

การพัฒนาและตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์อนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาติโนน
ในคราวเดียวกันโดยใช้วิธีแก๊สโครมาโทกราฟี



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการเภสัชภัณฑ์
สิงหาคม 2559

การพัฒนาและตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์อนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทีโนน
ในคราวเดียวกันโดยใช้วิธีแก๊สโครมาโทกราฟี



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการเภสัชภัณฑ์
สิงหาคม 2559
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

การพัฒนาและตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์อนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทินอน
ในคราวเดียวกันโดยใช้วิธีแก๊สโครมาโทกราฟี



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการเภสัชภัณฑ์

สิงหาคม 2558

ทศวรรณ กอสัมพันธ์. (2559). การพัฒนาและตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์อนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทิโนนในคราวเดียวกันโดยใช้วิธีแก๊สโครมาโทกราฟี. ปริญญาโท
วท.ม. (วิทยาการเภสัชภัณฑ์). กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. อาจารย์ที่
ปรึกษาหลัก : รองศาสตราจารย์ ดร.วีระศักดิ์ สามี.

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาและตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารในกลุ่มอนุพันธ์ของแอมเฟตามีน จำนวน 12 ชนิด และอนุพันธ์ของคาทิโนน จำนวน 7 ชนิด ในตัวอย่างเม็ดยาเสพติด ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี ที่มีตัวตรวจวัดเป็นแบบเฟรมไอออนไนเซชัน ตามมาตรฐานการวิเคราะห์ของ United Nations Office On Drugs and Crime (UNODC) guideline 2009 ใช้ไดเฟนไฮโดรามีนเป็นสารมาตรฐานภายใน สกัดตัวอย่างยาเสพติดด้วยเมทานอล วิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ชนิด HP-5 ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.32 มิลลิเมตร ความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร และใช้แก๊สฮีเลียมเป็นแก๊สตัวพา ซึ่งสามารถใช้วิเคราะห์อนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทิโนนได้ในคราวเดียวกันในช่วงความเข้มข้น 1.60-9.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีค่า correlation coefficient (r) อยู่ในช่วง 0.9980-0.9998 มีขีดต่ำสุดของการวิเคราะห์ปริมาณเท่ากับ 1.6 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยใช้ปริมาตรในการวิเคราะห์ 1.0 ไมโครลิตร โดยไม่พบการรบกวนขององค์ประกอบอื่น ๆ ในเม็ดยาเสพติด มีค่าความเที่ยง ของวิธีวิเคราะห์อยู่ในช่วง 0.27-7.22 %RSD และค่าร้อยละการคืนกลับ (%Recovery) อยู่ในช่วง 86.41-112.38 % วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นจึงมีความไว ความจำเพาะเจาะจง ความเที่ยงและความแม่นยำในการวิเคราะห์ปริมาณสารที่เป็นอนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทิโนน ในเม็ดยาเสพติด

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF ANALYTICAL METHOD FOR SIMULTANEOUS
DETERMINATION OF AMPHETAMINE AND CATHINONE DERIVATIVES BY
GAS CHROMATOGRAPHY



Presented in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Master of Science in Pharmaceutical Product Development
at Srinakharinwirot University

August 2016

Tassawan Kosumpan. (2016). *Development and Validation of Analysis method for Simultaneous Determination of Amphetamine and Cathinone Derivatives by Gas Chromatography*. Master thesis, M.S. (Pharmaceutical Product Development). Bangkok: Graduate School, Srinakharinwirot University. Advisor Committee: Assoc. Prof. Dr. Weerasak Samee.

The objectives of this study were to develop and validate a gas chromatographic method with flame ionization detector (GC-FID) for quantitative determination of 12 amphetamine derivatives and 7 cathinone derivatives in drugs. The method was validated in accordance with United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC) guideline 2009. Diphenhydramine was used as an internal standard. All samples were directly extracted with methanol. Chromatographic separation was carried out on a HP-5 capillary column (30mx0.32mm ID, 0.25µm film thickness), using helium as a carrier gas. The assay was linear over the concentration range of 1.60 – 9.60 µg/ml with the correlation coefficient (r) range of 0.9980 - 0.9998. Limit of quantitation (LOQ) was 1.60 µg/ml, when using 1 µl injection. Matrix interferences were not found at the retention times of amphetamine and cathinone derivatives. Intra-day and inter-day precisions were 0.27-7.22 %RSD and accuracy of method were shown to be acceptable with 86.41-112.38 %recovery. It can be concluded that the developed method for simultaneous determination of amphetamine and cathinone derivatives in illicit drugs is sensitive, selective, accurate and precise.

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

การพัฒนาและตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ห่อนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของ
คาทีโนนในคราวเดียวกันโดยใช้วิธีแก๊สโครมาโทกราฟี

ของ

ทศวรรณ กอสัมพันธ์

ได้รับอนุมัติ จากบัณฑิตวิทยาลัย ให้นำเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการเภสัชภัณฑ์

ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.ปรินทร์ ชัยวิสุทธิทางกูร)

วันที่.....เดือน สิงหาคม พ.ศ. 2559

อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญานิพนธ์

คณะกรรมการสอบปากเปล่า

.....ที่ปรึกษาหลัก

.....ประธาน

(รองศาสตราจารย์ ดร.วีระศักดิ์ สามิ)

(รองศาสตราจารย์ ดร.ฐาปนี หงส์รัตนาวรกิจ)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.วีระศักดิ์ สามิ)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พัชรวีร์ นันทธนะวานิช)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชุติมา เพชรกระจำง)

ประกาศคุณูปการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีนั้น เนื่องจากผู้วิจัยได้รับความกรุณา ช่วยเหลือ พร้อมทั้ง ข้อเสนอแนะเพื่อแก้ไขปัญหา ปรับปรุงให้ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์และถูกต้อง ตลอดจนดูแลเอาใจใส่การดำเนินงานวิจัยทุกขั้นตอนอย่างดียิ่งจาก รองศาสตราจารย์ ดร.วีระศักดิ์ สามี อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก พร้อมทั้งเป็นผู้ให้ความรู้ที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัยนี้อย่างดียิ่ง ให้คำปรึกษาเพื่อนำไปพัฒนางานวิจัยให้มีความสมบูรณ์และทรงคุณค่า สามารถนำไปใช้ประโยชน์ให้แก่สังคมและประเทศชาติได้ ทั้งนี้ ผู้วิจัยขอกราบพระคุณเป็นอย่างสูงในความกรุณาของอาจารย์ที่ปรึกษา ที่ได้เสียสละเวลาอันมีค่าทุ่มเทให้กับงานด้านการวิจัยและพัฒนาอย่างไม่เหน็ดเหนื่อย ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งและขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ฐาปณีย์ หงส์รัตนาวรกิจ ที่ให้ความกรุณาเป็นประธานการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พัชรวีร์ นันทนระวานิช ที่ให้ความกรุณาเป็นกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ชุติมา เพชรกระจ่าง ที่ให้ความกรุณาเป็นกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิประสาทวิชาความรู้แก่ผู้วิจัยในการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาการเกษตรศาสตร์ ซึ่งทำให้ผู้วิจัยมีความรู้อย่างเต็มเปี่ยม

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้อำนวยการ สถาบันวิชาการและตรวจพิสูจน์ยาเสพติด สำนักงานคณะกรรมการป้องกันและปราบปรามยาเสพติด ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ สรรมาตฐาน ตลอดจนสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้โอกาส ให้การสนับสนุน ตลอดจนเป็นกำลังใจในการศึกษากับผู้วิจัยเป็นอย่างดีเยี่ยมเสมอมา

ทศวรรณ กอสัมพันธ์

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ.....	1
ที่มาและความสำคัญ.....	1
วัตถุประสงค์.....	6
สมมติฐานการวิจัย.....	6
ปัจจัยและตัวแปรที่ศึกษา.....	6
กรอบแนวคิดของโครงการวิจัย.....	7
ขอบเขตของโครงการวิจัย.....	7
สถานที่ในการดำเนินงาน.....	7
ระยะเวลาในการดำเนินงาน.....	7
แผนการดำเนินงาน.....	8
งบประมาณ.....	8
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	9
2 แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	10
แอมเฟตามีน (Amphetamine).....	10
คาทีโนน (Cathinone).....	12
แก๊สโครมาโทกราฟี (Gas Chromatography).....	13
การวิเคราะห์อนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทีโนน.....	13
สารมาตรฐานภายใน.....	16
ตัวอย่างที่ปราศจากสารที่ต้องการวิเคราะห์ (Sample blank).....	17
การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์.....	17
ความหมายของ Method validation.....	17
พารามิเตอร์ที่ใช้ในการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์.....	17
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	19
สารละลายที่ใช้เพื่อเตรียมสำหรับการทดลอง.....	20
วิธีการทดลอง.....	22

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
3 (ต่อ)	
การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของ oven ที่ใช้ในการวิเคราะห์อนุพันธ์ของแอมเฟตามีน และอนุพันธ์ของคาทิโนน รวมทั้งหมด 19 ชนิด.....	22
การศึกษาวิธีการสกัดอนุพันธ์แอมเฟตามีนและคาทิโนนในตัวอย่างเม็ดยาเสพติด	24
การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นโดยประเมินผลตามเกณฑ์ การยอมรับ ของ United Nations Office On Drugs and Crime :UNODC.....	24
การวิเคราะห์ตัวอย่างเม็ดยาจริง.....	25
4 ผลการทดลอง.....	26
ผลการศึกษาสภาวะของเครื่อง GC ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์.....	26
ผลการศึกษาวิธีการสกัดอนุพันธ์แอมเฟตามีนและคาทิโนน ในตัวอย่างเม็ดยา.....	30
ผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นโดยประเมินผลตามเกณฑ์การยอมรับของ United Nations Office on Drugs and Crime: UNODC.....	32
ความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์ (Specificity/ Selectivity).....	32
ขีดจำกัดความเข้มข้นที่ต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ (Limit of Detection : LOD and Limit of Quantitation : LOQ)	34
ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity and working range).....	36
ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ (Precision).....	38
ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (Accuracy).....	39
ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างยาเสพติด.....	55
5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายและข้อเสนอแนะ.....	63
บรรณานุกรม.....	66

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
ภาคผนวก.....	70
ภาคผนวก ก.....	71
ภาคผนวก ข.....	73
ภาคผนวก ค.....	76
ภาคผนวก ง.....	78
ภาคผนวก จ.....	80
ประวัติย่อผู้วิจัย.....	82



บัญชีตาราง

ตาราง	หน้า
1 แสดงคุณสมบัติทางเคมีของสารที่เป็นอนุพันธ์ของแอมเฟตามีน.....	3
2 แสดงคุณสมบัติทางเคมีของสารที่เป็นอนุพันธ์ของคาทิโนน.....	5
3 แสดงคุณสมบัติทางเคมีของสารมาตรฐานภายในและคาเฟอีน.....	5
4 แสดงแผนการดำเนินงาน.....	8
5 แสดงรายละเอียดงบประมาณการวิจัย.....	8
6 แสดงการเปรียบเทียบค่า resolution ของสาร EA กับ DA, CN กับ FMC และ ML กับ TMA ในแต่ละสภาวะ.....	26
7 แสดงช่วงของ %RSD ในสภาวะที่มีค่า Split ratio ที่แตกต่างกัน.....	28
8 แสดงการเปรียบเทียบรายละเอียดของแต่ละวิธี.....	29
9 แสดงค่า %Recovery (การสกัด) ในแต่ละความเข้มข้น.....	31
10 แสดงพื้นที่ใต้กราฟของ sample blank ที่ระยะเวลาของการวิเคราะห์สารในกลุ่มแอมเฟตามีนและคาทิโนน.....	33
11 แสดงค่า S/N ของความเข้มข้นที่ LOD.....	35
12 แสดงค่า S/N ของความเข้มข้นที่ LOQ.....	36
13 แสดงสมการเส้นตรงและค่า r ของสารแต่ละชนิด.....	37
14 แสดงค่าความแม่นยำของการวิเคราะห์อนุพันธ์แอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทิโนนที่ความเข้มข้นประมาณ 1.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในตัวอย่างยาเสพติด (n= 10) ในวันเดียวกันและระหว่างวัน จำนวน 3 วัน.....	41
15 แสดงค่าความแม่นยำของการวิเคราะห์อนุพันธ์แอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทิโนนที่ความเข้มข้นประมาณ 3.20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในตัวอย่างยาเสพติด (n=10) ในวัน เดียวกันและระหว่างวัน จำนวน 3 วัน.....	43
16 แสดงค่าความแม่นยำของการวิเคราะห์อนุพันธ์แอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทิโนนที่ความเข้มข้นประมาณ 4.80 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในตัวอย่างยาเสพติด (n=10) ในวันเดียวกันและระหว่างวัน จำนวน 3 วัน.....	45
17 แสดงค่าความแม่นยำของการวิเคราะห์อนุพันธ์แอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทิโนนที่ความเข้มข้นประมาณ 6.40 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในตัวอย่างยาเสพติด (n= 10) ในวันเดียวกันและระหว่างวัน จำนวน 3 วัน.....	47

บัญชีตาราง (ต่อ)

ตาราง	หน้า
18 แสดงค่าความแม่นยำของการวิเคราะห์หออนุพันธ์แอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทิโนนที่ความเข้มข้นประมาณ 8.00 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในตัวอย่างยาเสพติด (n=10) ในวันเดียวกันและระหว่างวัน จำนวน 3 วัน.....	49
19 แสดงค่าความแม่นยำของการวิเคราะห์หออนุพันธ์แอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทิโนนที่ความเข้มข้นประมาณ 9.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในตัวอย่างยาเสพติด (n=10) ในวันเดียวกันและระหว่างวัน จำนวน 3 วัน.....	51
20 แสดงค่า %recovery ของการวิเคราะห์หออนุพันธ์แอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทิโนนที่ความเข้มข้นประมาณ 2.40, 5.60 และ 8.80 $\mu\text{g/ml}$ ในตัวอย่างยาเสพติด (n=10).....	53
21 แสดงค่าอัตราส่วนระหว่าง PMMA และสารมาตรฐานภายในของตัวอย่างที่ 1 (n=3).....	55
22 แสดงค่าอัตราส่วนระหว่าง Butylone และสารมาตรฐานภายในของตัวอย่างที่ 2 (n=3).....	56
23 แสดงค่าอัตราส่วนระหว่าง MDMA และสารมาตรฐานภายในของตัวอย่างที่ 3 (n=3).....	57
24 แสดงค่าอัตราส่วนระหว่าง Methylone และสารมาตรฐานภายในของตัวอย่างที่ 4 (n=3).....	58
25 แสดงค่าอัตราส่วนระหว่าง Methylone และสารมาตรฐานภายในของตัวอย่างที่ 5 (n=3).....	59
26 แสดงค่าอัตราส่วนระหว่าง Butylone และสารมาตรฐานภายในของตัวอย่างที่ 6 (n=3).....	60
27 แสดงค่าอัตราส่วนระหว่าง Mephedrone และสารมาตรฐานภายในของตัวอย่างที่ 6 (n=3).....	61
28 แสดงค่าอัตราส่วนระหว่าง Methamphetamine และสารมาตรฐานภายในของตัวอย่างที่ 7 (n=3).....	62
29 แสดง Calibration curve ของอนุพันธ์แอมเฟตามีนและคาทิโนนแต่ละชนิด.....	76
30 แสดงรายละเอียดผลการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ 1 ที่ได้จากเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี..	81

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ

หน้า

1	แสดงสถิติแสดงการแพร่ระบาดของยาเสพติดในประเทศไทย ช่วงปี พ.ศ. 2556-2557 สำนักงาน ป.ป.ส.....	1
2	แสดงรายชื่อยาเสพติดในกลุ่มของแอมเฟตามีนและคาทิงอน ชนิดใหม่ที่เพิ่มเติมในราชกิจจานุเบกษา เมื่อวันที่ 19 มีนาคม 2556.....	2
3	แสดงโครงสร้างเคมีของแอมเฟตามีน.....	10
4	แสดงโครงสร้างทางเคมีของคาทิงอน และคาทิงอน.....	12
5	แสดงส่วนประกอบของเครื่อง GC.....	13
6	แสดงโครมาโตแกรมจากการวิเคราะห์สารทั้ง 20 ชนิด (ก) ระบบที่ 1(ข) ระบบที่ 2 และ (ค) ระบบที่ 3.....	27
7	แสดงโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์สารในกลุ่มของอนุพันธ์ของแอมเฟตามีน และอนุพันธ์ของคาทิงอน โดย (ก) เป็นโครมาโตแกรมของสารในกลุ่มอนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทิงอน คาเฟอีน และสาร มาตรฐานภายใน (ข) เป็นโครมาโตแกรมของคาเฟอีนและ sample blank.....	32
8	แสดงโครมาโตแกรมของตัวอย่างเม็ดยาเสพติด ตัวอย่างที่ 1....	55
9	แสดงโครมาโตแกรมของตัวอย่างเม็ดยาเสพติด ตัวอย่างที่ 2.....	56
10	แสดงโครมาโตแกรมของตัวอย่างเม็ดยาเสพติด ตัวอย่างที่ 3.....	57
11	แสดงโครมาโตแกรมของตัวอย่างเม็ดยาเสพติด ตัวอย่างที่ 4.....	58
12	แสดงโครมาโตแกรมของตัวอย่างเม็ดยาเสพติด ตัวอย่างที่ 5.....	59
13	แสดงโครมาโตแกรมของตัวอย่างเม็ดยาเสพติด ตัวอย่างที่ 6.....	60
14	แสดงโครมาโตแกรมของตัวอย่างเม็ดยาเสพติด ตัวอย่างที่ 7.....	61
15	แสดงเกณฑ์มาตรฐานในการวิเคราะห์หาปริมาณ ของ UNODC.....	72
16	แสดงลักษณะเม็ดยาของตัวอย่างที่ 1.....	74
17	แสดงลักษณะเม็ดยาของตัวอย่างที่ 2.....	74
18	แสดงลักษณะเม็ดยาของตัวอย่างที่ 3.....	74
19	แสดงลักษณะเม็ดยาของตัวอย่างที่ 4.....	74
20	แสดงลักษณะเม็ดยาของตัวอย่างที่ 5.....	75
21	แสดงลักษณะเม็ดยาของตัวอย่างที่ 6.....	75

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ

หน้า

22 แสดงลักษณะเม็ดยาของตัวอย่างที่ 7.....

75

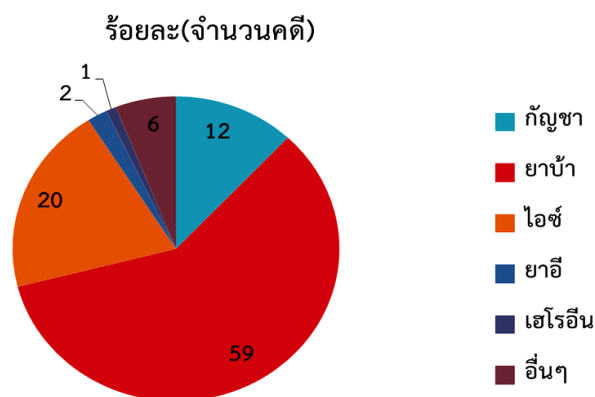


บทที่ 1

บทนำ

ปัญหายาเสพติดถือว่าเป็นปัญหาในสังคมไทยที่สำคัญมากปัญหาหนึ่ง ซึ่งส่งผลเสียทั้งทางด้านร่างกายและจิตใจ ยาเสพติดที่แพร่ระบาดในประเทศไทย มีมากมายหลายชนิดแต่กลุ่มยาเสพติดที่แพร่ระบาดมากที่สุดคือกลุ่มของแอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของแอมเฟตามีน ส่วนใหญ่พบในรูปแบบของยาบ้า ไอซ์ ยาอี เป็นต้น

การแพร่ระบาดของยาเสพติดในประเทศไทยจากสถิติของสำนักงานคณะกรรมการป้องกันและปราบปรามยาเสพติด (สำนักงาน ป.ป.ส.) ในช่วงปี พ.ศ. 2556-2557 พบว่ายาเสพติดที่แพร่ระบาดมากที่สุดเป็นอนุพันธ์ของแอมเฟตามีน คือ ยาบ้า ไอซ์ ยาอี แพร่ระบาดมากถึงร้อยละ 81 ของจำนวนยาเสพติดทั้งหมดที่ทาง สำนักงาน ป.ป.ส. ได้รับรายงาน



ภาพประกอบ 1 แสดงสถิติแสดงการแพร่ระบาดของยาเสพติดในประเทศไทยช่วงปี พ.ศ. 2556-2557
ข้อมูลจากสำนักงาน ป.ป.ส.

แอมเฟตามีนจัดเป็นวัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตประสาท ประเภท 2 ตามพระราชบัญญัติ วัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตประสาท ปี พ.ศ. 2518^[1] แต่ในปัจจุบันทางกระทรวงสาธารณสุขได้ออกประกาศกระทรวงฯ ฉบับที่ 135 ปี พ.ศ. 2539 กำหนดให้เป็นยาเสพติดให้โทษประเภทที่ 1 ตามพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษปี พ.ศ. 2522^[2] เมื่อวันที่ 16 ตุลาคม 2539 (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยากระทรวงสาธารณสุข, 2539) แอมเฟตามีน มีลักษณะเป็นผงผลึกสีขาว ไม่มีกลิ่น มีรสขมเล็กน้อย

ในปลายปี พ.ศ. 2555 ประเทศไทยเริ่มมีการนำสารที่มีลักษณะโครงสร้างทางเคมีคล้ายกับแอมเฟตามีน และออกฤทธิ์มีลักษณะเดียวกันมาใช้แทนแอมเฟตามีน ซึ่งสารที่นิยมนำมาใช้แทนส่วนใหญ่ มักเป็นสารในกลุ่มอนุพันธ์ของคาทิโนน เช่น เมทิลอน เมฟีโดรอน บิวทิลอน เป็นต้น ซึ่งสมบัติของสารที่ทางผู้ค้ามักใช้แทนยาเสพติดคือ ต้องออกฤทธิ์ในลักษณะเดียวกันกับยาเสพติด และเป็นสารที่ไม่ผิดกฎหมาย หรือในบางครั้ง ได้มีการสังเคราะห์ ต่อเติมโครงสร้างทางเคมีจากโครงสร้างของยาเสพติดเดิม ที่ผิดกฎหมาย และยังทำให้มีฤทธิ์คล้ายเดิม ผสมผสานหรือออกฤทธิ์รุนแรงกว่าเดิม ซึ่งเรียกว่า designer drug ทั้งนี้การสังเคราะห์หรือดัดแปลงโครงสร้างทางเคมีของสาร เพื่อหลบเลี่ยงกฎหมาย

การแพร่ระบาดของ เมฟีโดรอน และเมทิลอน ซึ่งพบในรูปของเม็ดยาที่มีลักษณะคล้ายยาอี เพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ ทางกระทรวงสาธารณสุขจึงได้ประกาศให้ เมฟีโดรอน และเมทิลอน เป็นยาเสพติดให้โทษ ประเภทที่ 1 ในบัญชียาเสพติดให้โทษประเภท 1 ลำดับที่ 43 และ 45 ตามลำดับ ตามพระราชบัญญัติ ยาเสพติดให้โทษ พ.ศ. 2522 เมื่อวันที่ 19 มีนาคม 2556^[3]

ลำดับ ที่	ชื่อยาเสพติดให้โทษ	ประเภท	ชื่อทางเคมี	เงื่อนไข
๔๓	ยาเสพติดให้โทษในประเภท ๑ เมฟีโดรอน (Mephedrone)	๑	2-(methylamino)-1-p- tolylpropan-1-one	
๔๔	เมทิลีนไดออกซิไพโรวาเลโรน (Methylenedioxypropylone หรือ MDPV)	๑	1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-2- (pyrrolidin-1-yl)pentan-1-one	
๔๕	เมทิลอน (Methylone)	๑	1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-2- (methylamino)propan-1-one	

ข้อ ๒ ประกาศฉบับนี้ให้ใช้บังคับตั้งแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๑๙ มีนาคม พ.ศ. ๒๕๕๖

ประดิษฐ์ สีนวณรงค์

รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข

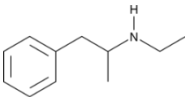
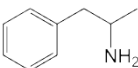
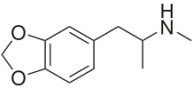
ภาพประกอบ 2 แสดงรายชื่อยาเสพติดในกลุ่มของแอมเฟตามีนและคาทิโนน ชนิดใหม่ที่เพิ่มเติมในราชกิจจานุเบกษา เมื่อวันที่ 19 มีนาคม 2556

การวิเคราะห์หาปริมาณสารบริสุทธิ์ของตัวอย่างออกฤทธิ์ในยาเสพติดให้โทษประเภทที่ 1 ตามพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ. 2522 นั้น มีความสำคัญ เนื่องด้วยการกำหนดโทษทางคดีอาญาของยาเสพติดต้องใช้ปริมาณสารบริสุทธิ์ในการกำหนดโทษทัณฑ์ ถ้าของกลางนั้นมีปริมาณสารบริสุทธิ์มากก็จะมีโทษที่สูงขึ้นตามไปด้วย

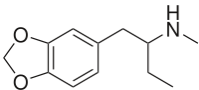
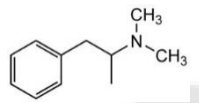
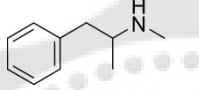
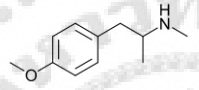
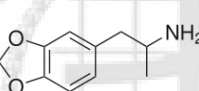
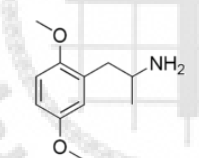
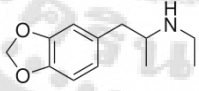
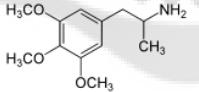
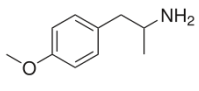
ปัจจุบันการวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มแอมเฟตามีนและคาทิโนนมีมากมายหลายวิธี เช่น การวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง GC-FID^[4-5], GC-MS^[4,6-9,11-13], LC-MS^[8,14-15], UPLC-TOF^[10] หรือ HPLC^[4,11] ซึ่งวิธีทั้งหมดนี้ล้วนแล้วเป็นวิธีที่มีความไวและความแม่นยำสูง จากงานวิจัยส่วนใหญ่การวิเคราะห์ยาเสพติดมักใช้เทคนิค gas chromatography (GC) ในการวิเคราะห์ไม่ว่าจะเป็น GC-FID หรือ GC-MS เนื่องจากยาเสพติดเป็นสารที่ผิดกฎหมาย ทางห้องปฏิบัติการจึงต้องคิดค้นหาวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ โดยทำให้เกิดของเสียน้อยที่สุด เทคนิค GC เป็นเทคนิคนี้ก็มีข้อดีหลายด้าน คือ สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งแบบทั่วไปและแบบเฉพาะเจาะจง ให้ sensitivity ที่สูง สามารถบ่งชี้ถึงชนิดขององค์ประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่างได้ และสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพ^[16] จากรายงานวิจัยที่ผ่านมา ยังไม่พบการรายงานวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณทั้งอนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทิโนน ได้ในคราวเดียวกัน พร้อมกันหลายๆ สารโดยเฉพาะสาร เมฟีโดรอนและเมทิโดน ซึ่งเป็นสารเสพติดตัวใหม่ที่มีโอกาสตรวจพบในผู้เสพยาเสพติดและมักจะผสมอยู่กับสารคาเฟอีน

จากการศึกษาโครงสร้างของสารที่สนใจวิเคราะห์คืออนุพันธ์แอมเฟตามีน จำนวน 12 สาร และอนุพันธ์ของคาทิโนน จำนวน 7 สาร พบว่าสารทั้งสองกลุ่มนั้นมีความหลากหลายทางโครงสร้าง และมีช่วงของจุดหลอมเหลวที่แตกต่างกัน ดังตาราง 1-3

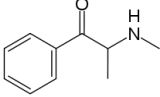
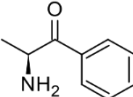
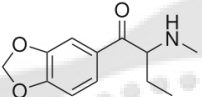
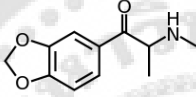
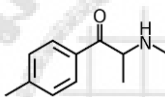
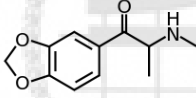
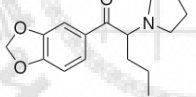
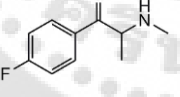
ตาราง 1 แสดงคุณสมบัติทางเคมีของสารที่เป็นอนุพันธ์ของแอมเฟตามีน

No	Name	Chemical Structure	Molecular formula	Molecular weight (g/mol)	Melting point (°C)	Purity
1	Ethylamphetamine		C ₁₁ H ₁₇ N	163.26	146	99.900
			C ₁₁ H ₁₇ N•HCl	199.72		±0.050
2	Amphetamine		C ₉ H ₁₃ N	135.21	149	99.950
			C ₉ H ₁₃ N • HCl	171.67		±0.050
3	d,l-3,4-methylene dioxymethamphetamine		C ₁₁ H ₁₅ NO ₂	193.25	149	99.659
			C ₁₁ H ₁₅ NO ₂ • HCl	229.70		±0.018

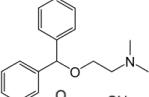
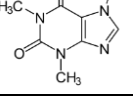
ตาราง 1 (ต่อ)

No	Name	Chemical Structure	Molecular formula	Molecular weight (g/mol)	Melting point (°C)	Purity
4	1,3-Benzodioxolyl- <i>N</i> -methylbutanamine		$C_{12}H_{17}NO_2$	207.27	153	99.965
			$C_{12}H_{17}NO_2 \cdot HCl$	243.73		± 0.011
5	<i>d,l</i> - <i>N,N</i> -Dimethylamphetamine		$C_{11}H_{17}N$	163.26	158	99.936
			$C_{11}H_{17}N \cdot HCl$	199.72		± 0.010
6	<i>d,l</i> -Methamphetamine		$C_{10}H_{15}N$	149.24	170	99.467
			$C_{10}H_{15}N \cdot HCl$	185.70		± 0.015
7	<i>d,l</i> -Paramethoxyamphetamine		$C_{11}H_{17}NO$	179.26	177	99.316
			$C_{11}H_{17}NO \cdot HCl$	215.72		± 0.090
8	<i>d,l</i> -3,4-methylene dioxylamphetamine		$C_{10}H_{13}NO_2$	179.22	187	99.839
			$C_{10}H_{13}NO_2 \cdot HCl$	215.68		± 0.010
9	<i>d,l</i> -2,5-Dimethoxyamphetamine		$C_{11}H_{17}NO_2$	195.26	190	99.479
			$C_{11}H_{17}NO_2 \cdot HCl$	231.72		± 0.006
10	<i>d,l</i> -3,4-methylene dioxylethylamphetamine		$C_{10}H_{13}NO_2$	207.27	201	99.770
			$C_{10}H_{13}NO_2 \cdot HCl$	243.77		± 0.125
11	Trimethoxy Amphetamine		$C_{12}H_{19}NO_3$	225.30	217	99.479
			$C_{11}H_{17}NO_3 \cdot HCl$	261.80		± 0.034
12	<i>d,l</i> -Paramethoxyamphetamine		$C_{10}H_{15}NO$	165.24	171	99.072
			$C_{10}H_{15}NO \cdot HCl$	201.70		± 0.062

ตาราง 2 แสดงคุณสมบัติทางเคมีของสารที่เป็นอนุพันธ์ของคาทีโนน

No	Name	Chemical Structure	Molecular formula	Molecular weight (g/mol)	Melting point (°C)	Purity
1	d,l-Methcathinone		$C_{10}H_{13}NO$	163.22	182	99.964
			$C_{10}H_{13}NO \cdot HCl$	199.68		± 0.004
2	d,l-Cathinone		$C_9H_{11}NO$	149.19	183	99.969
			$C_9H_{11}NO \cdot HCl$	185.69		± 0.003
3	Butylone		$C_{12}H_{15}NO_3$	221.25	228	99.769
			$C_{12}H_{15}NO_3 \cdot HCl$	257.75		± 0.005
5	Methylone		$C_{11}H_{13}NO_3$	207.23	244	99.818
			$C_{11}H_{13}NO_3 \cdot HCl$	243.73		± 0.003
4	Mephedrone		$C_{11}H_{15}NO$	177.24	241	99.799
			$C_{10}H_{15}NO \cdot HCl$	213.74		± 0.008
5	Methylone		$C_{11}H_{13}NO_3$	207.23	244	99.818
			$C_{11}H_{13}NO_3 \cdot HCl$	243.73		± 0.003
6	3,4-methylenedioxy Pyrovalerone		$C_{16}H_{21}NO_3$	275.34	238	99.505
			$C_{16}H_{21}NO_3 \cdot HCl$	311.84		± 0.007
7	Flephedrone		$C_{10}H_{12}FNO$	181.21	220	99.877
			$C_{10}H_{12}FNO \cdot HCl$	217.71		± 0.005

ตาราง 3 แสดงคุณสมบัติทางเคมีของสารมาตรฐานภายในและคาเฟอีน

No	Name	Chemical Structure	Molecular formula	Molecular weight (g/mol)	Melting point (°C)	Purity
1	Diphenhydramine		$C_{17}H_{21}NO$	255.36	161	99.996
			$C_{17}H_{21}NO \cdot HCl$	291.82		± 0.018
2	Caffeine		$C_8H_{10}N_4O_2$	194.19	235	99.581
			$C_8H_{10}N_4O_2 \cdot HCl$	230.65		± 0.005

จากข้อมูลสมบัติทางเคมีของสารทั้ง 20 ชนิด มีความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน ที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณของอนุพันธ์แอมเฟตามีนจำนวน 12 ชนิด และอนุพันธ์ของคาทีโนนจำนวน 7 ชนิดในคราวเดียวกัน โดยใช้เทคนิค GC – FID ที่ใช้ Diphenhydramine เป็นสารมาตรฐานภายในเพื่อที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในการทำงานที่เป็นลักษณะงานประจำ (Routine) และยังเป็นการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่ยังไม่เคยมีรายงานการวิจัย ที่วิเคราะห์สารทั้ง 19 ชนิด ดังกล่าวข้างต้นในลักษณะนี้มาก่อน และจะทำการตรวจสอบความถูกต้องของวิธี (Method validation) โดยหาค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ตามข้อกำหนดของ United Nations Office on Drugs and Crime :UNODC (Guidance for the Validation of Analytical Methodology and Calibration of Equipment used for Testing of Illicit Drugs in Seized Materials and Biological Specimens)^[17] เพื่อยืนยันว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมานั้นเป็นวิธีที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณอนุพันธ์ของแอมเฟตามีนทั้ง 12 ชนิด และอนุพันธ์ของคาทีโนนทั้ง 7 ชนิด ในตัวอย่างยาเสพติด โดยการฉีดเพียงครั้งเดียวสามารถที่จะทราบได้ว่าในตัวอย่างนั้นมีสารชนิดใดบ้าง และมีปริมาณเท่าไร ซึ่งปัจจุบันมีรายงานการพัฒนาวิธีวิเคราะห์อนุพันธ์ของแอมเฟตามีน และอนุพันธ์ของคาทีโนน ค่อนข้างหลากหลาย แต่ส่วนใหญ่มักจะเป็นการวิเคราะห์สารหลายชนิด แต่เป็นเพียงอนุพันธ์ของแอมเฟตามีน หรืออนุพันธ์ของคาทีโนน เพียงอนุพันธ์ใดอนุพันธ์หนึ่งเท่านั้น ส่วนการวิเคราะห์ในลักษณะการนำทั้งสองอนุพันธ์มารวมกัน โดยใช้เทคนิค GC ยังมีการรายงานการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ค่อนข้างน้อย

วัตถุประสงค์

1. เพื่อพัฒนาวิธีวิเคราะห์อนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและคาทีโนน ได้ถูกต้อง แม่นยำ และรวดเร็ว
2. ตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ตามเกณฑ์มาตรฐานของ United Nations Office on Drugs and Crime :UNODC

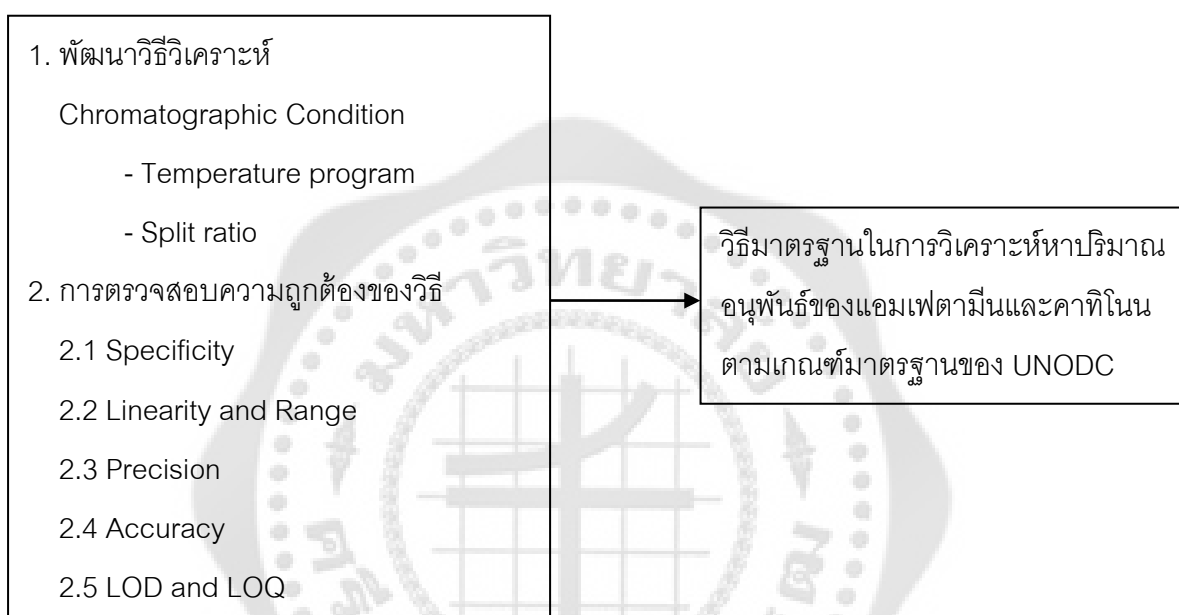
สมมติฐานการวิจัย

1. วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นสามารถวิเคราะห์อนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและคาทีโนน ได้ถูกต้อง แม่นยำ และรวดเร็ว
2. วิธีที่พัฒนาขึ้นมีความถูกต้องตามเกณฑ์มาตรฐานของ United Nations Office on Drugs and Crime :UNODC

ปัจจัยและตัวแปรที่ศึกษา

- ตัวแปรอิสระ : การพัฒนาและตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์
- ตัวแปรตาม : วิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์หาปริมาณอนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและคาติโนนตามเกณฑ์มาตรฐานของ UNODC

กรอบแนวคิดของโครงการวิจัย



ขอบเขตของโครงการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยเชิงทดลองมุ่งศึกษาการพัฒนาวิธีวิเคราะห์อนุพันธ์แอมเฟตามีนจำนวน 12 ชนิด คาติโนน จำนวน 7 ชนิดและคาเฟอีนซึ่งเป็นส่วนผสมของยาเสพติดด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี โดยใช้ตัวตรวจวัดชนิด FID ใช้ไดเฟนไฮดรามีน (Diphenhydramine: DP) เป็นสารมาตรฐานภายใน (Internal standard) วิธีที่พัฒนาขึ้นต้องสามารถแยกสารทั้ง 20 ชนิดในการวิเคราะห์คราวเดียวกันและใช้เวลาในการวิเคราะห์ไม่เกิน 20 นาที ตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมา ตามเกณฑ์มาตรฐานของ United Nations Office on Drugs and Crime :UNODC

สถานที่ในการดำเนินงาน

ห้องปฏิบัติการ สถาบันวิชาการและตรวจพิสูจน์ยาเสพติด สำนักงานคณะกรรมการป้องกันและปราบปรามยาเสพติด (สำนักงาน ป.ป.ส.)

ระยะเวลาในการดำเนินงาน

9 เดือน

ตาราง 4 แสดงแผนการดำเนินงาน

ขั้นตอน	กิจกรรม	2558						2559		
		7	8	9	10	11	12	1	2	3
1	ค้นคว้ารวบรวมข้อมูลเพื่อใช้เป็น แนวทางในการทำงานวิจัย ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการ									
2	วิเคราะห์อนุพันธ์ของแอมเฟตามีน และอนุพันธ์ของคาทิโนน									
3	ตรวจสอบความถูกต้อง ของวิธี วิเคราะห์									
4	สรุปและเขียนรายงานการวิจัย									

งบประมาณ

ตาราง 5 แสดงรายละเอียดงบประมาณการวิจัย

รายการ	จำนวนเงิน
1. ค่าวัสดุและอุปกรณ์	
1.1 Column	30,000 บาท
1.2 วัสดุสิ้นเปลือง เช่น vial	2,000 บาท
2. ค่าสารเคมี	
2.1 ค่าสารมาตรฐาน	200,000 บาท
2.2 ค่าสารละลายอินทรีย์สำหรับการเตรียมสาร	5,000 บาท
2.3 ค่าแก๊สที่ใช้สำหรับเครื่อง GC	12,000 บาท
รวม	249,000 บาท

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้วิธีใหม่ในการวิเคราะห์หาปริมาณอนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและคาทิโนน ในตัวอย่างยาเสพติด ที่มีความจำเพาะเจาะจง และมีความไวในการวิเคราะห์สูง
2. ได้วิธีใหม่ที่ใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้น มีความถูกต้องและแม่นยำ
3. สามารถนำวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น ไปประยุกต์ใช้ในระบบงานวิเคราะห์แบบงานประจำ (Routine) เพื่อตรวจสอบคุณภาพและหาปริมาณอนุพันธ์ของแอมเฟตามีน 12 ชนิดและคาทิโนน 7 ชนิด โดยวิเคราะห์ในคราวเดียวกัน



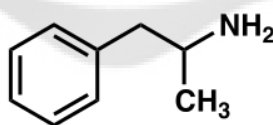
บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ไม่ว่าจะเป็นการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ หรือเชิงปริมาณนั้นต้องคำนึงถึงปัจจัยหลายๆ ด้าน ไม่ว่าจะเป็นลักษณะทางกายภาพของสารที่สนใจวิเคราะห์ เทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์ หลักการของเครื่องมือที่เลือกใช้ งานวิจัยต่างๆ ที่เคยมีผู้ศึกษาวิจัยมาแล้ว รวมไปถึงกระทั่งการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ ที่เป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐาน เพื่อให้การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ มีประสิทธิภาพ และได้วิธีวิเคราะห์ที่มาตรฐาน ตามหลักเกณฑ์ที่กำหนด ในรายงานวิจัยนี้ได้ศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับอนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและคาทิโนน หลักการของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี งานวิจัยที่เกี่ยวกับการพัฒนาวิธีวิเคราะห์อนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทิโนน โดยใช้เทคนิค GC และการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ รายละเอียดดังนี้

1. แอมเฟตามีน (Amphetamine)^[18,20]

แอมเฟตามีน (Amphetamine) จัดเป็นวัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาท ประเภท 2 ตามพระราชบัญญัติวัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาท ปี พ.ศ. 2518^[1] แต่ปัจจุบันทางกระทรวงสาธารณสุขได้ออกประกาศกระทรวงฯ ฉบับที่ 135 ปี พ.ศ. 2539 กำหนดให้เป็นยาเสพติดให้โทษ ประเภท 1 ตามพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ ปี พ.ศ. 2522^[2] เมื่อวันที่ 16 ตุลาคม 2559 (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข, 2539) ซึ่งแอมเฟตามีน มีลักษณะเป็นผง ผลึก ไม่มีกลิ่น มีรสขมเล็กน้อย มีสูตรโมเลกุล คือ $C_9H_{13}N$



ภาพประกอบ 3 แสดงโครงสร้างเคมีของแอมเฟตามีน

แอมเฟตามีน เป็นสารที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นโดยนักวิทยาศาสตร์ชาวเยอรมันชื่อ เอเดเลโน (Edeleno) ในปี ค.ศ. 1887 ในรูปของแอมเฟตามีนซัลเฟต (Amphetamine Sulphate) ต่อมาในปี ค.ศ. 1888 นักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่นก็สามารถสังเคราะห์อนุพันธ์ของแอมเฟตามีนได้อีกตัวหนึ่งคือ เมทแอมเฟตามีน (Methamphetamine) ซึ่งมีผลต่อระบบประสาทส่วนกลางได้รุนแรงกว่าแอมเฟตามีน และในปี ค.ศ. 1936 เริ่มมีรายงานการใช้แอมเฟตามีนเป็นสารเสพติด จนกระทั่งในปี ค.ศ. 1980

พบว่าอนุพันธ์ของแอมเฟตามีน ไม่ว่าจะเป็น Methamphetamine, 3,4-methylenedioxymethamphetamine(MDMA), 3,4-methylenedioxyamphetamine(MDA) หรือ 3,4-methylenedioxyethylamphetamine (MDEA) เป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลาย ซึ่งอนุพันธ์เหล่านี้ล้วนมีฤทธิ์รุนแรงกว่าแอมเฟตามีน

การออกฤทธิ์ของแอมเฟตามีนจะส่งผลกระทบต่อระบบประสาทส่วนกลาง ซึ่งทำหน้าที่เก็บความจำ ความคิดและควบคุมการทำงานของอวัยวะต่าง ๆ เช่น การเคลื่อนไหว การทรงตัว การถ่ายทอดความรู้สึกทำให้ตื่นตัว เคลิบเคลิ้ม ร่าเริง ไม่เหนื่อย ไม่ง่วง ตาแข็ง นอนไม่หลับคล้ายเป็นยาเพิ่มพลัง มีผลกระทบต่อหัวใจและหลอดเลือดกระตุ้นหัวใจทำให้เกิดอาการใจสั่น การไหลเวียนเลือดล้มเหลว เจ็บหน้าอกกระทบต่อทางเดินหายใจ จังหวะการหายใจไม่ปกติ มีผลกระทบต่อระบบทางเดินอาหาร ปากแห้ง เบื่ออาหาร ไม่หิว คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสียและส่งผลต่อพฤติกรรมทางเพศ ซึ่งเมื่อเสพติดยาแล้วจะส่งผลให้สมรรถภาพทางเพศลดลง เมื่อมีการเพิ่มขนาดและความถี่ในการใช้ยามากขึ้น ที่สุดจะส่งผลกระทบต่อระบบประสาท เกิดอาการทางจิต พฤติกรรมเปลี่ยนไปในทางก้าวร้าว หงุดหงิด ขาดเหตุผล หลงผิด ประสาทหลอน ความจำเสื่อม กล้ามเนื้อกระตุก มีการเคลื่อนไหวมากขึ้น อารมณ์เปลี่ยนแปลงง่าย ถึงกับเพ้อคลั่งและหากใช้ยาในปริมาณที่สูงมาก อาจทำให้ชักและหมดสติได้การใช้ยาที่จะก่อให้เกิดการติดยาจะมีการใช้ยาเป็นประจำ และต้องเพิ่มปริมาณขึ้นเรื่อย ๆ เพราะมีการทนทานต่อยา (Tolerance) ต้องการยาในปริมาณที่มากขึ้นเรื่อย ๆ ทั้งทางจิตใจและร่างกาย การพึ่งพาทางจิต (Dependence) เกี่ยวข้องกับอารมณ์ ทำให้ต้องการยาอยู่เรื่อย ๆ เมื่อหยุดใช้ยาทันทีจะมีอาการขาดยา (Withdrawal) จะแสดงอาการอ่อนเพลียมาก ง่วงนอนจัด ปวดกล้ามเนื้ออย่างรุนแรง หิวจัด ความคิดสับสน วู่วาม หงุดหงิด หลังจากหยุดยาอาจเกิดอาการสะท้อนกลับ (Rebound Phenomena) ของอารมณ์จากตื่นตัว ร่าเริง จะเป็นซึมเศร้าและถึงขั้นฆ่าตัวตายได้ซึ่งก็จะส่งผลกระทบต่อรอบด้านทั้งทางตรงและทางอ้อม แอมเฟตามีนที่เป็นส่วนประกอบของยาบ้า ยาอีหรือไอซ์ ผู้เสพสามารถเสพเข้าสู่ร่างกายทั้งการรับประทาน ฉีดเข้าเส้นเลือด และสูดดมไอ แต่การออกฤทธิ์และความรุนแรงจะแตกต่างกัน

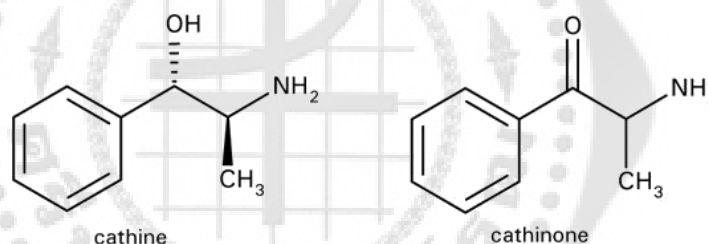
อนุพันธ์ของแอมเฟตามีนส่วนใหญ่จะพบอยู่ในรูปของยาเม็ด คือ ยาบ้า ยาอี และในรูปของผลึก คือ ไอซ์ สำหรับในรูปของยาเม็ดยานั้น ตัวยาเม็ดจะมีรูปร่าง ต่างๆ เช่น ทรงกลม ทรงรี สี่เหลี่ยม สามเหลี่ยม หัวใจ ตัวการ์ตูน ดัมเบล เป็นต้น มีสีหลากหลายสี ตราประทับแต่ละด้านบนแตกต่างกันออกไป

สำหรับส่วนประกอบของเม็ดยา นอกจากจะมีสารออกฤทธิ์สำคัญแล้ว ยังมีคาเฟอีน สี แป้ง คาทิเซีย กลิ่น ซึ่งคาเฟอีนมีคุณสมบัติเป็นสารที่มีฤทธิ์กระตุ้นประสาทเช่นเดียวกันกับอนุพันธ์ของแอมเฟตามีน และอนุพันธ์ของคาทิโนน

2. คาทีโนน (Cathinone)^[19-21]

คาทีโนน เป็นสารที่พบใน khat ซึ่ง khat เป็นชื่อเรียกส่วนใบและลำต้นอ่อนของไม้พุ่มตระกูล *Catha edulis* สามารถใช้เคี้ยวและชงดื่ม ได้รู้จักแพร่หลายในนามของ “quat and gat” พบมากในประเทศแถบแอฟริกา ซึ่งวางขายตามท้องตลาดทั่วไป สารออกฤทธิ์ใน khat มีสูตรโครงสร้างทางเคมีคล้ายกับโครงสร้างทางเคมีของแอมเฟตามีน โดยใบสดมีสารออกฤทธิ์หลักคือ คาทีโนน หรือ benzylketoamphetamine ซึ่งมีฤทธิ์กระตุ้นประสาทสูงกว่าแอมเฟตามีน จัดเป็นวัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาทประเภท 1 ตาม พ.ร.บ.วัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาท พ.ศ. 2518 และสำหรับในใบแห้งนั้นจะพบสารออกฤทธิ์เป็นคาทีน (Cathine) หรือ norpseudo ephedrine มีฤทธิ์กระตุ้นประสาทประมาณ 1/10 ของแอมเฟตามีน กล่าวคือใบแห้งนั้นมีฤทธิ์อ่อนกว่าใบสด จึงไม่เป็นที่นิยม

นอกจากนี้ยังพบ Methcathinone เป็น Methyl derivative ของคาทีโนน สังเคราะห์มาจากปฏิกิริยา ออกซิเดชัน ของอีเฟดรีน มีชื่อเรียกอีกอย่างว่าอีเฟโดรอน จัดเป็นวัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาทประเภท 1 ตาม พ.ร.บ.วัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาท พ.ศ. 2518



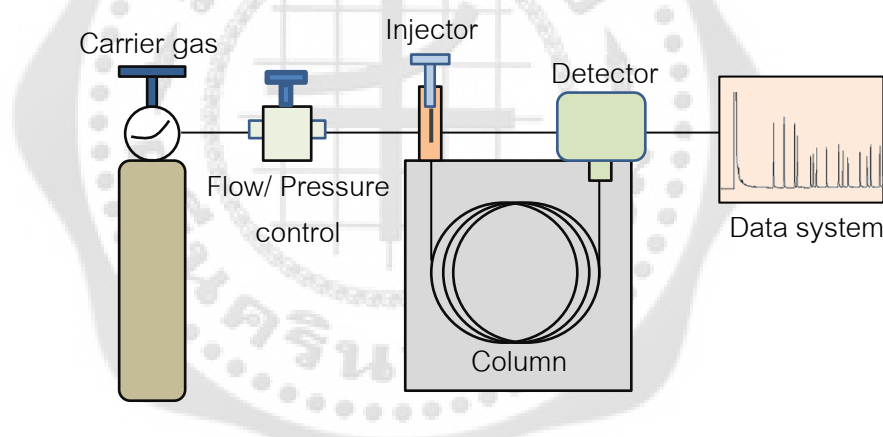
ภาพประกอบ 4 แสดงโครงสร้างทางเคมีของคาทีน และคาทีโนน

ลักษณะการออกฤทธิ์ของคาทีโนนนั้น จากรายงานวิจัยของ R. Brenneisen และคณะพบว่า การออกฤทธิ์คล้ายคลึงกับแอมเฟตามีน โดยออกฤทธิ์กระตุ้นประสาทเช่นเดียวกัน ทำให้อัตราการเต้นของหัวใจและความดันโลหิตเพิ่มสูงขึ้น ตื่นตัว เคลิบเคลิ้ม ลดความอยากอาหาร แต่เมื่อใช้ไปในระยะเวลานานจะทำให้เกิดภาวะซึมเศร้า ประสาทหลอน โรคจิต ความจำเสื่อมและเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจขาดเลือด^[21]

อนุพันธ์ของคาทีโนนที่ส่วนใหญ่นำมาใช้เป็นตัวยาลำคัญในยาเสพติดแทนอนุพันธ์ของแอมเฟตามีน ตัวอย่างเช่น เมทคาทีโนน (Methcathinone) เมทิลอน (Methylone) เมฟีโดรอน (Mephedrone) บิวทิลอน (Butylone) 4-MEC(4-Methylethcathinone) ซึ่งสารเหล่านี้มีทั้งที่ผิดกฎหมายและไม่ผิดกฎหมายจึงเป็นช่องทางในการกระทำความผิดของกลุ่มผู้ค้ายาเสพติด ทั้งในประเทศและต่างประเทศ

3. แก๊สโครมาโตกราฟี (Gas chromatography)

เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas chromatography: GC) เป็นเครื่องมือที่ใช้วิธีโครมาโตกราฟีในการวิเคราะห์ ซึ่งนิยมใช้กันอย่างกว้างขวาง เพราะมีความสามารถแยกและวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีองค์ประกอบซับซ้อนได้ และยังให้ผลที่แม่นยำ ถูกต้อง และรวดเร็ว โดยกระบวนการแยกเกิดขึ้นระหว่างเฟส 2 เฟส คือ เฟสอยู่กับที่ (Stationary phase) หรือคอลัมน์ (Column) กับเฟสเคลื่อนที่หรือตัวพา (Carrier) โดยใช้หลักการที่อาศัยความแตกต่างของจุดหลอมเหลวของสารแต่ละชนิด ซึ่งสารที่มีจุดหลอมเหลวต่ำย่อมถูกพาออกมาจากคอลัมน์ก่อนสารที่มีจุดหลอมเหลวสูง ทำให้สารที่ถูกพาออกมาในเวลาที่แตกต่างกัน จากนั้นสารที่ถูกพาออกมาจากคอลัมน์จะถูกตรวจวัดด้วยเครื่องตรวจวัดสัญญาณ (Detector) ซึ่งตัวตรวจวัดนั้นจะเป็นตัวแปลงขนาดของสารให้เป็นสัญญาณทางไฟฟ้า ถ้าสารตัวอย่างมีปริมาณมาก สัญญาณทางไฟฟ้าที่เกิดขึ้นก็จะมีมาก สัญญาณทางไฟฟ้าที่เกิดจากตัวตรวจวัด จะถูกส่งไปยังเครื่องบันทึกแล้วแสดงออกมาในรูปของโครมาโทแกรม (Chromatogram) ซึ่งเป็นการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับขนาดของสัญญาณที่ได้รับจากเครื่องตรวจวัด (Detector Response)



ภาพประกอบ 5 แสดงส่วนประกอบของเครื่อง GC

4. การวิเคราะห์อนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทิโนน โดยใช้เทคนิค GC

ปัจจุบันการวิเคราะห์สารระเหยง่าย มีจุดหลอมเหลวต่ำส่วนใหญ่มักจะใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี ในการวิเคราะห์ทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ ซึ่งในที่นี่รวมทั้งตัวอย่างที่เป็นยาเสพติด ไม่ว่าจะเป็นได้จากตัวเมื่อยา หรือจะเป็นการวิเคราะห์หาระดับสารเสพติดในชีววัตถุ (biological fluid) เช่น เลือด ปัสสาวะ เป็นต้น จากการศึกษารายงานวิจัย พบว่ามีรายงานที่เคยมีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์อนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทิโนน โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี ดังนี้

จากคู่มือ Manual for use by national drug testing laboratory, UNODC^[4] ทำการวิเคราะห์สารที่เป็นอนุพันธ์ของแอมเฟตามีนทั้ง 12 ชนิด โดยใช้เครื่อง GC-FID โดยใช้ระบบ temperature program และใช้ สารมาตรฐานภายในเป็น diphenylamine หรือ n-tetradecane หรือ n-alkane ก็ได้ สำหรับสภาวะของเครื่อง GC ที่ใช้คือ

Column	:	DB-5 (5%phenyl 95%dimethylpolysiloxane) or DB-1 (100 % dimethylpolysiloxane) or equivalent
Length	:	10-30 m, ID 0.20-0.53 mm
Film thickness	:	0.10-0.50 um
Carrier gas	:	Nitrogen, helium or nitrogen, at approx. 0.8ml/min (N2) or 1-1.2 ml/min (He or H2)
Mode	:	Split mode, Split ratio (20:1 to 50:1)
Oven	:	initial at 60 °C for 0.5 min and increased at a rate of 12.0 °C/min to 285 °C hold final temperature for 30 min
Detector Temp.:	:	310 °C
Inject Temp.	:	210-250 °C
Analysis time	:	49.25 min

จากคู่มือของ UNODC นี้ สามารถแยกสารที่เป็นอนุพันธ์ของแอมเฟตามีนทั้งหมด 12 ชนิด ในเวลาเกือบ 50 นาที และขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างมีหลายขั้นตอน ทำให้ยากต่อการเตรียม การวิเคราะห์ก็ใช้เวลานานสำหรับ 1 ตัวอย่าง ทำให้ค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ก็สูงขึ้นตามไปด้วย

Blagoj Mitrevaki และ Zoran Zdravkovski^[5] ได้ทำการศึกษาและพัฒนาวิธีวิเคราะห์แอมเฟตามีน ในตัวอย่างเม็ดยา โดยใช้เครื่อง GC-FID ทำการวิเคราะห์อนุพันธ์ของแอมเฟตามีนทั้งหมด 6 ชนิด โดยใช้ระบบ temperature program และใช้ diphenylamine เป็นสารมาตรฐานภายใน สำหรับสภาวะของเครื่อง GC ที่ใช้คือ

Column	:	SPB-50 (50%diphenyl/50%dimethylsiloxane)
Length	:	15 m, ID 0.32 mm
Film thickness	:	0.50 um
Carrier gas	:	Hydrogen, flow 3.2ml/min
Mode	:	Splitless

Oven	:	initial at 135 °C for 2 min and increased at a rate of 12.5 °C/min to 285 °C and hold 1 min
Detector	:	300 °C
Inject	:	280 °C
Analysis time	:	15 min

จากงานวิจัยนี้สามารถแยกสารทั้ง 6 ชนิดได้ภายในเวลา 15 นาที ซึ่งเป็นวิธีที่ให้พีคที่สมมาตร มีความไวในการวิเคราะห์สูงถึงระดับนาโนกรัม และขั้นตอนการสกัดตัวอย่างออกจากร่างกายก็ทำได้ง่าย ไม่ซับซ้อน ทำให้ลดเวลา และลดค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ได้ แต่จากผลการทดลองพบว่าพีคของแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีน ยังมี tailing อยู่

Niamh และคณะ^[7] ได้ทำการศึกษาและพัฒนาวิธีวิเคราะห์สาร 16 ชนิด ที่เป็นอนุพันธ์ของคาติโนน โดยใช้เครื่อง GC – MS ใช้ระบบ temperature program และใช้ eicosane เป็นสารมาตรฐาน ภายใน สำหรับสภาวะของเครื่อง GC ที่ใช้คือ

Column	:	HP5 MS
Length	:	30 m, ID 0.25 mm
Film thickness	:	0.25 um
Carrier gas	:	Helium, flow rate 1ml/min
Mode	:	split mode, split ratio (75:1)
Oven	:	initial at 90 °C for 1 min and increased at a rate of 8.0 °C/min to 300 °C hold final temperature for 10 min
GC interface	:	300 °C
Inject	:	225 °C
MS source Temp.	:	230
Mass spectra mode	:	full scan mode
Analysis time	:	37.25 min

จากงานวิจัยนี้สามารถแยกสารที่เป็นอนุพันธ์ของคาติโนนทั้ง 16 ชนิดได้ภายในเวลาประมาณ 38 นาที ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถใช้ตรวจวิเคราะห์ทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ นอกจากนี้ขั้นตอนการสกัดก็ยังง่าย เป็นขั้นตอนเดียว ไม่ซับซ้อน ไม่ต้องทำ derivatization ซึ่งการวิเคราะห์และการสกัด

ด้วยวิธีนี้ เหมาะสมที่จะนำไปประยุกต์ใช้กับห้องปฏิบัติการที่มีงานเป็นลักษณะงานประจำ (Routine) ได้

Teruki และคณะ^[8] ได้ทำการศึกษาและพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารที่เป็นอนุพันธ์ของแอมเฟตามีน 7 ชนิดและอนุพันธ์ของคาทิโนน 1 ชนิด โดยใช้เครื่อง GC – MS ใช้ระบบ temperature program สำหรับสภาวะของเครื่อง GC ที่ใช้คือ

Column	:	HP-35 MS (100 % dimethylpolysiloxane)
Length	:	30 m, ID 0.25 mm
Film thickness	:	0.25 um
Carrier gas	:	Helium, low rate 1ml/min
Mode	:	split mode, split ratio (1:1)
Oven	:	initial at 60 °C for 1 min and increased at a rate of 20.0 °C/min to 280 °C hold final temperature for 10 min
Inject	:	200 °C
MS source Temp. (EID):	:	250
Mass spectra mode	:	full scan mode
Analysis time	:	22 min

จากงานวิจัยนี้สามารถแยกสารที่เป็นอนุพันธ์ของแอมเฟตามีน 7 ชนิดและอนุพันธ์ของคาทิโนน 1 ชนิดได้ ภายในเวลาประมาณ 22 นาที ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถใช้ตรวจวิเคราะห์ทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ ทั้งนี้วิธีที่พัฒนาขึ้นมานี้เหมาะสมที่จะนำไปประยุกต์ใช้สำหรับการตรวจค้นหาและควบคุมตัวยาใหม่ๆ จำพวก Designer drugs

5. สารมาตรฐานภายใน (Internal standard)

จากการศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับองค์ประกอบสารแต่ละชนิด รวมถึงจุดเดือดของสาร การละลาย ลักษณะโครงสร้างของสาร เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการเลือกสารมาตรฐานภายใน ดังแสดงในตาราง 3 พบว่าลักษณะโครงสร้างของ Diphenhydramine มีส่วนคล้ายคลึงกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ และเมื่อนำไปวิเคราะห์กับเครื่อง GC แล้วพบว่า พีคของ Diphenhydramine ไม่ไปซ้อนทับกับสารที่สนใจวิเคราะห์และ Diphenhydramine ยังเป็นสารที่ไม่ผิดกฎหมายและเป็นยาในกลุ่มที่ใช้แก้หวัด แก้อาการแพ้ ที่คนส่วนใหญ่นิยมใช้ จึงเลือกที่จะใช้ Diphenhydramine เป็นสารมาตรฐานภายใน

6. ตัวอย่างที่ปราศจากสารที่ต้องการวิเคราะห์ (Sample blank)

ตัวอย่างเม็ดยาที่มีองค์ประกอบทางตำรับยาเม็ดเช่นเดียวกับยาเสพติดในกลุ่มแอมเฟตามีน และคาทิโนน แต่ไม่มีตัวยาเสพติดที่ออกฤทธิ์ผสมอยู่มีเพียงสารคาเฟอีน ที่เป็นส่วนผสมหลักในเม็ดยา

7. การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation)

7.1 ความหมายของ Method Validation

การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์ (Method validation) คือ กระบวนการที่พิสูจน์ว่าวิธีวิเคราะห์มีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้วิเคราะห์ตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการใช้งาน โดยจัดทำหลักฐานที่เป็นรูปธรรมยืนยัน เพื่อแสดงถึงคุณภาพ ระดับความน่าเชื่อถือของการวิเคราะห์ภายใต้เงื่อนไขความจำเพาะของวิธีวิเคราะห์^[22]

7.2 พารามิเตอร์ที่ใช้ในการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ตามมาตรฐานของ United Nations Office On Drugs and Crime :UNODC (Guidance for the Validation of Analytical Methodology and Calibration of Equipment used for Testing of Illicit Drugs in Seized Materials and Biological Specimens)^[17] มีข้อกำหนดว่าก่อนดำเนินการวิเคราะห์ตัวอย่างใดตัวอย่างหนึ่ง วิธีที่พัฒนาขึ้นมานั้นต้องผ่านการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method validation) ที่พัฒนาขึ้น โดยต้องทำการพิจารณาและหาค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ดังนี้

7.2.1 ความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์ (Specificity/ Selectivity)

หมายถึง คุณลักษณะที่แสดงถึงความสามารถของวิธีที่จะตรวจวัดได้เฉพาะสิ่งที่ต้องการตรวจวัดเท่านั้น โดยไม่มีการรบกวนจากสารอื่นที่คุณสมบัติคล้ายกัน หากวิธีที่สามารถทดสอบได้โดยไม่มีการรบกวนจากสารเจือปนทุกระดับ แสดงว่าวิธีนั้นมีความจำเพาะเจาะจงสูง

เกณฑ์การยอมรับ ผลการวิเคราะห์ต้องตรวจไม่พบ interference ที่ตำแหน่งเดียวกันกับสารที่ต้องการตรวจวัด

7.2.2 ขีดจำกัดความเข้มข้นที่ต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (Limit of Detection : LOD)

หมายถึง การทดสอบหาระดับความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของการวิเคราะห์เชิงคุณภาพได้

เกณฑ์การยอมรับ สามารถคำนวณได้จากสัญญาณ Signal to noise ratio เท่ากับ 3:1

7.2.3 ขีดจำกัดความเข้มข้นที่ต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of Quantitative : LOQ)

หมายถึง การทดสอบหาระดับความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณได้

เกณฑ์การยอมรับ สามารถคำนวณได้จากสัญญาณ Signal to noise ratio เท่ากับ 10:1

7.2.4 ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity and working range)

หมายถึง ช่วงความเข้มข้นของการวิเคราะห์ โดยช่วงความเป็นเส้นตรงจะแสดงในรูปของกราฟมาตรฐานที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ความเข้มข้นของสารและอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ใต้กราฟของสารที่ต้องการตรวจวัดกับสารมาตรฐานภายใน (Area ratio) โดยความเข้มข้นที่ใช้เป็นจุดมาตรฐาน ต้องไม่ต่ำกว่า 6 ความเข้มข้น

เกณฑ์การยอมรับ ผลที่ได้จะแสดงค่าเป็น correlation coefficient (r) ซึ่งต้องมีค่าไม่ต่ำกว่า 0.990

7.2.5 ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (Precision)

หมายถึง เป็นคุณลักษณะที่แสดง ความสามารถในการวิเคราะห์ ตัวอย่างซ้ำหลายๆครั้ง แล้วผลที่ได้ ให้ผลที่ใกล้เคียงกัน

เกณฑ์การยอมรับ โดยการทดสอบความแม่นยำภายในวันเดียวกัน และระหว่างวัน ซึ่งผลที่ได้ จะแสดงเป็นค่า %RSD ต้องไม่เกิน 15 % และที่ความเข้มข้นที่ LOQ ต้องไม่เกิน 20%

7.2.6 ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Accuracy)

หมายถึง เป็นคุณลักษณะที่แสดงว่าผลการวิเคราะห์มีค่าเข้าใกล้ค่าจริงหรืออ้างอิงหรือค่าที่ยอมรับ โดยการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์สารเทียบกับค่าจริง

เกณฑ์การยอมรับ สำหรับการหาค่าความถูกต้องจะหาในตัวพารามิเตอร์ร้อยละการกลับคืน (% Recovery) ซึ่งค่า %recovery ต้องอยู่ในช่วง 85-115 % ส่วนความเข้มข้นที่ LOQ ต้องอยู่ในช่วง 80-120 %

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

1. อุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมี (Material, Instruments and Reagents)

1.1 สารมาตรฐาน

- Amphetamine HCl	(AM)	Lipomed, Switzerland
- Methamphetamine HCl	(MA)	Lipomed, Switzerland
- N,N-Dimethylamphetamine HCl	(DA)	Lipomed, Switzerland
- N-Ethylamphetamine HCl	(EA)	Lipomed, Switzerland
- Paramethoxyamphetamine HCl	(PMA)	Lipomed, Switzerland
- Paramethoxymethamphetamine HCl	(PMMA)	Lipomed, Switzerland
- Methylenedioxyamphetamine HCl	(MDA)	Lipomed, Switzerland
- Methylenedioxymethamphetamine HCl	(MDMA)	Lipomed, Switzerland
- Methylenedioxyethylamphetamine HCl	(MDEA)	Lipomed, Switzerland
- 2,5-Dimethoxyamphetamine HCl	(DMA)	Lipomed, Switzerland
- 3,4,5-Trimethoxyamphetamine	(TMA)	Lipomed, Switzerland
- 1,3-Benzodioxolyl-N-methylbutanamine HCl (MBDB)		Lipomed, Switzerland
- Cathinone HCl	(CN)	Lipomed, Switzerland
- Methcathinone HCl	(MCN)	Lipomed, Switzerland
- Mephedrone HCl	(MD)	Lipomed, Switzerland
- Methylone HCl	(ML)	Lipomed, Switzerland
- Butylone HCl	(BL)	Lipomed, Switzerland
- Flephedrone	(FMC)	Lipomed, Switzerland
- 3,4-Methylenedioxypyrovalerone HCl	(MDPV)	Lipomed, Switzerland
- Caffeine	(CAF)	Lipomed, Switzerland
- Diphenhydramine	(DP)	Lipomed, Switzerland

1.2 สารเคมีอื่นๆ ที่ใช้

- Methanol (analytical grade) Merck, Germany
- Helium >99.999 % Air Liquide, Thailand
- Hydrogen >99.999 % Air Liquide, Thailand
- Air zero (oxygen 21 %) Air Liquide, Thailand

1.3 วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือ

- เครื่อง GC รุ่น Clarus 600 Perkin elmer, Massachusetts, USA
Detector (Frame Ionization Detector: FID)
- Stationary phase Agilent, USA
(HP-5 5% diphenyl dimethylpolysiloxane)
- เครื่องชั่ง 5 ตำแหน่ง Mettler Toledo, Germany
- เครื่อง Sonicate Benchtop ultrasonic cleaner, Taiwan
- Micropipette 100-1000 μ l Transferpette[®], Germany

1.4 สารละลายที่เตรียมเพื่อใช้สำหรับการทดลอง

1.4.1 เตรียม stock สารละลายมาตรฐานแต่ละชนิดที่ความเข้มข้นประมาณ 0.4 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 25 มิลลิลิตร (ทั้งหมดมี 21 ชนิด รวม สารมาตรฐานภายในและ caffeine)

ซึ่งสารมาตรฐานแต่ละชนิดประมาณ 10 มิลลิกรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นละลายด้วยเมทานอล 10 มิลลิลิตร นำไป sonicate นานประมาณ 5 นาที แล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอลให้ครบ 25 มิลลิลิตร

1.4.2. เตรียมสารละลายมาตรฐานผสม ทั้ง 21 ชนิด

ปิเปตต์สารละลายมาตรฐานเดี่ยว ที่เตรียมไว้ในข้อ 1.4.1 มาอย่างละ 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอลให้ครบ 25 มิลลิลิตร จะทำให้ได้สารละลายมาตรฐานผสมทั้ง 21 ชนิด แต่ละชนิดความเข้มข้นประมาณ 1.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

1.4.3. เตรียมสารละลายมาตรฐานผสม ทั้ง 19 ชนิด (ไม่เติมสารมาตรฐานภายใน)

ปิเปตต์สารละลายมาตรฐานเดี่ยว ที่เตรียมไว้ในข้อ 1.4.1 มาอย่างละ 10 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร ขนาด 250 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอล

ให้ครบ 250 มิลลิลิตร จะทำให้ได้สารละลายมาตรฐานผสมทั้ง 19 ชนิด ความเข้มข้นประมาณ 1.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

1.4.4 เตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น ต่างๆ

เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมที่ความเข้มข้นต่างๆ จำนวน 6 ความเข้มข้น เพื่อใช้เป็น standard curve โดยทำการปิเปตต์สารละลายมาตรฐานผสม ข้อ 1.4.3 มาทำการเจือจางตามลำดับดังนี้

ความเข้มข้นจุดที่ 1 ปิเปตต์สารละลายมาตรฐานผสม ข้อ 1.4.3 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร และปิเปตต์สารละลายมาตรฐาน Diphenhydramine ที่เตรียมในข้อ 1.4.1 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรด้วย เมทานอลให้ครบ 10 มิลลิลิตร

ความเข้มข้นจุดที่ 2 ปิเปตต์สารละลายมาตรฐานผสม ข้อ 1.4.3 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร และปิเปตต์สารละลายมาตรฐาน Diphenhydramine ที่เตรียมในข้อ 1.4.1 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรด้วย เมทานอลให้ครบ 10 มิลลิลิตร

ความเข้มข้นจุดที่ 3 ปิเปตต์สารละลายมาตรฐานผสม ข้อ 1.4.3 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร และปิเปตต์สารละลายมาตรฐาน Diphenhydramine ที่เตรียมในข้อ 1.4.1 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรด้วย เมทานอลให้ครบ 10 มิลลิลิตร

ความเข้มข้นจุดที่ 4 ปิเปตต์สารละลายมาตรฐานผสม ข้อ 1.4.3 ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร และปิเปตต์สารละลายมาตรฐาน Diphenhydramine ที่เตรียมในข้อ 1.4.1 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรด้วย เมทานอลให้ครบ 10 มิลลิลิตร

ความเข้มข้นจุดที่ 5 ปิเปตต์สารละลายมาตรฐานผสม ข้อ 1.4.3 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร และปิเปตต์สารละลายมาตรฐาน Diphenhydramine ที่เตรียมในข้อ 1.4.1 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรด้วย เมทานอลให้ครบ 10 มิลลิลิตร

ความเข้มข้นจุดที่ 6 ปิเปตต์สารละลายมาตรฐานผสม ข้อ 1.4.3 ปริมาตร 6 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร และปิเปตต์สารละลายมาตรฐาน Diphenhydramine ที่เตรียมในข้อ 1.4.1 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรด้วย เมทานอลให้ครบ 10 มิลลิลิตร

2. วิธีการทดลอง (Method)

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณอนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและคาติโนน ในตัวอย่างยาเสพติด แบ่งออกเป็น 3 ส่วนได้แก่

- 1) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสม ในการแยกสาร
- 2) ศึกษาวิธีการสกัดอนุพันธ์แอมเฟตามีนและคาติโนน ในตัวอย่างเม็ดยา
- 3) ตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นโดยประเมินผลตามเกณฑ์การยอมรับของ United Nations Office On Drugs and Crime :UNODC

2.1. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของ oven ที่ใช้ในการวิเคราะห์อนุพันธ์ของแอมเฟตามีน และอนุพันธ์ของคาติโนน รวมทั้งหมด 19 ชนิด

จากการทบทวนวรรณกรรมหาโปรแกรมอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองในงานวิจัยทั้งอนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาติโนนที่ผ่านมา แล้วนำมาทดลองใช้ในงานวิจัยนี้ โดยการนำสารมาตรฐานแต่ละชนิดที่เตรียมที่ความเข้มข้นประมาณ 0.4 mg/ml (ข้อ 1.4.1) มาฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี ทั้งหมด 3 ระบบ จากนั้นนำผลที่ได้มาวิเคราะห์โดยการนำ Chromatogram ของสารแต่ละชนิดมา Overlay กัน จะทราบได้ว่าสารแต่ละชนิดมี retention time ที่เท่าไร มีสารอะไรบ้างที่ซ้อนทับกัน แล้วนำสารผสมในข้อ 1.4.2 มาทดลองฉีดด้วยเครื่อง GC โดยฉีดทั้งหมด 3 ระบบ เช่นเดียวกับสารเดี่ยว

สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์

Column	:	HP-5 5% diphenyl dimethylpolysiloxane
Length	:	30 m., ID 0.32 mm
Film Thickness	:	0.25 μ m
Detector	:	Flame ionization detector (FID)
Detector temp.	:	300 °C
Carrier gas	:	Helium (flow 3.0 ml/min)
Injector temp.	:	280 °C
Split ratio	:	30:1
Sample size	:	1.0 μ L

วิธีที่ 1 Name : Method-1-Blagoj^[5]

Oven, 135 °C (2 min) then 285 °C (2 min) rate 12.5 °C/min

Analysis time 16 min

วิธีที่ 2 Name : Method-2Niamh^[7]

Oven 90 °C (1 min) then 300 °C (2 min) rate 8 °C/min

Analysis time 29.25 min

วิธีที่ 3 Name : METHOD-3-Teruki^[8]

Oven 60 °C (1 min) then 280 °C (2 min) rate 20 °C/min

Analysis time 14.00 min

2.2 การศึกษาวิธีการสกัดอนุพันธ์แอมเฟตามีนและคาทีโนนในตัวอย่างเม็ดยาเสพติด**2.2.1 วิธีการเตรียมตัวอย่าง**

วิธีการเตรียมตัวอย่างได้จากวิธีการสกัดเม็ดยาของ Blagoj Mitrevaki และ Zoran Zdravkovski^[5] โดยชั่งตัวอย่างเม็ดยาที่บดแล้ว 1 มิลลิกรัม ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร เติม Diphenhydramine ที่เตรียมในข้อ 1.4.1 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เป็นสารมาตรฐานภายใน แล้วเติมเมทานอล 5 มิลลิลิตร นำไป sonicate นานประมาณ 3-5 นาที จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 10 มิลลิลิตรด้วยเมทานอล

2.2.2 การทดสอบค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืนของวิธีการสกัด (%Recovery)

การทดสอบหาค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืนของวิธีการสกัดเป็นการบ่งบอกถึงประสิทธิภาพของวิธีการสกัด ซึ่งแสดงเป็นค่า % recovery ของการสกัด เกณฑ์การยอมรับค่า %recovery นั้น ต้องอยู่ในช่วง 85-115 %

วิธีการทดสอบให้ spike สารมาตรฐานผสมในข้อ 1.4.3 ลงใน sample blank ที่ความเข้มข้นทั้งหมด 3 ความเข้มข้น คือ สูง กลาง ต่ำ โดยเตรียมทั้งหมด 15 ตัวอย่าง (ความเข้มข้นละ 5 ตัวอย่าง) จากนั้นทำการสกัดตัว sample blank เหมือนขั้นตอนในข้อ 2.2.1

วิธีคำนวณ^[17]

$$\% \text{recovery (การสกัด)} = ([A1/A2] / [A3/A4]) \times 100$$

For the extract sample

A1 = peak area of analyte

A2 = peak area of internal standard

For standard solution

A3 = peak area of analyte

A4 = peak area of internal standard

2.3 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นโดยประเมินผลตามเกณฑ์การยอมรับ ของ United Nations Office On Drugs and Crime :UNODC^[17,22]

2.3.1 การศึกษาความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์ (Specificity/ Selectivity)

ทำการสกัดและวิเคราะห์สารเสพติดใน sample blank ด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นจำนวน 10 ตัวอย่าง แต่ละตัวอย่างผลที่ได้ต้องตรวจไม่พบว่ามี interference ที่เวลาเดียวกับสารที่ต้องการวิเคราะห์

2.3.2 การหาค่าขีดจำกัดความเข้มข้นที่ต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ (Limit of Detection : LOD and Limit of Quantitative : LOQ)

ทำการสกัดและวิเคราะห์สารเสพติดใน sample blank ด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นที่ระดับความเข้มข้นที่ LOD และ LOQ จำนวนความเข้มข้นละ 10 ตัวอย่าง นำผลที่ได้มาคำนวณหาค่าสัญญาณ Signal to noise ratio ซึ่งที่ความเข้มข้น LOD จะต้องได้ Signal to noise ratio มากกว่าหรือเท่ากับ 3 และที่ความเข้มข้น LOQ จะต้องได้ Signal to noise ratio มากกว่าหรือเท่ากับ 10 และ %recovery ของ LOQ ต้องอยู่ในช่วง 80-120% และ %RSD ไม่เกิน 20%

2.3.3 การตรวจสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity and working range)

ทำการสกัดและวิเคราะห์สารเสพติดใน sample blank ด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นที่ระดับความเข้มข้นจำนวน 6 ความเข้มข้น แล้วหาความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานกับอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ใต้กราฟของสารและพื้นที่ใต้กราฟของ internal standard และใช้ regression equation คำนวณหาค่า correlation coefficient (r) ซึ่งค่า r ต้องไม่ต่ำกว่า 0.990

2.3.4 การตรวจสอบความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ (Precision)

ทำการสกัดและวิเคราะห์สารเสพติดใน sample blank ด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นที่ระดับความเข้มข้นของสารมาตรฐานจำนวน 6 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 10 ตัวอย่าง ภายในวันเดียวกัน และระหว่างวัน (จำนวน 3 วัน) นำผลที่ได้มาคำนวณหาค่า %RSD (ไม่เกิน 15%)

2.3.5 การตรวจสอบความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (Accuracy)

ทำการสกัดและวิเคราะห์สารเสพติดใน sample blank ด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นที่ระดับความเข้มข้นของสารมาตรฐานจำนวน 3 ความเข้มข้น (สูง กลาง ต่ำ) ความเข้มข้นละ 10 ตัวอย่าง ผลที่ได้มาคำนวณหาค่า %recovery (85-115%)

2.4 การวิเคราะห์ตัวอย่างเม็ดยาจริง

ชั่งตัวอย่างเม็ดยาที่บดละเอียดแล้วประมาณ 0.1-0.3 มิลลิกรัม ลงในขวดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร เติม Diphenhydramine ที่เตรียมในข้อ 1.4.1 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เป็นสารมาตรฐานภายใน แล้วเติมเมทานอล 5 มิลลิลิตร นำไป sonicate นานประมาณ 3-5 นาที จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 10 มิลลิลิตรด้วยเมทานอล กรองตัวอย่างด้วยกระดาษกรองแล้วฉีดเข้าเครื่อง GC

บทที่ 4

ผลการทดลอง

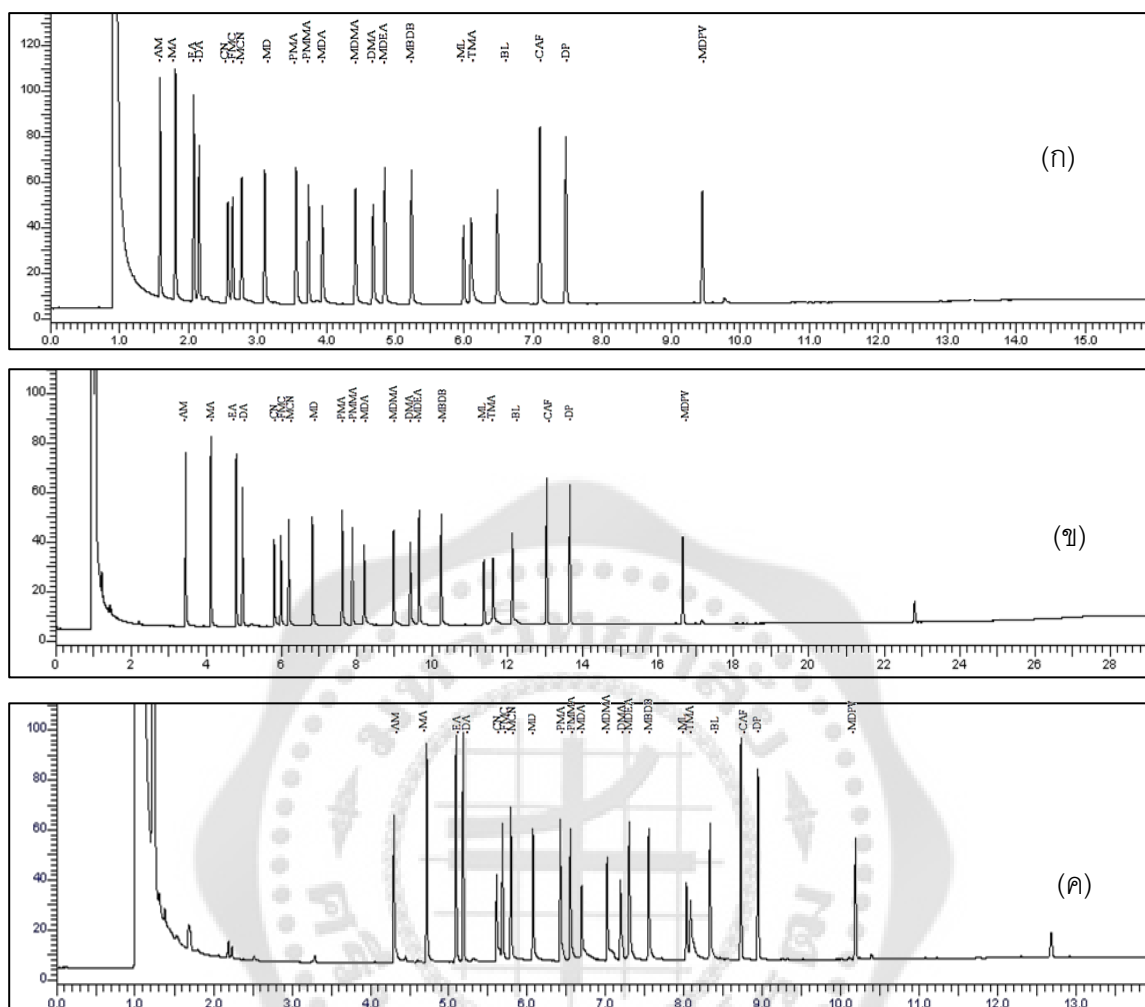
1. ผลการศึกษาสภาวะของเครื่อง GC ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์

1.1 ผลการศึกษาสภาวะของ Oven

จากการศึกษาสภาวะของ oven ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารที่เป็นอนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทิโนน ทั้ง 19 ชนิด โดยมี diphenhydramine เป็นสารมาตรฐานภายใน ซึ่งได้ทดลองวิเคราะห์โดยใช้สภาวะของ oven ที่แตกต่างกันทั้งหมด 3 สภาวะ ซึ่งผลการทดลองพบว่าความสามารถวิเคราะห์สาร แต่ละสภาวะให้ผลที่แตกต่างกัน คือทั้ง 3 สภาวะ สามารถวิเคราะห์สารทั้ง 19 ชนิดได้ โดยสภาวะที่ 2 สามารถแยกสารทั้ง 19 ชนิดออกจากกันได้ดีที่สุด โดยตรงตำแหน่งที่มีพีคใกล้เคียงกันมากที่สุด คือ ตำแหน่ง EA กับ DA, CN กับ FMC และ ML กับ TMA ได้ทำการพิจารณาค่า resolution ของพีคทั้ง 6 พีค ในแต่ละสภาวะเพื่อเลือกวิธีที่ดีที่สุด ผลพบว่า ในสภาวะที่ 2 นั้นช่วงตรงตำแหน่ง ตำแหน่ง EA กับ DA, CN กับ FMC และ ML กับ TMA ให้ค่า resolution ที่สูงกว่าสภาวะที่ 1 และ สภาวะ 3 แสดงว่า สภาวะที่ 2 สามารถแยกสารดังกล่าวได้ดีกว่า รายละเอียดค่า resolution ดังตาราง 6 และใช้เวลาทั้งหมดในการวิเคราะห์ 29.25 นาที ดังภาพประกอบ 6

ตาราง 6 แสดงการเปรียบเทียบค่า resolution ของสาร EA, DA, CN, FMC, ML และ TMA ในแต่ละสภาวะ

สภาวะ Oven	ค่า Resolution		
	EA กับ DA	CN กับ FMC	ML กับ TMA
สภาวะที่ 1 <u>Blagoj</u> ^[5]	1.00	0.78	1.60
สภาวะที่ 2 <u>Niamh</u> ^[7]	1.89	2.00	1.92
สภาวะที่ 3 <u>Teruki</u> ^[8]	0.90	0.78	0.40



ภาพประกอบ 6 แสดงโครมาโตแกรมจากการวิเคราะห์สารทั้ง 20 ชนิด (ก) สภาวะที่ 1 (ข) สภาวะที่ 2 และ (ค) ระบบที่ 3

จากนั้นนำสภาวะที่ 2 มาพัฒนาต่อ โดยลดเวลา Hold ที่อุณหภูมิ และลดอุณหภูมิช่วงสุดท้ายให้ต่ำลงทำให้สามารถวิเคราะห์ได้โดยใช้เวลาในการวิเคราะห์เพียง 19.5 นาที ซึ่งน้อยกว่าระบบที่ 2

ในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารที่เป็นอนุพันธ์ของแอมเฟตามีน และอนุพันธ์ของคาทิโนน ทั้งหมด 19 ชนิด โดยใช้ diphenhydramine เป็นสารมาตรฐานภายในนั้น ระบบสุดท้ายที่สามารถวิเคราะห์ได้ดีที่สุด คือระบบที่ใช้สภาวะดังนี้

Column	:	HP-5 5% diphenyl dimethylpolysiloxane
Length	:	30 m., ID 0.32 mm
Film Thickness	:	0.25 μ m
Detector	:	Flame ionization detector (FID)

Detector temp.	:	300 °C
Carrier gas	:	Helium (flow 3.0 ml/min)
Injector temp.	:	280 °C
Sample size	:	2.0 µL
Oven	:	Initial 90 °C (1 min) then 230 °C (1 min) rate 8 °C/min
Analysis time	:	19.5 min

1.2 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของ Split ratio

จากการศึกษาสภาวะของ Split Ratio ที่เหมาะสม ในการวิเคราะห์ที่เป็นอนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทีโนน ทั้งหมด 19 ชนิด โดยทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานผสมที่มีความเข้มข้นสูง (9.6 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และความเข้มข้นต่ำ (1.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) โดยใช้ระบบที่พัฒนาแล้วแต่ต่างกันที่ Split ratio พบว่า Split ratio ที่ดีที่สุดต้องให้ช่วงของ %RSD ที่ต่ำ ซึ่งจากการทดลองพบว่าช่วง Split ratio 10:1 ทั้งความเข้มข้นต่ำ (1.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และความเข้มข้นสูง (9.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ให้ช่วง %RSD ที่ต่ำกว่า Split ratio อื่น รายละเอียดดังตาราง 7

ตาราง 7 แสดงช่วงของ %RSD ในสภาวะที่มีค่า Split ratio ที่แตกต่างกัน (n=5)

Split ratio	range of % RSD	
	Low Conc.(1.6 µg/ml)	High conc. (9.6 µg/ml)
10:1	1.28-7.29	0.39-3.89
15:1	0.62-27.91	1.28-40.02
20:1	1.36-65.54	0.44-12.66
25:1	1.88-21.27	0.39-18.25
30:1	1.97-27.61	1.25-17.69

ดังนั้น จากการศึกษาสภาวะของเครื่อง GC ทั้ง Oven และ Split ratio สรุปได้ว่าสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์สารที่เป็นอนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทิโนน ทั้ง 19 ชนิด ที่ดีที่สุด มีสภาวะดังนี้

Column	:	HP-5 5% diphenyl dimethylpolysiloxane
Length	:	30 m., ID 0.32 mm
Film Thickness	:	0.25 μ m
Detector	:	Flame ionization detector (FID)
Detector temp.	:	300 °C
Carrier gas	:	Helium (flow 3.0 ml/min)
Injector temp.	:	280 °C
Split ratio	:	10:1
Sample size	:	2.0 μ L
Oven	:	Initial 90 °C (1 min) then 230 °C (1 min) rate 8 °C/min
Analysis time	:	19.5 min

ตาราง 8 แสดงการเปรียบเทียบรายละเอียดของแต่ละวิธี

Method	Runtime (min)	Column	Carrier gas/ flow rate	Injection mode	จำนวนสารที่ สามารถแยกได้
<u>Method-1-</u> <u>Blagoj</u> ^[5]	16.00	SPB-50, 15 m, ID 0.32 mm 0.50 μ m	Hydrogen/ Flow rate 3.2ml/min	Splittless	อนุพันธ์ของแอมเฟ ตามีน 6 ชนิด
<u>Method-2-</u> <u>Niamh</u> ^[7]	29.25	HP5 MS, 30 m, ID 0.25 mm 0.25 μ m	Helium / flow rate 1ml/min	split mode , split ratio (75:1)	อนุพันธ์ของคาทิ โนน 16 ชนิด

ตาราง 8 (ต่อ)

Method	Runtime (min)	Column	Carrier gas/ flow rate	Injection mode	จำนวนสารที่ สามารถแยกได้
<u>Method-3- Teruki</u> ^[8]	14.00	HP-35 MS, 30 m, ID 0.25 mm 0.25 μ m	Helium / flow rate 1ml/min	split mode , split ratio (1:1)	อนุพันธ์ของแอม เฟตามีน 7 ชนิด และคาทิโนน 1 ชนิด
<u>Method-4- Kosumpan*</u>	19.50	HP-5, 30 m ID 0.32 mm 0.25 μ m	Helium / flow 3.0 ml/min	split mode , split ratio (10:1)	อนุพันธ์ของแอม เฟตามีน 12 ชนิด และคาทิโนน 7 ชนิด

* วิธีที่พัฒนา

2. ผลการศึกษาวิธีการสกัดอนุพันธ์แอมเฟตามีนและคาทิโนน ในตัวอย่างเม็ดยา

การศึกษาระสิทธิภาพของวิธีการสกัดสารที่เป็นอนุพันธ์แอมเฟตามีนและคาทิโนนในตัวอย่างเม็ดยานั้น ทำการศึกษาโดยคำนวณค่าร้อยละการกลับคืนของวิธีการสกัด (%Recovery) ซึ่งค่าร้อยละการกลับคืนของวิธีการสกัดของสารทั้งหมด 19 ชนิด โดยใช้ Diphenhydramine เป็นสารมาตรฐานภายใน และทำการสกัดทั้งหมด 3 ความเข้มข้น ผลที่ได้คือ ที่ความเข้มข้นต่ำ (1.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) มีค่าร้อยละการกลับคืนของวิธีการสกัดอยู่ในช่วง 96.25-114.25 % ที่ความเข้มข้นกลาง (4.80 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) มีค่าร้อยละการกลับคืนของวิธีการสกัดอยู่ในช่วง 89.92-107.81 % และที่ความเข้มข้นสูง (9.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) มีค่าร้อยละการกลับคืนของวิธีการสกัดอยู่ในช่วง 94.05-111.29 % ซึ่งร้อยละการกลับคืนของวิธีการสกัดอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับของ UNODC คือ ค่าร้อยละการกลับคืนของวิธีการสกัด (%Recovery (สกัด)) อยู่ในช่วง 85-115 % รายละเอียดแสดงดังตาราง 9

ตาราง 9 แสดงค่า %Recovery (การสกัด) ในแต่ละความเข้มข้น

สาร	%Recovery (การสกัด) ในแต่ละความเข้มข้น					
	1.6 ug/ml (ต่ำ)	%RSD	4.8 ug/ml (กลาง)	%RSD	9.6 ug/ml (สูง)	%RSD
AM	101.26	5.28	102.12	1.69	110.16	1.66
MA	106.16	2.77	97.93	5.92	109.32	0.93
EA	106.17	0.81	100.72	5.31	110.77	0.78
DA	112.42	1.62	103.04	2.47	107.44	1.14
PMA	96.25	3.36	93.43	2.18	106.32	1.83
PMMA	111.29	3.72	106.97	2.18	99.27	2.74
MDA	98.80	4.51	101.98	3.04	94.05	2.40
MDMA	97.03	3.07	100.07	1.26	99.95	0.93
DMA	100.40	5.49	101.91	1.84	100.54	6.75
MDEA	100.03	3.34	98.19	0.75	109.37	3.70
MBDB	91.04	4.48	89.92	2.13	108.10	1.17
TMA	95.98	5.35	94.65	3.06	96.33	4.76
CN	102.14	5.39	103.05	5.61	111.29	4.42
FMC	104.78	5.48	99.19	1.97	108.27	3.09
MCN	109.20	4.28	98.21	1.74	107.77	1.63
MD	100.37	4.52	101.14	3.54	98.65	0.83
ML	109.35	5.85	104.72	1.73	106.12	0.70
BL	114.25	6.06	107.81	2.48	102.96	0.81
MDPV	99.69	6.55	105.21	0.69	101.90	0.85

ตาราง 10 (ต่อ)

สารที่ ตรวจวัด	R_t	พื้นที่ใต้กราฟ Sample blank (n=10)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
TMA	11.71	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
CN	5.87	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
FMC	6.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
MCN	6.25	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
MD	6.88	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
ML	11.49	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
BL	12.25	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
MDPV	16.83	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

3.2 ขีดจำกัดความเข้มข้นที่ต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ (Limit of Detection : LOD and Limit of Quantitation : LOQ)

จากการศึกษาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารในกลุ่มที่เป็นอนุพันธ์ของแอมเฟตามีน และอนุพันธ์ของคาทิโนน พบว่าความเข้มข้นที่ประมาณ 0.80 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ให้ค่า S/N มากกว่าหรือเท่ากับ 3 คือ สารที่ให้ค่า S/N น้อยที่สุดที่ความเข้มข้น 0.80 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ได้แก่ Cathinone (CN) ให้ค่า S/N เท่ากับ 3.70 ± 0.24 และสารที่ให้ค่า S/N มากที่สุดที่ความเข้มข้น 0.80 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ได้แก่ Methamphetamine (MA) ให้ค่า S/N เท่ากับ 40.02 ± 13.01 และที่ความเข้มข้นสารในกลุ่มที่เป็นอนุพันธ์ของแอมเฟตามีน และอนุพันธ์ของคาทิโนน พบว่าความเข้มข้นที่ประมาณ 1.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ให้ค่า S/N มากกว่าหรือเท่ากับ 10 คือสารที่ให้ค่า S/N น้อยที่สุดที่ความเข้มข้น 1.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ได้แก่ Cathinone (CN) ให้ค่า S/N เท่ากับ 12.41 ± 1.61 และสารที่ให้ค่า S/N มากที่สุดที่ความเข้มข้น 1.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ได้แก่ Ethylamphetamine (EA) ให้ค่า S/N เท่ากับ 80.66 ± 10.55

จึงสรุปได้ว่า การพัฒนานิ่ววิเคราะห์นี้ให้ขีดจำกัดความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (LOD) อยู่ที่ความเข้มข้นประมาณ 0.8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และขีดจำกัดความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (LOQ) อยู่ที่ความเข้มข้นประมาณ 1.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร รายละเอียดแสดงดังตาราง 11 และตาราง 12

ตาราง 11 แสดงค่า S/N ของความเข้มข้นที่ LOD

Peak Name	Retention time (R _t)	Concentration (µg/ml)	S/N ± SD	%RSD
AM	3.48	0.9008	17.31 ± 7.12	41.14
MA	4.14	0.9304	40.02 ± 13.01	32.51
EA	4.81	0.8696	35.19 ± 14.72	41.82
DA	4.98	0.8400	36.78 ± 11.94	32.46
CN	5.84	0.8220	3.70 ± 0.24	6.48
FMC	5.99	0.8344	16.24 ± 5.75	35.40
MCN	6.20	0.8420	16.90 ± 5.82	34.43
MD	6.83	0.8360	12.18 ± 4.16	34.09
PMA	7.62	0.8120	27.54 ± 8.88	32.09
PMMA	7.89	0.7960	14.39 ± 4.79	33.28
MDA	8.21	0.8000	9.31 ± 2.86	30.68
MDMA	8.98	0.8744	22.87 ± 7.54	32.99
DMA	9.43	0.8272	10.60 ± 4.27	40.26
MDEA	9.65	0.8808	29.62 ± 9.50	32.06
MBDB	10.24	0.8336	29.17 ± 9.06	31.05
ML	11.38	0.9540	6.69 ± 2.24	33.52
TMA	11.62	0.8152	7.31 ± 2.65	36.25
BL	12.13	0.8540	15.87 ± 5.51	34.72
MDPV	16.66	0.8660	22.08 ± 7.10	32.14

ตาราง 12 แสดงค่า S/N ของความเข้มข้นที่ LOQ

Peak name	Retention time (R _t)	Concentraion (µg/ml)	S/N±SD.	%RSD
AM	3.48	1.8016	58.51 ± 7.49	12.79
MA	4.14	1.8608	79.93 ± 7.81	9.77
EA	4.81	1.7392	80.66 ± 10.55	13.08
DA	4.98	1.6800	71.19 ± 9.17	12.88
CN	5.84	1.6440	12.41 ± 1.61	13.00
FMC	5.99	1.6688	37.91 ± 3.13	8.25
MCN	6.20	1.6840	39.90 ± 5.35	13.42
MD	6.83	1.6720	37.61 ± 4.43	11.77
PMA	7.62	1.6240	59.69 ± 6.83	11.44
PMMA	7.89	1.5920	37.42 ± 4.96	13.25
MDA	8.21	1.6000	29.46 ± 3.77	12.81
MDMA	8.98	1.7488	49.94 ± 5.66	11.34
DMA	9.43	1.6544	32.78 ± 4.45	13.57
MDEA	9.65	1.7616	60.42 ± 6.68	11.06
MBDB	10.24	1.6672	58.48 ± 6.82	11.66
ML	11.38	1.9080	19.32 ± 2.63	13.64
TMA	11.62	1.6304	22.82 ± 3.28	14.40
BL	12.13	1.7080	36.98 ± 5.13	13.88
MDPV	16.66	1.7320	45.47 ± 4.76	10.47

3.3 ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity and working range)

ในการวิเคราะห์สารเชิงปริมาณ วิธีที่นิยมใช้เพื่อลดความคลาดเคลื่อนคือ วิธีการวิเคราะห์แบบ Internal standard และในการวิจัยครั้งนี้ได้ทำการศึกษาทั้งหมด 6 ความเข้มข้น คือ ที่ความเข้มข้นประมาณ 1.60, 3.20, 4.80, 6.40, 8.00 และ 9.6 µg ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นนำข้อมูลที่ได้สร้างกราฟเพื่อหาความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นไมโครกรัม/มิลลิลิตร (แกน X) และอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ใต้กราฟของสารกับพื้นที่ใต้กราฟของสารมาตรฐานภายใน (แกน Y) ซึ่งจะได้

กราฟของสารแต่ละชนิดรวมทั้งหมด 19 กราฟ โดยใช้ Diphenhydramine เป็นสารมาตรฐานภายใน และคำนวณหาค่า correlation coefficient (r) ซึ่งพบว่าสมการเส้นตรงทั้ง 19 กราฟ มีค่า r อยู่ในช่วง 0.9980-0.9998 ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับของ UNODC คือ ให้ค่า r ต้องไม่ต่ำกว่า 0.990 รายละเอียดแสดงดัง ตาราง 13

ตาราง 13 แสดงสมการเส้นตรงและค่า r ของสารแต่ละชนิด

สารที่ตรวจวัด	linear equation	r^2	r
AM	$Y = 0.1772x - 0.0859$	0.9995	0.9997
MA	$Y = 0.1974x - 0.0106$	0.9977	0.9988
EA	$Y = 0.2142x - 0.0665$	0.9993	0.9996
DA	$Y = 0.1974x - 0.0747$	0.9961	0.9980
CN	$Y = 0.1316x - 0.1855$	0.9959	0.9979
FMC	$Y = 0.1311x - 0.0453$	0.9979	0.9989
MCN	$Y = 0.1578x - 0.1013$	0.9956	0.9978
MD	$Y = 0.1603x - 0.0625$	0.9988	0.9994
PMA	$Y = 0.1897x - 0.0083$	0.9986	0.9993
PMMA	$Y = 0.1578x - 0.0754$	0.9997	0.9998
MDA	$Y = 0.1432x - 0.0623$	0.9985	0.9992
MDMA	$Y = 0.1531x - 0.0122$	0.9994	0.9997
DMA	$Y = 0.1499x - 0.0621$	0.9976	0.9988
MDEA	$Y = 0.1752x - 0.0246$	0.9993	0.9996
MBDB	$Y = 0.1763x + 0.0001$	0.9990	0.9995
ML	$Y = 0.1031x - 0.0924$	0.9969	0.9984
TMA	$Y = 0.1410x - 0.0868$	0.9994	0.9997
BL	$Y = 0.1507x - 0.0707$	0.9973	0.9986
MDPV	$Y = 0.1512x - 0.0343$	0.9969	0.9984

3.4 ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ (Precision)

ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารเสพติดในตัวอย่างยาเสพติด แสดงด้วยค่า %RSD ของอนุพันธ์แอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทีโนน ในยาเสพติด สำหรับการวิเคราะห์ในวันเดียวกัน (Intraday Precision) จำนวน 3 วัน ที่ความเข้มข้นของอนุพันธ์แอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทีโนนที่ เท่ากับ 1.60 , 3.20, 4.80, 6.40, และ 9.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ โดยมีค่า %RSD ของสารแต่ละชนิด ที่แต่ละความเข้มข้น และผลการวิเคราะห์ความแม่นยำระหว่างวัน (Between-day Precision) ที่ความเข้มข้นของอนุพันธ์แอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทีโนนที่ เท่ากับ 1.60 , 3.20, 4.80, 6.40, 8.00 และ 9.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับดังนี้

ที่ความเข้มข้น 1.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร วันที่ 1 สารที่ให้ค่า %RSD น้อยที่สุดคือ 3,4-Methylenedioxypyrovalerone (MDPV) ค่า %RSD เท่ากับ 0.88 และสารที่ให้ค่า %RSD มากที่สุดคือ Methamphetamine (MA) ค่า %RSD เท่ากับ 4.70 วันที่ 2 สารที่ให้ค่า %RSD น้อยที่สุดคือ 3,4-Methylenedioxypyrovalerone (MDPV) ค่า %RSD เท่ากับ 0.88 และสารที่ให้ค่า %RSD มากที่สุดคือ Butylone (BL) ค่า %RSD เท่ากับ 5.41 และวันที่ 3 สารที่ให้ค่า %RSD น้อยที่สุดคือ 3,4-Methylenedioxypyrovalerone (MDPV) ค่า %RSD เท่ากับ 0.87 และสารที่ให้ค่า %RSD มากที่สุดคือ Methylone (ML) ค่า %RSD เท่ากับ 5.44

ที่ความเข้มข้น 3.20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร วันที่ 1 สารที่ให้ค่า %RSD น้อยที่สุดคือ Mephedrone (MD) ค่า %RSD เท่ากับ 0.70 และสารที่ให้ค่า %RSD มากที่สุดคือ Cathinone (CN) ค่า %RSD เท่ากับ 3.38 วันที่ 2 สารที่ให้ค่า %RSD น้อยที่สุดคือ 3,4-Methylenedioxypyrovalerone (MDPV) ค่า %RSD เท่ากับ 0.64 และสารที่ให้ค่า %RSD มากที่สุดคือ Cathinone (CN) ค่า %RSD เท่ากับ 5.34 และวันที่ 3 สารที่ให้ค่า %RSD น้อยที่สุดคือ 3,4-Methylenedioxyethylamphetamine (MDEA) ค่า %RSD เท่ากับ 0.91 และสารที่ให้ค่า %RSD มากที่สุดคือ Cathinone (CN) ค่า %RSD เท่ากับ 3.89

ที่ความเข้มข้น 4.80 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร วันที่ 1 สารที่ให้ค่า %RSD น้อยที่สุดคือ 3,4-Methylenedioxypyrovalerone (MDPV) ค่า %RSD เท่ากับ 0.31 และสารที่ให้ค่า %RSD มากที่สุดคือ Fephedrone (FMC) ค่า %RSD เท่ากับ 7.02 วันที่ 2 สารที่ให้ค่า %RSD น้อยที่สุดคือ 1,3-Benzodioxolyl-*N*-methylbutanamine (MBDB) ค่า %RSD เท่ากับ 0.57 และสารที่ให้ค่า %RSD มากที่สุดคือ Fephedrone (FMC) ค่า %RSD เท่ากับ 7.22 และวันที่ 3 สารที่ให้ค่า %RSD น้อยที่สุดคือ 1,3-Benzodioxolyl-*N*-methylbutanamine (MBDB) ค่า %RSD เท่ากับ 0.49 และสารที่ให้ค่า %RSD มากที่สุดคือ Fephedrone (FMC) ค่า %RSD เท่ากับ 7.17

ที่ความเข้มข้น 6.40 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร วันที่ 1 สารที่ให้ค่า %RSD น้อยที่สุดคือ 3,4-Methylenedioxyethylamphetamine (MDEA) ค่า %RSD เท่ากับ 0.27 และสารที่ให้ค่า %RSD มากที่สุด คือ Cathinone (CN) ค่า %RSD เท่ากับ 3.50 วันที่ 2 สารที่ให้ค่า %RSD น้อยที่สุดคือ 3,4-Methylenedioxyethylamphetamine (MDEA) ค่า %RSD เท่ากับ 0.47 และสารที่ให้ค่า %RSD มากที่สุด คือ Butylone (BL) ค่า %RSD เท่ากับ 3.96 และวันที่ 3 สารที่ให้ค่า %RSD น้อยที่สุดคือ 3,4-Methylenedioxyethylamphetamine (MDEA) ค่า %RSD เท่ากับ 0.40 และสารที่ให้ค่า %RSD มากที่สุด คือ Cathinone (CN) ค่า %RSD เท่ากับ 3.75

ที่ความเข้มข้น 8.00 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร วันที่ 1 สารที่ให้ค่า %RSD น้อยที่สุดคือ 3,4-Methylenedioxyethylamphetamine (MDEA) ค่า %RSD เท่ากับ 0.69 และสารที่ให้ค่า %RSD มากที่สุด คือ Dimethylamphetamine (DA) ค่า %RSD เท่ากับ 6.09 วันที่ 2 สารที่ให้ค่า %RSD น้อยที่สุดคือ 1,3-Benzodioxolyl-*N*-methylbutanamine (MBDB) ค่า %RSD เท่ากับ 0.43 และสารที่ให้ค่า %RSD มากที่สุด คือ Dimethylamphetamine (DA) ค่า %RSD เท่ากับ 6.25 และวันที่ 3 สารที่ให้ค่า %RSD น้อยที่สุดคือ 3,4-Methylenedioxymethylamphetamine (MDMA) ค่า %RSD เท่ากับ 0.44 และสารที่ให้ค่า %RSD มากที่สุด คือ Dimethylamphetamine (DA) ค่า %RSD เท่ากับ 6.25

ที่ความเข้มข้น 9.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร วันที่ 1 สารที่ให้ค่า %RSD น้อยที่สุดคือ Cathinone (CN) ค่า %RSD เท่ากับ 1.26 และสารที่ให้ค่า %RSD มากที่สุด คือ 3,4,5-Trimethoxyamphetamine (TMA) ค่า %RSD เท่ากับ 5.59 วันที่ 2 สารที่ให้ค่า %RSD น้อยที่สุดคือ Dimethylamphetamine (DA) ค่า %RSD เท่ากับ 1.79 และสารที่ให้ค่า %RSD มากที่สุด คือ 3,4,5-Trimethoxyamphetamine (TMA) ค่า %RSD เท่ากับ 4.85 และวันที่ 3 สารที่ให้ค่า %RSD น้อยที่สุดคือ Cathinone (CN) 1.63 ค่า %RSD เท่ากับ 0.44 และสารที่ให้ค่า %RSD มากที่สุด คือ 3,4,5-Trimethoxyamphetamine (TMA) ค่า %RSD เท่ากับ 5.56

สรุปแล้วจากข้อมูล %RSD ที่ทุกความเข้มข้น พบว่าค่า %RSD ของแต่ละวัน แต่ลดความเข้มข้นของแต่ละสาร ผ่านเกณฑ์การยอมรับของ UNODC คือ %RSD ไม่เกิน 15% รายละเอียดค่า %RSD ของสารแต่ละชนิด แสดงดังตาราง 14-19

3.5 ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (Accuracy)

ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารเสพติดในตัวอย่างยาเสพติด แสดงด้วยค่าร้อยละการกลับคืนมา (%Recovery) ของอนุพันธ์แอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทิโนน ในยาเสพติดที่ความเข้มข้นของอนุพันธ์แอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทิโนนที่ประมาณ 2.40, 5.60 และ 8.80 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ โดยมีค่า %Recovery ของสารแต่ละชนิด ที่แต่ละความเข้มข้น ต้องอยู่

ในช่วง 85-115 % และผลการวิเคราะห์ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์อนุพันธ์แอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทีโนน ในยาเสพติด พบว่าค่า

ที่ความเข้มข้น 2.40 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สารที่ให้ค่า %Recovery น้อยที่สุด คือ Ethylamphetamine (EA) ค่า %Recovery เท่ากับ 86.41 ± 0.83 , %RSD เท่ากับ 0.96 และสารที่ให้ค่า %Recovery มากที่สุด คือ 3,4-Methylenedioxypyrovalerone (MDPV) ค่า %Recovery เท่ากับ 111.04 ± 1.37 , %RSD เท่ากับ 1.24

ที่ความเข้มข้น 5.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สารที่ให้ค่า %Recovery น้อยที่สุด คือ Methcathinone (MCN) ค่า %Recovery เท่ากับ 87.69 ± 0.94 , %RSD เท่ากับ 1.08 และสารที่ให้ค่า %Recovery มากที่สุด คือ Methylone (ML) ค่า %Recovery เท่ากับ 110.77 ± 1.35 , %RSD เท่ากับ 1.22

ที่ความเข้มข้น 8.80 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สารที่ให้ค่า %Recovery น้อยที่สุด คือ Methcathinone (MCN) ค่า %Recovery เท่ากับ 93.31 ± 2.11 , %RSD เท่ากับ 2.26 และสารที่ให้ค่า %Recovery มากที่สุด คือ Mephedrone (MD) ค่า %Recovery เท่ากับ 112.38 ± 1.27 , %RSD เท่ากับ 1.13

สรุปแล้วจากข้อมูลค่าร้อยละการกลับคืน (%Recovery) และค่า %RSD ของสารแต่ละชนิด ในแต่ละความเข้มข้น ผ่านเกณฑ์การยอมรับของ UNODC คือ ค่า %Recovery อยู่ในช่วง 85-115 % และค่า %RSD ไม่เกิน 15% รายละเอียดค่า %Recovery และ ค่า %RSD ของสารแต่ละชนิด แสดงดังตาราง 20

ตาราง 14 แสดงค่าความแม่นยำของการวิเคราะห์หาคอนเซนตรेशनของคาพิโนนที่ความเข้มข้นประมาณ 1.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในตัวอย่างยาเสพติด (n=10) ในวันเดียวกันและระหว่างวัน จำนวน 3 วัน

Peak Name	Day 1			Day 2			Day 3		
	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD
AM	1.7770	98.63 $\pm$ 2.94	2.99	1.8331	101.75 $\pm$ 2.73	2.68	1.7687	98.17 $\pm$ 2.91	2.96
MA	1.7816	98.64 $\pm$ 4.64	4.70	1.8061	100.00 $\pm$ 4.63	4.63	1.8029	99.82 $\pm$ 3.75	3.75
EA	1.7382	99.94 $\pm$ 3.37	3.38	1.7520	100.73 $\pm$ 3.07	3.05	1.7406	100.08 $\pm$ 4.42	4.42
DA	1.7872	106.38 $\pm$ 3.08	2.89	1.7813	106.03 $\pm$ 3.46	3.27	1.7780	105.83 $\pm$ 3.22	3.05
CN	1.6207	98.59 $\pm$ 3.09	3.14	1.6673	101.42 $\pm$ 3.50	3.45	1.6002	97.34 $\pm$ 4.76	4.89
FMC	1.5832	94.87 $\pm$ 3.99	4.21	1.5905	95.31 $\pm$ 3.89	4.08	1.5841	94.92 $\pm$ 4.12	4.34
MCN	1.7125	101.69 $\pm$ 2.26	2.22	1.7437	103.54 $\pm$ 3.07	2.97	1.7219	102.25 $\pm$ 2.71	2.65
MD	1.6998	101.66 $\pm$ 2.98	2.93	1.7600	105.26 $\pm$ 3.01	2.86	1.7911	107.12 $\pm$ 3.98	3.95
PMA	1.6230	99.94 $\pm$ 1.50	1.50	1.6522	101.73 $\pm$ 1.98	1.93	1.6159	99.50 $\pm$ 0.91	0.91
PMMA	1.6498	103.63 $\pm$ 2.79	2.69	1.6810	105.59 $\pm$ 2.77	2.63	1.6659	104.64 $\pm$ 2.23	2.13
MDA	1.5409	96.30 $\pm$ 3.35	3.48	1.5774	98.59 $\pm$ 2.79	2.83	1.5047	94.04 $\pm$ 2.28	2.42
MDMA	1.7367	99.31 $\pm$ 1.80	1.82	1.7553	100.37 $\pm$ 1.23	1.23	1.7261	98.70 $\pm$ 1.46	1.48
DMA	1.5188	91.80 $\pm$ 3.09	3.37	1.5712	94.97 $\pm$ 2.36	2.48	1.5371	92.91 $\pm$ 3.75	4.03

ตาราง 14 (ต่อ)

Peak Name	Day 1			Day 2			Day 3		
	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD
MDEA	1.7507	99.38 $\pm$ 1.40	1.41	1.7562	99.69 $\pm$ 1.57	1.57	1.7679	100.36 $\pm$ 1.55	1.54
MBDB	1.8293	109.72 $\pm$ 1.07	0.97	1.8379	110.24 $\pm$ 1.09	0.99	1.8259	109.52 $\pm$ 1.25	1.14
ML	2.0155	105.63 $\pm$ 3.37	3.19	2.0696	108.47 $\pm$ 4.62	4.26	1.9717	103.34 $\pm$ 5.63	5.44
TMA	1.5155	92.96 $\pm$ 3.43	3.69	1.5724	96.44 $\pm$ 2.52	2.61	1.5191	93.17 $\pm$ 1.74	1.86
BL	1.5530	90.92 $\pm$ 3.19	3.51	1.5974	93.52 $\pm$ 5.06	5.41	1.5322	89.70 $\pm$ 2.19	2.44
MDPV	1.7836	102.98 $\pm$ 0.91	0.88	1.7909	103.40 $\pm$ 0.91	0.88	1.7866	103.15 $\pm$ 0.90	0.87

ตาราง 15 แสดงค่าความแม่นยำของการวิเคราะห์ห่อนุพันธ์แอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทีโนนที่ความเข้มข้นประมาณ 3.20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในตัวอย่าง ยาเสพติด (n=10) ในวันเดียวกันและระหว่างวัน จำนวน 3 วัน

Peak Name	Day 1			Day 2			Day 3		
	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD
AM	3.5203	97.70 $\pm$ 2.33	2.39	3.5458	98.41 $\pm$ 2.17	2.21	3.5434	98.34 $\pm$ 3.29	3.35
MA	3.6175	97.20 $\pm$ 2.55	2.62	3.6339	97.64 $\pm$ 2.69	2.76	3.6341	97.65 $\pm$ 3.83	3.92
EA	3.4215	98.37 $\pm$ 2.40	2.44	3.4322	98.67 $\pm$ 2.79	2.83	3.4342	98.73 $\pm$ 3.02	3.05
DA	3.3203	98.82 $\pm$ 2.87	2.91	3.3293	99.09 $\pm$ 2.78	2.81	3.3296	99.10 $\pm$ 3.44	3.47
CN	3.0204	91.86 $\pm$ 3.11	3.38	3.2268	98.14 $\pm$ 5.25	5.34	2.9918	90.99 $\pm$ 3.54	3.89
FMC	3.2471	97.29 $\pm$ 3.15	3.23	3.3139	99.29 $\pm$ 2.62	2.64	3.2357	96.95 $\pm$ 3.14	3.24
MCN	3.0965	91.94 $\pm$ 2.22	2.41	3.1164	92.53 $\pm$ 1.79	1.93	3.0943	91.87 $\pm$ 1.73	1.89
MD	3.3005	98.70 $\pm$ 0.69	0.70	3.3345	99.72 $\pm$ 1.51	1.52	3.2761	97.97 $\pm$ 1.46	1.49
PMA	3.2092	98.81 $\pm$ 0.75	0.76	3.2237	99.25 $\pm$ 0.84	0.85	3.1913	98.25 $\pm$ 1.27	1.30
PMMA	3.1385	98.57 $\pm$ 1.83	1.85	3.1917	100.24 $\pm$ 2.15	2.15	3.1392	98.59 $\pm$ 2.04	2.07
MDA	3.0814	96.29 $\pm$ 1.49	1.55	3.1597	98.74 $\pm$ 1.91	1.93	3.0596	95.61 $\pm$ 1.01	1.06
MDMA	3.4851	99.64 $\pm$ 0.81	0.81	3.4979	100.01 $\pm$ 1.03	1.03	3.4845	99.62 $\pm$ 1.08	1.09
DMA	3.1510	95.23 $\pm$ 1.95	2.05	3.1815	96.15 $\pm$ 2.11	2.20	3.0943	93.52 $\pm$ 2.20	2.35

ตาราง 15 (ต่อ)

Peak Name	Day 1			Day 2			Day 3		
	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD
MDEA	3.4963	99.24 $\pm$ 0.88	0.88	3.5063	99.52 $\pm$ 0.96	0.97	3.5063	99.52 $\pm$ 0.91	0.91
MBDB	3.5682	107.01 $\pm$ 0.93	0.87	3.5851	107.52 $\pm$ 1.20	1.11	3.5672	106.98 $\pm$ 1.21	1.13
ML	3.6976	96.90 $\pm$ 1.64	1.69	3.7227	97.56 $\pm$ 1.87	1.91	3.7126	97.29 $\pm$ 1.66	1.70
TMA	3.0498	93.53 $\pm$ 2.21	2.36	3.1327	96.07 $\pm$ 2.03	2.12	3.0406	93.25 $\pm$ 1.92	2.06
BL	3.1693	92.78 $\pm$ 1.82	1.96	3.2764	95.91 $\pm$ 2.71	2.83	3.1231	91.43 $\pm$ 1.80	1.97
MDPV	3.4633	99.98 $\pm$ 0.78	0.78	3.4662	100.06 $\pm$ 0.64	0.64	3.4877	100.68 $\pm$ 1.09	1.08

ตาราง 16 แสดงค่าความแม่นยำของการวิเคราะห์หาค่าอนุพันธ์แอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทีโนนที่ความเข้มข้นประมาณ 4.80 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในตัวอย่างยาเสพติด (n=10) ในวันเดียวกันและระหว่างวัน จำนวน 3 วัน

Peak Name	Day 1			Day 2			Day 3		
	Measured value	%Recovery ±SD	%RSD	Measured value	%Recovery ±SD	%RSD	Measured value	%Recovery ±SD	%RSD
AM	5.3129	98.30±3.02	3.07	5.3814	99.57±2.57	2.58	5.3580	99.13±3.12	3.24
MA	5.5255	98.98±2.72	2.75	5.5932	100.19±2.31	2.31	5.5217	98.91±2.52	2.55
EA	5.1902	99.48±2.91	2.92	5.2130	99.91±2.66	2.67	5.1918	99.51±2.84	2.85
DA	4.9653	98.52±3.45	3.51	4.9715	98.64±3.43	3.48	4.9621	98.45±3.33	3.39
CN	4.6520	94.32±3.10	3.29	4.8786	98.92±4.60	4.65	4.5937	93.14±3.08	3.31
FMC	4.9150	98.17±6.88	7.02	4.9886	99.94±7.19	7.22	4.9290	98.45±7.06	7.17
MCN	4.5755	90.57±2.72	3.01	4.5946	90.95±2.49	2.73	4.5651	90.36±2.62	2.90
MD	4.9277	98.24±1.67	1.70	4.9787	99.26±1.48	1.49	4.9007	97.70±1.42	1.45
PMA	4.8266	99.07±0.88	0.89	4.8622	99.80±1.07	1.07	4.8160	98.85±0.77	0.78
PMMA	4.6872	98.14±2.84	2.90	4.7098	98.61±2.74	2.78	4.6889	98.18±2.46	2.50
MDA	4.7453	98.86±1.19	1.20	4.8193	100.40±1.77	1.76	4.7035	97.99±1.23	1.26
MDMA	5.3077	101.17±0.74	0.73	5.3185	101.37±0.70	0.69	5.2918	100.87±1.74	1.72
DMA	4.8113	96.94±1.54	1.58	4.9051	98.83±1.27	1.29	4.7767	96.24±1.99	2.07

ตาราง 16 (ต่อ)

Peak Name	Day 1			Day 2			Day 3		
	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD
MDEA	5.2866	100.03 $\pm$ 0.56	0.56	5.2956	100.20 $\pm$ 0.58	0.58	5.2967	100.23 $\pm$ 0.67	0.67
MBDB	5.3722	107.41 $\pm$ 0.51	0.47	5.3886	107.74 $\pm$ 0.61	0.57	5.3695	107.36 $\pm$ 0.52	0.49
ML	5.5389	96.77 $\pm$ 2.40	2.48	5.5425	96.83 $\pm$ 2.76	2.85	5.5123	96.30 $\pm$ 2.84	2.94
TMA	4.6767	95.62 $\pm$ 2.42	2.53	4.7730	97.58 $\pm$ 1.50	1.53	4.6345	94.75 $\pm$ 2.84	2.99
BL	4.7845	93.37 $\pm$ 1.89	2.02	4.9381	96.37 $\pm$ 3.53	3.66	4.7897	93.47 $\pm$ 1.66	1.78
MDPV	5.2121	100.31 $\pm$ 0.31	0.31	5.1939	99.96 $\pm$ 1.69	1.69	5.2244	100.55 $\pm$ 0.51	0.50

ตาราง 17 แสดงค่าความแม่นยำของการวิเคราะห์ห่อนุพันธ์แอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทีโนนที่ความเข้มข้นประมาณ 6.40 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในตัวอย่าง ยาเสพติด (n=10) ในวันเดียวกันและระหว่างวัน จำนวน 3 วัน

Peak Name	Day 1			Day 2			Day 3		
	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD
AM	7.1391	99.07 $\pm$ 1.44	1.45	7.2044	99.97 $\pm$ 1.49	1.49	7.1777	99.60 $\pm$ 1.49	1.50
MA	7.4655	100.30 $\pm$ 1.53	1.53	7.4864	100.58 $\pm$ 1.91	1.90	7.4630	100.27 $\pm$ 1.56	1.56
EA	6.9526	99.94 $\pm$ 1.87	1.87	6.9499	99.90 $\pm$ 1.96	1.96	6.9419	99.79 $\pm$ 1.89	1.89
DA	6.5875	98.03 $\pm$ 2.26	2.30	6.5847	97.99 $\pm$ 2.44	2.49	6.6138	98.42 $\pm$ 2.10	2.13
CN	6.5808	100.07 $\pm$ 3.50	3.50	6.7368	102.44 $\pm$ 1.49	1.45	6.5020	98.87 $\pm$ 3.72	3.75
FMC	6.7186	100.65 $\pm$ 2.71	2.69	6.7623	101.31 $\pm$ 2.61	2.57	6.6936	100.28 $\pm$ 2.66	2.65
MCN	6.0627	90.00 $\pm$ 1.82	2.02	6.1012	90.58 $\pm$ 1.71	1.88	6.0314	89.54 $\pm$ 1.33	1.48
MD	6.5463	97.88 $\pm$ 0.75	0.76	6.5915	98.56 $\pm$ 0.91	0.92	6.5266	97.59 $\pm$ 0.76	0.77
PMA	6.5006	100.07 $\pm$ 0.90	0.90	6.5134	100.28 $\pm$ 1.29	1.28	6.4923	99.94 $\pm$ 0.99	0.99
PMMA	6.2812	98.64 $\pm$ 1.32	1.34	6.3007	98.94 $\pm$ 1.35	1.36	6.2608	98.32 $\pm$ 1.45	1.47
MDA	6.3225	98.79 $\pm$ 0.97	0.98	6.4370	100.58 $\pm$ 1.47	1.47	6.3034	98.49 $\pm$ 0.98	1.00
MDMA	7.0905	101.99 $\pm$ 1.24	1.21	7.1300	102.56 $\pm$ 1.01	0.98	7.0749	101.77 $\pm$ 1.32	1.29
DMA	6.4966	98.17 $\pm$ 1.29	1.32	6.6349	100.26 $\pm$ 3.86	3.85	6.3861	96.50 $\pm$ 1.32	1.36

ตาราง 17 (ต่อ)

Peak Name	Day 1			Day 2			Day 3		
	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD
MDEA	7.0562	100.14 $\pm$ 0.27	0.27	7.0492	100.04 $\pm$ 0.47	0.47	7.0439	99.96 $\pm$ 0.40	0.40
MBDB	7.1060	106.56 $\pm$ 0.47	0.44	7.1096	106.61 $\pm$ 0.58	0.54	7.0919	106.34 $\pm$ 0.55	0.52
ML	7.4141	97.14 $\pm$ 0.78	0.81	7.4436	97.53 $\pm$ 0.75	0.77	7.4035	97.01 $\pm$ 0.86	0.89
TMA	6.3306	97.21 $\pm$ 1.06	1.09	6.3870	98.07 $\pm$ 1.27	1.29	6.2566	96.07 $\pm$ 1.88	1.96
BL	6.6048	96.68 $\pm$ 2.88	2.98	6.8871	100.81 $\pm$ 3.99	3.96	6.5478	95.84 $\pm$ 1.64	1.72
MDPV	6.9197	99.88 $\pm$ 0.58	0.58	6.9033	99.64 $\pm$ 0.52	0.53	6.9135	99.79 $\pm$ 0.74	0.75

ตาราง 18 แสดงค่าความแม่นยำของการวิเคราะห์หาคอนเซนตรेशनของคาพิโนนที่ความเข้มข้นประมาณ 8.00 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในตัวอย่างยาเสพติด (n=10) ในวันเดียวกันและระหว่างวัน จำนวน 3 วัน

Peak Name	Day 1			Day 2			Day 3		
	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD
AM	8.9467	99.32 $\pm$ 4.20	4.23	9.0217	100.15 $\pm$ 4.45	4.44	8.9824	99.72 $\pm$ 4.15	4.16
MA	9.4796	101.89 $\pm$ 4.27	4.19	9.5235	102.36 $\pm$ 4.33	4.23	9.5297	102.43 $\pm$ 4.51	4.40
EA	8.8313	101.56 $\pm$ 4.37	4.30	8.8620	101.91 $\pm$ 4.10	4.02	8.8603	101.89 $\pm$ 4.20	4.13
DA	8.4876	101.04 $\pm$ 6.16	6.09	8.5170	101.39 $\pm$ 6.36	6.27	8.5159	101.38 $\pm$ 6.33	6.25
CN	7.9613	96.85 $\pm$ 5.51	5.69	7.9965	97.28 $\pm$ 5.01	5.15	7.9864	97.16 $\pm$ 5.44	5.60
FMC	8.4764	101.59 $\pm$ 5.92	5.83	8.5663	102.66 $\pm$ 6.03	5.87	8.5556	102.54 $\pm$ 6.19	6.03
MCN	7.6387	90.72 $\pm$ 2.68	2.96	7.6170	90.46 $\pm$ 3.46	3.82	7.6927	91.36 $\pm$ 2.50	2.73
MD	8.0489	96.28 $\pm$ 1.10	1.15	8.0977	96.86 $\pm$ 1.32	1.36	8.0694	96.52 $\pm$ 1.15	1.19
PMA	7.9581	98.01 $\pm$ 1.21	1.24	7.9456	97.85 $\pm$ 0.81	0.83	7.9381	97.76 $\pm$ 0.79	0.80
PMMA	7.7100	96.86 $\pm$ 2.99	3.09	7.7473	97.33 $\pm$ 3.15	3.23	7.7228	97.02 $\pm$ 2.93	3.02
MDA	7.8011	97.51 $\pm$ 1.76	1.80	7.8519	98.15 $\pm$ 1.29	1.31	7.8476	98.09 $\pm$ 1.74	1.78
MDMA	8.7136	99.65 $\pm$ 0.70	0.71	8.7594	100.18 $\pm$ 0.45	0.45	8.7503	100.07 $\pm$ 0.44	0.44
DMA	8.0519	97.34 $\pm$ 1.44	1.48	8.1004	97.93 $\pm$ 0.82	0.84	8.1124	98.07 $\pm$ 1.28	1.30

ตาราง 18 (ต่อ)

Peak Name	Day 1			Day 2			Day 3		
	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD
MDEA	8.7486	99.33 $\pm$ 0.68	0.69	8.7607	99.46 $\pm$ 0.70	0.70	8.7423	99.25 $\pm$ 0.71	0.72
MBDB	8.7704	105.21 $\pm$ 0.86	0.82	8.7889	105.43 $\pm$ 0.45	0.43	8.7955	105.51 $\pm$ 0.50	0.47
ML	8.7595	91.82 $\pm$ 3.01	3.28	8.8729	93.01 $\pm$ 2.49	2.67	8.7904	92.14 $\pm$ 2.86	3.11
TMA	7.8873	96.75 $\pm$ 1.92	1.98	8.0850	99.18 $\pm$ 1.73	1.75	7.9494	97.51 $\pm$ 1.95	2.00
BL	7.8293	91.68 $\pm$ 1.78	1.94	8.2418	96.51 $\pm$ 4.01	4.16	8.1491	95.42 $\pm$ 3.55	3.72
MDPV	8.3753	96.71 $\pm$ 1.40	1.45	8.3802	96.77 $\pm$ 1.47	1.52	8.37	96.70 $\pm$ 1.46	1.51

ตาราง 19 แสดงค่าความแม่นยำของการวิเคราะห์ห่อนุพันธ์แอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทิโนนที่ความเข้มข้นประมาณ 9.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในตัวอย่างยาเสพติด (n=10) ในวันเดียวกันและระหว่างวัน จำนวน 3 วัน

Peak Name	Day 1			Day 2			Day 3		
	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD
AM	11.3071	104.60 $\pm$ 2.62	2.50	11.3631	105.12 $\pm$ 2.74	2.60	11.2787	104.34 $\pm$ 2.85	2.73
MA	11.4662	102.70 $\pm$ 2.80	2.73	11.4818	102.84 $\pm$ 2.53	2.46	11.4382	102.45 $\pm$ 3.03	2.96
EA	10.8028	103.52 $\pm$ 2.83	2.73	10.8317	103.80 $\pm$ 2.64	2.54	10.7714	103.22 $\pm$ 3.08	2.99
DA	10.5712	104.87 $\pm$ 2.00	1.91	10.5595	104.76 $\pm$ 1.87	1.79	10.5633	104.79 $\pm$ 2.34	2.24
CN	10.9148	110.65 $\pm$ 2.39	1.26	11.0148	111.67 $\pm$ 2.67	2.39	10.9011	110.51 $\pm$ 1.81	1.63
FMC	10.2103	101.97 $\pm$ 1.87	1.83	10.3552	103.42 $\pm$ 2.80	2.70	10.1478	101.35 $\pm$ 2.03	2.01
MCN	9.2425	91.47 $\pm$ 2.12	2.32	9.2809	91.85 $\pm$ 2.20	2.40	9.2130	91.18 $\pm$ 2.53	2.78
MD	10.6474	106.13 $\pm$ 2.73	2.57	10.6274	105.93 $\pm$ 2.46	2.32	10.5813	105.48 $\pm$ 3.05	2.89
PMA	10.2825	105.53 $\pm$ 3.29	3.12	10.3469	106.19 $\pm$ 2.93	2.76	10.2505	105.20 $\pm$ 3.13	2.98
PMMA	10.2201	106.99 $\pm$ 2.85	2.66	10.2273	107.07 $\pm$ 2.96	2.77	10.1802	106.58 $\pm$ 3.26	3.06
MDA	10.0762	104.96 $\pm$ 3.34	3.19	10.2245	106.51 $\pm$ 3.67	3.45	10.0921	105.13 $\pm$ 4.11	3.91
MDMA	11.0440	105.25 $\pm$ 3.73	3.54	11.0856	105.65 $\pm$ 3.38	3.20	10.9820	104.66 $\pm$ 3.65	3.49
DMA	10.3732	104.50 $\pm$ 3.97	3.80	10.4786	105.56 $\pm$ 3.53	3.34	10.3495	104.26 $\pm$ 3.89	3.73

ตาราง 19 (ต่อ)

Peak Name	Day 1			Day 2			Day 3		
	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD	Measured value	%Recovery $\pm$ SD	%RSD
MDEA	11.0404	104.45 $\pm$ 3.58	3.43	11.0455	104.50 $\pm$ 3.26	3.12	11.0168	104.23 $\pm$ 3.46	3.32
MBDB	9.9132	99.10 $\pm$ 4.21	4.25	10.5108	105.07 $\pm$ 2.64	2.51	10.4600	104.57 $\pm$ 3.40	3.25
ML	11.3991	99.57 $\pm$ 4.96	4.98	12.7279	111.18 $\pm$ 2.11	1.90	12.5765	109.86 $\pm$ 1.91	1.74
TMA	9.9497	101.71 $\pm$ 5.68	5.59	10.0307	102.54 $\pm$ 1.98	4.85	9.7745	99.92 $\pm$ 5.56	5.56
BL	10.4028	101.51 $\pm$ 4.31	4.24	10.6250	103.68 $\pm$ 3.54	3.41	10.5472	102.92 $\pm$ 3.56	3.46
MDPV	11.0911	106.73 $\pm$ 3.09	2.89	11.0657	106.48 $\pm$ 2.83	2.66	11.0753	106.58 $\pm$ 3.24	3.04

ตาราง 20 แสดงค่า %recovery ของการวิเคราะห์อนุพันธ์แอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทิโนนที่ความเข้มข้นประมาณ 2.40, 5.60 และ 8.80 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในตัวอย่างยาเสพติด (n=10)

Peak Name	2.4 µ/ml			5.6 µ/ml			8.8 µ/ml		
	Measured value	%Recovery ±SD	%RSD	Measured value	%Recovery ±SD	%RSD	Measured value	%Recovery ±SD	%RSD
AM	2.7383	101.33±1.18	1.16	6.3871	101.29±1.57	1.55	10.9520	110.53±1.44	1.31
MA	2.7148	97.26±2.22	2.29	6.3867	98.06±1.27	1.30	11.0488	107.96±1.67	1.54
EA	2.2542	86.41±0.83	0.96	5.6497	92.81±1.30	1.40	9.9927	104.46±1.80	1.73
DA	2.6126	103.82±1.69	1.63	5.7208	97.29±2.43	2.50	10.0694	108.98±2.46	2.26
CN	2.6447	107.25±4.05	3.78	6.0789	105.65±2.66	2.52	9.2546	102.35±3.52	3.44
FMC	2.3501	93.88±3.54	3.77	5.2176	89.33±3.25	3.64	9.5266	103.79±2.89	2.78
MCN	2.3239	92.00±1.63	1.77	5.1685	87.69±0.94	1.08	8.6425	93.31±2.11	2.26
MD	2.7252	108.79±2.40	2.21	6.2151	106.33±1.03	0.97	10.3219	112.38±1.27	1.13
PMA	2.5841	103.08±1.50	1.41	5.9738	105.10±0.98	0.93	9.9181	111.04±1.26	1.14
PMMA	2.6293	110.10±2.11	1.91	5.7652	103.47±1.43	1.38	9.7399	111.24±2.31	2.08
MDA	2.5347	105.61±3.40	3.22	5.9377	106.03±1.06	1.00	9.7764	111.10±1.43	1.29
MDMA	2.7645	105.39±2.77	2.63	6.4603	105.55±1.27	1.20	10.6499	110.72±1.85	1.67
DMA	2.5479	102.67±4.29	4.18	6.1208	105.71±1.16	1.10	10.0631	110.59±1.26	1.14

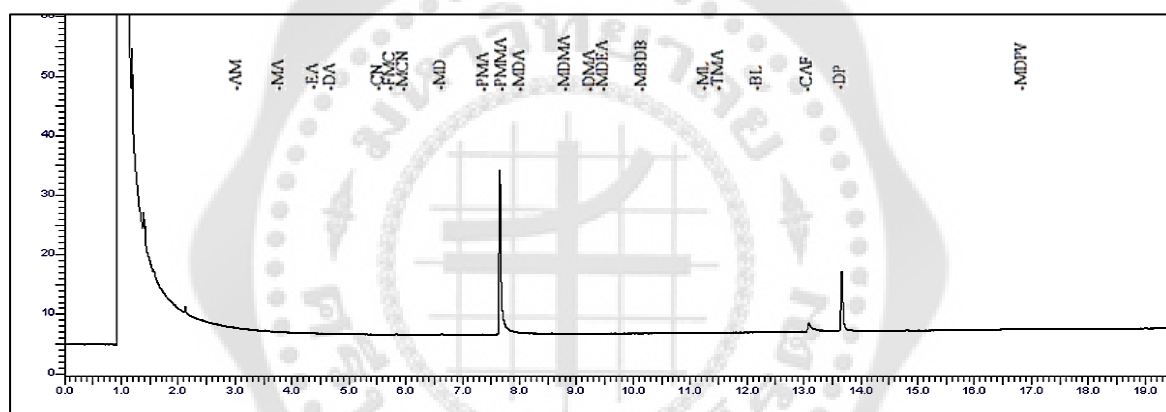
ตารางที่ 20 (ต่อ)

Peak Name	2.4 µ/ml			5.6 µ/ml			8.8 µ/ml		
	Measured value	%Recovery ±SD	%RSD	Measured value	%Recovery ±SD	%RSD	Measured value	%Recovery ±SD	%RSD
MDEA	2.7346	103.49±2.20	2.13	6.3871	103.59±0.99	0.95	10.6041	109.45±1.11	1.01
MBDB	2.3883	95.50±1.97	2.06	5.8414	100.11±0.60	0.59	9.8019	106.90±1.29	1.21
ML	2.6248	104.78±3.14	3.00	7.4052	110.77±1.35	1.22	10.3309	104.02±2.35	2.25
TMA	2.4081	98.47±6.24	6.34	5.9402	104.10±2.82	2.71	9.5732	106.76±2.57	2.40
BL	2.6090	101.83±1.27	1.25	6.0511	101.22±1.11	1.09	10.2844	109.48±3.48	3.18
MDPV	2.8848	111.04±1.37	1.24	6.4759	106.83±1.04	0.97	10.7034	112.36±2.24	1.99

3.6 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างยาเสพติด

การวิเคราะห์ตัวอย่างยาเสพติดชนิดเม็ดที่มีสารออกฤทธิ์ต่างกันจำนวน 7 ตัวอย่าง จาก สถาบันวิชาการและตรวจพิสูจน์ยาเสพติด สำนักงาน ป.ป.ส. โดยผลการวิเคราะห์แต่ละตัวอย่าง พบว่า วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมานั้น สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างเม็ดยาเสพติดได้อย่างจำเพาะเจาะจง รวดเร็ว และมีประสิทธิภาพ โดยให้ค่า %RSD ของแต่ละตัวอย่าง อยู่ในช่วง 0.75-3.55 ซึ่งอยู่ในช่วงการยอมรับของ UNODC รายละเอียดของผลการวิเคราะห์ ดังตารางที่ 19-26 และโครมาโทแกรมของ ตัวอย่างแต่ละตัวอย่างดังภาพประกอบที่ 8-14

ตัวอย่างที่ 1 เม็ดยาทรงกลมแบนสีชมพู ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.8 เซนติเมตร หนา ประมาณ 0.4 เซนติเมตร น้ำหนักสุทธิตัวอย่างเม็ดยา 1 เม็ด เท่ากับ 276.4 มิลลิกรัม

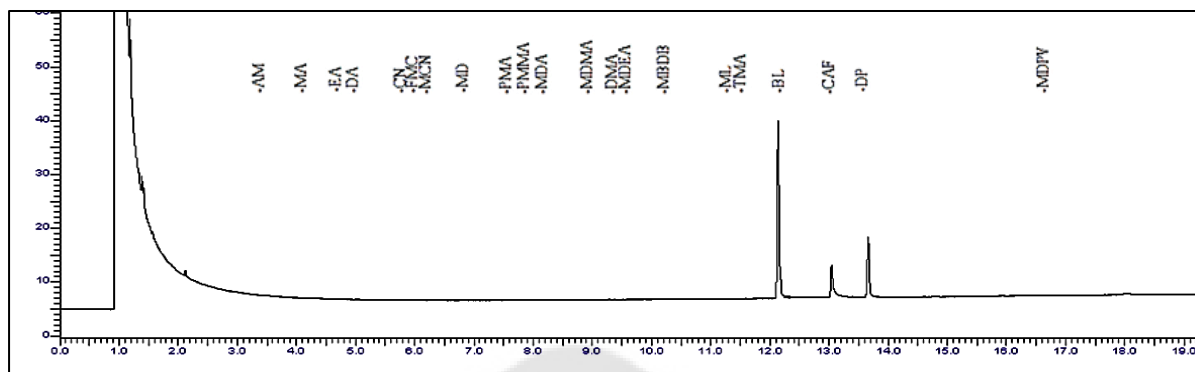


ภาพประกอบ 8 แสดงโครมาโทแกรมของตัวอย่างเม็ดยาเสพติด ตัวอย่างที่ 1

ตาราง 21 แสดงอัตราส่วนระหว่าง PMMA และสารมาตรฐานภายใน ของตัวอย่างที่ 1 (n=3)

ครั้งที่	Area of PMMA	Area of DP	Ratio	%สารบริสุทธิ์	ปริมาณสารบริสุทธิ์ที่ ตรวจพบ/ เม็ด (mg)
1	7006.22	24313.85	0.28816	68.06	188.12
2	6884.52	23937.64	0.28760	67.96	187.83
3	6941.72	23455.29	0.29596	65.60	181.32
ค่าเฉลี่ย			0.29057	67.20	185.75
				SD	3.1382
				%RSD	1.69

ตัวอย่างที่ 2 เม็ดยาทรงกลมแบนสีน้ำตาล ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.8 เซนติเมตร
หนาประมาณ 0.4 เซนติเมตร น้ำหนักสุทธิตัวอย่างเม็ดยา 1 เม็ด เท่ากับ 274.5 มิลลิกรัม

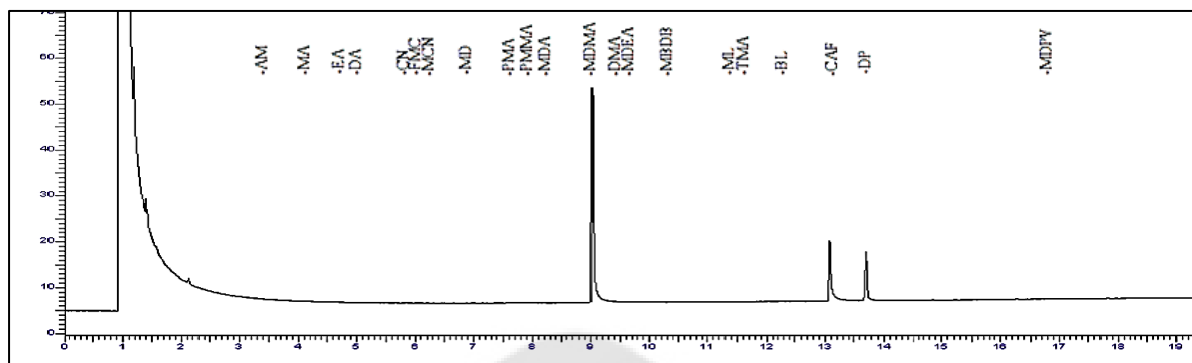


ภาพประกอบ 9 แสดงโครมาโทแกรมของตัวอย่างเม็ดยาเสพติด ตัวอย่างที่ 2

ตาราง 22 แสดงอัตราส่วนระหว่าง Butylone และสารมาตรฐานภายใน ของตัวอย่างที่ 2 (n=3)

ครั้งที่	Area of Butylone	Area of DP	Ratio	%สารบริสุทธิ์	ปริมาณสารบริสุทธิ์ที่ ตรวจพบ/ เม็ด (mg)
1	9094.16	24720.06	0.36789	75.76	207.96
2	9052.39	24715.19	0.36627	79.91	219.34
3	9356.98	24747.95	0.37809	73.53	201.83
ค่าเฉลี่ย			0.37075	76.40	201.83
				SD	7.2534
				%RSD	3.59

ตัวอย่างที่ 3 เม็ดยาทรงกลมแบนสีน้ำตาล ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.8 เซนติเมตร
หนาประมาณ 0.4 เซนติเมตร น้ำหนักสุทธิตัวอย่างเม็ดยา 1 เม็ด เท่ากับ 296.5 มิลลิกรัม

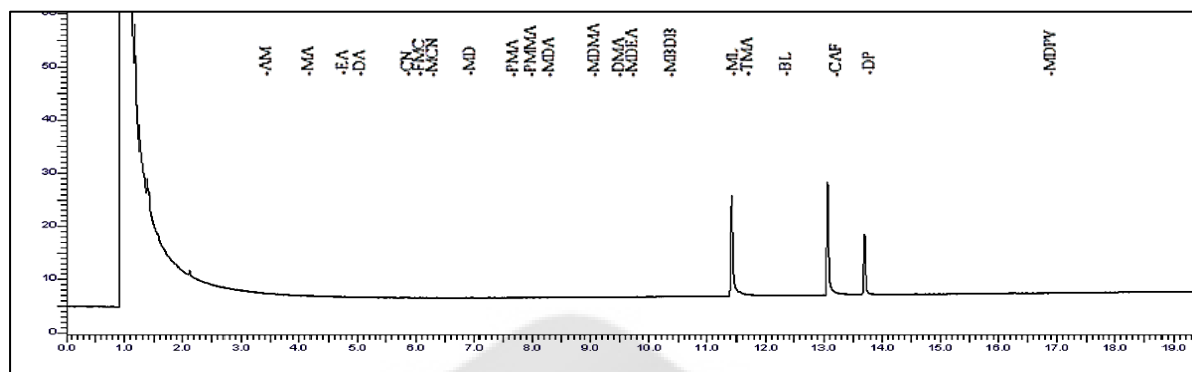


ภาพประกอบ 10 แสดงโครมาโทแกรมของตัวอย่างเม็ดยาเสพติด ตัวอย่างที่ 3

ตาราง 23 แสดงอัตราส่วนระหว่าง MDMA และสารมาตรฐานภายใน ของตัวอย่างที่ 3 (n=3)

ครั้งที่	Area of MDMA	Area of DP	Ratio	%สารบริสุทธิ์	ปริมาณสารบริสุทธิ์ที่ ตรวจพบ/ เม็ด (mg)
1	10711.42	24147.72	0.44358	52.74	156.38
2	10549.21	22790.45	0.46288	56.93	168.81
3	10666.09	23201.35	0.45972	53.64	159.03
ค่าเฉลี่ย			0.45539	54.44	161.41
				SD	5.3452
				%RSD	3.31

ตัวอย่างที่ 4 เม็ดยาทรงกลมแบนสีน้ำตาล ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.8 เซนติเมตร
หนาประมาณ 0.4 เซนติเมตร น้ำหนักสุทธิตัวอย่างเม็ดยา 1 เม็ด เท่ากับ 301.2 มิลลิกรัม



ภาพประกอบ 11 แสดงโครมาโทแกรมของตัวอย่างเม็ดยาเสพติด ตัวอย่างที่ 4

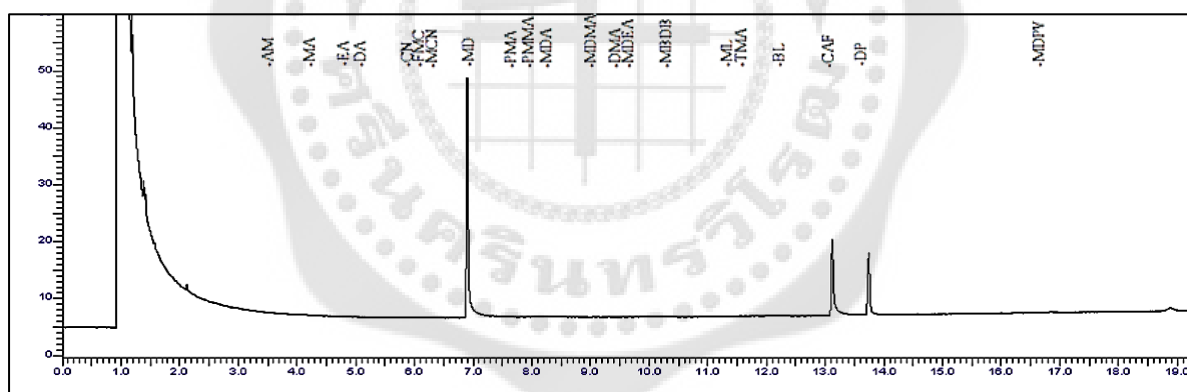
ตาราง 24 แสดงอัตราส่วนระหว่าง Methylone และสารมาตรฐานภายใน ของตัวอย่างที่ 4 (n=3)

ครั้งที่	Area of Methylone	Area of DP	Ratio	%สารบริสุทธิ์	ปริมาณสารบริสุทธิ์ที่ ตรวจพบ/ เม็ด (mg)
1	4506.41	25688.47	0.1754	52.99	159.60
2	4789.88	25910.67	0.1849	51.58	155.37
3	4803.89	25858.75	0.1858	53.81	162.09
ค่าเฉลี่ย			0.1820	52.70	158.73
				SD	3.3582
				%RSD	2.12

ตาราง 26 แสดงอัตราส่วนระหว่าง Butylone และสารมาตรฐานภายใน ของตัวอย่างที่ 5 (n=3)

ครั้งที่	Area of Butylone	Area of DP	Ratio	%สารบริสุทธิ์	ปริมาณสารบริสุทธิ์ที่ ตรวจพบ/ เม็ด (mg)
1	4252.61	24824.57	0.1713	3.74	10.62
2	4533.15	24790.23	0.1829	4.04	11.48
3	4465.70	24587.17	0.1816	4.02	11.42
ค่าเฉลี่ย			0.1786	3.93	11.17
				SD	0.3913
				%RSD	3.50

ตัวอย่างที่ 6 เม็ดยาทรงกลมแบนสีน้ำตาล ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.8 เซนติเมตร
หนาประมาณ 0.4 เซนติเมตร น้ำหนักสุทธิตัวอย่างเม็ดยา 1 เม็ด เท่ากับ 295.2 มิลลิกรัม

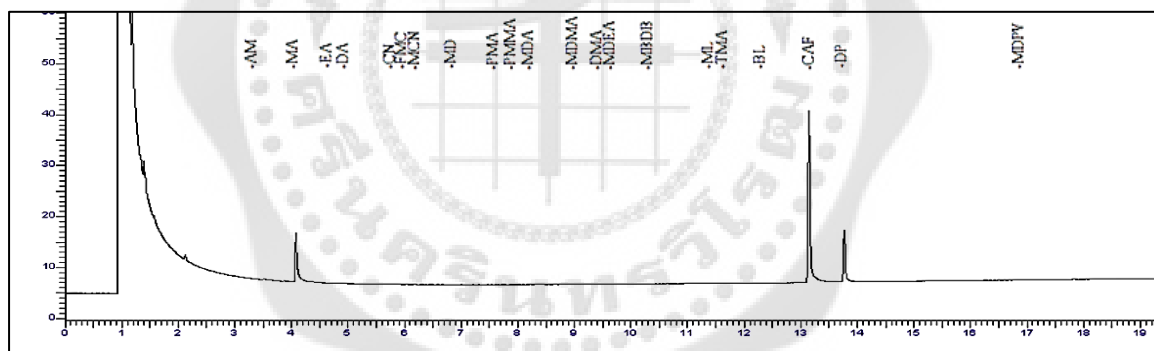


ภาพประกอบ 13 แสดงโครมาโทแกรมของตัวอย่างเม็ดยาเสพติด ตัวอย่างที่ 6

ตาราง 27 แสดงอัตราส่วนระหว่าง Mephedrone และสารมาตรฐานภายใน ของตัวอย่างที่ 6 (n=3)

ครั้งที่	Area of MD	Area of DP	Ratio	%สารบริสุทธิ์	ปริมาณสารบริสุทธิ์ที่ ตรวจพบ/ เม็ด (mg)
1	8935.83	25251.45	0.35387	44.73	131.95
2	9155.64	25327.29	0.36149	48.78	143.91
3	8884.79	25113.79	0.35378	46.29	136.55
ค่าเฉลี่ย			0.35638	46.60	137.47
				SD	4.9238
				%RSD	3.58

ตัวอย่างที่ 7 เม็ดยาทรงกลมแบนสีส้มเข้ม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.6 เซนติเมตร
หนาประมาณ 0.25 เซนติเมตร น้ำหนักสุทธิต่อเม็ด เท่ากับ 90.10 มิลลิกรัม



ภาพประกอบ 14 แสดงโครมาโทแกรมของตัวอย่างเม็ดยาเสพติด ตัวอย่างที่ 7

ตาราง 28 แสดงอัตราส่วนระหว่าง Methamphetamine และสารมาตรฐานภายในของตัวอย่างที่ 7
(n=3)

ครั้งที่	Area of MA	Area of DP	Ratio	%สารบริสุทธิ์	ปริมาณสารบริสุทธิ์ที่ ตรวจพบ/ เม็ด (mg)
1	21226.64	24073.79	0.8817	11.78	10.62
2	21800.84	23701.62	0.9198	12.61	11.36
3	21571.75	23844.11	0.9047	12.41	11.18
ค่าเฉลี่ย			0.9021	12.27	11.05
				SD	0.3182
				%RSD	2.88

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายและข้อเสนอแนะ

1. สรุปผลการวิจัย และอภิปรายผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณอนุพันธ์ของแอมเฟตามีน จำนวน 12 ชนิด และอนุพันธ์ของคาทิโนน จำนวน 7 ชนิด โดยมีไดเฟนไฮโดรามีน เป็นสารมาตรฐานภายใน เทคนิควิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี ตัวตรวจวัดชนิดเฟรมไอออไนเซชัน (Gas Chromatography/ Flame ionization) โดยงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาหลายหัวข้อ ต่างๆดังนี้

1.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสาร โดยการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในงานวิจัยนี้ ได้ทำการศึกษาทั้งหมด 2 ปัจจัย ได้แก่ สภาวะของอุณหภูมิ และ Split ratio โดย สภาวะของอุณหภูมิ ซึ่งพบว่าสภาวะของการแยกที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยเป็นระบบ Temperature program และโหมดของ Injector เป็นแบบ Split ratio โดยอยู่ที่อัตราส่วน 10:1 สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้จำเพาะเจาะจง โดยไม่มีการรบกวนจากสารคาเฟอีน ซึ่งเป็นส่วนประกอบในตำรับเม็ดยาเสพติด และใช้ระยะเวลาในการวิเคราะห์ตัวอย่างเพียง 19.5 นาที ซึ่งถือว่าเป็นระยะเวลาที่สั้นในการวิเคราะห์สารทั้ง 21 ชนิด ในคราวเดียวกัน ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่า วิธีที่พัฒนาขึ้นมานี้ มีข้อดีเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัย ที่เคยมีการวิเคราะห์สารในกลุ่มอนุพันธ์ของคาทิโนน โดยใช้เครื่อง GC ได้แก่ นีอามนิค เดอเอ็ด และคณะ (Niamh Nic Daeid and etc.2014: 21-33) ตรวจวัดสารในกลุ่มคาทิโนน ทั้งหมด 16 ชนิด โดยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี แมสสเปกโตรเมตรี ซึ่งใช้สภาวะของอุณหภูมิเป็นแบบ Temperature program และใช้ Split ratio ในอัตรา 75:1 เวลาในการวิเคราะห์ทั้งหมด หนึ่งตัวอย่างนาน 37.25 นาที ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ค่อนข้างนาน

1.2 ศึกษาวิธีการสกัดอนุพันธ์แอมเฟตามีนและคาทิโนน ในตัวอย่างเม็ดยาเสพติด โดยใช้วิธีการสกัดโดยตรง โดยใช้ เมทานอลเป็นตัวทำละลายแค่เพียงชนิดเดียว ซึ่งผลการทดลองพบว่าค่าการกลับคืนมา (%Recovery) ของการสกัด ที่ความเข้มข้นต่ำ (1.6 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) มีค่า 91.04-112.42% ที่ความเข้มข้นกลาง (4.8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) มีค่า 89.92-107.81 % และที่ความเข้มข้นสูง (9.6 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) มีค่า 94.05-111.29% โดยที่ผลการวิเคราะห์ซ้ำให้ค่า %RSD น้อยกว่า 7% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับของ UNODC

1.3 ตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นโดยประเมินผลตามเกณฑ์การยอมรับของ United Nations Office on Drugs and Crime :UNODC ผลการทดลองพบว่าผ่านเกณฑ์การยอมรับทุกหัวข้อ ผลการศึกษางานวิจัย สามารถอธิบายผลการทดลองในแต่ละหัวข้อได้ดังนี้

การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นเพื่อยืนยันว่าวิธีดังกล่าว สามารถนำมาใช้วิเคราะห์ปริมาณสารเสพติดในกลุ่มอนุพันธ์ของแอมเฟตามีน และอนุพันธ์ของคาทิโนน ในตัวอย่างยาเสพติดได้อย่างถูกต้องผลการวิเคราะห์พบว่า วิธีที่พัฒนาขึ้นผ่านตามเกณฑ์การยอมรับของ UNODC โดยผลการทดลองในแต่ละพารามิเตอร์นั้น สามารถอธิบายได้ดังนี้

การศึกษาความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์โดยการทดสอบ Blank sample จำนวน 10 ตัวอย่าง พบว่าพีคของอนุพันธ์ของแอมเฟตามีนทั้ง 12 ชนิด และอนุพันธ์ของคาทิโนน 7 ชนิด ไม่ถูกรบกวนการวิเคราะห์จากสารอื่นๆในเม็ดยาเสพติด ทั้ง 10 ตัวอย่าง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมานั้นมีความจำเพาะเจาะจงต่อสารที่ต้องการตรวจวัด

การศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของอนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทิโนน ที่สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณ (Limit of quantitative : LOQ) คือ ที่ความเข้มข้น 1.6 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณ ได้อย่างมีความแม่นยำและความเที่ยงสูง โดยให้อัตราส่วนของสัญญาณระหว่างสัญญาณที่ต้องการตรวจวัดกับสัญญาณรบกวน (S/N) โดยชนิดของสารที่ให้ค่า S/N ต่ำสุด คือ Cathinone (CN) ซึ่งให้ค่า S/N เท่ากับ 12.42 ± 1.61 มีค่า %RSD เท่ากับ 13.00 และชนิดของสารที่ให้ค่า S/N สูงสุด คือ Ethylamphetamine (EA) ซึ่งให้ค่า S/N เท่ากับ 80.66 ± 10.55 มีค่า %RSD เท่ากับ 13.08 ซึ่งมีค่า S/N มากกว่า 10 และ %RSD น้อยกว่า 20% ตามเกณฑ์การยอมรับของ UNODC ถือว่าความเข้มข้นที่ 1.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เป็นความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ ที่ผ่านเกณฑ์การยอมรับของ UNODC

การศึกษาความเป็นเส้นตรงของอนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทิโนนในช่วงความเข้มข้น 1.60 - 9.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งพบว่ากราฟเส้นตรงทั้ง 19 กราฟ มีค่า correlation coefficient (r) สูงกว่า 0.9900 ซึ่งทั้ง 19 กราฟนั้น กราฟที่ให้ค่า r ต่ำที่สุดคือ กราฟเส้นตรงของ Methcathinone (MCN) มีค่า r เท่ากับ 0.9978 และกราฟเส้นตรงที่มีค่า r มากที่สุด คือ กราฟเส้นตรงของ Paramethoxymethamphetamine (PMMA) มีค่า r เท่ากับ 0.9998 ซึ่งกราฟทั้ง 19 กราฟแสดงถึงความเป็นเส้นตรงที่ดี สามารถนำมาใช้เปรียบเทียบเพื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณอนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทิโนนในเม็ดยาเสพติด ได้ตามเกณฑ์การยอมรับของ UNODC

การศึกษาความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น ซึ่งจะแสดงอยู่ในรูปของ %RSD จากการทดสอบความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์อนุพันธ์แอมเฟตามีนและอนุพันธ์คาทิโนนที่ความเข้มข้นทั้งหมด 6 ความเข้มข้น คือ ที่ 1.60, 3.20, 4.80, 6.40, 8.00 และ 9.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 10 ตัวอย่างรวมทั้ง 60 ตัวอย่าง ภายในวันเดียวกันและระหว่างวัน พบว่าผลการวิเคราะห์ซ้ำกันหลาย ๆ ครั้ง แสดงความแตกต่างของข้อมูลที %RSD ไม่เกิน 8 % ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับของ UNODC

การศึกษาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมานั้น ซึ่งจะแสดงอยู่ในรูปของร้อยละการกลับคืน (%Recovery) จากการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์อนุพันธ์แอมเฟตามีนและอนุพันธ์คาทีโนนที่ความเข้มข้นทั้งหมด 3 ความเข้มข้น คือ ที่ 2.40, 5.60 และ 8.80 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 10 ตัวอย่างรวมทั้งหมด 30 ตัวอย่าง พบว่าค่าความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมานั้นอยู่ในช่วง 86.41-112.38 % ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมานั้นมีความแม่นยำสูง และเป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับของ UNODC

2. ข้อเสนอแนะ

สำหรับผู้สนใจที่จะพัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณอนุพันธ์ของแอมเฟตามีนและอนุพันธ์ของคาทีโนน ต่อจากผู้วิจัยนั้น ทางผู้วิจัยมีข้อเสนอแนะในการพัฒนา ดังนี้

2.1 แนวทางในการวิเคราะห์ต่อ ควรทำการศึกษาเกี่ยวกับเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี โดยใช้ตัวตรวจวัดเป็นแมสสเปกโตรเมตรี เพื่อเพิ่ม Sensitivity ในการตรวจวัด

2.2 สามารถนำวิธีการวิเคราะห์นี้ไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างยาเสพติด ชนิดอื่นได้ เนื่องจากยาเสพติด มีหลายรูปแบบนอกจากเป็นยาเม็ดแล้ว ยังตัวอย่างที่เป็นผลึก น้ำ หรือแม้กระทั่งการหาสารเสพติดในตัวอย่างที่เป็นชีวสมมูล เช่น ปัสสาวะ น้ำลาย เป็นต้น



บรรณานุกรม

- [1] พระราชบัญญัติ วัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตประสาท ปี พ.ศ. 2518
- [2] พระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ. 2522
- [3] ประกาศกระทรวงสาธารณสุข. (2556). ระบุชื่อและประเภทยาเสพติดให้โทษ. ฉบับที่ 11
- [4] Recommended method for the identification and analysis of amphetamine,
Methamphetamine and their ring-substituted analogues in seized materials.(2006).
Manual for use by national drug testing laboratories, Laboratory and Scientific Section
United Nations Office on Drugs and Crime Vienna. UNITED NATIONS New York
- [5] Blagoj Mitrevski, Zoran Zdravkovski. (2005). Rapid and simple method for direct
determination of several amphetamine in seized tablets by GC-FID. Forensic
Science International.152 : 199-203.
- [6] Seon Yeong Kim,et al.(2013). Method development for simultaneous determination of
amphetamine type stimulants and cannabinoids in urine using GC-MS.
Microchemical journal.110: 326-333.
- [7] Niamh Nic Daeid, Kathleen A. Savage, Donna Ramsay, Ciara Holland, Oliver B. Sutcliffe.
(2014). Development of gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS) and other
rapid screening method for the analysis of 16 'legal high' cathinone derivatives.
Science and Justice. 54: 22-31.
- [8] Teruki Matsumoto, Ruri Kikura-Hanajiri, Hiroyuki Kamakura, Nobuo Kawahara, Yukihiro
Goda. (2006). Identification of N-Methyl-4-(3,4-Methylenedioxyphenyl)Butan-2-Amine,
Distributed as MBDB. Journal of Health Science. 52(6):805-810.
- [9] Elias Miranda-G,et al.(2007). Determination of amphetamine, Methamphetamine and
Hydroxyamphetamine derivatives in urine by GC-MS and Its relation to CYP2D6
Phenotype of drug users. Journal of analytical Toxicology.31: 31-36.
- [10] Kevin G. Shanks, Tim Dahn, George Behonick and Andrea Terrell.(2012). Analysis of first
and second Generation Legal Highs for Synthetic Cannabinoids and Synthetic
Stimulants by Ultra-performance Liquid Chromatography and Time of Flight Mass
Spectrometry.Journal of Analytical Toxicology Advance Access.14: 1-12.

- [11] Amanda M. Leffler, et al. (2014). The analytical investigation of synthetic street drugs containing cathinone analogs. *Forensic Science International*. 234: 50–56.
- [12] Bruno S.De Martinis, et al.(2007). Development and validation of a disk solid phase extraction and GC-MS method for DMA,MDA,HMMA,HMA,MDEA, methamphetamine in sweat. *Journal of Chromatography B*. 852: 450-458.
- [13] Adriaan A.S. Marais, Johannes B. Laurens.(2009). Rapid GC-MS confirmation of amphetamine in urine by extractive acylation. *Forensic science International*. 183: 78-86.
- [14] L. Imbert, et al.(2014). Development and validation of a single LC-MS/MS assay following SPE for semultaneuos hair analysis of amphetamine, opiates, cocaine and metabolites. *Forensic science International*. 234: 132-138.
- [15] M. Andersson, et al.(2008). Direct injection LC-MS/MS method for indentification and quantification of amphetamine, methamphetamine, 3,4-methylenedioxyamphetamine and 3,4-methylenedioxymethamphetamine in urine drug testing. *Journal of Chromatography B*. 861: 22-28.
- [16] ธวัชชัย ศรีวิบูลย์. (2511). เทคนิคการแยก (Separation Techniques). CM 334 ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง. 265-340
- [17] United Nations Office On Drugs and Crime .(2009). UNODC (Guidance for the Validation of Analytical Methodology and Calibration of Equipment used for Testing of Illicit Drugs in Seized Materials and Biological Specimens). United nation. New York. 30-37
- [18] Amphetamine Profile Retrived October 20, 2015 from <http://www.cesar.umd.edu/cesar/drugs/amphetamines.pdf>
- [19] Kevin B. Hugins. (2014). Cathinone: History, Synthesis, and Humana application. *Natural products*. Nevada state college. 1-7
- [20] คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี. (2556). *จุลสารพิษวิทยา*. ปีที่ 21. ฉบับที่ 1: 3-11
- [21] R.Brenneisen., et al. (1990). Amphetamine – like effect in human of the khat alkaloid cathinone. *British Journal of Clinical Pharmacy*. 30: 825-828.
- [22] นันทนา กันยานุวัฒน์, นุชนาท นาคำ .(2555). แนวทางการตรวจทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์. *สำนักอุตสาหกรรมพื้นฐาน กรมอุตสาหกรรมพื้นฐานและการเหมืองแร่*. ฉบับที่ สอพ 1/2555: 9-27

[23] ICH Harmonised tripartite guideline. (2005). Validation of analytical Procedures: Text and methodology Q2(R1). Current step 4 version: 11-13

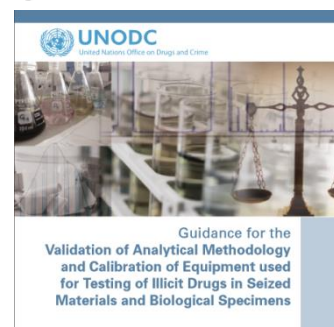






ภาคผนวก ก

Parameter	Validation requirements	Acceptance criteria
(b) GC/HPLC/Capillary electrophoresis (Continued)		
Specificity/ Selectivity	As for qualitative analysis	As for qualitative analysis
LOQ	Analyse, once each, 10 sample blanks extracted from a typical drug matrix each containing the drug at concentrations near to	The LOQ should be fit for purpose (i.e. if participating in an external quality con-
Linearity and working range*	Analyse a blank sample and six independently prepared blanks containing the drug(s) of interest at different six concentrations evenly spaced covering the range of interest.	Working range should be fit for purpose.
Precision under repeatability and reproducibility conditions	Analyse 10 independently prepared blank samples spiked with the drug(s) of interest at each of six concentrations across the working range and express the variation in terms of the standard deviation at each concentration.	RSD for the lower controls must be lower than 20% and for the other control levels better than 15%.
Accuracy	Analyse 10 independently prepared blank samples spiked with the drug(s) of interest at three different levels (high, medium and low) and express the difference between the mean result and the expected result as a percentage	Errors for the lower controls must be lower than 20% and for the other control levels better than 15%.
Recovery (where extraction is required)	Prepare samples of the target analyte at three different concentrations in a typical matrix. Make five replicate extracts of each sample. To each extract add a known amount of internal standard. At the same time analyse standard solutions of the target analyte(s) containing the same amount of internal standard. The recovery is then calculated by comparing the ratio(s) of analyte peak areas to internal standard peak area (s) for the extracted and unextracted samples. Recovery % = $([A1/A2]/[A3/A4]) \times 100$ For the extracted samples: A1 = peak area of analyte A2 = peak area of internal standard For the standard solutions: A3 = peak area of analyte A4 = peak area of internal standard	Recovery should be reproducible to within $\pm 15\%$. Note: As indicated in part 2 F, the absolute percentage recovery is not critical as long as it is reproducible and provides adequate LLOQ
Uncertainty	Estimate the errors at each stage of the analytical process using the data from the validation where available and calculate the overall uncertainty (see 2.6).	As a general guideline, uncertainty should be in the region of $\pm 15\%$ at LOQ; $\pm 10\%$ mid-range or higher.
<i>Note:</i> In GC-MS, the mass spectrometer can be operated in either the repetitive full scan mode or the Selected Ion Monitoring (SIM) mode. In LC-MS-MS, the mass spectrometer can be operated in either the repetitive full scan mode or in the multiple reaction monitoring (MRM) mode.		



ภาพประกอบ 15 แสดงเกณฑ์มาตรฐานในการวิเคราะห์หาปริมาณ ของ UNODC^[17]



ภาคผนวก ข



ภาพประกอบ 16 แสดงลักษณะเม็ดยาของตัวอย่างที่ 1



ภาพประกอบ 17 แสดงลักษณะเม็ดยาของตัวอย่างที่ 2



ภาพประกอบ 18 แสดงลักษณะเม็ดยาของตัวอย่างที่ 3



ภาพประกอบ 19 แสดงลักษณะเม็ดยาของตัวอย่างที่ 4



ภาพประกอบ 20 แสดงลักษณะเม็ดยาของตัวอย่างที่ 5



ภาพประกอบ 21 แสดงลักษณะเม็ดยาของตัวอย่างที่ 6



ภาพประกอบ 22 แสดงลักษณะเม็ดยาของตัวอย่างที่ 7



ภาคผนวก ค

วิธีการคำนวณค่า Resolution^[16]

$$R = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{\frac{w_1 + w_2}{2}} = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{w_1 + w_2}$$

เมื่อ t_{R1} = Retention time ของพีคที่ 1

t_{R2} = Retention time ของพีคที่ 2

w_1 = ความกว้างของพีคที่ 1

w_2 = ความกว้างของพีคที่ 2





ตัวอย่างการคำนวณ %ของยาเสพติดในตัวอย่างเม็ดยา

ตาราง 29 แสดงรายละเอียดผลการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ 1 ที่ได้จากเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

ซ้ำที่	น้ำหนักตัวอย่าง (มิลลิกรัม)	Area of PMMA	Area of DP	Ratio
1	0.34	7006.22	24313.85	0.28816
2	0.34	6884.52	23937.64	0.28760
3	0.36	6941.72	23455.29	0.29596
ค่าเฉลี่ย				0.29057

จากข้อมูลที่ได้จากเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี พบว่าค่า ratio ของซ้ำที่ 1 เท่ากับ 0.28816 คือค่า Y ในสมการเส้นตรง ซึ่งสมการเส้นตรงของ PMMA จาก Calibration curve คือ

$$Y = 0.1636x - 0.0904$$

$$\begin{aligned} \text{แทนค่า Y ด้วยค่า ratio ที่ได้} \quad 0.28816 &= 0.1636x - 0.0904 \\ (0.28816 + 0.0904) / 0.1636 &= x \\ 2.3139 &= x \end{aligned}$$

ก่อนฉีด นำมาเจือจาง 10 เท่า (ปิเปตต 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร)

แสดงว่าความเข้มข้นที่แท้จริงก่อนเจือจาง คือ $2.3139 \times 10 = 23.139$ ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ถ้า จำนวน 10 มิลลิลิตร มีปริมาณ PMMA เท่ากับ 231.39 ไมโครกรัม

$$\begin{aligned} \text{ซึ่งผงตัวอย่างมา 0.34 มิลลิกรัม จะมีสาร PMMA เท่ากับ} & 0.2314 \quad \text{มิลลิกรัม} \\ \text{ถ้าผงตัวอย่างมา 100 มิลลิกรัม จะมีสาร PMMA เท่ากับ} & \frac{0.2314 \times 100}{0.34} \\ & \text{เท่ากับ} \quad 68.06 \quad \% \end{aligned}$$

ตัวอย่างที่ 1 น้ำหนักต่อเม็ด เท่ากับ 276.4 มิลลิกรัม

$$\begin{aligned} \text{เพราะฉะนั้น เม็ดยา 1 เม็ดจะมี ปริมาณ PMMA} & \frac{276.4 \times 68.06}{100} = 188.12 \text{ มิลลิกรัม} \end{aligned}$$



ภาคผนวก จ

ตาราง 30 แสดง Calibration curve ของอนุพันธ์แอมเฟตามีนและคาทีโนนแต่ละชนิด

สาร	สมการเส้นตรง	R^2	R
AM	$Y = 0.182x - 0.0942$	0.9998	0.9999
MA	$Y = 0.2014x - 0.0201$	0.9987	0.9993
EA	$Y = 0.2072x - 0.0347$	0.9995	0.9997
DA	$Y = 0.1903x - 0.0448$	0.9991	0.9995
CN	$Y = 0.1273x - 0.1479$	0.9976	0.9988
FMC	$Y = 0.1215x + 0.0002$	0.9978	0.9989
MCN	$Y = 0.1724x - 0.1052$	0.9983	0.9991
MD	$Y = 0.1732x - 0.1032$	0.9982	0.9991
PMA	$Y = 0.199x - 0.0374$	0.9992	0.9996
PMMA	$Y = 0.1636x - 0.0904$	0.9965	0.9982
MDA	$Y = 0.1502x - 0.075$	0.9996	0.9998
MDMA	$Y = 0.1543x - 0.0203$	0.9982	0.9991
DMA	$Y = 0.1575x - 0.0674$	0.9993	0.9996
MDEA	$Y = 0.1724x - 0.0106$	0.9999	0.9999
MBDB	$Y = 0.1702x - 0.0253$	0.9974	0.9987
ML	$Y = 0.1097x - 0.1094$	0.9986	0.9993
TMA	$Y = 0.1466x - 0.0824$	0.9971	0.9985
BL	$Y = 0.1553x - 0.0494$	0.9983	0.9991
MDPV	$Y = 0.1501x - 0.0301$	0.9971	0.9985



ประวัติย่อผู้วิจัย

ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวทศวรรณ กอสัมพันธ์
วันเดือนปีเกิด	2 มกราคม 2529
สถานที่เกิด	ตำบลคลองลานพัฒนา อำเภอคลองลาน จังหวัดกำแพงเพชร
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	759/1 หมู่ 16 ตำบลคลองลานพัฒนา อำเภอคลองลาน จังหวัดกำแพงเพชร รหัสไปรษณีย์ 62180
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	นักวิทยาศาสตร์ปฏิบัติการ
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	สถาบันวิชาการและตรวจพิสูจน์ยาเสพติด สำนักงานคณะกรรมการป้องกันและปราบปรามยาเสพติด (สำนักงาน ป.ป.ส.)
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2548	ชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 6 จากโรงเรียนคลองลานวิทยา จังหวัดกำแพงเพชร
พ.ศ. 2552	ปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.) เคมี จากมหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก
พ.ศ. 2559	ปริญญาโท วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม.) วิทยาการเภสัชภัณฑ์ จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ