.0058
Caffeine	0.6857	0.0070

1.3 การศึกษาหาความถูกต้องของวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์

จากการศึกษาหาความถูกต้องของวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ ในวิธี TLC ที่สภาวะ Ethyl acetate : Methanol : Ammonia (85 : 10 : 6) ได้ทำการศึกษากับสารมาตรฐาน จำนวน 6 ซ้ำ และทำการศึกษากัน 5 ครั้ง จากผลการทดลอง พบว่าค่า R_f เฉลี่ยของสาร Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine มีค่า 0.5307, 0.7717 และ 0.6776 ตามลำดับ และค่า SD ของค่า R_f ของ Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine มีค่า 0.0028, 0.0031 และ 0.0030 ตามลำดับ ดังตารางที่ 15 เมื่อพิจารณาจากค่า SD ของค่า R_f พบว่ามีความแม่นยำสูงสามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์ได้

ตารางที่ 15 แสดงค่า R_f ของสารมาตรฐานที่ได้จากการศึกษาหาความถูกต้องของวิธี

ชนิดของสาร	R_f เฉลี่ยของสาร	SD ของค่า R_f
Methamphetamine	0.5307	0.0028
Dimethylamphetamine	0.7717	0.0031
Caffeine	0.6776	0.0030

2. วิธี GC

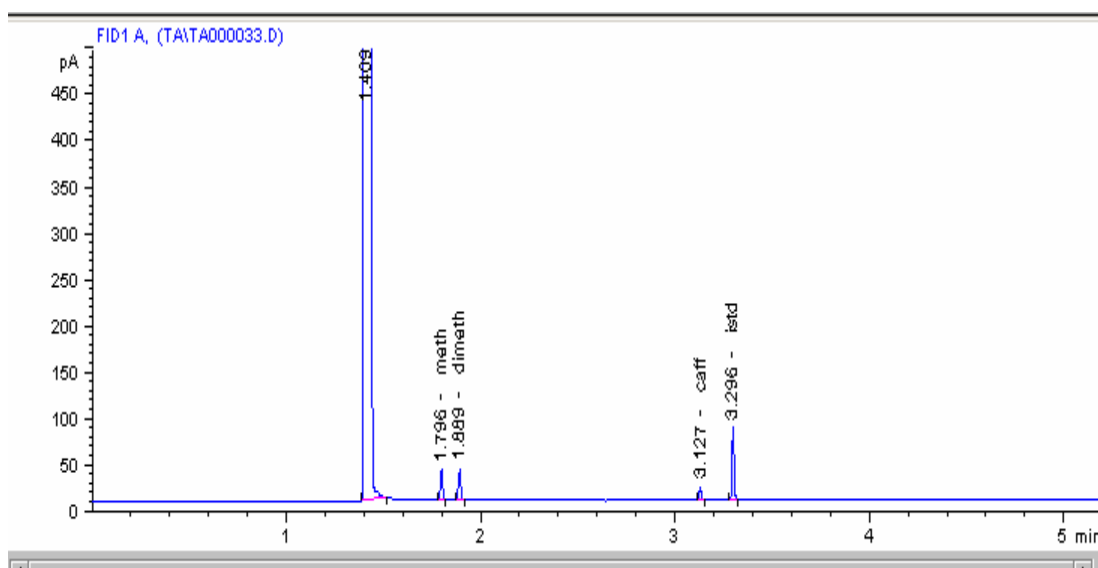
2.1 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยก Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine

จากการทดลองเพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารระหว่าง Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine โดยใช้วิธี GC-FID โดยทำการศึกษาที่สภาวะต่างๆ กัน จำนวน 3 สภาวะ โดยทำการศึกษากัน 3 ครั้ง ครั้งละ 6 ซ้ำ ให้ผลการทดลองดังตารางที่ 16

ตารางที่ 16 ผล Retention Time (min.) ของสารมาตรฐาน

สภาวะที่ศึกษา	ชนิดของสาร	R_t เฉลี่ยของสาร	SD ของค่า R_t
สภาวะที่ 1	Methamphetamine	1.795	0.001
	Dimethylamphetamine	1.886	0.001
	Caffeine	3.126	0.001
สภาวะที่ 2	Methamphetamine	1.744	0.000
	Dimethylamphetamine	1.819	0.000
	Caffeine	2.818	0.001
สภาวะที่ 3	Methamphetamine	1.702	0.001
	Dimethylamphetamine	1.770	0.001
	Caffeine	2.808	0.000

จากการศึกษา พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สามารถแยก Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine อย่างชัดเจนคือ ที่สภาวะที่ 1 ซึ่งมีสภาวะดังนี้คือ ใช้อุณหภูมิเริ่มต้นที่ 150°C จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิ ด้วยอัตรา $36^{\circ}\text{C}/\text{min}$ จนกระทั่งมีอุณหภูมิถึง 265°C แล้วคงที่ไว้เป็นเวลา 2 min โดยใช้อุณหภูมิที่ Injector เท่ากับ 265°C และอุณหภูมิที่ Detector เท่ากับ 280°C และที่สภาวะดังกล่าว พบว่าค่า R_t ของ Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine มีค่า 1.795, 1.886 และ 3.126 ตามลำดับ ซึ่งที่สภาวะดังกล่าวให้ผล Chromatogram ดังแสดงในภาพที่ 7



ภาพที่ 7 ตัวอย่าง Chromatogram ของ Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine ที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม

จากการศึกษาการแยก Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine โดยเทคนิค GC-FID พบว่าที่สภาวะดังกล่าว เมื่อคำนวณหาค่า Resolution พบว่าค่า Resolution ของ Methamphetamine เทียบกับ Dimethylamphetamine มีค่า 7.3278 และค่า Resolution ของ Dimethylamphetamine เทียบกับ Caffeine มีค่า 101.5128 ซึ่งมีค่ามากกว่า 1.5 แสดงว่า Chromatogram ของการผสมสารมาตรฐานทั้ง 3 สารนั้น พิกที่ได้แยกกันอย่างชัดเจน ดังตารางที่ 17

ตารางที่ 17 ผล Resolution ของสารมาตรฐาน

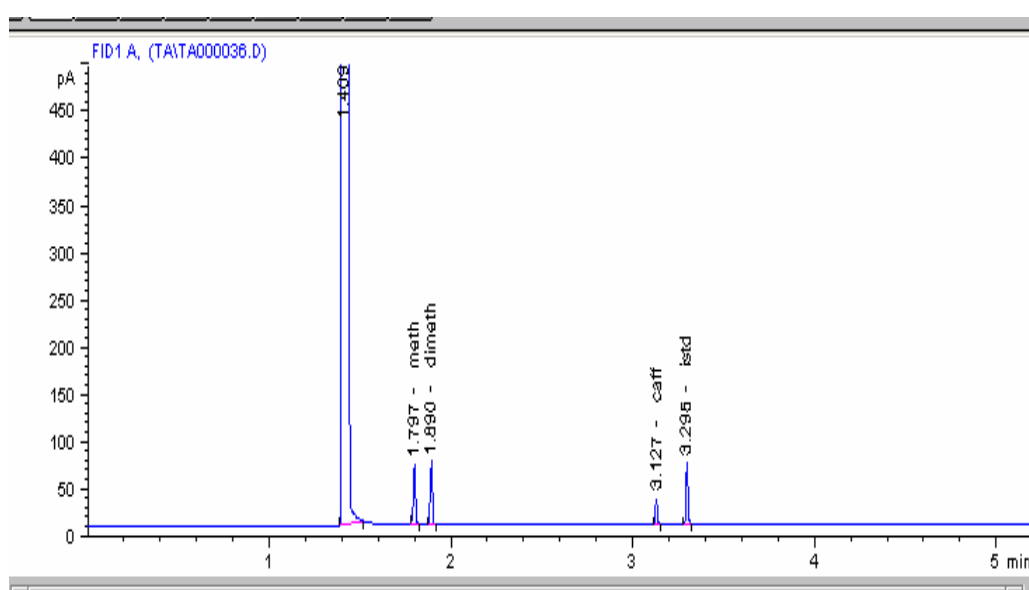
ค่าเฉลี่ย Resolution	สารมาตรฐาน
7.3278	Methamphetamine เทียบกับ Dimethylamphetamine
101.5128	Dimethylamphetamine เทียบกับ Caffeine

2.2 การศึกษาหาความถูกต้องของวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์

จากการศึกษาหาความถูกต้องของวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ ในวิธี GC ให้ผลการทดลองดังนี้

2.2.1 การสร้างกราฟสารละลายมาตรฐาน

Chromatogram ของสารละลายมาตรฐานของ Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine เป็นดังภาพที่ 8



ภาพที่ 8 Chromatogram ของ Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine

จาก Chromatogram ของสารมาตรฐานทั้ง 3 ชนิด ได้ผลการวิเคราะห์ ดังตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 18 หมายเลขพีคและ Retention time (R_t) ของสารละลายมาตรฐาน

สารมาตรฐาน	Peak No.	Retention Time (min) เฉลี่ย
Methamphetamine	1	1.798
Dimethylamphetamine	2	1.890
Caffeine	3	3.126

ตารางที่ 19 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ย พื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน / พื้นที่ใต้พีคของ
Internal standard กับความเข้มข้นของสาร Methamphetamine

ความเข้มข้นของสาร (g/L)	ค่าเฉลี่ย พื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน / พื้นที่ใต้พีคของ Istd.
0.05	0.04136
0.10	0.08900
0.20	0.18236
0.50	0.45617
1.00	0.95897
2.00	1.98208
3.00	3.11802
5.00	5.25222

ตารางที่ 20 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ย พื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน / พื้นที่ใต้พีคของ
Internal standard กับความเข้มข้นของสาร Dimethylamphetamine

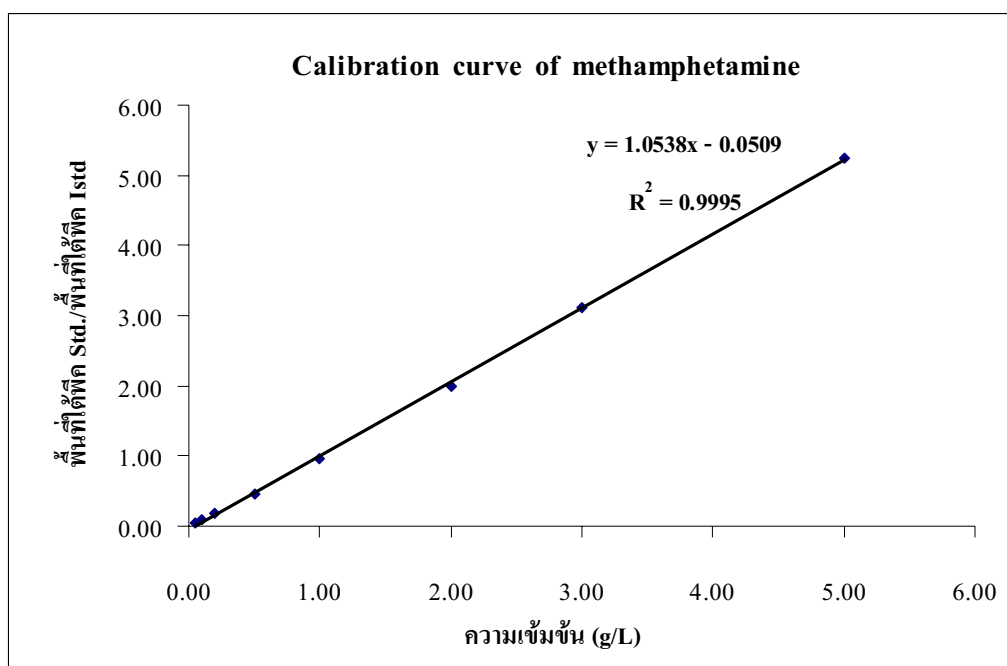
ความเข้มข้นของสาร (g/L)	ค่าเฉลี่ย พื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน / พื้นที่ใต้พีคของ Istd.
0.05	0.04358
0.10	0.08863
0.20	0.18726
0.50	0.46623
1.00	0.96017
2.00	1.99090
3.00	3.11892
5.00	5.23821

ตารางที่ 21 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ย พื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน / พื้นที่ใต้พีคของ Internal standard กับความเข้มข้นของสาร Caffeine

ความเข้มข้นของสาร (g/L)	ค่าเฉลี่ย พื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน / พื้นที่ใต้พีคของ Istd.
0.05	0.01955
0.10	0.02403
0.20	0.05712
0.50	0.15059
1.00	0.32277
2.00	0.68657
3.00	1.04580
5.00	1.75287

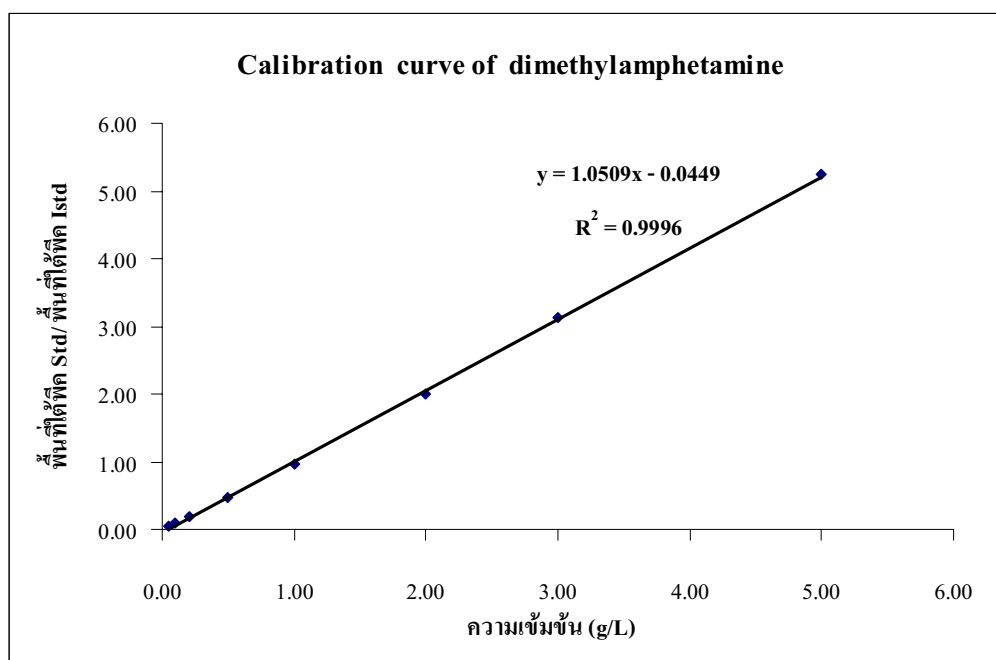
เมื่อนำค่าเฉลี่ย พื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน / พื้นที่ใต้พีคของ Internal standard กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานมาสร้างกราฟมาตรฐาน (Calibration curve) ได้ผลดังนี้

1. Standard Methamphetamine ที่ความเข้มข้น 0.05, 0.10, 0.2, 0.5, 1.00, 2.00, 3.00 และ 5.00 (g/L)



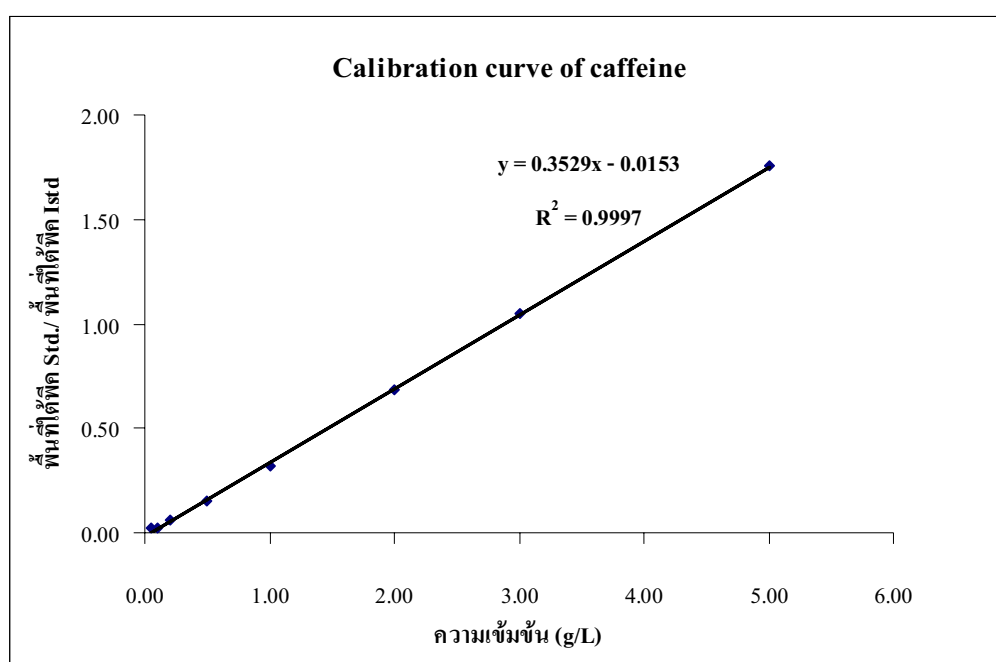
ภาพที่ 9 กราฟสารละลายมาตรฐาน Methamphetamine

2. Standard Dimethylamphetamine ที่ความเข้มข้น 0.05, 0.10, 0.2, 0.5, 1.00, 2.00, 3.00 และ 5.00 (g/L)



ภาพที่ 10 กราฟสารละลายมาตรฐาน Dimethylamphetamine

3. Standard Caffeine ที่ความเข้มข้น 0.05, 0.10, 0.2, 0.5, 1.00, 2.00, 3.00 และ 5.00 (g/L)

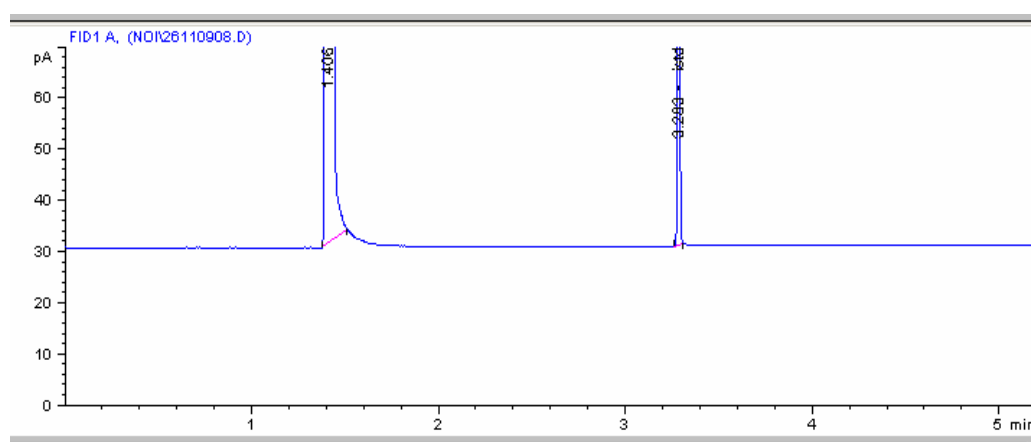


ภาพที่ 11 กราฟสารละลายมาตรฐาน Caffeine

จากการศึกษาหาความถูกต้องของวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ในวิธี GC-FID พบว่ากราฟมาตรฐานของสารละลาย Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine เป็นเส้นตรง มีค่า $R^2 > 0.9995$

2.2.2 การวิเคราะห์หาค่า LOD และ LOQ

การวิเคราะห์หาค่า LOD และ LOQ โดยใช้ Internal Standard เป็น Blank ได้ผลการวิเคราะห์ดังนี้



ภาพที่ 12 Chromatogram ของ Internal Standard ที่ใช้เป็นสารละลาย blank สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสาร

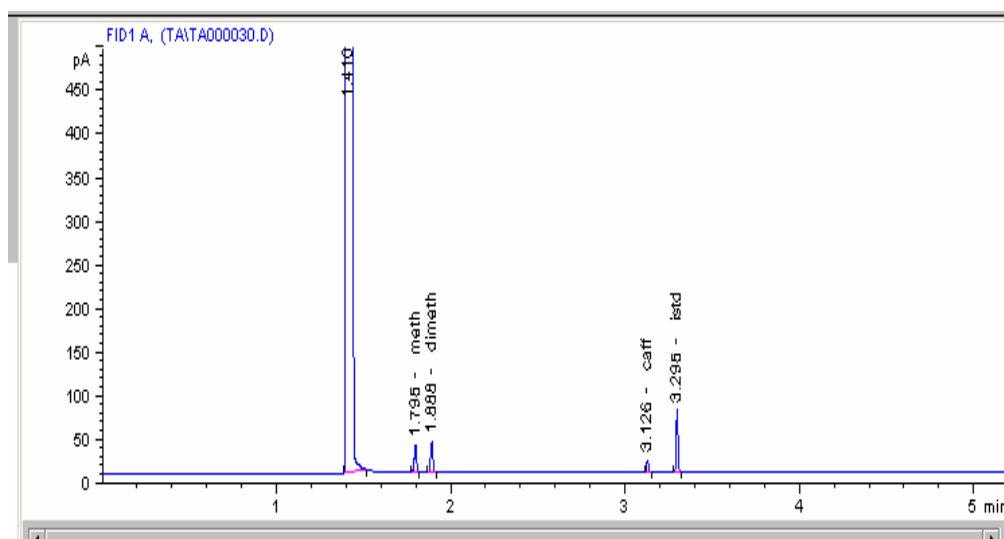
จาก Chromatogram พบว่าในสารละลาย blank ไม่มีสารตัวที่เราศึกษาอยู่ ดังนั้น การหาค่า LOD และ LOQ จึงหาได้จากการ Spike สารมาตรฐานที่มีความเข้มข้นระดับต่ำ ๆ ลงไปใน blank แล้วทำการวิเคราะห์จำนวน 7 ซ้ำ เพื่อคำนวณหาเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) พบว่าค่า SD ของ Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine มีค่า 0.00021, 0.00012 และ 0.00033 ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำค่าดังกล่าวไปคำนวณหาค่า LOD และ LOQ พบว่าค่า LOD ของ Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine มีค่า 0.0489, 0.0431 และ 0.0462 g/L ตามลำดับ และค่า LOQ ของ Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine มีค่า 0.0503, 0.0439 และ 0.0527 g/L ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 22

ตารางที่ 22 แสดงความสัมพันธ์ของค่า R^2 , ค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) และค่าขีดจำกัดของการตรวจตรวจพบเชิงปริมาณ (LOQ) ของสารแต่ละชนิด

ชนิดของสาร	สมการความสัมพันธ์	R^2	LOD (g/L)	LOQ (g/L)
Methamphetamine	$y = 1.0538x - 0.0509$	0.9995	0.0489	0.0503
Dimethylamphetamine	$y = 1.0509x - 0.0449$	0.9996	0.0431	0.0439
Caffeine	$y = 0.3529x - 0.0153$	0.9997	0.0462	0.0527

2.3 การแยก Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ในตัวอย่างยาบ้า

จากการวิเคราะห์กับตัวอย่างยาบ้า จำนวน 20 ตัวอย่าง โดยทำการวิเคราะห์จำนวน 3 ครั้ง พบว่า ตรวจพบ Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine ในตัวอย่างยาบ้าทั้ง 20 ตัวอย่าง จากการคำนวณหาปริมาณสารเทียบกับกราฟของสารละลายมาตรฐาน พบปริมาณ Methamphetamine อยู่ในช่วง 19.65-34.65 mg/เม็ด, ปริมาณ Dimethylamphetamine อยู่ในช่วง 11.70-34.30 mg/เม็ด และปริมาณ Caffeine อยู่ในช่วง 24.90-52.90 mg/เม็ด ดังตารางที่ 23 และตัวอย่าง Chromatogram ที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างยาบ้า แสดงในภาพที่ 13



ภาพที่ 13 ตัวอย่าง Chromatogram ของ Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine ที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างยาบ้า

ตารางที่ 23 แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณ methamphetamine, dimethylamphetamine และ caffeine ในตัวอย่างยาบ้าจำนวน 20 ตัวอย่าง

ตัวอย่างที่	ปริมาณที่ตรวจพบ (mg / เม็ด)		
	Methamphetamine	Dimethylamphetamine	Caffeine
1	31.50 ± 0.10	34.30 ± 0.30	26.50 ± 0.30
2	22.00 ± 0.20	14.30 ± 0.20	51.20 ± 0.40
3	22.90 ± 0.00	15.00 ± 0.10	52.90 ± 0.50
4	28.00 ± 0.10	20.40 ± 0.10	34.60 ± 0.20
5	21.40 ± 0.10	13.20 ± 0.10	50.60 ± 0.60
6	21.31 ± 0.10	13.36 ± 0.10	49.97 ± 0.70
7	22.63 ± 0.10	14.41 ± 0.10	52.84 ± 0.10
8	21.77 ± 0.10	13.40 ± 0.10	50.94 ± 0.30
9	22.13 ± 0.10	14.43 ± 0.00	52.69 ± 0.20
10	34.65 ± 0.10	24.40 ± 0.20	24.78 ± 0.20
11	22.10 ± 0.30	13.20 ± 0.00	51.70 ± 0.60
12	20.20 ± 0.00	11.70 ± 0.10	47.10 ± 0.40
13	27.20 ± 0.10	26.30 ± 0.20	24.90 ± 0.40
14	21.70 ± 0.00	13.00 ± 0.00	49.50 ± 0.10
15	21.60 ± 0.10	12.60 ± 0.10	50.70 ± 0.50
16	20.27 ± 0.20	12.17 ± 0.10	45.18 ± 0.60
17	22.37 ± 0.10	15.35 ± 0.10	50.03 ± 0.50
18	22.13 ± 0.00	12.99 ± 0.00	51.79 ± 0.20
19	19.65 ± 0.30	13.71 ± 0.20	46.46 ± 0.20
20	21.27 ± 0.10	12.19 ± 0.10	49.18 ± 0.70

บทที่ 5

สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

จากการทดลองเพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารระหว่าง Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ในตัวอย่างยาบ้า ด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) และวิธี Gas Chromatography (GC) สามารถสรุปและอภิปรายผลการทดลองได้ดังนี้

1. การศึกษาในเทคนิค TLC

จากการทดลองเพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารระหว่าง Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ได้ทำการศึกษาที่สภาวะต่างๆ กันจำนวน 5 สภาวะ ดังตารางที่ 11 ซึ่งสามารถสรุปผลได้ดังนี้คือ ที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85:10:6 (โดยปริมาตร) สารมาตรฐาน Methamphetamine และ Dimethylamphetamine สามารถแยกจากกันอย่างชัดเจน เมื่อพิจารณาที่ค่า R_f ของสารมาตรฐาน พบว่า Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine มีค่า 0.5298, 0.7516 และ 0.6905 ตามลำดับ

เมื่อนำสภาวะดังกล่าวมาศึกษาด้วยตัวอย่างยาบ้าจำนวน 30 ตัวอย่าง พบว่าสามารถแยกสาร Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ออกจากกันได้อย่างชัดเจน ดังภาพที่ 6 โดยที่ค่า R_f เฉลี่ยของ Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine มีค่า 0.5315, 0.7629 และ 0.6857 ตามลำดับ จากการคำนวณหาค่า SD ของค่า R_f พบว่า SD ของค่า R_f ของ Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine มีค่า 0.0035, 0.0058 และ 0.0070 ตามลำดับ ดังตารางที่ 14

การศึกษาค้นหาความถูกต้องของวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ ในวิธี TLC โดยศึกษาด้วยสารมาตรฐาน ที่สภาวะ Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85:10:6 (โดยปริมาตร) พบว่า ค่า R_f เฉลี่ยของสาร Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine มีค่า 0.5307, 0.7717 และ 0.6776 ตามลำดับ และเมื่อคำนวณหาค่า SD ของค่า R_f พบว่าค่า SD ของค่า R_f ของ Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine มีค่า 0.0028, 0.0031 และ 0.0030 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากค่า SD ของค่า R_f พบว่าวิธีนี้ มีความแม่นยำสูง การเตรียมตัวอย่าง

สามารถเตรียมได้ง่าย รวดเร็ว และค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ก็มีราคาถูก ดังนั้นวิธีนี้สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์ได้

2. การศึกษาในเทคนิค GC

จากการทดลองเพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารระหว่าง Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ได้ทำการศึกษาที่สภาวะต่างๆ กันจำนวน 3 สภาวะ พบว่าสภาวะที่เหมาะสม ที่สามารถแยก Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ออกจากกัน ได้อย่างชัดเจนคือ ใช้อุณหภูมิเริ่มต้นที่ 150°C จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิ ด้วยอัตรา $36^{\circ}\text{C}/\text{min}$ จนกระทั่งถึงอุณหภูมิ 265°C แล้วคงที่ไว้เป็นเวลา 2 min โดยมีอุณหภูมิที่ Injector เท่ากับ 265°C และอุณหภูมิที่ Detector เท่ากับ 280°C และที่สภาวะดังกล่าวพบว่าค่า R_t เฉลี่ยของ Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine มีค่า 1.795, 1.886 และ 3.126 ตามลำดับ ดังตารางที่ 16 เมื่อคำนวณหาค่า Resolution (R) พบว่าค่า R ของสารมาตรฐาน Methamphetamine เทียบกับ Dimethylamphetamine มีค่า 7.3278 และ Dimethylamphetamine เทียบกับ Caffeine มีค่า 101.5128 ดังตารางที่ 17 มีค่ามากกว่า 1.5 แสดงว่าพีคที่ได้แยกออกจากกันได้อย่างชัดเจน

การศึกษาค้นหาความถูกต้องของวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ ในวิธี GC พบว่า กราฟมาตรฐานของสารละลาย Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine เป็นเส้นตรง ค่า $R^2 > 0.9995$ จากการหาค่า LOD และ LOQ ของสาร Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine สามารถสรุปได้ดังนี้คือ เมื่อทำการหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) พบว่าค่า SD ของสาร Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine มีค่า 0.00021, 0.00012 และ 0.00033 ตามลำดับ และเมื่อนำค่า SD ไปคำนวณหาค่า LOD และ LOQ ของสารทั้ง 3 ชนิด พบว่าค่า LOD ของสาร Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine มีค่า 0.0489, 0.0431 และ 0.0462 g/L ตามลำดับ และค่า LOQ ของสาร Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine มีค่า 0.0503, 0.0439 และ 0.0527 g/L ตามลำดับ ดังตารางที่ 22

เมื่อนำสภาวะดังกล่าวมาศึกษากับตัวอย่างยาบ้าจำนวน 20 ตัวอย่าง พบว่าตรวจพบ Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine ในตัวอย่างยาบ้าทั้ง 20 ตัวอย่าง จากการคำนวณหาปริมาณสารเทียบกับกราฟของสารละลายมาตรฐาน พบปริมาณ Methamphetamine อยู่ในช่วง 19.65-34.65 mg/เม็ด, ปริมาณ Dimethylamphetamine อยู่ในช่วง 11.70-34.30 mg/เม็ด และปริมาณ Caffeine อยู่ในช่วง 24.90-52.90 mg/เม็ด ดังตารางที่ 23

ซึ่งในการศึกษาเกี่ยวกับการแยก Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ได้มีผู้ทำการศึกษาไว้คือ Kee Bain Chan และคณะ ได้ทำการแยกสาร N,N-Dimethylamphetamine และ Methamphetamine ที่อยู่ในรูปของผลึก โดยใช้เทคนิคต่างๆ ต่อไปนี้คือ Color Testing, GC/MS, FTIR, HPLC, Melting Point และ Optical Rotation จากการศึกษาพบว่าเทคนิคดังกล่าวข้างต้นสามารถใช้ในการแยกสาร Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยเรื่องนี้คือ สามารถแยก Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ออกจากกันได้อย่างชัดเจนในเทคนิค Thin Layer Chromatography (TLC) และ Gas Chromatography (GC) จากการศึกษาพบว่า การวิเคราะห์ทั้ง 2 วิธีคือ TLC และ GC พบว่าวิธีดังกล่าวมีความถูกต้อง แม่นยำ การเตรียมตัวอย่างสามารถเตรียมได้ง่าย และรวดเร็ว อีกทั้งค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ก็มีราคาถูก ดังนั้นในการแยกสาร Methamphetamine กับ Dimethylamphetamine ออกจากกันด้วยเทคนิค TLC และ GC จึงมีความเหมาะสมและสามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์ได้

ข้อเสนอแนะ

1. ในการสกัดสารตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ในวิธี GC ควรทำการศึกษาโดยการสกัดด้วยวิธีอื่นๆ เช่น สกัดด้วยวิธี SPME
2. ควรศึกษาหาชนิดของสารที่ใช้ในการ Spray ลงบนแผ่น TLC Plate หลังจากการทำ TLC development เพื่อดูการให้สีและการติดสีคงทนของสีเปรียบเทียบกันระหว่าง Methamphetamine และ Dimethylamphetamine

บรรณานุกรม

กกกกกกกก

กระทรวงสาธารณสุข. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2549.

กระทรวงสาธารณสุข. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. “หนังสือที่ สธ 1004.2/8999.” 7 มิถุนายน 2550.

กระทรวงสาธารณสุข. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. พิธีเผาทำลายยาเสพติดให้โทษของกลาง ครั้งที่ 36. วันพฤหัสบดีที่ 26 มิถุนายน 2551 ณ. ศูนย์บริหารสารเสพติดและสิ่งเสพติด นิตมุตสาหกรรมการบางปะอิน จังหวัดพระนครศรีอยุธยา, ม.ป.ท., 2551.

กระทรวงยุติธรรม. สำนักงานป้องกันและปราบปรามยาเสพติด. รวมกฎหมายยาเสพติด พร้อมด้วยกฎกระทรวง ระเบียบ ข้อบังคับที่เกี่ยวข้อง. พิมพ์ครั้งที่ 9. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์กองนิติการ สำนักงานป้องกันและปราบปรามสิ่งเสพติด, 2546.

จรรยา ลากสิรอนันต์กุล. “การพัฒนาทักษะชีวิตเพื่อป้องกันการเสพยาบ้าของนักเรียนมัธยมศึกษาตอนต้นย่านชุมชนนักเรียนบ้านโป่ง ราชบุรี.” วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สาขาวิชาสุศึกษาและพฤติกรรมศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล, 2543.

ชัยโรจน์ คล้ายจินดา. “ปัญหาและอุปสรรคที่มีผลต่อการปราบปรามผู้กระทำความผิดฐานผลิตและจำหน่ายแอมเฟตามีน (ยาบ้า) : ศึกษาเฉพาะการรับรู้ของเจ้าหน้าที่ตำรวจชุดปฏิบัติการปราบปรามยาเสพติดในสังกัดตำรวจภูธรจังหวัดบุรีรัมย์.” วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สาขาวิชาการศึกษา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์, 2546.

เคลินิวส์, 9 กรกฎาคม 2544.

_____. 15 ตุลาคม 2544.

_____. 21 กันยายน 2552.

ธีระพล บุญธรรม. “ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเสพยาบ้าของนักศึกษาในวิทยาลัย สังกัดกรมอาชีวศึกษา จังหวัดหนองคาย.” วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สาขาวิชาการศึกษา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, 2546.

“ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องระบุชื่อและประเภทยาเสพติดให้โทษ (ฉบับที่ 7).” ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 126, ตอนพิเศษ 157ง (26 ตุลาคม 2552) : 76

แม้น อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม. Principle and Techniques of Instrumental Analysis. กรุงเทพมหานคร : ห้างหุ้นส่วนจำกัด โรงพิมพ์ชวนพิมพ์, 2539.

วิโรจน์ สุ่มใหญ่. ยาบ้าอันตรายข้ามสหัสวรรษ. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์ศูนย์หนังสือจุฬา, ม.ป.ป.

ศูนย์อำนวยการป้องกันและปราบปรามยาเสพติด. “เอกสารโครงการปฏิบัติการรวมพลังไทยเทิดไท้ องค์ภูมิพล เฉลิมฉลอง 80 พรรษา.” เอกสารเผยแพร่, กันยายน 2550. (อัดสำเนา)

สวัสดิ์ ศรีเกษม, พันตำรวจตรี. “ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเสพยาบ้าของพนักงานขับรถขับรถบรรทุก ที่ตรวจพบสารเสพติด (ยาบ้า) ในเขตอำเภอเมืองบุรีรัมย์ จังหวัดบุรีรัมย์.” วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท สาขาวิชาศิลปศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, 2542.

สาโรจน์ ก้อนพรหม. “การป้องกันและการแก้ไขปัญหายาเสพติดยาบ้าในเขตตำรวจภูธรภาค 7.” วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาการศึกษาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร, 2546.

สุรชัย วีรพัฒน์ปวัน, ร้อยตำรวจโท. “ข้อมูลเกี่ยวกับยาบ้าที่ตรวจจับได้ในจังหวัดสุราษฎร์ธานี ในปี 2550.” สารนิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร, 2551.

สุริยา รัตนกาญจน์พันธ์. “การพัฒนารูปแบบการแก้ปัญหายาบ้าของผู้นำชุมชนในเขตเทศบาลเมือง สุราษฎร์ธานี.” วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาการศึกษาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี, 2546.

สำนักงานคณะกรรมการป้องกันและปราบปรามยาเสพติด. “รายงานการป้องกันและปราบปราม ยาเสพติดในประเทศไทย ประจำปีงบประมาณ 2539.” เอกสารเผยแพร่, สำนักงาน คณะกรรมการป้องกันและปราบปรามยาเสพติด, ตุลาคม 2540. (อัดสำเนา)

อุดมศักดิ์ เปลี่ยนจำ. “การดำเนินงานของศูนย์ป้องกันและปราบปรามยาเสพติดจังหวัดมหาสารคาม เกี่ยวกับยาเสพติดประเภทแอมเฟตามีนในกลุ่มเยาวชนในสถานศึกษา.” วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท สาขาวิชาสังคมศึกษา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, 2540.

Budavari, Susan et al. The Merck Index an Encyclopedia of chemicals, Drugs, and Biologicals. U.S.A. : Merck Research Laboratories Division of Merck & Co.,Inc., 1996.

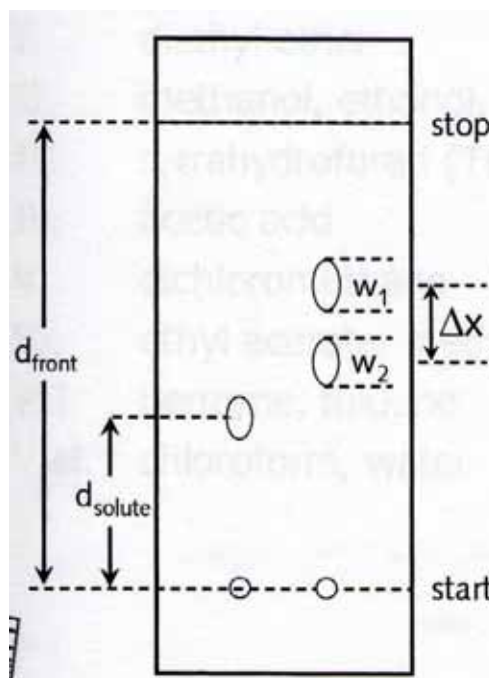
Chan, Kee Bian, Yong Kiong Chong, and Mohamed Nazarudin. The Identification of d-N,N-Dimethylamphetamine (DMA) in an Exhibit in Malaysia [Online]. Accessed 24 November 2008. Available from <http://www.usdoj.gov/dea/programs/forensicsci/microgram/journa>

- Cheng, Wing-Chi et al. "A rapid and convenient LC/MS method for routine identification of methamphetamine / dimethylamphetamine and their metabolites in urine." Forensic Science International 166 (March 2006) : 1-7.
- Kikura, Ruri, Yuji Nakahara, and Shigeo Kojima. "Simultaneous determination of dimethylamphetamine and its metabolites in rat hair by gas chromatography-mass spectrometry." Journal of chromatography B 741 (January 2000) : 163-173.
- Lee, Wing-Sze et al. "The application of capillary electrophoresis for enantiomeric separation of N,N-dimethylamphetamine samples in crystalline and tablet forms." Forensic Science International 165 (April 2007) : 71-77.
- Moffat, A.C. et al. Clarke's Isolation and Identification of Drugs in pharmaceuticals, body fluids, and post-mortem material. London : The Pharmaceutical Press, 1986.
- Sato,Motoyasu, Minemasa Hida, and Hisamitsu Nagase. "Analysis of dimethylamphetamine and its metabolites in human urine by liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry with direct sample injection." Forensic Science International 128 (May 2002) : 146-154.
- Shakleya, Diaa M. et al. "Identification of N,N-dimethylamphetamine formed by methylation of methamphetamine in formalin-fixed liver tissue by multistage mass spectrometry." Forensic Science International 157 (May 2006) : 87-92.
- United Nation Office on Drugs and Crime. Laboratory and Scientific Section. Recommended Methods for The Identification and Analysis of Amphetamine, Methamphetamine and Their Ring-Substituted Analogues in Seized Materials. n.p., 2006.

ภาคผนวก

การคำนวณหา Retardation factor (R_f)

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสาร Methamphetamine และ Dimethylamphetamine ในวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) โดยศึกษากับสารมาตรฐาน ต้องคำนวณค่า R_f เพื่อดูว่าสารแต่ละชนิดแยกออกจากกันหรือไม่ โดยคำนวณจากสูตรดังนี้



ภาพที่ 14 แสดงการคำนวณค่า R_f บน TLC Plate ที่ได้ในวิธี Thin Layer Chromatography

$$R_f = \frac{d_{\text{solute}}}{d_{\text{front}}}$$

โดยที่ d_{solute} = ระยะทางจากจุดตั้งต้นถึงกึ่งกลางวงของสารที่แยกได้บนแผ่น TLC

d_{front} = ระยะทางจากจุดตั้งต้นถึงจุดที่ solvent front เคลื่อนที่ไป

ผลการคำนวณ

จากการคำนวณค่า R_f ของ Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine ที่สภาวะ อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Amonia เป็น 85 : 10 : 6 พบว่าค่า R_f ของ Methamphetamine, Dimethylamphetamine และ Caffeine มีค่า 0.5298, 0.7516 และ 0.6905 ตามลำดับ

ตารางที่ 24 ผล R_f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85:10:3 จากการทดลองครั้งที่ 1

ครั้งที่ 1	ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ (cm)			solvent font (cm)	ค่า R_f		
	Meth	Dimeth	Caff		Meth	Dimeth	Caff
1	11.60	13.70	13.25	16.45	0.7052	0.8328	0.8055
2	11.55	13.70	13.20	16.45	0.7021	0.8328	0.8024
3	11.60	13.75	13.25	16.45	0.7052	0.8359	0.8055
4	11.60	13.70	13.25	16.45	0.7052	0.8328	0.8055
5	11.60	13.75	13.25	16.45	0.7052	0.8359	0.8055
6	11.60	13.70	13.20	16.45	0.7052	0.8328	0.8024
				Average	0.7047	0.8338	0.8045
				SD	0.0012	0.0016	0.0016

ตารางที่ 25 ผล R_f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85:10:3 จากการทดลองครั้งที่ 2

ครั้งที่ 2	ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ (cm)			solvent font (cm)	ค่า R_f		
	Meth	Dimeth	Caff		Meth	Dimeth	Caff
1	10.60	12.40	12.10	14.95	0.7090	0.8294	0.8094
2	10.65	12.35	12.10	14.95	0.7124	0.8261	0.8094
3	10.60	12.40	12.05	14.95	0.7090	0.8294	0.8060
4	10.65	12.40	12.10	14.95	0.7124	0.8294	0.8094
5	10.60	12.45	12.10	14.95	0.7090	0.8328	0.8094
6	10.60	12.45	12.05	14.95	0.7090	0.8328	0.8060
				Average	0.7101	0.8300	0.8082
				SD	0.0017	0.0025	0.0017

ตารางที่ 26 ผล R_f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85:10:3 จากการทดลองครั้งที่ 3

ครั้งที่ 3	ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ (cm)			solvent font (cm)	ค่า R_f		
	Meth	Dimeth	Caff		Meth	Dimeth	Caff
1	11.10	12.95	12.65	15.60	0.7115	0.8301	0.8109
2	11.10	12.95	12.60	15.60	0.7115	0.8301	0.8077
3	11.10	12.90	12.60	15.60	0.7115	0.8269	0.8077
4	11.10	12.95	12.65	15.60	0.7115	0.8301	0.8109
5	11.15	12.90	12.60	15.60	0.7147	0.8269	0.8077
6	11.15	12.95	12.65	15.60	0.7147	0.8301	0.8109
				Average	0.7126	0.8291	0.8093
				SD	0.0017	0.0017	0.0018

ตารางที่ 27 ผล R_f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85:10:4 จากการทดลองครั้งที่ 1

ครั้งที่ 1	ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ (cm)			solvent font (cm)	ค่า R_f		
	Meth	Dimeth	Caff		Meth	Dimeth	Caff
1	12.50	13.65	13.25	15.55	0.8039	0.8778	0.8521
2	12.50	13.60	13.20	15.55	0.8039	0.8746	0.8489
3	12.55	13.65	13.25	15.55	0.8071	0.8778	0.8521
4	12.50	13.65	13.20	15.55	0.8039	0.8778	0.8489
5	12.50	13.60	13.25	15.55	0.8039	0.8746	0.8521
6	12.50	13.65	13.20	15.55	0.8039	0.8778	0.8489
				Average	0.8044	0.8767	0.8505
				SD	0.0013	0.0017	0.0018

ตารางที่ 28 ผล R_f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85:10:4 จากการทดลองครั้งที่ 2

ครั้งที่ 2	ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ (cm)			solvent front (cm)	ค่า R_f		
	Meth	Dimeth	Caff		Meth	Dimeth	Caff
1	11.90	13.10	12.70	14.90	0.7987	0.8792	0.8523
2	11.85	13.10	12.65	14.90	0.7953	0.8792	0.8490
3	11.90	13.15	12.65	14.90	0.7987	0.8826	0.8490
4	11.90	13.10	12.70	14.90	0.7987	0.8792	0.8523
5	11.85	13.10	12.70	14.90	0.7953	0.8792	0.8523
6	11.85	13.10	12.70	14.90	0.7953	0.8792	0.8523
				Average	0.7970	0.8798	0.8512
				SD	0.0018	0.0014	0.0017

ตารางที่ 29 ผล R_f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85:10:4 จากการทดลองครั้งที่ 3

ครั้งที่ 3	ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ (cm)			solvent front (cm)	ค่า R_f		
	Meth	Dimeth	Caff		Meth	Dimeth	Caff
1	12.80	14.10	13.60	16.00	0.8000	0.8813	0.8500
2	12.75	14.10	13.60	16.00	0.7969	0.8813	0.8500
3	12.80	14.05	13.55	16.00	0.8000	0.8781	0.8469
4	12.80	14.05	13.55	16.00	0.8000	0.8781	0.8469
5	12.80	14.10	13.55	16.00	0.8000	0.8813	0.8469
6	12.80	14.10	13.60	16.00	0.8000	0.8813	0.8500
				Average	0.7995	0.8802	0.8484
				SD	0.0013	0.0016	0.0017

ตารางที่ 30 ผล R_f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85:10:5 จากการทดลองครั้งที่ 1

ครั้งที่ 1	ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ (cm)			solvent front (cm)	ค่า R_f		
	Meth	Dimeth	Caff		Meth	Dimeth	Caff
1	12.45	13.80	13.45	15.60	0.7981	0.8846	0.8622
2	12.40	13.80	13.45	15.60	0.7949	0.8846	0.8622
3	12.45	13.85	13.50	15.60	0.7981	0.8878	0.8654
4	12.45	13.80	13.45	15.60	0.7981	0.8846	0.8622
5	12.40	13.80	13.45	15.60	0.7949	0.8846	0.8622
6	12.45	13.80	13.45	15.60	0.7981	0.8846	0.8622
				Average	0.7970	0.8851	0.8627
				SD	0.0017	0.0013	0.0013

ตารางที่ 31 ผล R_f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85:10:5 จากการทดลองครั้งที่ 2

ครั้งที่ 2	ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ (cm)			solvent front (cm)	ค่า R_f		
	Meth	Dimeth	Caff		Meth	Dimeth	Caff
1	12.85	14.15	13.85	16.10	0.7981	0.8789	0.8602
2	12.85	14.10	13.80	16.10	0.7981	0.8758	0.8571
3	12.85	14.15	13.85	16.10	0.7981	0.8789	0.8602
4	12.85	14.15	13.85	16.10	0.7981	0.8789	0.8602
5	12.80	14.10	13.80	16.10	0.7950	0.8758	0.8571
6	12.85	14.15	13.85	16.10	0.7981	0.8789	0.8602
				Average	0.7976	0.8778	0.8592
				SD	0.0013	0.0016	0.0016

ตารางที่ 32 ผล R_f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85:10:5 จากการทดลองครั้งที่ 3

ครั้งที่ 3	ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ (cm)			solvent front (cm)	ค่า R_f		
	Meth	Dimeth	Caff		Meth	Dimeth	Caff
1	12.70	14.00	13.70	15.90	0.7987	0.8805	0.8616
2	12.65	13.95	13.70	15.90	0.7956	0.8774	0.8616
3	12.70	13.95	13.70	15.90	0.7987	0.8774	0.8616
4	12.70	14.00	13.70	15.90	0.7987	0.8805	0.8616
5	12.65	14.05	13.65	15.90	0.7956	0.8836	0.8585
6	12.65	14.05	13.70	15.90	0.7956	0.8836	0.8616
				Average	0.7972	0.8805	0.8611
				SD	0.0017	0.0028	0.0013

ตารางที่ 33 ผล R_f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85:10:6 จากการทดลองครั้งที่ 1

ครั้งที่ 1	ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ (cm)			solvent front (cm)	ค่า R_f		
	Meth	Dimeth	Caff		Meth	Dimeth	Caff
1	8.90	12.65	11.60	16.80	0.5298	0.7530	0.6905
2	8.95	12.65	11.65	16.80	0.5327	0.7530	0.6935
3	8.90	12.65	11.60	16.80	0.5298	0.7530	0.6905
4	8.90	12.65	11.60	16.80	0.5298	0.7530	0.6905
5	8.95	12.60	11.65	16.80	0.5327	0.7500	0.6935
6	8.90	12.65	11.60	16.80	0.5298	0.7530	0.6905
				Average	0.5308	0.7525	0.6915
				SD	0.0015	0.0012	0.0015

ตารางที่ 34 ผล R_f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85:10:6 จากการทดลองครั้งที่ 2

ครั้งที่ 2	ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ (cm)			solvent front (cm)	ค่า R_f		
	Meth	Dimeth	Caff		Meth	Dimeth	Caff
1	8.20	11.65	10.70	15.50	0.5290	0.7516	0.6903
2	8.20	11.60	10.75	15.50	0.5290	0.7484	0.6935
3	8.20	11.60	10.70	15.50	0.5290	0.7484	0.6903
4	8.20	11.65	10.70	15.50	0.5290	0.7516	0.6903
5	8.20	11.65	10.75	15.50	0.5290	0.7516	0.6935
6	8.20	11.65	10.70	15.50	0.5290	0.7516	0.6903
				Average	0.5290	0.7505	0.6914
				SD	0.0000	0.0017	0.0017

ตารางที่ 35 ผล R_f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85:10:6 จากการทดลองครั้งที่ 3

ครั้งที่ 3	ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ (cm)			solvent front (cm)	ค่า R_f		
	Meth	Dimeth	Caff		Meth	Dimeth	Caff
1	6.85	9.70	8.90	12.90	0.5310	0.7519	0.6899
2	6.80	9.70	8.85	12.90	0.5271	0.7519	0.6860
3	6.85	9.75	8.90	12.90	0.5310	0.7558	0.6899
4	6.85	9.70	8.90	12.90	0.5310	0.7519	0.6899
5	6.85	9.70	8.90	12.90	0.5310	0.7519	0.6899
6	6.80	9.65	8.85	12.90	0.5271	0.7481	0.6860
				Average	0.5297	0.7519	0.6886
				SD	0.0020	0.0025	0.0020

ตารางที่ 36 ผล R_f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85:10:7 จากการทดลองครั้งที่ 1

ครั้งที่ 1	ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ (cm)			solvent font (cm)	ค่า R_f		
	Meth	Dimeth	Caff		Meth	Dimeth	Caff
1	8.80	12.45	11.35	16.00	0.5500	0.7781	0.7094
2	8.80	12.40	11.30	16.00	0.5500	0.7750	0.7063
3	8.80	12.45	11.30	16.00	0.5500	0.7781	0.7063
4	8.85	12.45	11.30	16.00	0.5531	0.7781	0.7063
5	8.80	12.45	11.35	16.00	0.5500	0.7781	0.7094
6	8.80	12.45	11.35	16.00	0.5500	0.7781	0.7094
				Average	0.5505	0.7776	0.7078
				SD	0.0013	0.0013	0.0017

ตารางที่ 37 ผล R_f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85:10:7 จากการทดลองครั้งที่ 2

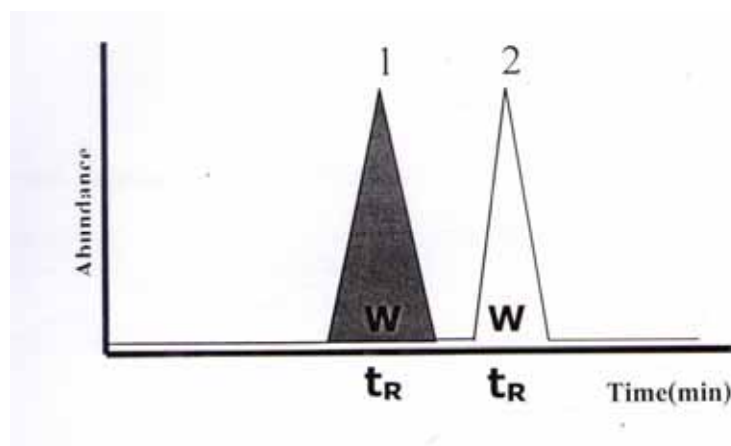
ครั้งที่ 2	ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ (cm)			solvent font (cm)	ค่า R_f		
	Meth	Dimeth	Caff		Meth	Dimeth	Caff
1	8.70	12.30	11.00	15.80	0.5506	0.7785	0.6962
2	8.70	12.30	11.05	15.80	0.5506	0.7785	0.6994
3	8.70	12.35	11.00	15.80	0.5506	0.7816	0.6962
4	8.70	12.30	11.00	15.80	0.5506	0.7785	0.6962
5	8.70	12.30	11.00	15.80	0.5506	0.7785	0.6962
6	8.70	12.30	11.00	15.80	0.5506	0.7785	0.6962
				Average	0.5506	0.7790	0.6967
				SD	0.0000	0.0013	0.0013

ตารางที่ 38 ผล R_f ของสารมาตรฐานที่อัตราส่วน Ethyl acetate : Methanol : Ammonia เป็น 85:10:7 จากการทดลองครั้งที่ 3

ครั้งที่ 3	ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ (cm)			solvent front (cm)	ค่า R_f		
	Meth	Dimeth	Caff		Meth	Dimeth	Caff
1	8.25	11.70	10.50	15.00	0.5500	0.7800	0.7000
2	8.20	11.65	10.45	15.00	0.5467	0.7767	0.6967
3	8.25	11.70	10.45	15.00	0.5500	0.7800	0.6967
4	8.25	11.70	10.50	15.00	0.5500	0.7800	0.7000
5	8.25	11.70	10.45	15.00	0.5500	0.7800	0.6967
6	8.25	11.70	10.50	15.00	0.5500	0.7800	0.7000
				Average	0.5494	0.7794	0.6983
				SD	0.0014	0.0014	0.0018

การคำนวณหา Resolution (R)

จาก Chromatogram ของการผสมสารมาตรฐานทั้ง 3 สาร ต้องคำนวณหา R เพื่อดูว่าพีคของสารแต่ละพีคแยกออกจากกันอย่างชัดเจนหรือไม่ ดังสูตรการคำนวณต่อไปนี้



ภาพที่ 15 แสดงการคำนวณหา R จาก Chromatogram ที่ได้ในวิธี Gas Chromatography

$$R = \frac{2\Delta t_R}{W_1 + W_2}$$

โดยที่ Δt_R = ผลต่างของค่า t_R ของพีคทั้งสอง

W_1 และ W_2 = ความกว้างที่ฐานของพีค 1 และ 2

พิจารณาจาก $R = 1.0$ แสดงว่าพีคทั้งสองแยกออกจากกัน 98%

$R = 1.5$ แสดงว่าพีคทั้งสองแยกออกจากกัน 99.7%

$R > 1.5$ แสดงว่าพีคทั้งสองแยกออกจากกัน 100%

ผลการคำนวณ

จากการคำนวณหาค่า R ที่ได้จากการศึกษาในสภาวะที่เหมาะสม พบว่าค่า R ของ Methamphetamine เทียบกับ Dimethylamphetamine มีค่า 7.3278 ซึ่งมีค่ามากกว่า 1.5 แสดงว่าพีคทั้งสองแยกออกจากกัน 100% และค่า Resolution ของ Dimethylamphetamine เทียบกับ Caffeine มีค่า 101.5128 ซึ่งมีค่ามากกว่า 1.5 แสดงว่าพีคทั้งสองแยกออกจากกัน 100%

ผลการทดลองการสร้างกราฟมาตรฐาน

ตารางที่ 39 ความสัมพันธ์ระหว่าง พื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน/พื้นที่ใต้พีคของ Internal standard กับความเข้มข้นของสาร Methamphetamine

ความเข้มข้น (g/L)	พื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน / พื้นที่ใต้พีคของ Internal standard							ค่าเฉลี่ย	SD
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5	ครั้งที่ 6	ครั้งที่ 7		
0.05	0.04177	0.04147	0.04124	0.04180	0.04170	0.04060	0.04093	0.04136	0.00046
0.10	0.08905	0.08926	0.08938	0.08830	0.08749	0.08983	0.08971	0.08900	0.00083
0.20	0.18178	0.18123	0.18925	0.18124	0.18178	0.17976	0.18144	0.18236	0.00312
0.50	0.45406	0.45180	0.45011	0.46269	0.45254	0.46428	0.45771	0.45617	0.00554
1.00	0.94998	0.95004	0.95750	0.95783	0.96930	0.94897	0.97916	0.95897	0.01139
2.00	1.97869	2.00085	2.01174	1.96145	1.98278	1.96380	1.97527	1.98208	0.01848
3.00	3.12562	3.13698	3.12026	3.11032	3.09310	3.14364	3.09619	3.11802	0.01930
5.00	5.23461	5.26946	5.28742	5.21731	5.17166	5.31151	5.27361	5.25222	0.04748

ตารางที่ 40 ความสัมพันธ์ระหว่าง พื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน/พื้นที่ใต้พีคของ Internal standard กับความเข้มข้นของสาร Dimethylamphetamine

ความเข้มข้น (g/L)	พื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน / พื้นที่ใต้พีคของ Internal standard							ค่าเฉลี่ย	SD
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5	ครั้งที่ 6	ครั้งที่ 7		
0.05	0.04390	0.04349	0.04337	0.04260	0.04345	0.04396	0.04428	0.04358	0.00054
0.10	0.09097	0.08789	0.09073	0.08681	0.08686	0.08837	0.08876	0.08863	0.00168
0.20	0.18854	0.18741	0.18634	0.18845	0.18765	0.18536	0.18705	0.18726	0.00113
0.50	0.46440	0.46451	0.46712	0.46686	0.46244	0.47170	0.46657	0.46623	0.00294
1.00	0.96070	0.95998	0.95256	0.95452	0.96916	0.96090	0.96338	0.96017	0.00550
2.00	1.98931	2.01792	2.02344	1.97206	1.99125	1.96499	1.97730	1.99090	0.02237
3.00	3.12564	3.15261	3.13961	3.10151	3.08782	3.15168	3.07358	3.11892	0.03164
5.00	5.23271	5.25128	5.27383	5.21587	5.14696	5.29196	5.25484	5.23821	0.04737

ตารางที่ 41 ความสัมพันธ์ระหว่าง พื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน/พื้นที่ใต้พีคของ Internal standard กับความเข้มข้นของสาร Caffeine

ความเข้มข้น (g/L)	พื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน / พื้นที่ใต้พีคของ Internal standard							ค่าเฉลี่ย	SD
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5	ครั้งที่ 6	ครั้งที่ 7		
0.05	0.01844	0.01949	0.01964	0.01944	0.02015	0.01984	0.01989	0.01955	0.00055
0.10	0.02449	0.02422	0.02531	0.02436	0.02197	0.02366	0.02423	0.02403	0.00103
0.20	0.05663	0.05811	0.05947	0.05625	0.05666	0.05461	0.05812	0.05712	0.00158
0.50	0.15484	0.14756	0.14827	0.14989	0.15554	0.14831	0.14975	0.15059	0.00325
1.00	0.32703	0.31788	0.32610	0.31564	0.32454	0.32350	0.32472	0.32277	0.00431
2.00	0.69067	0.69650	0.70219	0.68017	0.68566	0.66958	0.68124	0.68657	0.01094
3.00	1.05018	1.06076	1.05539	1.03772	1.03324	1.05227	1.03100	1.04580	0.01168
5.00	1.74761	1.75685	1.76713	1.74675	1.72694	1.77158	1.75323	1.75287	0.01476

ผลการทดลองการหาค่า LOD และ LOQ

ตารางที่ 42 ความสัมพันธ์ระหว่าง พื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน/พื้นที่ใต้พีคของ Internal standard กับความเข้มข้นของสาร Methamphetamine ที่ Spike

Spike (g/L)	พื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน / พื้นที่ใต้พีคของ Internal standard							ค่าเฉลี่ย	SD
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5	ครั้งที่ 6	ครั้งที่ 7		
0.0050	0.00312	0.00354	0.00328	0.00309	0.00359	0.00355	0.00323	0.00334	0.00021

ตารางที่ 43 ความสัมพันธ์ระหว่าง พื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน/พื้นที่ใต้พีคของ Internal standard กับความเข้มข้นของสาร Dimethylamphetamine ที่ Spike

Spike (g/L)	พื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน / พื้นที่ใต้พีคของ Internal standard							ค่าเฉลี่ย	SD
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5	ครั้งที่ 6	ครั้งที่ 7		
0.0050	0.00389	0.00381	0.00357	0.00361	0.00381	0.00375	0.00360	0.00372	0.00012

ตารางที่ 44 ความสัมพันธ์ระหว่าง พื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน/พื้นที่ใต้พีคของ Internal standard กับความเข้มข้นของสาร Caffeine ที่ Spike

Spike (g/L)	พื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน / พื้นที่ใต้พีคของ Internal standard							ค่าเฉลี่ย	SD
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5	ครั้งที่ 6	ครั้งที่ 7		
0.0200	0.00472	0.00473	0.00508	0.00434	0.00444	0.00504	0.00426	0.00466	0.00033

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ	ร้อยตำรวจโทหญิง ศิริกัญญา เรืองศรี
ที่อยู่	Plam Sweet Condo อาคาร A เลขที่ 65/155 หมู่ที่ 6 แขวงอนุสาวรีย์ เขตบางเขน กรุงเทพมหานคร
สถานที่ทำงาน	กลุ่มงานตรวจยาเสพติด กองพิสูจน์หลักฐานกลาง สำนักงานตำรวจแห่งชาติ
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ.2546	สำเร็จการศึกษาวิทยาสตรบัณฑิต สาขาเคมี จากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี จ.เพชรบุรี
พ.ศ.2551	ศึกษาต่อระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
ประวัติการทำงาน	
พ.ศ.2546	พนักงานบริษัทเอกชน
พ.ศ.2548	นักวิทยาศาสตร์ ระดับ 3 กรมทรัพยากรธรณี กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
พ.ศ.2549-ปัจจุบัน	นักวิทยาศาสตร์ (สบ1) กลุ่มงานตรวจยาเสพติด กองพิสูจน์หลักฐานกลาง สำนักงานตำรวจแห่งชาติ