

การตรวจวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนในเส้นผมที่ถูกทำลายด้วยความร้อน

นางสาวศรสวรรค์ ฤชุกรดำรง



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2559

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Determination of Methamphetamine (MA) in Thermal-damage Hair

Miss Sonsavan Ruechukorndamrong



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Medical Science

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2016

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การตรวจวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนในเส้นผมที่ถูกทำลายด้วยความร้อน
โดย	นางสาวศรสวรรค์ ฤชกรดำรง
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การแพทย์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	อาจารย์ นายแพทย์ ชีรโชติ จองสกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ณัฐ ตันศรีสวัสดิ์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ สุทธิพงศ์ วัชรสินธุ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร. แพทย์หญิง วิไล ชินธเนศ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(อาจารย์ นายแพทย์ ชีรโชติ จองสกุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ณัฐ ตันศรีสวัสดิ์)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วัชรวิ ลิมปนสิทธิกุล)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมिति ศรีสนธิ์)

ศรสวรรค์ ฤชุกรดำรง : การตรวจวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนในเส้นผมที่ถูกทำลายด้วยความร้อน (Determination of Methamphetamine (MA) in Thermal-damage Hair) อ.ที่
 ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อ. นพ. อีร์โฆติ จองสกุล, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ผศ. นพ.
 ณัฐ ตันศรีสวัสดิ์, 65 หน้า.

ยาบ้า เป็นสารเสพติดที่แพร่ระบาดอยู่ในประเทศไทย โดยมีเมทแอมเฟตามีนเป็นสารออกฤทธิ์หลัก ในการตรวจวิเคราะห์ผู้เสพยาบ้าเพื่อพิสูจน์การเสพยาบ้าในช่วงมากกว่าหนึ่งเดือนที่ผ่านมา ต้องใช้การตรวจวิเคราะห์จากเส้นผม โดยเส้นผมที่ความยาว 1 เซนติเมตร จะแทนการเสพยาบ้าเมทแอมเฟตามีนในช่วงระยะเวลา 1 เดือน ความร้อนมีผลต่อเส้นผมและสารที่สะสมในเส้นผม แต่ยังไม่มีการศึกษาผลต่อเมทแอมเฟตามีนในเส้นผม ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาความสัมพันธ์ของอุณหภูมิความร้อน กับปริมาณความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนที่เกิดการเปลี่ยนแปลงภายในเส้นผม โดยใช้ตัวอย่างเส้นผมจากอาสาสมัครที่ไม่เสพยาบ้าทุกชนิดจำนวน 3 ราย มาแช่ลงในสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีน โดยกำหนดช่วงอุณหภูมิในการทดสอบอยู่ที่ 25 175 และ 215 องศาเซลเซียส ซึ่งใช้เครื่องหนีบผมระบบดิจิทัลเป็นเครื่องมือสำหรับให้ความร้อน จากนั้นทำการวิเคราะห์หาปริมาณเมทแอมเฟตามีนด้วยเทคนิค HS-SPME GC/MS ทดสอบหาความสัมพันธ์ของปริมาณความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนกับค่าความร้อน โดยใช้สถิติ One-Way ANOVA ซึ่งกำหนดค่า p-value น้อยกว่า 0.05 จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ปริมาณความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมของอาสาสมัครจำนวน 2 ใน 3 ราย มีปริมาณความเข้มข้นลดลงสัมพันธ์กับค่าความร้อนที่เพิ่มสูงขึ้น และเส้นผมของอาสาสมัครจำนวน 1 ใน 3 รายนั้นพบว่า ปริมาณความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนไม่มีความสัมพันธ์กับค่าความร้อนที่เพิ่มสูงขึ้น แม้ว่าการคำนวณทางสถิติจะพบว่าปริมาณความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนไม่มีความสัมพันธ์กับค่าความร้อนที่เพิ่มสูงขึ้น แต่สำหรับข้อมูลทางตัวเลขที่วิเคราะห์ได้แสดงว่าเมทแอมเฟตามีนมีปริมาณความเข้มข้นที่ลดลงตามค่าความร้อนที่เพิ่มสูงขึ้น และศึกษาการตรวจสอบความถูกต้องของการตรวจวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนในเส้นผมด้วยวิธี HS-SPME GC/MS ให้ค่า %intraday precision = 0.4886, %interday precision = 6.3996, accuracy (%CV = 3.2548 – 4.7038) , %recovery = 95.5982 – 98.6469, LOD = 7.6593 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัม และ LOQ = 25.5309 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัม

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์การแพทย์

ลายมือชื่อนิสิต

ปีการศึกษา 2559

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม

5774093630 : MAJOR MEDICAL SCIENCE

KEYWORDS: METHAMPHETAMINE / HAIR / THERMAL-DAMAGE / GAS CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY (GC/MS) / HEADSPACE SOLID PHASE MICRO EXTRACTION (HEADSPACE SPME)

SONSAVAN RUECHUKORNDAMRONG: Determination of Methamphetamine (MA) in Thermal-damage Hair. ADVISOR: TEERACHOTE JONGSAKUL, M.D., CO-ADVISOR: ASST. PROF. NAT TANSRISAWAD, 65 pp.

Yaba is an illegal drug dispersal in Thailand. The main active ingredients in yaba is methamphetamine. Hair is used for determination of methamphetamine abuse in a case of previous administration more than one month. The hair length 1 cm is demonstrated methamphetamine addictive for 1 month. Heat has the effect on the hair and illegal drug deposited in the hair but there is no present study about the influence of thermal to methamphetamine in the hair. Thus, this research studied the correlation between thermal and concentration of methamphetamine in the hair by using hair from 3 volunteers who had declared as non-drug abuser. Methamphetamine was incorporated into the hair by soaking the hair in methamphetamine solution. Experiments were performed at 25, 175 and 215 °c, respectively. A digital straightener was the thermal tool. Then, methamphetamine in the hair was determined by using headspace solid phase micro extraction (HS-SPME) with gas chromatography mass spectrometry (GC/MS) techniques. The statistical analysis for correlation between the heat and concentration of methamphetamine in the hair was One-way ANOVA with p-value less than 0.05. The results revealed that the concentration of methamphetamine in the hair decreased when thermal increased in 2 of 3 samples. Although one sample had not found the significant correlation, its raw data showed that the concentration decreased when thermal increased. The validation of determination methamphetamine in hair extraction with HS-SPME GC/MS techniques were as follows: %intraday precision = 0.4886, %interday precision = 6.3996, accuracy (%cv = 3.2548 - 4.7038), %recovery = 95.5982 - 98.6469, LOD = 7.6593 ng/mg and LOQ = 25.5309 ng/mg.

Field of Study: Medical Science

Academic Year: 2016

Student's Signature

Advisor's Signature

Co-Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ไม่สามารถเสร็จสมบูรณ์ได้ หากขาดผู้มีพระคุณที่คอยช่วยเหลือและสนับสนุน ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ อ.นพ.ธีรโชติ จองสกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และ ผศ.นพ.ณัฐ ตันศรีสวัสดิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ช่วยประสิทธิ์ประสาทความรู้ทั้งด้านทฤษฎีและปฏิบัติ ตลอดจนให้คำปรึกษา คำชี้แนะ ช่วยตรวจสอบและแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณ “ทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช” และ “ทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์สำหรับนิสิต” ของทางบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนทุน ทำให้วิทยานิพนธ์นี้สามารถดำเนินงานทำการวิจัยได้จนแล้วเสร็จ

ขอขอบพระคุณ ศ.ดร.พญ.วิไล ชินธเนศ ประธานสอบวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.วัชร ธิมปนสิทธิกุล และ ผศ.นพ.นายแพทย์สมิทธิ ศรีสนธิ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่สละเวลาอันมีค่าเพื่อมาร่วมเป็นส่วนหนึ่งในการสอบวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ รวมถึงให้คำปรึกษา ชี้แนะแนวทาง และช่วยเสริมส่วนที่บกพร่องของงานวิจัยให้แล้วเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณหน่วยนิติพิชวิทยา ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่เอื้อเฟื้อสถานที่สำหรับการทำวิจัย และบ้านสวนนรากร ที่ให้การช่วยเหลือสนับสนุนสำหรับการเป็นที่พำนักชั่วคราว เพื่อเปิดรับสมัครอาสาที่มีเกณฑ์เหมาะสมสำหรับการเข้าร่วมวิจัย

ขอขอบพระคุณ อ.นพ.ภาณุวัฒน์ ชุตินวงศ์ อ.นพ.กรวิก มีศิลป์วิภักดิ์ น.ส.ทิมภพร บุญดำเนิน น.ส.ศิริินภา เพ็ชรนาถ เจ้าหน้าที่ทุกหน่วยของภาควิชานิติเวชศาสตร์ กลุ่มเพื่อนร่วมชั้นเรียน และกลุ่มเพื่อนในวัยเยาว์ สำหรับความช่วยเหลือสนับสนุน ให้คำปรึกษา ตลอดจนให้กำลังใจ เพื่อเป็นแรงผลักดันให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้แล้วเสร็จ

ขอขอบพระคุณบุคคลที่ให้การสนับสนุนทั้งเงินทุน แรงใจ และแรงผลักดันเพื่อให้ผู้วิจัยก้าวข้ามผ่านความย่อท้อ ที่มีต่ออุปสรรค ที่เกิดขึ้นมาทั้งในด้านการศึกษาและการดำรงชีวิต บุคคลเหล่านี้จะเป็นใครไปไม่ได้นอกจาก บิดา มารดา คุณยาย คุณป้า และบุคคลในครอบครัว

สุดท้ายนี้ ประโยชน์และคุณค่าที่ผู้วิจัยได้รับจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ทางผู้วิจัยขอมอบให้แก่ทุกท่านที่มีส่วนทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์ ทางผู้วิจัยหวังว่าวิทยานิพนธ์เล่มนี้จะมีประโยชน์ไม่มากนักน้อยแก่ผู้สนใจเพื่อนำไปใช้เป็นแนวทางสำหรับต่อยอดเพื่อทำวิจัยอื่นๆต่อไป

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญรูปภาพ	ฅ
สารบัญตาราง.....	ฉ
สัญลักษณ์และคำย่อ.....	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหา (Background and Rationale).....	1
1.2 คำถามของการวิจัย (Research Questions).....	2
1.3 วัตถุประสงค์ (Objectives).....	2
1.4 การออกแบบการทดลอง (Experimental Design).....	3
1.5 คำสำคัญ (Key words).....	4
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย (Expected benefit and application).....	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 เมทแอมเฟตามีน	5
2.2 เส้นผมมนุษย์.....	8
2.3 การตรวจวิเคราะห์.....	13
2.4 Solid phase micro extraction.....	14
2.5 แก๊สโครมาโทกราฟี แมสสเปคโตรมิเตอร์ (Gas chromatography Mass spectrometer; GC/ MS).....	16
2.6 การตรวจสอบความถูกต้องของเทคนิคทดสอบ (Validation Method).....	18
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	23

3.1 รูปแบบการวิจัย (Research Design)	23
3.2 ระเบียบวิธีวิจัย (Research Methodology)	23
3.3 เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย.....	24
3.4 วิธีดำเนินการวิจัย (Methods)	26
3.4.1 การตรวจสอบความถูกต้องของเทคนิค HS-SPME สำหรับการสกัดเมทแอมเฟตามีนจากเส้นผม.....	26
3.4.2 การเปรียบเทียบปริมาณเมทแอมเฟตามีนจากเส้นผมเมื่อผ่านความร้อน.....	36
3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis).....	38
3.5.1 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีทดสอบ.....	38
3.5.2 การเปรียบเทียบปริมาณเมทแอมเฟตามีนจากเส้นผมเมื่อผ่านความร้อน.....	38
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	39
4.1 การตรวจสอบความถูกต้องของเทคนิค HS-SPME สำหรับการสกัดเมทแอมเฟตามีนจากเส้นผม.....	40
4.2 ผลการเปรียบเทียบปริมาณเมทแอมเฟตามีนจากเส้นผมเมื่อผ่านความร้อน.....	44
บทที่ 5 อภิปรายผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ.....	45
5.1 การตรวจสอบความถูกต้องของเทคนิค HS-SPME สำหรับการสกัดเมทแอมเฟตามีนจากเส้นผม.....	45
5.2 การเปรียบเทียบปริมาณเมทแอมเฟตามีนจากเส้นผมเมื่อผ่านความร้อน.....	46
รายการอ้างอิง.....	48
ภาคผนวก.....	54
ภาคผนวก ก.....	55
ภาคผนวก ข.....	60
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	65

สารบัญรูปลูกภาพ

รูปที่ 1 แสดงลักษณะโครงสร้างของเมทแอมเฟตามีน	5
รูปที่ 2 แสดงลักษณะการกระจายตัวของเมทแอมเฟตามีนในร่างกายมนุษย์.....	6
รูปที่ 3 แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของเมทแอมเฟตามีนต่อระบบประสาทส่วนกลาง.....	7
รูปที่ 4 แสดงการเปลี่ยนแปลงของเมทแอมเฟตามีนภายในร่างกายของหนูทดลอง.....	8
รูปที่ 5 แสดงลักษณะโครงสร้างของเส้นผม	9
รูปที่ 6 แสดงลักษณะของเส้นใยเคราติน.....	9
รูปที่ 7 แสดงลักษณะชั้นของเส้นผมตัดตามแนวขวาง	10
รูปที่ 8 แสดงวัฏจักรของเส้นผม.....	11
รูปที่ 9 แสดงกลไกการสะสมสารเสพติดภายในเส้นผม	11
รูปที่ 10 แสดงลักษณะปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อเส้นผม.....	12
รูปที่ 11 แสดงลักษณะของเทคนิคการสกัด HS-SPME และ DI-SPME	15
รูปที่ 12 แสดงลักษณะขั้นตอนการทำงานของเทคนิค HS-SPME	15
รูปที่ 13 แสดงลักษณะ Quadrupole.....	17
รูปที่ 14 แสดงองค์ประกอบของเครื่อง GC/MS	18
รูปที่ 15 แสดงวิธีการเตรียมตัวอย่างให้มีเมทแอมเฟตามีนทั่วเส้นผม	27
รูปที่ 16 แสดงวิธีการสกัดเมทแอมจากเส้นผมด้วยเทคนิค HS-SPME.....	29
รูปที่ 17 แสดงวิธีการทำ Calibration curve ของวิธีการสกัด HS-SPME.....	30
รูปที่ 18 แสดงวิธีการตรวจสอบความแม่นยำภายในวันที่ทำการทดลองของวิธีการสกัด HS- SPME	31
รูปที่ 19 แสดงวิธีการตรวจสอบความแม่นยำระหว่างวันที่ทำการทดลองของวิธีการสกัด HS- SPME	32
รูปที่ 20 แสดงวิธีการตรวจสอบความถูกต้องแม่นยำของวิธีการสกัด HS-SPME	33
รูปที่ 21 แสดงวิธีการตรวจสอบร้อยละการนำกลับคืนของวิธีการสกัด HS-SPME.....	34

รูปที่ 22	แสดงวิธีการหาค่า LOD และ LOQ ของวิธีการสกัด HS-SPME	35
รูปที่ 23	แสดงวิธีการเปรียบเทียบปริมาณเมทแอมเฟตามีนจากเส้นผมเมื่อผ่านความร้อน.....	37
รูปที่ 24	แสดงโครมาโทแกรมของเมทแอมเฟตามีน ณ นาทีที่ 2.74.....	39
รูปที่ 25	แสดงเมสสเปกตรัมของเมทแอมเฟตามีน	39
รูปที่ 26	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า peak area กับค่าความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีน ..	40



สารบัญตาราง

ตารางที่ 1	แสดงค่าความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีน และ peak area.....	40
ตารางที่ 2	แสดงค่า peak area และค่าร้อยละเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของ Intraday	41
ตารางที่ 3	แสดงค่า peak area และค่าร้อยละเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของ Interday	41
ตารางที่ 4	แสดงค่า %Recovery และ %CV ของเทคนิคการสกัด SPME.....	42
ตารางที่ 5	แสดงค่า %Recovery และค่า %CV ของเทคนิคการสกัด SPME	43
ตารางที่ 6	แสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าความร้อนกับปริมาณเมทแอมเฟตามีนที่ตรวจวิเคราะห์ได้.....	44



สัญลักษณ์และคำย่อ

คำย่อ	ความหมาย
m/z	มวลต่อประจุ
μl	ไมโครลิตร
μg	ไมโครกรัม
ng	นาโนกรัม
mg	มิลลิกรัม
ml	มิลลิลิตร
mm^2	ตารางมิลลิเมตร
mol	โมล
g	กรัม
$^{\circ}\text{C}$	องศาเซลเซียส
$\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}$	เมทแอมเฟตามีน



บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหา (Background and Rationale)

ประเทศไทยมีการระบาดของสารเสพติดมาอย่างยาวนาน จากรายงานทางสถิติพบว่ามีแนวโน้มสูงขึ้นทุก ๆ ปี ซึ่งยาบ้าจัดเป็นสารเสพติดที่เป็นปัญหาหลักของไทย โดยจะเห็นได้จากรายงานของสำนักงานคณะกรรมการการป้องกันและปราบปรามยาเสพติดแห่งชาติ ในไตรมาสแรกของปี พ.ศ. 2558 พบว่ามีการจับกุมผู้ลักลอบนำเข้า และจำหน่ายยาบ้าทั้งหมด 106 คดี โดยมีปริมาณของยาบ้ามากกว่า 20 ล้านเม็ด⁽¹⁾ อีกทั้งยังมีรายงานผู้เข้ารับการรักษาพยาบาลในสถานบำบัดรักษา และฟื้นฟูผู้ติดยาเสพติดแห่งชาติบรมราชชนนี (สถาบันธัญญารักษ์) เนื่องจากยาบ้าสูงถึงร้อยละ 40 จากผู้ที่เข้ารับการรักษาบำบัดทั้งหมด 5,666 ราย ในปี พ.ศ. 2558 และร้อยละ 40.2 จากผู้ที่เข้ารับการรักษาบำบัดทั้งหมด 5,901 ราย ในปี พ.ศ. 2559⁽²⁾

ในทางกฎหมาย ยาบ้าที่มีการแพร่ระบาดอยู่ในประเทศไทยนั้น มีเมทแอมเฟตามีน (Methamphetamine; MA) เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มของสารเสพติดประเภทแอมเฟตามีน (Amphetamine; AM) โดยตามพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ. 2522 ได้กำหนดให้สารเสพติดในกลุ่มของแอมเฟตามีน เป็นสารเสพติดให้โทษประเภทที่ 1 เมื่อมีผู้ใด เป็นผู้เสพ ผู้จำหน่าย ผู้ครอบครอง ผู้นำเข้าและส่งออก จะได้รับบทลงโทษสูงสุด⁽³⁾

ในการตรวจหาสารเสพติด ทางนิติวิทยาศาสตร์นิยมใช้ตัวอย่างทางชีวภาพ อาทิ เลือด ปัสสาวะ และเส้นผม เพื่อตรวจหาระดับความเข้มข้นของสารเสพติดในร่างกาย การนำตัวอย่างต่าง ๆ มาใช้ยังมีข้อจำกัดอยู่ อย่างเช่น การใช้ตัวอย่างเลือด และปัสสาวะ จะสามารถตรวจพบสารเสพติดได้ภายใน 34 และ 72 ชั่วโมง^(4, 5) ภายหลังจากเสพตามลำดับ จึงมีการพัฒนานำตัวอย่างเส้นผมมาใช้ในการตรวจ โดยจะเป็นการติดตามจากการสะสมของสารภายในเส้นผม⁽⁶⁾ ซึ่งยังเป็นประโยชน์ในด้านของการติดตามผู้เข้ารับการรักษาบำบัดการติดยาเสพติดอีกด้วย

ปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อเส้นผมนั้น แบ่งได้เป็นปัจจัยทางธรรมชาติ และปัจจัยทางเคมี โดยในปี ค.ศ. 1995 ได้มีการรายงานว่าสารตั้งต้นในการผลิตเครื่องเวชสำอางสำหรับบำรุงเส้นผม รวมถึงสารเคมีที่ใช้สำหรับการยืด การย้อมสีผม มีผลทำให้เส้นผมถูกทำลาย และยังมีผลต่อการสลายตัวของสารเสพติดภายในเส้นผมอีกด้วย⁽⁷⁾ ในช่วงปี ค.ศ. 2004 และ 2011 มีงานวิจัยที่ทำการศึกษถึงปัจจัยทางความร้อนที่มีต่อเส้นผมภายหลังจากการตัด ยืด ไดร้ ด้วยเครื่องมือเสริมความงาม สำหรับการศึกษถึงสภาพของเส้นผมที่เปลี่ยนแปลงไปภายหลังจากโดนความร้อน⁽⁸⁻¹⁰⁾ ต่อมาในปี ค.ศ. 2014 Jana E. และคณะได้ทำการศึกษปัจจัยทางความร้อนที่ได้จากเครื่องหนีบผมกับปริมาณของเอทิลกลูคูโรไนด์ (Ethyl glucuronide; EtG) พบว่ามีปริมาณของเอทิลกลูคูโรไนด์ในเส้นผมของผู้เสพมี

ปริมาณลดลง⁽¹¹⁾ เช่นเดียวกับในปี ค.ศ. 2016 คณะวิจัยเดิม พบว่าปัจจัยทางความร้อนที่ได้จากเครื่องหนีบผม ส่งผลต่อปริมาณกัญชา (Cannabis) และโคเคน (Cocaine) ที่ถูกตรวจพบ⁽¹²⁾

การวิเคราะห์ปริมาณสารเสพติดในเส้นผม จำเป็นต้องมีการสกัดสารออกจากเส้นผมก่อน โดยจะต้องมีการสกัดที่มีประสิทธิภาพ และเหมาะสมต่อสารที่ต้องการสกัดออกมา โดยเทคนิคที่เหมาะสมต่อการสกัดตัวอย่างจากเส้นผม เช่น การสกัดด้วยของเหลว (Liquid-liquid extraction; LLE) การสกัดโดยใช้ตัวดูดซับของแข็ง (Solid phase extraction; SPE) และ การสกัดโดยใช้ตัวดูดซับของแข็งปริมาณน้อย (Solid phase micro extraction; SPME)

จากข้อมูลทีกล่าวมาข้างต้น ทางผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการศึกษาปริมาณเมทแอมเฟตามีนในเส้นผม เมื่อผ่านกระบวนการทางความร้อนที่เพิ่มสูงขึ้น พร้อมทั้งศึกษาและตรวจสอบความถูกต้องของเทคนิคการสกัด SPME เพื่อใช้เป็นทางเลือกในการตรวจวิเคราะห์ระดับห้องปฏิบัติการนิติพิษวิทยาในอนาคตต่อไป

1.2 คำถามของการวิจัย (Research Questions)

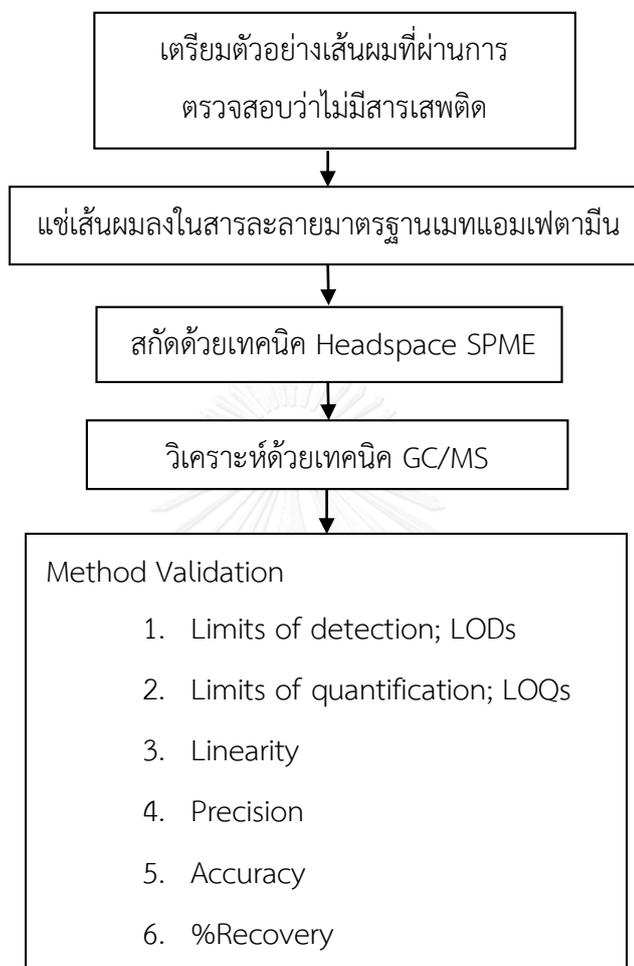
- 1.2.1 ความร้อนมีผลต่อความคงตัวของเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมหรือไม่
- 1.2.2 การตรวจสอบความถูกต้อง (Validation method) ของการตรวจเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมด้วยเทคนิคการสกัด HS-SPME

1.3 วัตถุประสงค์ (Objectives)

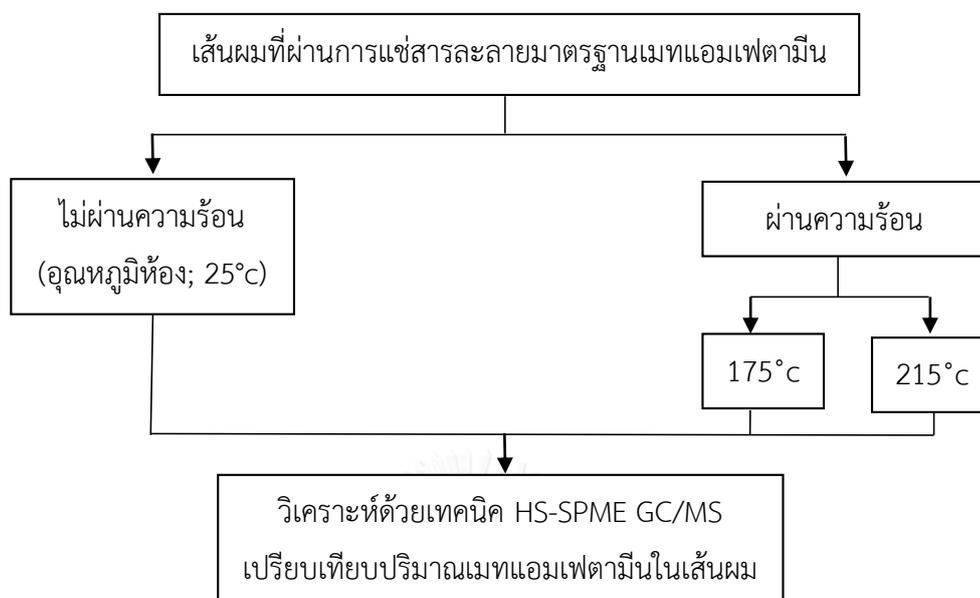
- 1.3.1 ศึกษาผลของความร้อนต่อความคงตัวของเมทแอมเฟตามีนในเส้นผม
- 1.3.2 ศึกษาการตรวจสอบความถูกต้องของการตรวจเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมด้วยเทคนิคการสกัด HS-SPME

1.4 การออกแบบการทดลอง (Experimental Design)

1.4.1 การตรวจสอบความถูกต้องของเทคนิค HS-SPME ในการสกัดเมทแอมเฟตามีนจากเส้นผม



1.4.2 การเปรียบเทียบปริมาณเมทแอมเฟตามีนจากเส้นผมเมื่อผ่านความร้อน



1.5 คำสำคัญ (Key words)

Methamphetamine

Hair

Thermal-damage

Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC/MS)

Headspace Solid Phase Micro extraction (Headspace SPME)

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย (Expected benefit and application)

16.1 ทำให้สามารถตรวจหาเมทแอมเฟตามีนในเส้นผม โดยใช้เทคนิค Headspace SPME GC/MS

16.2 สามารถแปลผลการตรวจวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนในเส้นผมที่ซึ่งผ่านความร้อนได้ถูกต้อง

16.3 สามารถนำไปต่อยอดและเป็นแนวทางการศึกษาต่อ เพื่อพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์หาสารเสพติดชนิดอื่นในเส้นผมที่โดนความร้อน ในระดับห้องปฏิบัติการ

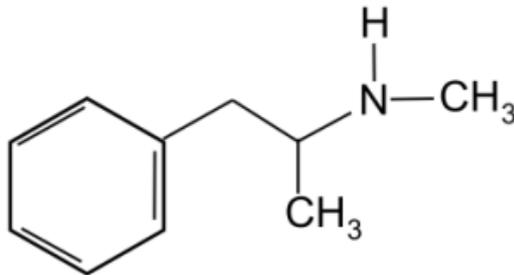
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เมทแอมเฟตามีน

พระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ. 2522 มาตราที่ 4 ให้นิยามของสารเสพติดไว้ว่า “สารเคมีหรือวัตถุชนิดใดๆ ซึ่งเมื่อเสพเข้าสู่ร่างกายไม่ว่าจะโดยรับประทาน ดม สูบ ฉีด หรือด้วยประการใดๆ แล้วทำให้เกิดผลต่อร่างกายและจิตใจในลักษณะสำคัญ เช่น ต้องเพิ่มขนาดการเสพเรื่อยๆ มีอาการถอนยาเมื่อขาดยา มีความต้องการเสพทั้งทางร่างกายและจิตใจอย่างรุนแรงอยู่ตลอดเวลา และสุขภาพโดยทั่วไปจะทรุดโทรมลง”⁽³⁾

สารเสพติดที่ถูกจัดให้เป็นปัญหาสำคัญของประเทศไทยคือ ยาบ้า ซึ่งมีเมทแอมเฟตามีนเป็นองค์ประกอบหลัก

เมทแอมเฟตามีนถูกสังเคราะห์ขึ้นครั้งแรกในปี ค.ศ 1893 โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่นที่ชื่อว่า นาไก นากาโยชิ (Nagai Nagayoshi) โดยทำการสกัดจาก อีเฟดรีน (Ephedrine) ซึ่งเป็นสารสำคัญที่อยู่ในต้น มาฮวง (Ma-huang) ที่เป็นพืชสกุล (Genus) อีฟีดรา (Ephedra)⁽¹³⁾ ซึ่งชาวจีนนิยมใช้ต้นมาฮวงมาเป็นตัวยาในการบำบัดรักษาอาการหอบหืด อาการไข้หวัด โดยการตากแห้งแล้วนำมาต้มน้ำ เพื่อใช้ดื่มมาเป็นเวลากว่า 5,000 ปี ต่อมาในปี ค.ศ. 1919 เมทแอมเฟตามีนได้ถูกสังเคราะห์ออกมาเป็นผลึกใสที่มีความบริสุทธิ์มากขึ้น และรู้จักกันในชื่อว่า ไอซ์ (Ice)⁽¹⁴⁾



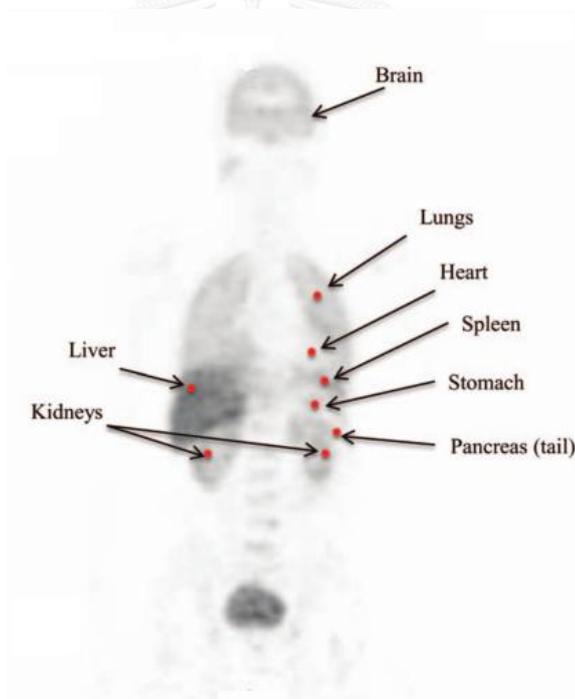
รูปที่ 1 แสดงลักษณะโครงสร้างของเมทแอมเฟตามีน⁽¹⁵⁾

เมทแอมเฟตามีนเป็นสารเสพติดสังเคราะห์ที่มีชื่อในระบบ IUPAC ว่า N-methyl-1-phenylpropan-2-amine และมีสูตรทางเคมี คือ $C_{10}H_{15}N$ มีน้ำหนักโมเลกุล 149.233 กรัม/โมล (g/mol) ลักษณะทางกายภาพของเมทแอมเฟตามีนจะมีลักษณะเป็นสีขาวจนถึงผลึกใสไม่มีสี มีจุดหลอมเหลว $175\text{ }^{\circ}\text{C}$ และจุดเดือด $212\text{ }^{\circ}\text{C}$ ⁽¹⁶⁾

เมทแอมเฟตามีนสามารถเข้าสู่ร่างกายได้หลายวิธี⁽¹⁷⁻¹⁹⁾ ตัวอย่างการเสพติต เช่น

- การกิน (Ingestion) เป็นวิธีดั้งเดิมที่ใช้สำหรับเสพจนถึงปัจจุบัน
- การสูด (Snorting) ผงเข้าทางจมูก
- การสูดดม (Scenting) ไอระเหย
- การเหน็บ (Suppository) ในช่องทวารหนัก
- การฉีด (Injection) เข้าหลอดเลือดดำ

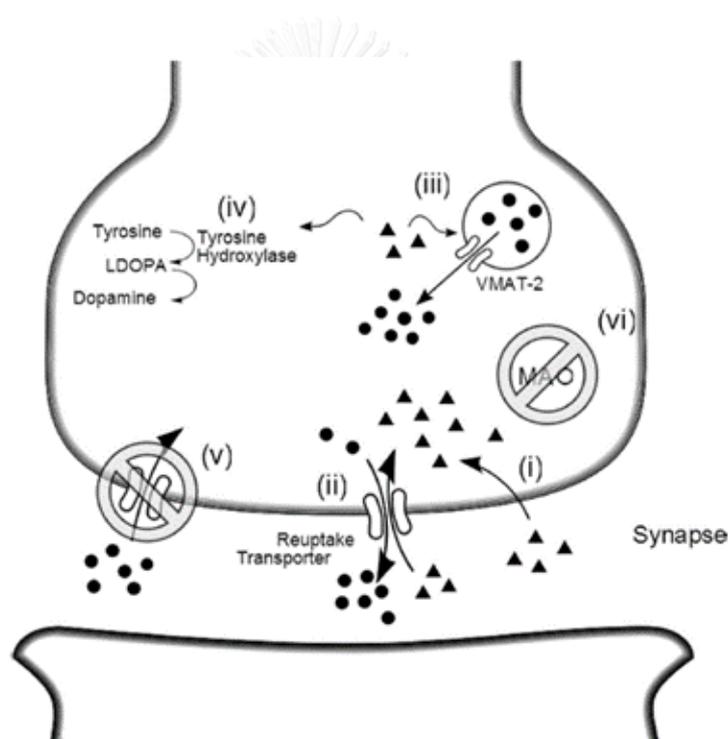
ในปี ค.ศ. 2010 มีการศึกษาถึงการกระจายตัวของเมทแอมเฟตามีนเมื่อได้รับเข้าสู่ร่างกาย โดยวิธีการกินพบว่าเมทแอมเฟตามีนเริ่มมีการกระจายตัวตั้งแต่วินาทีที่ 50 ภายหลังจากการเสพเมทแอมเฟตามีน โดยจะเข้าไปกระจายตัวอยู่ในพลาสมา และแพร่เข้าสู่อวัยวะต่าง ๆ ที่สำคัญของร่างกาย อันได้แก่ ปอด หัวใจ ไต ตับอ่อนส่วนหาง ม้าม ตับ กระเพาะอาหาร และสมองตามลำดับ⁽²⁰⁾



รูปที่ 2 แสดงลักษณะการกระจายตัวของเมทแอมเฟตามีนในร่างกายมนุษย์⁽²⁰⁾

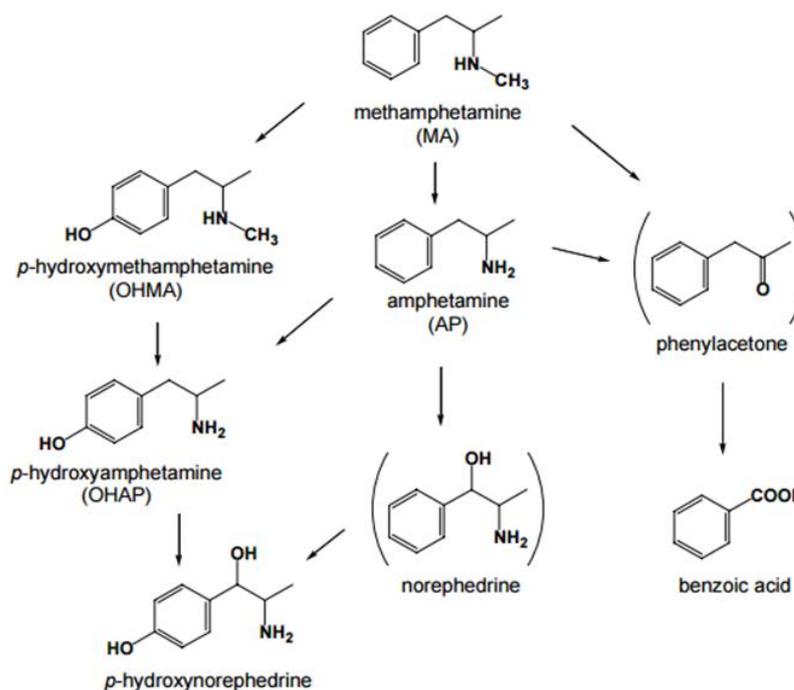
เมื่อเมทแอมเฟตามีนกระจายตัวเข้าสู่สมอง เมทแอมเฟตามีนจะไปกระตุ้นระบบประสาทส่วนกลาง โดยรบกวนสารสื่อประสาท (Neurotransmitter) ที่เกี่ยวข้องกับการปลดปล่อยและดูดซึมโดปามีน (Dopamine) และนอร์อีพิเนพรีน (Norepinephrine) โดยเมทแอมเฟตามีนจะไปกระตุ้นให้เกิดการหลั่ง และยับยั้งการดูดกลับของโดปามีนและนอร์อีพิเนพรีน ทำให้เกิดการคั่ง ณ บริเวณจุดประสานประสาท หรือไซแนปส์ (Synapse) โดยเมทแอมเฟตามีน (▲) สามารถผ่านเข้าสู่เซลล์

ด้วยวิธีการซึมผ่าน (Passive diffusion) (i) หรือผ่านทางตัวขนส่งโดปามีน (Dopamine transporters) ที่บริเวณผนังเซลล์ (ii) เมทแอมเฟตามีนเป็นสาเหตุที่ทำให้โดปามีน (●) เกิดการแพร่ออกจากถุงกักเก็บ (Vesicles) เข้าสู่ไซโทซอล (Cytosol) ภายในระบบประสาท ส่งผลให้ไทโรซีนไฮดรอกซิเลส (Tyrosine hydroxylase) (iv) ถูกกระตุ้นให้เกิดการทำงาน ทำให้โดปามีนภายในไซโทซอลมีปริมาณความเข้มข้นเพิ่มมากขึ้น และเคลื่อนที่เข้าสู่ไซแนปส์โดยผ่านทางตัวขนส่งโดปามีน (ii) ขณะเดียวกันนั้นเมทแอมเฟตามีนยังช่วยยืดระยะเวลาการทำงานของสารโดปามีน และนอร์อีพิเนฟริน โดยปิดกั้นการกลับเข้าสู่เซลล์ (v) ด้วยการลดการทำงานของตัวขนส่งที่บริเวณผนังเซลล์ และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส (Monoamine oxidase) ซึ่งเป็นตัวกำจัดสารโดปามีน และนอร์อีพิเนฟริน (vi)⁽²¹⁻²³⁾



รูปที่ 3 แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของเมทแอมเฟตามีนต่อระบบประสาทส่วนกลาง⁽¹⁶⁾

เมทแอมเฟตามีนจะถูกขับออกจากร่างกายโดยผ่านทางปัสสาวะภายใน 24 ชั่วโมงโดยจะเปลี่ยนรูปเป็น Amphetamine และ p-hydroxymethamphetamine ด้วยปฏิกิริยา N-demethylation⁽²⁴⁾ และ Hydroxylation⁽²⁵⁾ ตามลำดับ โดยสภาวะความเป็นกรด-ด่างของปัสสาวะจะมีผลต่อกระบวนการเปลี่ยนรูปของเมทแอมเฟตามีนที่เกิดขึ้นด้วย



รูปที่ 4 แสดงการเปลี่ยนแปลงของเมทแอมเฟตามีนภายในร่างกายของหนูทดลอง⁽²⁵⁾

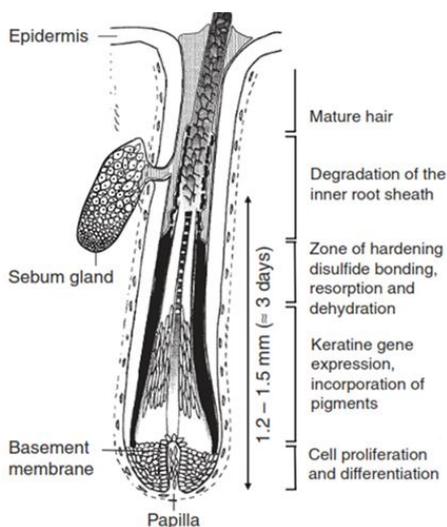
ผลจากการได้รับเมทแอมเฟตามีนเข้าสู่ร่างกาย ในระยะแรกจะทำให้ร่างกายเกิดการตื่นตัว ไม่เหนื่อยล้าในการทำกิจกรรมต่าง ๆ รวมไปถึงมีอัตราการหายใจเร็วขึ้น และการเต้นของหัวใจที่ผิดปกติ หากได้รับเมทแอมเฟตามีนติดต่อกันเป็นระยะเวลาเวลานาน จะส่งผลให้สมองเกิดการกระวนกระวายทำงานผิดปกติ มีอาการเห็นภาพหลอน เกิดความหวาดระแวง มีสภาวะทางอารมณ์ไม่คงที่ มีพฤติกรรมที่ก้าวร้าวรุนแรง รวมไปถึงมีปัญหาด้านสุขภาพของฟัน และมีน้ำหนักตัวที่ลดลง⁽²⁶⁻²⁸⁾

2.2 เส้นผมมนุษย์

องค์ประกอบของเส้นผมสามารถแบ่งออกเป็น โปรตีนร้อยละ 65-95 ไขมันร้อยละ 1-9 เม็ดสี (Melanin) ร้อยละ 0.1-5 แร่ธาตุชนิดต่าง ๆ และน้ำ⁽²⁹⁾

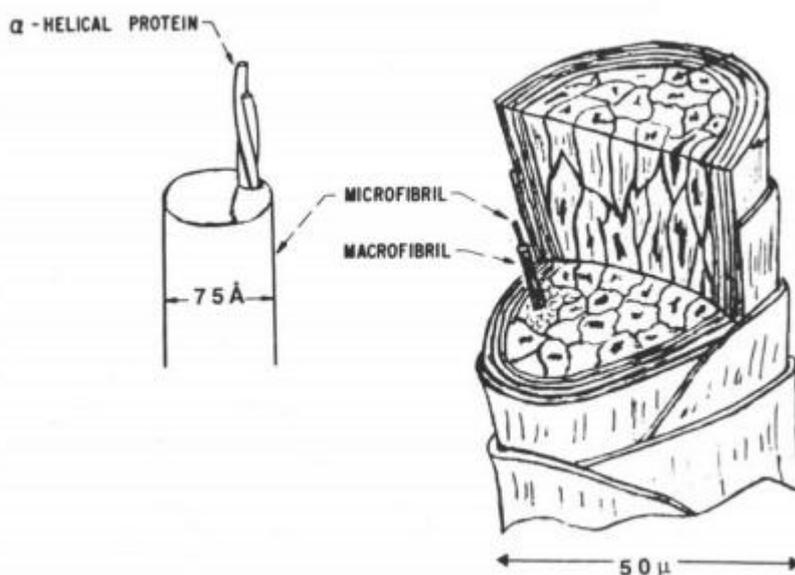
โครงสร้างของเส้นผม ประกอบไปด้วย ต่อมขน (Hair Follicle) ที่เกิดจากชั้นหนังกำพวด (Epidermis) ยื่นลงไปชั้นหนังแท้ (Dermis) ซึ่งบนหนังศีรษะของมนุษย์จะมีต่อมขนอยู่ประมาณ 80,000 – 1,200,000 ต่อม โดยล่างสุดของต่อมขนจะมีส่วนของชั้นหนังแท้ที่ยื่นขึ้นมาทำให้เกิดเป็น Dermis papilla ซึ่งภายในจะมีส่วนที่สร้างเซลล์เส้นขน (Hair shaft) เรียกว่า เมทริกซ์ (Matrix) โดยเมทริกซ์จะสร้าง และผลักเซลล์เส้นผมขึ้นสู่ผิวหนัง โดยมีกล้ามเนื้อที่บริเวณศีรษะเป็นตัวช่วยในการ

ยึดเส้นผมให้ติดกับหนังศีรษะ และมีต่อมไขมันเป็นตัวช่วยในการผลิตน้ำมันเพื่อหล่อเลี้ยงเส้นผม ทำให้เส้นผมมีความชุ่มชื้น เงางาม^(30, 31)



รูปที่ 5 แสดงลักษณะโครงสร้างของเส้นผม⁽³²⁾

เส้นผมประกอบด้วยเส้นใยเคราตินขนาดเล็ก 3 เส้นพันเป็นเกลียวกัน เรียกว่า โปรโตไฟบริล (Protofibril) ต่อมาโปรโตไฟบริล 9 เส้นรวมตัวกัน เรียกว่า ไมโครไฟบริล (Microfibril) และถูกเรียกว่า แมโครไฟบริล (Macrofibril) เมื่อมีเส้นใยของแมโครไฟบริลรวมตัวกันประมาณ 100 เส้น ซึ่งเกลียวเคราตินนั้นจะถูกยึดเหนี่ยวเข้ากันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ (Disulfide bond)⁽³³⁾



รูปที่ 6 แสดงลักษณะของเส้นใยเคราติน⁽³³⁾

เมื่อนำเส้นผมมาตัดตามแนวขวาง สามารถแยกชั้นของเส้นผมออกได้เป็น 3 ชั้นด้วยกัน⁽³⁴⁾

คือ

1. ชั้นแกนผม (Medulla)

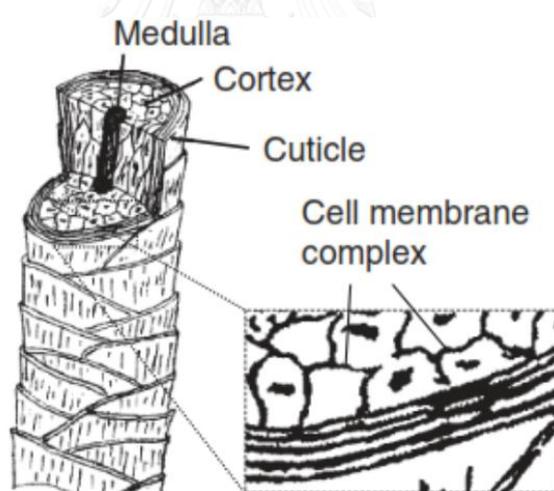
เป็นชั้นที่อยู่ด้านในสุดของเส้นผม โดยจะสามารถพบได้ในเส้นผมที่มีสภาพแข็งแรง ไม่สามารถพบในเส้นผมที่มีขนาดเล็ก ซึ่งในชั้นนี้จะประกอบไปด้วยโปรตีนและไขมัน

2. ชั้นเนื้อผม (Cortex)

เป็นชั้นที่มีความหนามากที่สุด และมีเคราตินเป็นองค์ประกอบมากกว่าร้อยละ 90 อีกทั้งยังเป็นแหล่งรวมตัวของเม็ดสี (Pigment) ซึ่งเป็นตัวกำหนดลักษณะสีของเส้นผม

3. ชั้นเกล็ดผม (Cuticle)

เป็นชั้นที่อยู่นอกสุดของเส้นผม มีลักษณะโปร่งแสง เรียงตัวซ้อนกันแบบเกล็ดปลา เป็นส่วนของเคราตินชนิดแข็ง (Hard keratin) ซึ่งทำให้เส้นผมมีความแข็งแรง และปกป้องไม่ให้เนื้อผมสูญเสียความชุ่มชื้น



รูปที่ 7 แสดงลักษณะชั้นของเส้นผมตัดตามแนวขวาง⁽³²⁾

วัฏจักรการเจริญเติบโตของเส้นผมสามารถแบ่งออกเป็น 3 ระยะ⁽³⁵⁾ ได้แก่

1. ระยะการเจริญเติบโต (Anagen Phase)

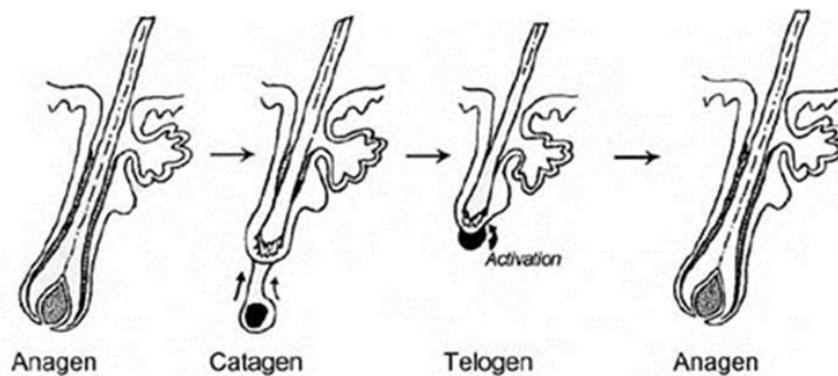
เป็นช่วงที่เส้นผมใหม่ดันเส้นผมเก่าทิ้งและเจริญเติบโต โดยใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโต ประมาณ 7 - 94 สัปดาห์ หรืออาจใช้เวลาหลายปี ขึ้นกับบริเวณที่เส้นผมงอก

2. ระยะพัก (Catagen Phase)

เป็นระยะที่เส้นผมเกิดการเจริญเติบโตจนเต็มที่แล้วเข้าสู่ระยะพัก เส้นผมจะอยู่ในช่วงนี้เป็นเวลา 2 –3 สัปดาห์ โดยในระยะนี้เซลล์รากผมจะเริ่มหยุดทำงาน

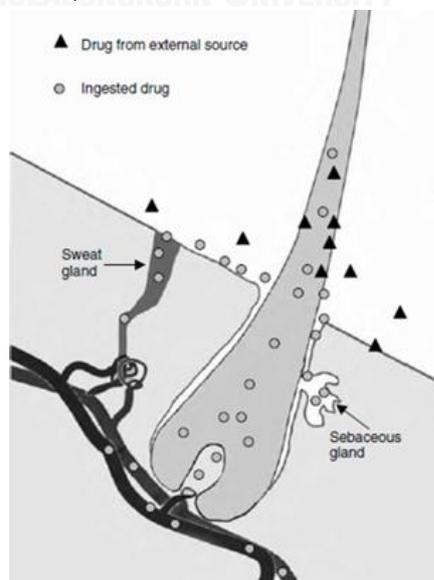
3. ระยะหยุดการเจริญเติบโต (Telogen phase)

เป็นช่วงที่ต่อมรากผมเลื่อนระดับสูงขึ้น และเส้นผมเข้าสู่การเจริญเติบโตระยะสุดท้าย จากนั้นเส้นผมจะหลุดร่วงออกไป และจะเริ่มเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตอีกครั้ง ในระยะนี้จะใช้เวลาไม่เกิน 12 สัปดาห์



รูปที่ 8 แสดงวัฏจักรของเส้นผม⁽³⁶⁾

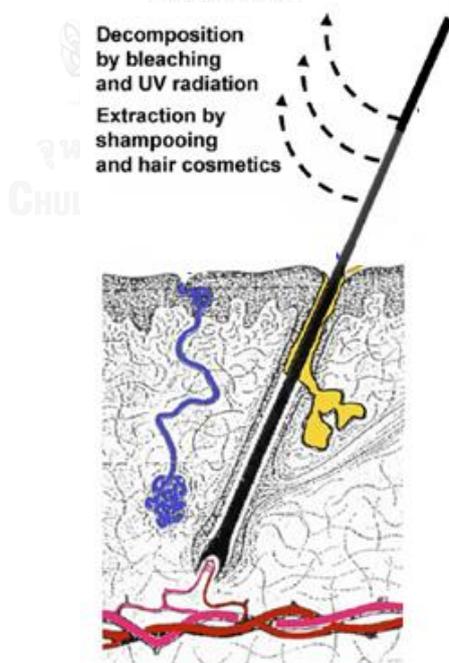
การสะสมของเมทแอมเฟตามีนภายในเส้นผมนั้น สามารถแบ่งการสะสมออกได้เป็นการแพร่กระจายตัวจากในกระแสเลือด จากต่อมเหงื่อหรือสารคัดหลั่งอื่นๆ และจากสภาวะแวดล้อมภายนอก ที่มาในรูปแบบของไอหรือฝุ่นควัน^(34, 37)



รูปที่ 9 แสดงกลไกการสะสมสารเสพติดภายในเส้นผม⁽³⁵⁾

ในปี ค.ศ. 1979 Baumgartner A. และคณะ ทำการศึกษาถึงปริมาณของมอร์ฟินในเส้นผม โดยตรวจวัดด้วยเทคนิค Radioimmunoassay พบว่าความเข้มข้นของมอร์ฟินที่วิเคราะห์ได้ มีปริมาณไม่เท่ากันในแต่ละความยาวของเส้นผม⁽³⁸⁾ ซึ่งมีความสอดคล้องกับในหลายงานวิจัย⁽³⁹⁻⁴¹⁾ ที่ระบุว่า เส้นผมมีอัตราการเติบโตเฉลี่ย 0.6 – 1.4 เซนติเมตรต่อเดือน โดยเส้นผมจะถูกหล่อเลี้ยงจากการลำเลียงอาหาร และแร่ธาตุต่างๆผ่านทางหลอดเลือดฝอยตรงบริเวณรากผม ดังนั้นเมื่อมีการเสพยาเสพติดเข้าสู่ร่างกายยาเสพติดจะกระจายตัวเข้าสู่กระแสเลือด เมื่อเลือดเดินทางเข้าไปหล่อเลี้ยงเส้นผม จะส่งผลให้ภายในเส้นผมนั้นมีสารเสพติดสะสมอยู่ภายใน

ในปี ค.ศ. 2012 Aldo P. และคณะ ทำการศึกษาถึงการสะสมของเมทแอมเฟตามีน และแอมเฟตามีนในเส้นผม จากการทดลองให้ผู้เสพจำนวน 7 ราย เสพเมทแอมเฟตามีนปริมาณ 50 มิลลิกรัมต่อวัน เป็นเวลา 1 สัปดาห์ โดยทำการเก็บเส้นผมก่อนการเสพ และภายหลังจากการเสพมาเปรียบเทียบกัน พบว่าปริมาณความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีน และแอมเฟตามีนในเส้นผมของผู้เสพทั้ง 7 ราย มีค่าปริมาณความเข้มข้นที่ตรวจวิเคราะห์ได้อยู่ระหว่าง 0.60 – 3.53 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม และ 0.13 – 0.27 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม ตามลำดับ⁽⁴²⁾ จากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าการตรวจวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนจากเส้นผม สามารถตรวจสอบได้เมื่อระยะเวลาผ่านไป 1 สัปดาห์ โดยปริมาณความเข้มข้นที่ตรวจวิเคราะห์ได้จะมีค่าความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เนื่องมาจากสภาวะแวดล้อม และกระบวนการในร่างกาย



รูปที่ 10 แสดงลักษณะปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อเส้นผม⁽³²⁾

ปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อเส้นผมสามารถแบ่งออกได้เป็น ปัจจัยทางเคมี และปัจจัยทางธรรมชาติ โดยในปี ค.ศ.1995 Cirimele V. และคณะ ทำการศึกษาถึงสภาพเส้นผมภายหลังจากการดิงยัดพบว่า สารตั้งต้นในการผลิตเวชสำอางบำรุงเส้นผม และสารเคมีสำหรับการดิงยัด ย่อมมี ผลให้เส้นผมถูกทำลาย⁽⁷⁾ ต่อมาในปี ค.ศ. 2004 – 2011 ได้มีหลายงานวิจัย⁽⁸⁻¹⁰⁾ ที่ทำการศึกษาถึงสภาพของเส้นผมที่เปลี่ยนแปลง ภายหลังจากโดนความร้อนจากเครื่องเสริมความงาม พบว่าความร้อนที่เส้นผมได้รับส่งผลให้สภาพพื้นผิวของเส้นผมเสียหาย จากงานวิจัยที่กล่าวมาจึงสามารถบอกได้ว่า ปัจจัยทางความร้อนมีผลทำให้โครงสร้างเส้นผมเกิดการเปลี่ยนแปลงไป

โดยในปี ค.ศ. 2014 Jana E. และคณะ ทำการศึกษาถึงปัจจัยของความร้อนที่มีผลกระทบต่อสารเสพติดที่อยู่ในเส้นผม โดยใช้ตัวอย่างเส้นผมจากผู้เสพสารเอทิลกลูคูโรไนด์ พบว่ามีปริมาณเอทิลกลูคูโรไนด์ลดลง⁽¹¹⁾ และได้ทำการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมในปี ค.ศ. 2016 พบว่าปัจจัยทางความร้อนที่ได้จากเครื่องหนีบผมกับปริมาณกัญชา และโคเคนในเส้นผมของผู้เสพยาเสพติดมีปริมาณลดลงเช่นกัน⁽¹²⁾

2.3 การตรวจวิเคราะห์

ในงานนิติวิทยาศาสตร์นั้น การตรวจหาสารเสพติดสามารถแบ่งการตรวจวิเคราะห์ออกได้เป็นการตรวจคัดกรอง (Screening test) และการตรวจยืนยัน (Confirmatory test) โดยทั่วไปจะทำการเก็บตัวอย่างเลือด ปัสสาวะ และเส้นผม มาใช้ในการตรวจหาเมทแอมเฟตามีน⁽⁴³⁾

การตรวจคัดกรองโดยทั่วไป จะนิยมนำปัสสาวะมาใช้ในการตรวจวิเคราะห์หาสารเสพติด เพราะ ตัวอย่างไม่ต้องผ่านกระบวนการสกัดให้บริสุทธิ์ก่อนนำไปตรวจวิเคราะห์ และใช้ระยะเวลาในการตรวจสอบที่รวดเร็ว โดยในปี ค.ศ 2007 Kaitlyn E. และคณะ ทำการศึกษาพัฒนาน้ำยาตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมี (Color test) ซึ่งเป็นหนึ่งในเทคนิคการตรวจคัดกรอง เพื่อใช้สำหรับการตรวจสารกลุ่มเมทคาทีโนน (Methcathinone) และอนุพันธ์ของเมทคาทีโนน (Analogues of methcathinone) โดยน้ำยาจะมีสีอ่อน – เข้มต่างกัน ตามสารในกลุ่มและอนุพันธ์ของเมทคาทีโนนที่เข้าทำปฏิกิริยา โดยผลที่ได้จากงานวิจัยนั้น ถูกนำไปประยุกต์ใช้สำหรับตัวอย่างปัสสาวะที่ถูกส่งเข้ามาตรวจในแต่ละวัน (Routine casework)⁽⁴⁴⁾

การตรวจยืนยันโดยทั่วไปจะนิยมใช้เทคนิคการตรวจวิเคราะห์ Gas chromatography (GC) หรือ High performance liquid chromatography (HPLC) สำหรับการหาปริมาณของสารเสพติดในตัวอย่างที่นำมาตรวจวิเคราะห์^(45, 46) โดยตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์จะต้องผ่านการสกัดที่มีประสิทธิภาพ และเหมาะสมต่อสารที่ต้องการสกัดออกมา โดยเทคนิคที่เหมาะสมต่อการสกัด เช่น การสกัดด้วยของเหลว (Liquid-liquid extraction; LLE) การสกัดโดยใช้ตัวดูดซับของแข็ง (Solid

phase extraction; SPE) และการสกัดโดยใช้ตัวดูดซับของแข็งปริมาณน้อย (Solid phase micro extraction; SPME)

จากการศึกษาวิจัยในปี ค.ศ. 2008 ของ Matthew P. และคณะ ทำการศึกษาเปรียบเทียบเทคนิคการสกัด ระหว่างเทคนิคการสกัดด้วยของเหลวและตัวดูดซับของแข็ง สำหรับใช้ในการสกัดสารกลุ่มอัลคาลอยด์ (Alkaline) อาทิ โคเคน (Cocaine) โคดีอีน (Codeine) มอร์ฟีน (Morphine) เมทิลีนไดออกซีเมทแอมเฟตามีน (Methylenedioxy methamphetamine; MDMA) พบว่าเทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง มีประสิทธิภาพในการสกัดสารที่ดีกว่า รวดเร็ว สามารถสกัดได้หลายตัวอย่างในเวลาเดียวกัน และยังสามารถตรวจวิเคราะห์สารบางชนิด อาทิ มอร์ฟีน ซึ่งไม่สามารถตรวจพบได้ในเทคนิคการสกัดด้วยของเหลว⁽⁴⁷⁾

ในปีเดียวกันนั้น Kenji K. และคณะ ทำการศึกษาเปรียบเทียบและแบ่งลักษณะของเมทแอมเฟตามีน ที่พบได้ในประเทศไทยและญี่ปุ่น โดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยของเหลวและตัวดูดซับของแข็งปริมาณน้อย พบว่าในขั้นตอนการสกัดให้สารบริสุทธิ์นั้น เทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งปริมาณน้อย ใช้ระยะเวลาในการสกัดที่สั้น ใช้ปริมาณของสารที่นำมาสกัดในปริมาณน้อย และสารที่สกัดได้นั้นมีความบริสุทธิ์ที่สูงกว่าการสกัดด้วยของเหลว⁽⁴⁸⁾

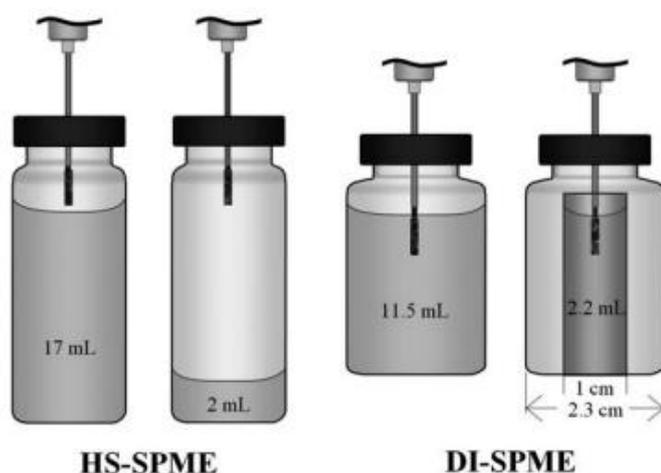
และจากงานวิจัยของ Maria E. และคณะ ในปี ค.ศ. 2001 ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบการสกัด ระหว่างเทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งและตัวดูดซับของแข็งปริมาณน้อย ในการตรวจวิเคราะห์หาองค์ประกอบของยาฆ่าแมลงในน้ำ พบว่าตัวดูดซับของแข็งปริมาณน้อยมีประสิทธิภาพในการสกัดที่สูง ใช้ระยะเวลาในการสกัดที่สั้น สามารถวิเคราะห์สารที่มีปริมาณน้อย หรือมีความเข้มข้นต่ำได้ และไม่ต้องนำสารละลายอื่น ๆ มาเป็นตัวช่วยในการสกัด เหมือนเทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง⁽⁴⁹⁾ ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยที่ทำการศึกษาเปรียบเทียบเทคนิคการสกัดทั้ง 2 ของ Laura C. และคณะ ในปี ค.ศ. 2013⁽⁵⁰⁾ กับ Annarita P. และคณะ ในปี ค.ศ. 2015⁽⁵¹⁾

จากงานวิจัยข้างต้นเห็นได้ว่า เทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งปริมาณน้อย มีความเหมาะสมทั้งในด้านระยะเวลาในการสกัด ปริมาณของสารที่ใช้สำหรับการสกัด และประสิทธิภาพในการสกัดที่มากกว่า เทคนิคการสกัดด้วยของเหลวและการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง

2.4 Solid phase micro extraction

เทคนิคการสกัดสารด้วยตัวดูดซับของแข็งปริมาณน้อย ถูกคิดค้นขึ้นในปี ค.ศ. 1989 ซึ่งเป็นเทคนิคที่นิยมใช้ในด้านเคมีวิเคราะห์⁽⁵²⁾ สามารถใช้วิเคราะห์สารตัวอย่างที่มีสมบัติเป็นสารระเหย (Volatile compounds) ที่อยู่ในรูปแก๊ส ของแข็ง และของเหลวได้ โดยอาศัยหลักของการดูดซับ (Adsorption) และการคาย (Desorption) เพื่อลดปัญหาด้านการใช้ตัวทำละลายลง

เทคนิคการสกัดสารด้วยตัวดูดซับของแข็งปริมาณน้อยแบบไฟเบอร์ (Fiber SPME) จะมีลักษณะของแกนกลางเป็นซิลิกาไฟเบอร์ที่ยึดจับอยู่กับตัวดูดซับ โดยในกรณีที่สารไม่ใช่สารที่ระเหยเป็นไอได้ จะใช้การจุ่มลงในสารตัวอย่างที่ต้องการตรวจวิเคราะห์โดยตรง (Direct immersion-SPME; DI-SPME) ถ้าหากสารตัวอย่างสามารถระเหยเป็นไอได้ จะนิยมใช้เทคนิคเฮดสเปซ (Headspace-SPME; HS-SPME)⁽⁵³⁾

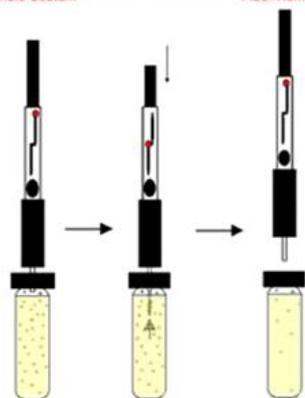


รูปที่ 11 แสดงลักษณะของเทคนิคการสกัด HS-SPME และ DI-SPME⁽⁵³⁾

โดยขั้นตอนการทำงานของเทคนิคการสกัดสารด้วยตัวดูดซับของแข็งปริมาณน้อยแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนการสกัด (Extraction) ก่อนนำเข้าสู่เครื่องวิเคราะห์ และขั้นตอนการคาย (Desorption) สารที่ผ่านการสกัดแล้วเข้าสู่เครื่องวิเคราะห์

Extraction Procedure for SPME

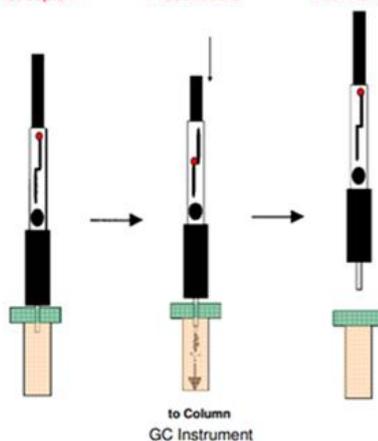
Pierce
mole Septum Expose Fiber/Extract
Retract
Fiber/Remove



to GC Instrument

Desorption Procedure for SPME

Pierce GC
Inlet Septum Expose
Fiber/Desorb Retract
Fiber/Remove



รูปที่ 12 แสดงลักษณะขั้นตอนการทำงานของเทคนิค HS-SPME⁽⁵⁴⁾

ในปี ค.ศ. 1992 เริ่มมีการนำเทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งปริมาณน้อย มาใช้ในการตรวจหาสารคาเฟอีน (Caffeine) ภายในเครื่องดื่ม⁽⁵⁵⁾ และต่อมากการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งปริมาณน้อย ได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในด้านนิติวิทยาศาสตร์เพื่อใช้วิเคราะห์หาสารเสพติด

ในปี ค.ศ. 1998 Liu J. และคณะ ทำการศึกษาหาสารเสพติด และสารพิษจากตัวอย่างชีวภาพ อาทิ เลือด ปัสสาวะ โดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งปริมาณน้อยพบว่า สารตัวอย่างปริมาตร 0.1 – 1 มิลลิลิตร สามารถตรวจวิเคราะห์หาสารเสพติดและสารพิษได้⁽⁵⁶⁾

ในปี ค.ศ. 2000 Maw-Rong L. และคณะ ทำการศึกษาการตรวจวิเคราะห์แอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนจากเซรัม (Serum) โดยใช้เทคนิคการดูดซับด้วยของแข็งปริมาณน้อยพบว่า สามารถตรวจวิเคราะห์แอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีน ที่ความเข้มข้นในระดับนาโนกรัมต่อมิลลิลิตร⁽⁵⁷⁾

2.5 แก๊สโครมาโทกราฟี แมสสเปคโตรมิเตอร์ (Gas chromatography Mass spectrometer; GC/ MS)

โครมาโทกราฟี (Chromatograph) คือ เทคนิคการแยกของผสมออกจากกัน ด้วยการอาศัยสมบัติ 2 ประการ คือ

1. สารต่างชนิดกันมีความสามารถในการละลายในตัวทำละลายที่ต่างกัน
2. สารต่างชนิดกันมีความสามารถในการถูกดูดซับที่แตกต่างกัน

วิธีการแยกสารด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี คือ การปล่อยให้สารตัวอย่างที่สนใจ กระจายตัวอยู่ในตัวดูดซับ ซึ่งสารตัวอย่างจะมีสมบัติการกระจายตัวและถูกดูดซับได้ต่างกัน จึงทำให้สามารถแยกสารออกจากกันได้ สำหรับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีนั้น อาศัยหลักการของโครมาโทกราฟี โดยตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์จะต้องถูกทำให้กลายเป็นไอหรือแก๊ส จากนั้นนำเข้าสู่การตรวจวิเคราะห์ด้วยแก๊สตัวพา (Carrier) ซึ่งโดยส่วนใหญ่จะนิยมใช้เป็นแก๊สเฉื่อย เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีจะสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งทางด้านปริมาณ (Quantitative) และทางด้านคุณภาพ (Qualitative) องค์ประกอบของเครื่องโครมาโทกราฟี⁽⁴³⁾ มีดังต่อไปนี้

แก๊สตัวพา (Carrier gas) ทำหน้าที่พาสารตัวอย่างเข้าสู่คอลัมน์ (Column) นิยมนำแก๊สฮีเลียม (He) อาร์กอน (Ar) หรือไนโตรเจน (N) มาใช้เป็นแก๊สตัวพา เพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง ตัวทำละลาย และตัวดูดซับ

ระบบฉีดสารตัวอย่าง (Sample injection system) การเลือกหัวฉีดสารจะขึ้นกับสถานะของสารตัวอย่าง โดยจะแบ่งสารตัวอย่างออกเป็น

1. แก๊ส (Gas) จะนิยมใช้เข็ม (Gas-tight syringes) ฉีดเข้าเครื่อง แต่การใช้ระบบวาล์วเปิด-ปิด (Gas-sampling valve) นั้นเป็นระบบที่ดีที่สุด เพราะสามารถกำหนดปริมาณของแก๊สที่เข้าสู่เครื่องได้

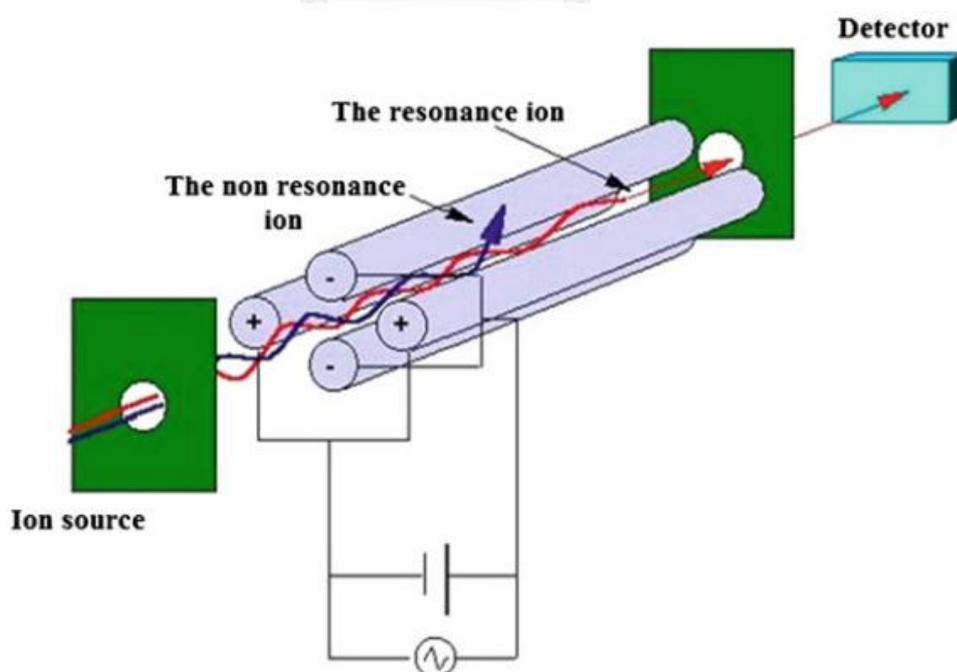
2. ของเหลว (Liquid) จะใช้เข็มฉีดยาขนาดเล็ก (Micro syringes) โดยสารตัวอย่างจะถูกเปลี่ยนสถานะให้กลายเป็นไอด้วยความร้อน (Heater block) ซึ่งอุณหภูมิที่ทำให้สารตัวอย่างกลายเป็นไอต้องสูงกว่าจุดเดือดของสาร แต่ไม่สูงมากเกินไปจนทำให้สารตัวอย่างเกิดการสลายตัว

3. ของแข็ง (Solid) นิยมใช้หลักการไพโรไลซิส (Pyrolysis) ทำให้ของแข็งกลายเป็นไอในสถานะไร้อากาศ และให้อุณหภูมิที่สูงแก่สารตัวอย่าง นิยมใช้กับสารตัวอย่างที่เป็นพอลิเมอร์ (Polymer) หรือสารตัวอย่างที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง

คอลัมน์ (Column) ทำหน้าที่แยกไอของสารตัวอย่างแต่ละชนิดออกจากกัน สามารถแบ่งคอลัมน์ออกได้เป็น 2 ชนิด ได้แก่ Packed column และ Capillary column

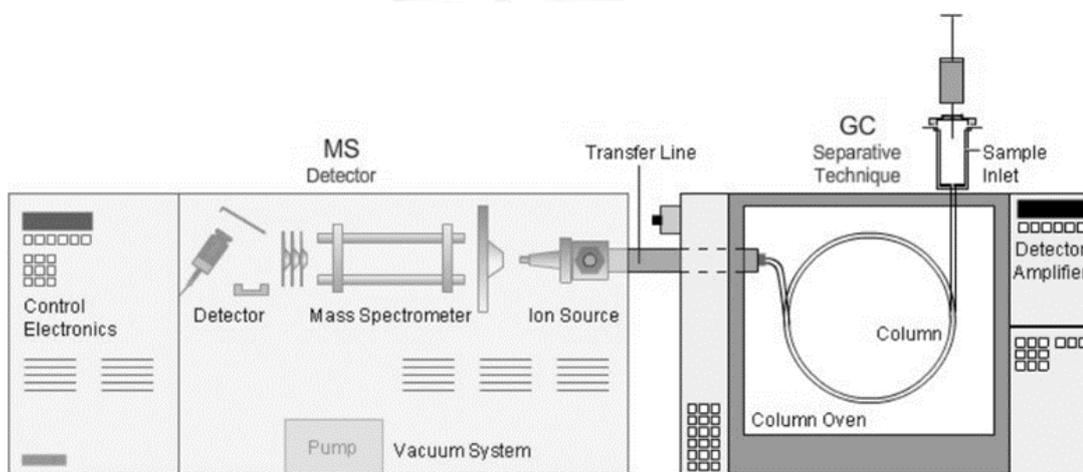
เตาอบ (Oven) เป็นส่วนที่บรรจุคอลัมน์ และทำหน้าที่ควบคุมอุณหภูมิให้เปลี่ยนแปลงไปตามอุณหภูมิที่กำหนดค่าไว้ ซึ่งต้องเป็นอุณหภูมิที่มีความเหมาะสมกับสารตัวอย่างที่ตรวจวิเคราะห์

เครื่องตรวจวิเคราะห์ (Detector) ทำหน้าที่ตรวจวัดหาค่าประกอบและปริมาณของสารตัวอย่าง โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์นั้นมีหลากหลายชนิดขึ้นกับสารตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์



รูปที่ 13 แสดงลักษณะ Quadrupole⁽⁵⁸⁾

ในงานวิจัยนี้จะใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์แบบแมสสเปคโตรมิเตอร์ (Mass spectrometer) โดยสารตัวอย่างจะถูกกระทำภายใต้สภาวะสุญญากาศให้เกิดปฏิกิริยาไอออไนซ์ (Ionization) โดยการยิงสารให้แตกตัวเป็นประจุด้วยพลังงาน 70 eV จากนั้นสารตัวอย่างที่แตกตัวจะเข้าสู่การคัดแยกมวลต่อประจุ (m/z) ด้วยตัวคัดกรอง (Filter) ชนิด Quadrupole ซึ่งจะประกอบไปด้วยแท่งโลหะสี่แท่งวางในลักษณะตรงข้ามกัน แบ่งเป็น ขั้วบวก 2 แท่ง และขั้วลบ 2 แท่ง ซึ่งแท่งทั้ง 4 นี้ทำหน้าที่สร้างสนามไฟฟ้าเพื่อเหนี่ยวนำมวลต่อประจุ โดยมวลต่อประจุที่ต้องการจะถูกพาเข้าสู่เครื่องตรวจวัด ซึ่งจะทำหน้าที่ตรวจวัดไอออน (Ion) ที่ส่งมาจาก Quadrupole โดยก่อนการวิเคราะห์ ไอออนจะต้องผ่านเครื่อง Electron Multipliers เพื่อเป็นการเพิ่มสัญญาณของไอออนก่อน ผลที่ได้ออกมาจากเครื่องตรวจวัดจะแสดงออกมาเป็นกราฟ เรียกว่า Mass spectrum ซึ่งแกน x คือ ค่าอัตราส่วนมวลต่อประจุ และแกน y คือ ปริมาณความเข้มข้นของไอออน โดยจะสามารถนำ Mass spectrum ไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลเพื่อระบุชนิดของสารได้



รูปที่ 14 แสดงองค์ประกอบของเครื่อง GC/MS⁽⁵⁹⁾

2.6 การตรวจสอบความถูกต้องของเทคนิคทดสอบ (Validation Method)

การตรวจสอบความถูกต้องของเทคนิคทดสอบ คือ การยืนยันถึงความสามารถใช้ได้ของวิธีการทดสอบในห้องปฏิบัติการ โดยขั้นตอนการตรวจสอบจะทำตามหลักเกณฑ์ทางสากลที่ได้ถูกกำหนดและเป็นที่ยอมรับ โดยงานวิจัยนี้จะยึดหลักเกณฑ์ของ United Nations Office on Drugs and Crime; UNODC⁽⁶⁰⁾ สำหรับหัวข้อในการตรวจสอบความถูกต้องของเทคนิคทดสอบในงานวิจัยนี้ แบ่งออกเป็น

2.6.1 Linearity

คือ ค่าความสัมพันธ์ของความเข้มข้นในระดับต่างๆที่ตรวจวิเคราะห์ และให้ค่าออกมาเป็นสมการเชิงเส้น โดยวิธีการตรวจสอบจะทำการเติมสารมาตรฐานลงในตัวอย่างที่ปราศจากสารมาตรฐาน (Sample blank) ให้มีความเข้มข้นอย่างน้อย 5 ระดับความเข้มข้น ซึ่งกำหนดตั้งแต่ค่าความเข้มข้นต่ำสุด ไปจนถึงค่าความเข้มข้นสูงที่สุด จากนั้นก็นำตัวอย่างที่เตรียมได้เข้าสู่กระบวนการวิเคราะห์ โดยทำการตรวจวิเคราะห์ซ้ำความเข้มข้นละ 3 ครั้ง จะได้กราฟออกมาเป็นค่าที่วิเคราะห์ได้สัมพันธ์กับค่าความเข้มข้นที่กำหนด ซึ่งควรได้กราฟที่มีลักษณะเป็นสมการเส้นตรง และคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient; R^2) โดยค่าที่ยอมรับได้ของเทคนิคทดสอบนั้นต้องมีค่าตั้งแต่ 0.99 เฟอร์เซนต์ขึ้นไป

2.6.2 Precision

คือ ค่าความแม่นยำในการวิเคราะห์ ที่ทำการวิเคราะห์ซ้ำกันหลายครั้ง และได้ค่าแต่ละครั้งใกล้เคียงกัน โดยคำนวณหาค่าความแตกต่างที่ได้จากการวิเคราะห์ แสดงออกมาเป็นค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation; SD) และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (Coefficient of variation; CV) โดยแบ่งการวิเคราะห์ออกเป็น 2 ลักษณะ คือ

2.6.2.1 Intraday precision

คือ การหาค่าความแม่นยำในการวิเคราะห์ภายในวันที่ทำการทดลอง ทำการวิเคราะห์โดยเติมสารมาตรฐานลงในตัวอย่างที่ปราศจากสารมาตรฐาน ให้มีความเข้มข้นที่ต่างกัน 3 ความเข้มข้น แต่ต้องอยู่ในช่วงความเข้มข้นของ Linearity โดยส่วนใหญ่จะเลือกใช้ค่าความเข้มข้นต่ำสุด ค่าความเข้มข้นช่วงตรงกลาง และค่าความเข้มข้นสูงสุด และแบ่งช่วงเวลาในการทดสอบอย่างน้อย 3 ช่วงเวลา

2.6.2.2 Interday precision

คือ การหาค่าความแม่นยำในการวิเคราะห์ระหว่างวันที่ทำการทดลอง ทำการวิเคราะห์โดยเติมสารมาตรฐานลงในตัวอย่างที่ปราศจากสารมาตรฐาน ให้มีความเข้มข้นที่ต่างกัน 3 ความเข้มข้น ปกติแล้วจะใช้ค่าความเข้มข้นเดียวกับการวิเคราะห์ในหัวข้อ Intraday precision โดยจะทำการทดสอบอย่างน้อย 5 วันติดต่อกัน

การหาค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน: SD

$$\text{ใช้สูตร } SD = \frac{\sqrt{n \sum x^2 - \sum(X)^2}}{n(n-1)}$$

โดยกำหนดให้ x คือ ข้อมูลตัวเลขทั้งหมด

n คือ จำนวนของข้อมูลที่นำมาวิเคราะห์

การหาค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน: %CV

$$\text{ใช้สูตร } \%CV = \frac{\text{ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน}}{\text{ค่าเฉลี่ย}} \times 100$$

โดยค่าเปอร์เซ็นต์ CV ที่วิเคราะห์ได้ จะต้องไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนด คือ 15 เปอร์เซ็นต์

2.6.3 Accuracy

คือ ค่าความถูกต้องในการวิเคราะห์ ที่สามารถวัดค่าความเข้มข้นได้ใกล้เคียงกับค่าความเข้มข้นที่แท้จริง ทำการวิเคราะห์โดยเติมสารมาตรฐานลงในตัวอย่างที่ปราศจากสารมาตรฐานให้มีความเข้มข้นที่ต่างกัน 3 ความเข้มข้น แต่ต้องอยู่ในช่วงความเข้มข้นของ Linearity และไม่ใช่ค่าความเข้มข้นเดียวกันกับหัวข้อ Precision โดยตรวจวิเคราะห์ซ้ำความเข้มข้นละ 3 ครั้ง จากนั้นทำค่าที่วิเคราะห์ได้ มาคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน และค่าร้อยละการกลับคืนของการทดสอบ (%Recovery) ซึ่งค่าที่ยอมรับได้จะต้องมีค่าระหว่าง 85 ถึง 115 เปอร์เซ็นต์

2.6.4 %Recovery

คือ ค่าร้อยละการกลับคืนในการวิเคราะห์ ที่สามารถวัดค่าความเข้มข้นได้ใกล้เคียงกับค่าความเข้มข้นที่แท้จริง ทำการวิเคราะห์โดยเติมสารมาตรฐานลงในตัวอย่างที่ปราศจากสารมาตรฐาน ให้มีความเข้มข้นต่างกัน 3 ความเข้มข้น แต่ต้องอยู่ในช่วงความเข้มข้นของ Linearity ทำการตรวจวิเคราะห์ซ้ำความเข้มข้นละ 3 ครั้ง และนำค่าที่วิเคราะห์ได้ มาคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน และค่าร้อยละการกลับคืนของการทดสอบ

การหาค่า %Recovery

$$\text{ใช้สูตร } \% \text{Recovery} = \frac{\text{ค่าของตัวอย่างที่ตรวจวัดได้}}{\text{ค่าของตัวอย่างจริง}} \times 100$$

5. Limit of detection; LOD

คือ ค่าต่ำสุดในการวิเคราะห์ที่วิธีทดสอบสามารถวิเคราะห์ได้ แต่ไม่สามารถให้ค่าออกมาเป็นปริมาณความเข้มข้นได้อย่างถูกต้อง โดยทำการเติมสารมาตรฐานลงในตัวอย่างที่ปราศจากสารมาตรฐานให้มีความเข้มข้นที่ต่ำสุด ซึ่งต่ำกว่าค่าของ Linearity โดยทำการวิเคราะห์ซ้ำที่ความเข้มข้นเดิม 7 ครั้ง และนำค่าความแตกต่างที่ได้จากการวิเคราะห์ มาคำนวณหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากนั้นนำตัวเลขที่ได้มาคูณด้วย 3

6. Limit of quantification; LOQ

คือ ค่าต่ำสุดในการวิเคราะห์ที่วิธีทดสอบสามารถวิเคราะห์ และให้ค่าปริมาณความเข้มข้นได้อย่างถูกต้องแม่นยำ โดยจะนำค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานที่วิเคราะห์ได้จากหัวข้อ Limit of detection มาคูณด้วย 10

ในปี ค.ศ. 2011 Pongpichan H. และคณะ ทำการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีทดสอบ และนำไปประยุกต์ใช้กับการตรวจวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีน และแอมเฟตามีนจากเส้นผมในผู้เสพยาบ้า โดยใช้การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งปริมาณน้อยชนิด PDMS/DVB Fiber ของบริษัท Supelco ประเทศสหรัฐอเมริกา โดยทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี Agilent รุ่น 6890N series เครื่องแมสสเปคโตรมิเตอร์ รุ่น 5973 series และคอลัมน์รุ่น HP-5MS พบว่าค่า R² ที่ได้จากการทดสอบความเข้มข้นในช่วง 0.2 – 10 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม มีค่ามากกว่า 0.99 เปอร์เซนต์ ให้ค่า Precision ที่น้อยกว่า 15 เปอร์เซนต์ ค่า accuracy เท่ากับ 115 เปอร์เซนต์ มีค่า LOD อยู่ที่ 0.10 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม และ LOQ อยู่ที่ 0.20 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม⁽⁶¹⁾

ในปี ค.ศ. 2014 Anongphan J. และคณะ ได้ศึกษาการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีทดสอบ และนำไปประยุกต์ใช้กับการตรวจหาเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมของกลุ่มวัยรุ่นในประเทศไทยโดยใช้การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งปริมาณน้อยชนิด PDMS/DVB Fiber ขนาด 65 ไมโครเมตร ของบริษัท Supelco ประเทศสหรัฐอเมริกา ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี Agilent

รุ่น 6890N series เครื่องแมสสเปคโตรมิเตอร์ รุ่น 5973 series และคอลัมน์รุ่น HP-5MS ผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีทดสอบ พบว่า R^2 มีค่ามากกว่า 0.99 เปอร์เซ็นต์ มีค่า LOD อยู่ที่ 0.5 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม และ LOQ อยู่ที่ 2.5 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม และเมื่อนำไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างที่เก็บจากผู้เสพจำนวน 1,111 รายพบว่า สามารถตรวจพบเมทแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้นในช่วง 0.51 – 54.61 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม⁽⁶²⁾

สำหรับการศึกษาถึงการดูดซับของเส้นผมที่ปราศจากสารเสพติด (Blank hair) ที่ถูกนำมาแช่ลงในสารละลายมาตรฐานของสารเสพติด ในปี ค.ศ. 2013 งานวิจัยของ Sophie C. และคณะ ได้นำเส้นผมที่ปราศจากสารเสพติด มาแช่ลงในสารละลายมาตรฐานเอทิลกลูคูโรไนด์ที่เตรียมไว้ ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 5 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และสูงสุด 50 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เทคนิค LC/MS/MS ในการวิเคราะห์หาปริมาณเอทิลกลูคูโรไนด์ พบว่าที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดมีปริมาณเอทิลกลูคูโรไนด์ที่วิเคราะห์ได้เท่ากับ 51.6 พิโคกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม และที่ค่าความเข้มข้นสูงสุดมีปริมาณเอทิลกลูคูโรไนด์ที่วิเคราะห์ได้เท่ากับ 473.9 พิโคกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม⁽⁶³⁾ จากการศึกษาครั้งนี้จึงสามารถบอกได้ว่า ปริมาณของสารเสพติดที่ถูกดูดซับเข้าสู่เส้นผม จะมีค่าปริมาณความเข้มข้นที่ไม่เท่ากับค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่นำมาใช้ในกระบวนการแช่เส้นผม

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย (Research Design)

เป็นการวิจัยเชิงทดลอง (Experiment) ทำการศึกษาที่หน่วยนิติพิษวิทยา ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2 ระเบียบวิธีวิจัย (Research Methodology)

กลุ่มประชากรที่ศึกษา (Target population and Sample population)

บุคคลซึ่งไม่มีประวัติเสพยาเมทแอมเฟตามีน และสารเสพติดชนิดอื่น

เกณฑ์การคัดเลือกเข้าศึกษา (Inclusion criteria)

1. ไม่มีประวัติการเสพยาเมทแอมเฟตามีน และสารเสพติดชนิดอื่น
2. ผอมยาวเลยบ่าลงมา
3. ไม่กำหนดเพศ

เกณฑ์การคัดออกจากการศึกษา (Exclusion criteria)

1. ผ่านกระบวนการทำผมจากสารเคมี อันได้แก่ ย้อมสีผม กัดสีผม ตัดรอนผม
2. ใช้แผ่นโลหะร้อนสัมผัสกับเส้นผมโดยตรง อันได้แก่ หนีบผม ม้วนผม

ข้อ 1 และ 2 ของเกณฑ์คัดออกจากการศึกษา ต้องเกิดขึ้นภายในระยะเวลาไม่เกิน 3.5 ปี

โดยทำการคัดเลือกอาสาสมัครจำนวน 4 รายเข้าสู่งานวิจัย

การเก็บตัวอย่าง (Specimen collection)

ตัดเส้นผมโดยการใช้นิ้วโป้งและนิ้วชี้กำมือรอบเส้นผม ให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3 – 4 มิลลิเมตร⁽⁶⁴⁾ จากนั้นใช้เชือกผูกเส้นผม และตัดเส้นผมให้มีความยาวประมาณ 5-7 เซนติเมตร โดยวัดจากปลายเส้นผมขึ้นไป โดยเก็บตัวอย่างเส้นผมที่บริเวณหลังใบหู

การพิจารณาจริยธรรมการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ผ่านกระบวนการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย จากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย เมื่อวันที่ 13 มิถุนายน 2559 เลขที่ COA No. 413/2016 และ IRB No. 162/59

3.3 เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

สารเคมี (Chemical)

1. Methamphetamine (Certified reference material) สารมาตรฐานจาก Cerilliant ความเข้มข้น 1 mg/ml ประเทศสหรัฐอเมริกา
2. Methamphetamine-D5 (Certified reference material) สารมาตรฐานจาก Cerilliant ความเข้มข้น 1 mg/ml ประเทศสหรัฐอเมริกา
3. Methanol (Grade for analysis) บริษัท Merck KGaA ประเทศเยอรมัน
4. Dichloromethane บริษัท BDH Chemical Ltd. ประเทศอังกฤษ
5. 2-Propanol (Grade for analysis) บริษัท Merck KGaA ประเทศเยอรมัน
6. Hydrochloric acid fuming 37% (Grade for analysis) บริษัท Merck KGaA ประเทศเยอรมัน
7. Chloroform (Grade for analysis) บริษัท Merck KGaA ประเทศเยอรมัน
8. Acetic acid fuming 100% บริษัท Merck KGaA ประเทศเยอรมัน
9. Ammonia solution fuming 25% บริษัท Merck KGaA ประเทศเยอรมัน
10. di-Sodium hydrogen phosphate (Grade for analysis) บริษัท Merck KGaA ประเทศเยอรมัน
11. Sodium hydroxide (Pellets for analysis) บริษัท Merck KGaA ประเทศเยอรมัน
12. Sodium di-hydrogen phosphate dehydrate (Pellets for analysis) บริษัท Merck KGaA ประเทศเยอรมัน

13. Ethyl acetate (Grade for analysis) บริษัท Merck KGaA ประเทศเยอรมัน

เครื่องมือและอุปกรณ์ (Tools and Equipment)

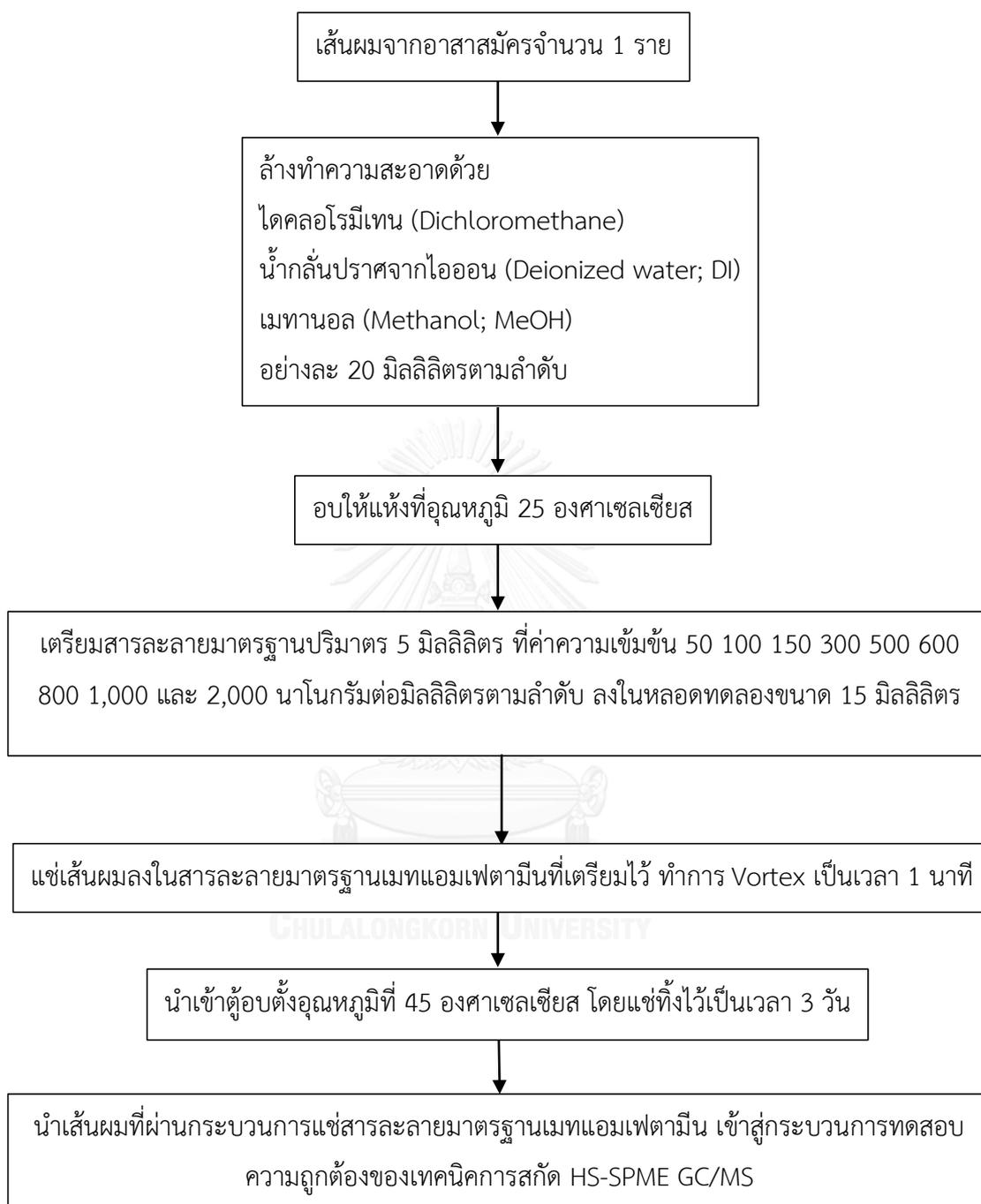
1. กระดาษชั่งสารเคมี 500 แผ่น ยี่ห้อ METTLER TOLEDO บริษัท Mettler Toledo Group ประเทศสหรัฐอเมริกา
2. Tips ขนาด 10 200 1,000 และ 5,000 μ l บริษัท Eppendorf ประเทศเยอรมัน
3. เครื่องหนีบผมเน็กซ์ เพาเวอร์ แอดวานซ์ ฮอท โมเดล NP6040 บริษัทโมเดิร์น คาส อินเตอร์ ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน
4. เครื่องแก้ว บริษัท PYREX ประเทศอังกฤษ
5. เตาอบ (Oven) ยี่ห้อ Memmert ประเทศเยอรมัน
6. Parafilm บริษัท Laboratory Film ประเทศสหรัฐอเมริกา
7. เครื่องผสมสารละลาย (Votex) รุ่น K5500GE บริษัท Scientific industries ประเทศสหรัฐอเมริกา
8. เครื่องเป่าระเหยด้วยไนโตรเจน (N₂-Evaporator) ยี่ห้อ ChemFast Elite 12 บริษัท DasitGroup ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน
9. เครื่อง Gas chromatography รุ่น GC-2010 Plus บริษัท Shimadzu ประเทศญี่ปุ่น
10. เครื่อง Mass spectrometer รุ่น QP-2010 Ultra บริษัท Shimadzu ประเทศญี่ปุ่น
11. เครื่อง Auto sampler รุ่น AOC-5000 Plus บริษัท Shimadzu ประเทศญี่ปุ่น
12. อุปกรณ์การสกัด SPME Fiber 100 μ m PDMS (Red) บริษัท Supelco ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.4 วิธีดำเนินการวิจัย (Methods)

3.4.1 การตรวจสอบความถูกต้องของเทคนิค HS-SPME สำหรับการสกัดเมทแอมเฟตามีนจากเส้นผม

การเตรียมตัวอย่าง

นำเส้นผมที่เก็บจากอาสาสมัคร 1 ราย มาทำการล้างทำความสะอาดด้วยสารละลายไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane) น้ำกลั่นปราศจากไอออน (Deionized water; DI) และเมทานอล (Methanol; MeOH) อย่างละ 20 มิลลิลิตรตามลำดับ หลังจากนั้นนำเส้นผมไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระหว่างนั้นทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ค่าความเข้มข้น 50 100 150 300 500 600 800 1,000 และ 2,000 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วนำเส้นผมที่ผ่านการล้างทำความสะอาดแล้ว มาแช่ลงในหลอดทดลองที่ถูกเตรียมสารละลายมาตรฐานไว้ จากนั้นนำเข้าเครื่อง Vortex เป็นเวลา 1 นาทีเพื่อให้สารละลายมาตรฐานกระจายตัวทั่วเส้นผม แล้วนำเข้าตู้อบตั้งอุณหภูมิที่ 45 องศาเซลเซียส โดยแช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 3 วัน หลังจากนั้นนำเส้นผมที่ผ่านกระบวนการแช่สารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีน เข้าสู่กระบวนการทดสอบความถูกต้องของเทคนิคการสกัด HS-SPME GC/MS



รูปที่ 15 แสดงวิธีการเตรียมตัวอย่างให้มีเมทแอมเฟตามีนทั่วเส้นผม

การสกัดตัวอย่าง

Headspace Solid phase micro extraction (HS-SPME)

นำเส้นผมปริมาณ 20 มิลลิกรัม ใส่ลงใน Vial ขนาด 20 มิลลิลิตร ที่มีสารละลายกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 1 โมลาร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 200 ไมโครลิตรอยู่ภายใน จากนั้นทำการปิดฝา vial แล้วนำเข้าสู่ตู้อบ ตั้งค่าอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส อบเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำ vial ออกจากตู้อบ ตั้งทิ้งไว้จนอุณหภูมิภายใน vial ลดลงมาที่อุณหภูมิห้อง ทำการปิเปต supernatant ทั้งหมดจาก vial เดิม ลงใน vial ใหม่ที่มีสารละลาย Methamphetamine-D5 ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารละลายมาตรฐานภายใน (Internal standard) ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 1 โมลาร์ต่อลิตร ปริมาตร 1,650 ไมโครลิตร หลังจากนั้นปรับสารละลายใน vial ด้วยเมทานอล ให้มีปริมาตรสุดท้ายอยู่ที่ 2 มิลลิลิตร ทำการปิดฝา และนำ vial เข้าสู่กระบวนการสกัดด้วยเทคนิค Headspace SPME (PDMS/DVB Fiber) ซึ่งต่อเชื่อมเข้ากับเครื่อง GC/MS โดยตั้งค่าอุณหภูมิที่ใช้สำหรับการสกัด⁽⁶⁵⁾ ดังนี้

Incubate: ที่อุณหภูมิ 90 °C คงที่เป็นเวลา 5 นาที

Diffuse: ที่อุณหภูมิ 90 °C คงที่เป็นเวลา 10 นาที

Desorption: ที่อุณหภูมิ 250 °C คงที่เป็นเวลา 5 นาที

และตั้งค่า parameter ของเครื่อง GC/MS ในการวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนจากเส้นผม ดังนี้

Column: DB-5MS (30.0m x 0.25 mm i.d., film thickness 0.25 µm) บริษัท Supelco ประเทศสหรัฐอเมริกา

Column oven temperature: ตั้งค่าอุณหภูมิเริ่มต้นที่ 140 องศาเซลเซียส คงที่เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิทุก 10 องศาเซลเซียสต่อนาที และสิ้นสุดที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส

Injection temperature: 320 องศาเซลเซียส

Injection mode: Split mode

Carrier gas: ก๊าซฮีเลียม โดยใช้ค่าความดันที่ 99.3 กิโลปาสคาล และอัตราการไหลของแก๊สอยู่ที่ 11.2 มิลลิลิตรต่อนาที

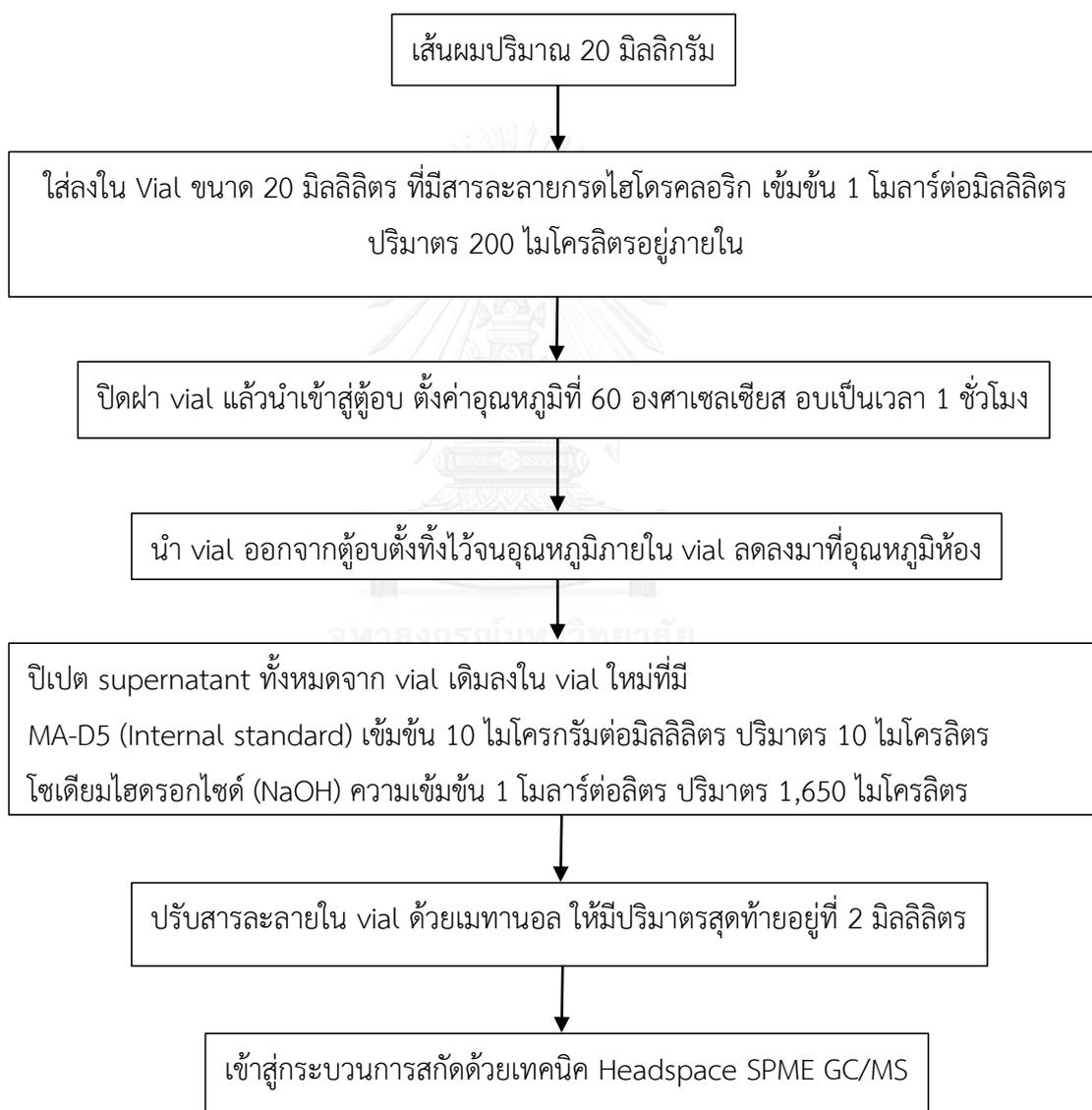
Injection volume: 1 ไมโครลิตร

Ion source temperature: 250 องศาเซลเซียส

Interface temperature: 250 องศาเซลเซียส

Selected ion monitoring (SIM) mode: m/z 58, 62, 91, 92 และ 134

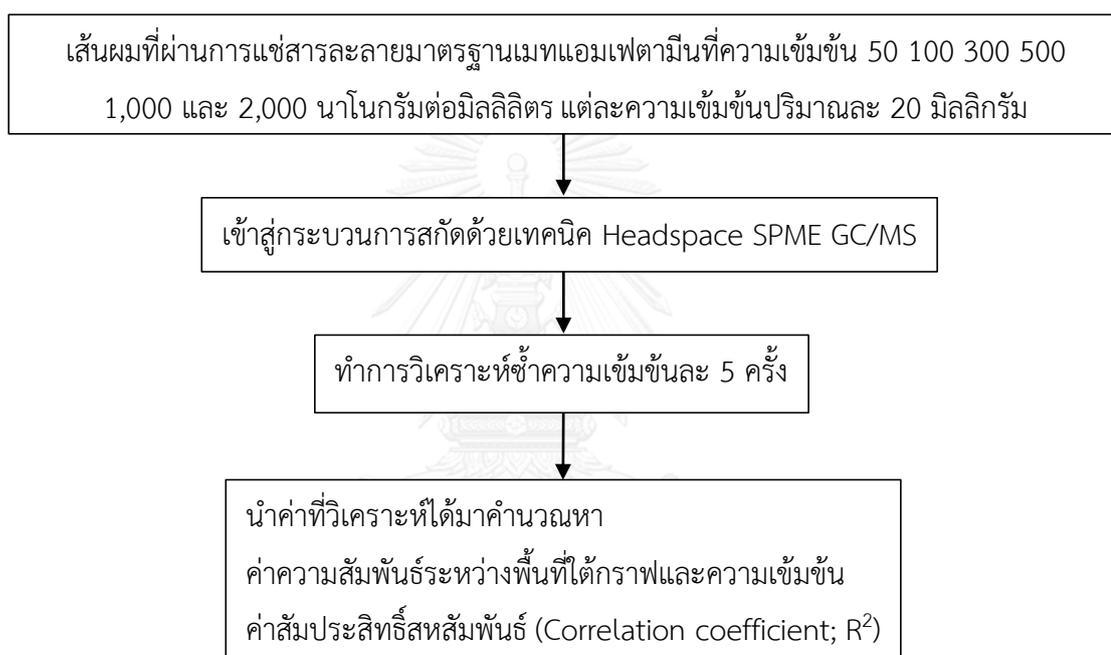
Retention time: 2.74 นาที



รูปที่ 16 แสดงวิธีการสกัดเมทแอมจากเส้นผมด้วยเทคนิค HS-SPME

Linearity

เตรียมเส้นผมที่ผ่านการแช่สารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 50 100 300 500 1,000 และ 2,000 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร⁽³⁴⁾ แต่ละความเข้มข้นปริมาณละ 20 มิลลิกรัม เข้าสู่กระบวนการสกัดด้วยเทคนิค Headspace SPME GC/MS ทำการวิเคราะห์ซ้ำความเข้มข้นละ 5 ครั้ง นำค่าที่วิเคราะห์ได้ มาคำนวณหาความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟและความเข้มข้น และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient; R^2)

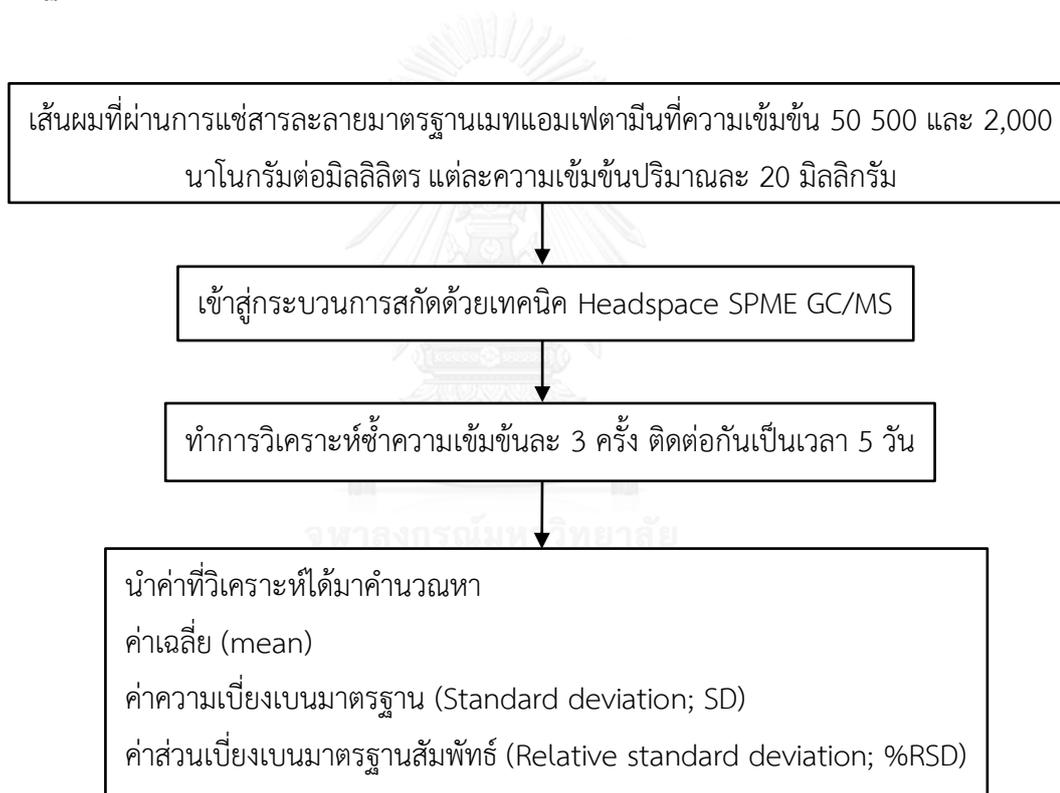


รูปที่ 17 แสดงวิธีการทำ Calibration curve ของวิธีการสกัด HS-SPME

Precision

Intraday precision

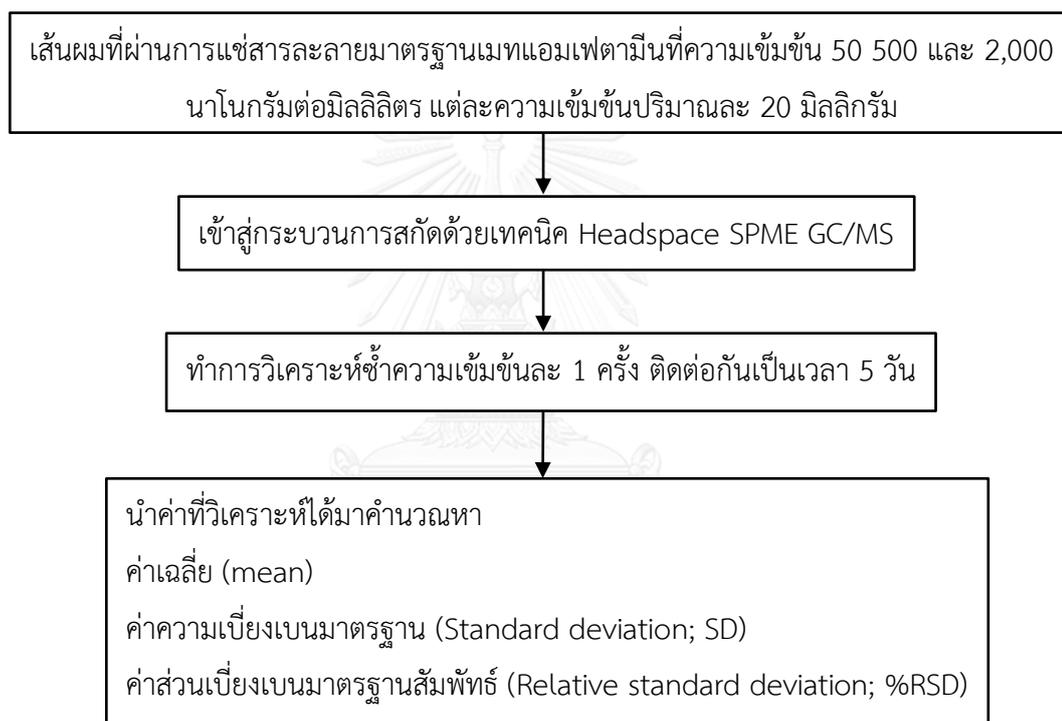
การตรวจสอบความแม่นยำภายในวันที่ทำการทดลอง โดยเตรียมเส้นผมที่ผ่านการแช่สารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 50 500 และ 2,000 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ละความเข้มข้นปริมาณละ 20 มิลลิกรัม เข้าสู่กระบวนการสกัดด้วยเทคนิค Headspace SPME GC/MS ทำการวิเคราะห์ซ้ำความเข้มข้นละ 3 ครั้ง ติดต่อกันเป็นเวลา 5 วัน นำค่าที่วิเคราะห์ได้มาหาค่าเฉลี่ย (mean) ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation; SD) และค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative standard deviation; %RSD)



รูปที่ 18 แสดงวิธีการตรวจสอบความแม่นยำภายในวันที่ทำการทดลองของวิธีการสกัด HS-SPME

Interday precision

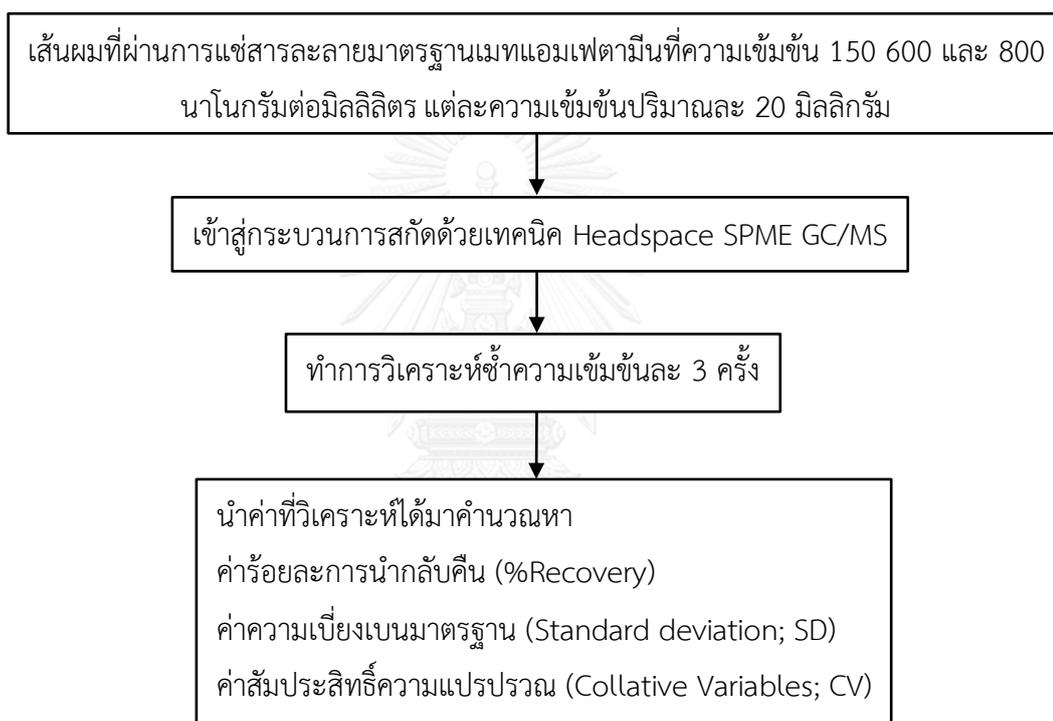
การตรวจสอบความแม่นยำระหว่างวันที่ทำการทดลอง โดยเตรียมเส้นผมที่ผ่านการแช่สารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 50 500 และ 2,000 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ละความเข้มข้นปริมาณละ 20 มิลลิกรัม เข้าสู่กระบวนการสกัดด้วยเทคนิค Headspace SPME GC/MS ทำการวิเคราะห์ซ้ำความเข้มข้นละ 1 ครั้ง ติดต่อกันเป็นเวลา 5 วัน นำค่าที่วิเคราะห์ได้มาหาค่าเฉลี่ย ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์



รูปที่ 19 แสดงวิธีการตรวจสอบความแม่นยำระหว่างวันที่ทำการทดลองของวิธีการสกัด HS-SPME

Accuracy

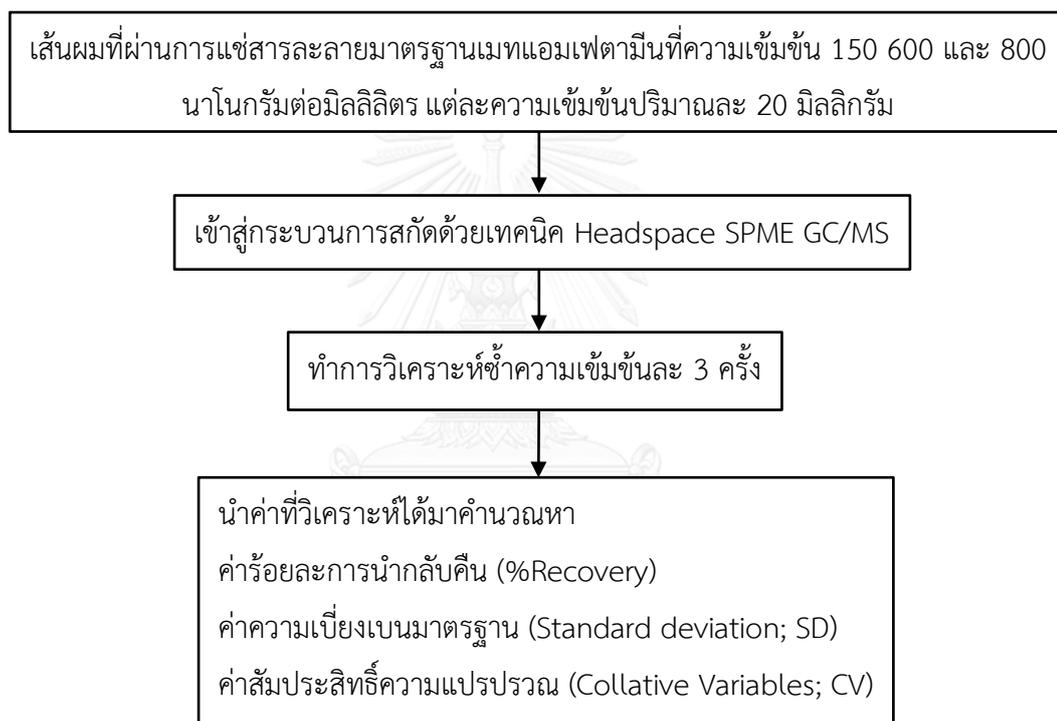
การตรวจสอบความถูกต้องแม่นยำ โดยเตรียมเส้นผมที่ผ่านการแช่สารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 150 600 และ 800 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ละความเข้มข้นปริมาณละ 20 มิลลิกรัม เข้าสู่กระบวนการสกัดด้วยเทคนิค Headspace SPME GC/MS ทำการวิเคราะห์ซ้ำความเข้มข้นละ 3 ครั้ง นำค่าที่วิเคราะห์ได้มาหาค่าร้อยละการนำกลับคืน (%Recovery) ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน



รูปที่ 20 แสดงวิธีการตรวจสอบความถูกต้องแม่นยำของวิธีการสกัด HS-SPME

%Recovery

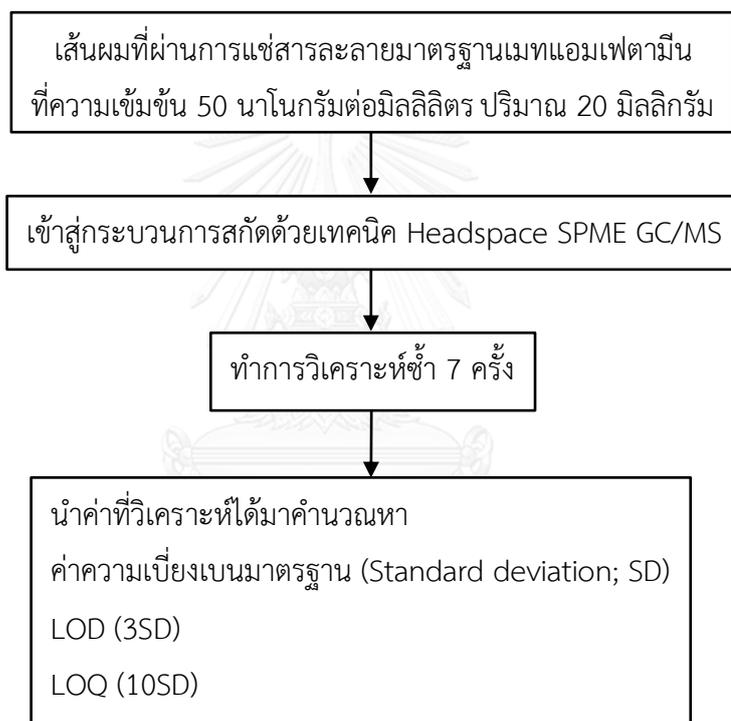
การตรวจสอบร้อยละการนำกลับคืน โดยเตรียมเส้นผมที่ผ่านการแช่สารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 50 500 และ 2,000 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ละความเข้มข้นปริมาณละ 20 มิลลิกรัม เข้าสู่กระบวนการสกัดด้วยเทคนิค Headspace SPME GC/MS ทำการวิเคราะห์ซ้ำความเข้มข้นละ 3 ครั้งนำค่าที่วิเคราะห์ได้มาหาค่าร้อยละการนำกลับคืน ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน



รูปที่ 21 แสดงวิธีการตรวจสอบร้อยละการนำกลับคืนของวิธีการสกัด HS-SPME

Limit of detection (LOD) และ limit of quantification (LOQ)

การหาค่า LOD และ LOQ ของเทคนิคการสกัด Headspace SPME GC/MS โดยเตรียมเส้นผมที่ผ่านการแช่สารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 50 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 20 มิลลิกรัม เข้าสู่กระบวนการสกัดด้วยเทคนิค Headspace SPME GC/MS ทำการวิเคราะห์ซ้ำ 7 ครั้ง นำค่าที่วิเคราะห์ได้มาหาค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน และนำค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ได้มาคูณด้วย 3 และ 10 เพื่อให้ได้ค่า LOD และ LOQ ตามลำดับ

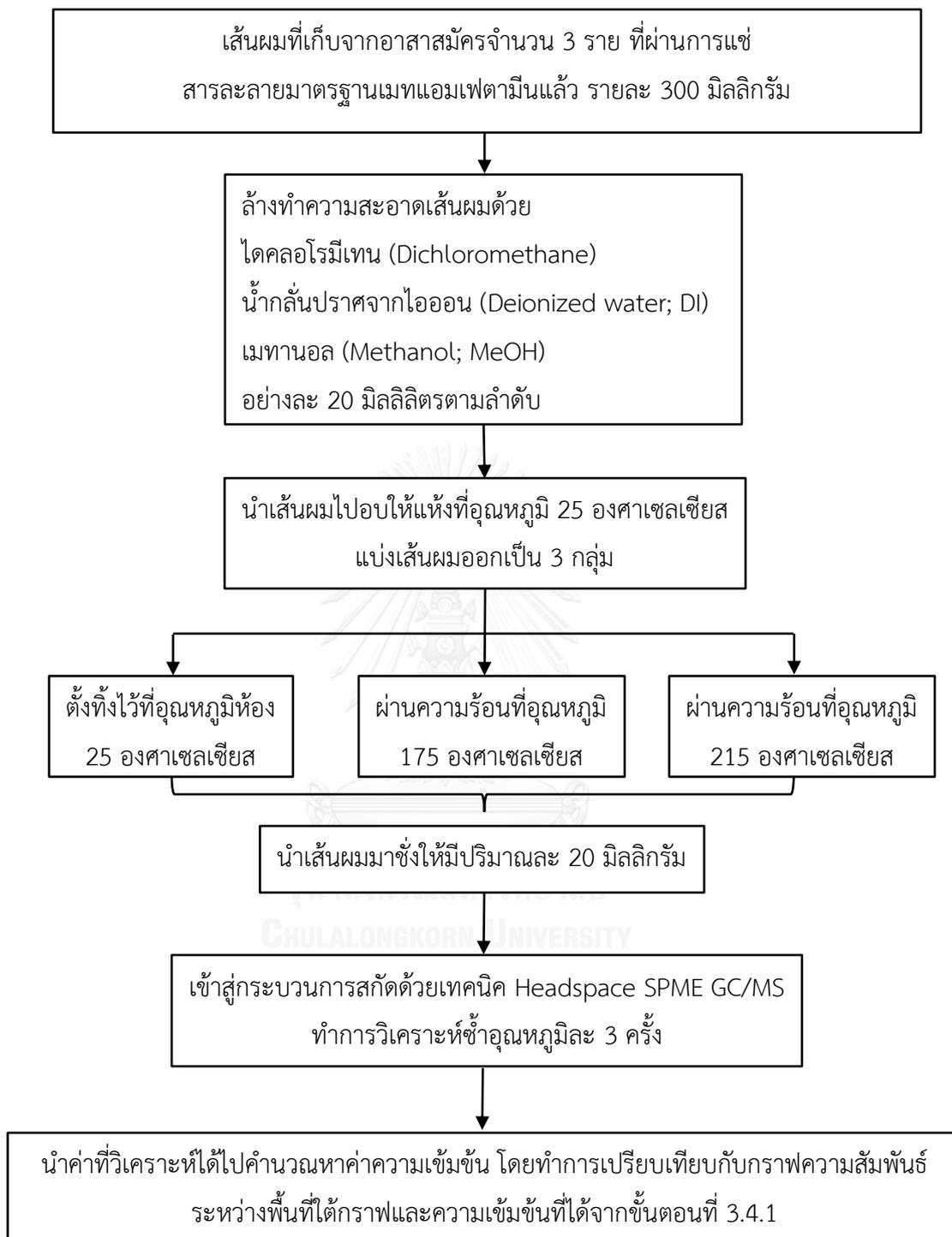


รูปที่ 22 แสดงวิธีการหาค่า LOD และ LOQ ของวิธีการสกัด HS-SPME

3.4.2 การเปรียบเทียบปริมาณเมทแอมเฟตามีนจากเส้นผมเมื่อผ่านความร้อน

การเตรียมตัวอย่าง

นำเส้นผมที่เก็บจากอาสาสมัครจำนวน 3 ราย ที่ผ่านการชำระละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนแล้ว ระบาย 300 มิลลิกรัม มาล้างทำความสะอาดด้วยสารละลายไดคลอโรมีเทน น้ำกลั่นปราศจากไอออน และเมทานอลอย่างละ 20 มิลลิลิตรตามลำดับ นำเส้นผมไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จากนั้นนำเส้นผมมาแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม นำเข้าสู่กระบวนการทดสอบ โดยแบ่งเป็นเส้นผมที่ไม่ผ่านความร้อน ซึ่งตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25 องศาเซลเซียส และเส้นผมที่ผ่านความร้อนด้วยเครื่องหนีบผมระบบดิจิทัล ที่ตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 175 และ 215 องศาเซลเซียสตามลำดับ ก่อนทำการหนีบเส้นผมต้องทำการอุ่นเครื่องหนีบผม โดยตั้งอุณหภูมิความร้อนที่ต้องการเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นจึงนำหนีบเส้นผมจากด้านบนของเส้นผมที่ถูกจับยึดไว้จนถึงปลายผม ทำการหนีบขึ้นลงเป็นเวลา 30 วินาที หลังจากนั้นนำเส้นผมมาชั่งให้มีปริมาณละ 20 มิลลิกรัม เข้าสู่กระบวนการสกัดด้วยเทคนิค Headspace SPME GC/MS ทำการวิเคราะห์ซ้ำอุณหภูมิละ 3 ครั้ง และนำค่าที่วิเคราะห์ได้ไปคำนวณหาค่าความเข้มข้น โดยทำการเปรียบเทียบกับกราฟความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟและความเข้มข้นที่ได้จากขั้นตอนที่ 3.4.1



รูปที่ 23 แสดงวิธีการเปรียบเทียบปริมาณเมทแอมเฟตามีนจากเส้นผมเมื่อผ่านความร้อน

หมายเหตุ: รูปภาพของการจับยึดและหนีบเส้นผมเพิ่มเติมในภาคผนวก ข.

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis)

3.5.1 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีทดสอบ

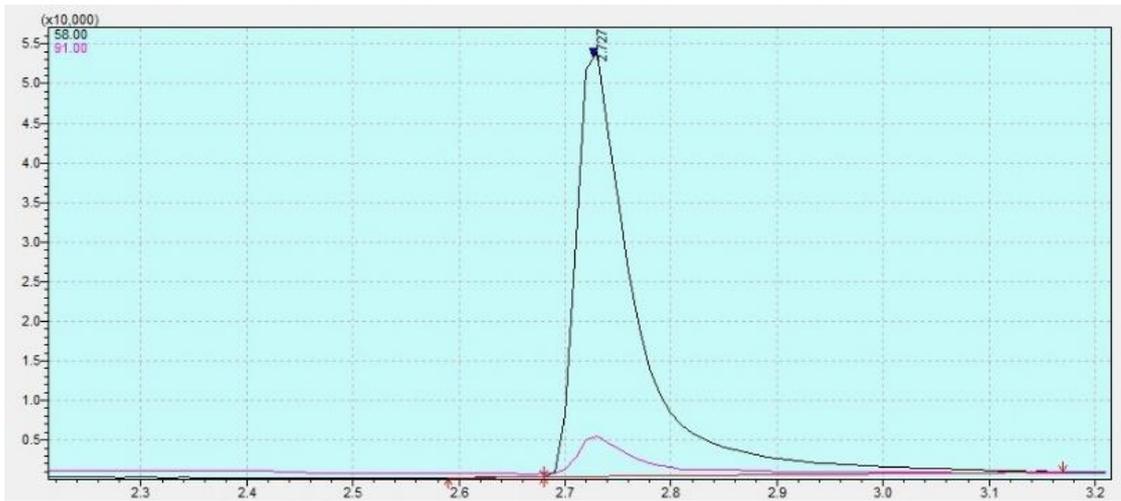
วิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC/MS ด้วยค่าทางสถิติ อันได้แก่ ค่าเฉลี่ย ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าร้อยละการนำกลับคืน ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน ตามหัวข้อที่ใช้ในการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีทดสอบ

3.5.2 การเปรียบเทียบปริมาณเมทแอมเฟตามีนจากเส้นผมเมื่อผ่านความร้อน

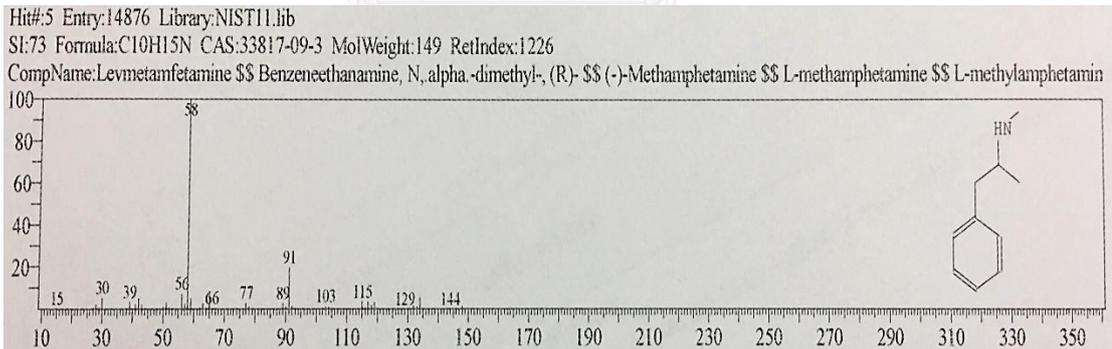
พิจารณาข้อมูลในการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนจากเส้นผมที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิต่างกัน โดยนำไปสกัดด้วยเทคนิค Headspace SPME จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC/MS นำข้อมูลความเข้มข้นที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยสถิติ One-way ANOVA ซึ่งเป็นเทคนิคในการเปรียบเทียบ ความสัมพันธ์ภายในกลุ่มการทดลองที่มีมากกว่า 2 ค่า โดยใช้โปรแกรม Minitab 16 ในการคำนวณ และกำหนดค่า p-value น้อยกว่า 0.05

บทที่ 4 ผลการวิจัย

การวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนจากเส้นผมโดยใช้เทคนิค Headspace SPME แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC/MS ของงานวิจัยนี้ มีค่า Retention time ของเมทแอมเฟตามีนอยู่ที่ 2.74 และให้เมสสเปกตรัมที่ 58 และ 91 มวลต่อประจุ



รูปที่ 24 แสดงโครมาโทแกรมของเมทแอมเฟตามีน ณ นาทีที่ 2.74



รูปที่ 25 แสดงเมสสเปกตรัมของเมทแอมเฟตามีน

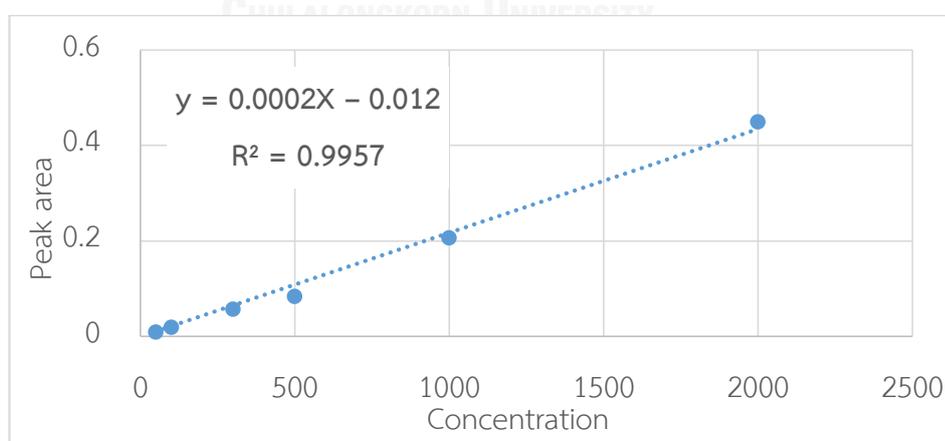
4.1 การตรวจสอบความถูกต้องของเทคนิค HS-SPME สำหรับการสกัดเมทแอมเฟตามีนจากเส้นผม

Linearity

การวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนจากเส้นผมโดยใช้เทคนิค Headspace SPME แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC/MS ที่ความเข้มข้นในช่วง 50 –2,000 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม ได้ค่า peak area อยู่ระหว่าง 0.009 – 0.448 และเมื่อนำมาหาค่ากราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า peak area กับค่าความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนที่ทำการวิเคราะห์ ได้สมการ $y = 0.0002X - 0.012$ และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) = 0.9957

ตารางที่ 1 แสดงค่าความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีน และ peak area

Concentration (ng/ml)	Peak area (mean \pm SD, n=5)
50	0.009 \pm 0.004
100	0.019 \pm 0.003
300	0.056 \pm 0.007
500	0.083 \pm 0.005
1,000	0.206 \pm 0.039
2,000	0.448 \pm 0.034



รูปที่ 26 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า peak area กับค่าความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีน

Precision

Intraday

จากการวิเคราะห์ค่าเมทแอมเฟตามีน 3 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ครั้งต่อวัน ทำซ้ำ 5 วัน โดยใช้เทคนิค Headspace SPME ในการสกัดจากเส้นผม แล้วนำไปตรวจวิเคราะห์ด้วย GC/MS พบว่าค่าร้อยละเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) อยู่ในช่วง 0.3769 - 0.6003 ดังแสดงในตาราง

ตารางที่ 2 แสดงค่า peak area และค่าร้อยละเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของ Intraday

Concentration (ng/mg)	Mean of peak area (mm ²); n=15	SD (mm ²); n=15	%RSD ; n=15
50	48.2510	0.1819	0.3769
500	87.1390	0.5056	0.5802
2000	816.0200	4.8983	0.6003

Interday

จากการวิเคราะห์ค่าเมทแอมเฟตามีน 3 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 1 ครั้งต่อวัน ทำซ้ำ 5 วัน โดยใช้เทคนิค Headspace SPME ในการสกัดจากเส้นผม แล้วนำไปตรวจวิเคราะห์ด้วย GC/MS พบว่าค่า %RSD อยู่ในช่วง 4.4676 – 8.3316 ดังแสดงในตาราง

ตารางที่ 3 แสดงค่า peak area และค่าร้อยละเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของ Interday

Concentration (ng/mg)	Mean of peak area (mm ²); n=5	SD (mm ²); n=5	%RSD ; n=5
50	3.0380	0.1357	4.4676
500	5.7616	0.4800	8.3316
2000	60.7308	4.4980	7.4058

Accuracy

จากการวิเคราะห์ค่าเมทแอมเฟตามีน 3 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ครั้ง โดยใช้เทคนิค Headspace SPME ในการสกัดจากเส้นผม แล้วนำไปตรวจวิเคราะห์ด้วย GC/MS พบว่าค่า %Recovery อยู่ในช่วง 97.2914 – 99.8734 และเมื่อนำค่า SD มาคำนวณหา %CV พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 3.2548 – 4.7038 ดังแสดงในตาราง

ตารางที่ 4 แสดงค่า %Recovery และ %CV ของเทคนิคการสกัด SPME

Conc. add (ng/ml)	Conc. found (ng/mg)	% Recovery	Mean of % Recovery	SD (ng/mg)	%CV
150	143.3444	95.5629	99.8734	3.7891	3.7938
	152.0686	101.3791			
	154.0171	102.6781			
600	609.9684	101.6614	97.8332	4.6019	4.7038
	556.365	92.7275			
	594.6635	99.1106			
800	749.1469	93.6434	97.2914	3.1666	3.2548
	794.6536	99.3317			
	791.1916	98.899			

%Recovery

จากการวิเคราะห์ค่าเมทแอมเฟตามีน 3 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ครั้งโดยใช้เทคนิค Headspace SPME ในการสกัดจากเส้นผมเปรียบเทียบกับเมทแอมเฟตามีนในเมทานอลที่ความเข้มข้นเดียวกัน แล้วนำไปตรวจวิเคราะห์ด้วย GC/MS พบว่าค่า %Recovery อยู่ในช่วง 95.5982 – 98.6469 และค่า %CV อยู่ในช่วง 0.0358 – 0.0435 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม ดังแสดงในตาราง

ตารางที่ 5 แสดงค่า %Recovery และค่า %CV ของเทคนิคการสกัด SPME

Conc. Add (ng/mg)	Conc. Found (ng/mg)	SD (ng/mg)	%Recovery	%CV (ng/mg)
50	46.8814	2.1469	98.6469	4.3528
	50.1747			
	50.9142			
500	468.8548	17.4416	97.4494	3.5796
	489.3357			
	503.5498			
2000	1918.5244	72.3391	95.5982	3.7845
	1836.5670			
	1980.7981			

Limit of detection (LOD) และ Limit of quantitation (LOQ)

จากการวิเคราะห์ค่าเมทแอมเฟตามีนที่ความเข้มข้น 50 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม ทำซ้ำ 7 ครั้งโดยใช้เทคนิค Headspace SPME ในการสกัดจากเส้นผม แล้วนำไปตรวจวิเคราะห์ด้วย GC/MS ได้ค่าความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้ Mean peak area (SD) เท่ากับ 47.61 (2.5531) นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม และนำค่า SD มาคูณด้วย 3 และ 10 ตามลำดับ จะได้ค่า LOD เท่ากับ 7.6593 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม และค่า LOQ เท่ากับ 25.5309 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม

4.2 ผลการเปรียบเทียบปริมาณเมทแอมเฟตามีนจากเส้นผมเมื่อผ่านความร้อน

การศึกษาผลของความร้อนต่อปริมาณเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมพบว่า ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันเมื่อความร้อนสูงขึ้น จะส่งผลต่อปริมาณความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนที่ตรวจวิเคราะห์ได้ โดยในกลุ่มตัวอย่างที่ 1 และ 2 มีค่าของปริมาณเมทแอมเฟตามีนลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในตาราง

ตารางที่ 6 แสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าความร้อนกับปริมาณเมทแอมเฟตามีนที่ตรวจวิเคราะห์ได้

Sample	Temp. (°C)	Concentration (ng/mg)	SD (n=3)	p-value
1	25	291.80	15.65	0.001
	175	243.41	7.94	
	212	222.22	4.92	
2	25	295.26	9.18	0.006
	175	241.05	33.92	
	212	166.75	39.06	
3	25	195.96	18.95	0.092
	175	174.20	10.65	
	212	136.56	41.94	

บทที่ 5 อภิปรายผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 การตรวจสอบความถูกต้องของเทคนิค HS-SPME สำหรับการสกัดเมทแอมเฟตามีนจากเส้นผม

จากการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีทดสอบ โดยใช้เทคนิค HS-SPME ชนิด PDMS/DVB Fiber ในการสกัดเมทแอมเฟตามีนจากเส้นผม และตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC/MS พบว่า ค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่วิเคราะห์ได้ กับค่าความเข้มข้นในช่วง 50 – 2,000 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม โดยให้ค่า $R^2 = 0.9957$ ซึ่งสอดคล้องกับค่าที่ยอมรับได้ของวิธีทดสอบ ที่จะต้องมีค่าตั้งแต่ 0.99 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ค่า Precision ของ Intraday และ Interday ให้ค่า %RSD อยู่ในช่วง 0.3769 – 0.6003 และ 4.4676 – 8.3316 ตามลำดับ และมีค่า accuracy ที่ให้ค่า %CV อยู่ในช่วง 3.2548 – 4.7038 ซึ่งสอดคล้องกับค่าที่ยอมรับได้ โดยค่า %RSD และ %CV จะต้องน้อยกว่า 15 เปอร์เซ็นต์ โดยการทดสอบเทคนิคการสกัดของงานวิจัยนี้ให้ค่า LOD อยู่ที่ 7.6593 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม และให้ค่า LOQ อยู่ที่ 25.5309 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม

ค่า LOD และ LOQ ของงานวิจัยนี้ มีค่าที่สูงกว่าในงานวิจัยของ Pongpichan H. ในปี ค.ศ. 2011⁽⁶¹⁾ และ Anongphan J. ในปี ค.ศ. 2014⁽⁶²⁾ ที่ใช้เทคนิค HS-SPME GC/MS วิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนจากเส้นผม โดยมีค่า LOD อยู่ในช่วงที่ต่ำกว่า 0.5 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม และมีค่า LOQ อยู่ในช่วงที่ต่ำกว่า 2.5 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม เนื่องมาจากงานวิจัยทั้งสองได้ทำการทดสอบจากเส้นผมที่เป็นวัสดุอ้างอิงทดลอง (Certified Reference Material; CRM) คือ เส้นผมที่มีเมทแอมเฟตามีนสะสมอยู่เป็นเนื้อเดียวกัน มีความเสถียรของความเข้มข้น และมีใบรับรองค่าความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีน ซึ่งจะแตกต่างจากงานวิจัยนี้ที่ใช้ตัวอย่างเส้นผมที่นำมาผ่านการเตรียมด้วยเมทแอมเฟตามีน

โดยเส้นผมที่ผ่านการเตรียมเมทแอมเฟตามีนนั้นมีค่าความเข้มข้นที่ไม่เสถียร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sophie C. และคณะ ในปี ค.ศ. 2013⁽⁶³⁾ ที่พบว่าปริมาณของเอทิลกลูคูโรไนด์ที่เข้าสู่เส้นผม จะมีค่าปริมาณความเข้มข้นที่ไม่เท่ากับค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่นำมาใช้ในกระบวนการแช่เส้นผม

และในกระบวนการหาค่า LOD และ LOQ สำหรับทั้ง 2 งานวิจัยข้างต้นนั้น ได้ทำการลดค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานจนถึงค่าต่ำสุดที่ไม่สามารถวิเคราะห์ได้ ซึ่งจะแตกต่างจากงานวิจัยนี้ ที่ใช้ค่าต่ำสุดที่ตรวจวิเคราะห์ได้ แล้วนำมาคำนวณหาที่ LOD และ LOQ ทางสถิติ จึงทำให้ค่า LOD และ LOQ ที่คำนวณได้นั้นมีค่าค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่น

ดังนั้นทางผู้วิจัยมีความเห็นว่า ต้องมีการจัดหาวัสดุอ้างอิงทดลอง และสารละลายมาตรฐาน เมทแอมเฟตามีน ให้เพียงพอต่อการลดปริมาณของค่าความเข้มข้นให้ได้ค่าต่ำที่สุด เพื่อนำมาใช้ใน กระบวนการตรวจสอบความถูกต้องของเทคนิค HS-SPME สำหรับการสกัดเมทแอมเฟตามีนจากเส้นผม เพื่อให้ค่า LOD และ LOQ ของการทดสอบที่ลดลง หรือเทียบเท่ากับงานวิจัยอื่นที่สามารถ วิเคราะห์หาเมทแอมเฟตามีน ที่ค่าต่ำสุดในระดับพิโคกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม

5.2 การเปรียบเทียบปริมาณเมทแอมเฟตามีนจากเส้นผมเมื่อผ่านความร้อน

จากการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณเมทแอมเฟตามีนจากเส้นผมของอาสาสมัครจำนวน 3 ราย ที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลายเมทแอมเฟตามีนทั่วเส้นผมแล้วมาผ่านความร้อน โดยแบ่งอุณหภูมิ ออกเป็น 25 175 และ 215 องศาเซลเซียสตามลำดับ สำหรับการอุณหภูมิในครั้งนี้ อ้างอิงตามค่าจุด เดือดและจุดหลอมเหลวของเมทแอมเฟตามีน โดยนำค่าอุณหภูมิมาประยุกต์ใช้กับเครื่องหนีบผม ระบบดิจิทัลที่ทางผู้วิจัยจัดหามา ทั้งนี้ค่าจุดหลอมเหลวของเมทแอมเฟตามีนนั้น มีค่าอยู่ที่ 212 องศาเซลเซียส แต่ระบบความสามารถในการปรับอุณหภูมิของเครื่องหนีบผม นั้น อยู่ในช่วง 150 – 230 องศาเซลเซียส ซึ่งจะสามารถเพิ่ม – ลดอุณหภูมิได้ครั้งละ 5 องศาเซลเซียส ดังนั้นทางผู้วิจัยจึงได้ ปรับเปลี่ยนตัวเลขของค่าอุณหภูมิสุดท้ายที่นำมาทดลองกับเส้นผม จาก 212 องศาเซลเซียส เป็น 215 องศาเซลเซียส

จากการนำเส้นผมที่ผ่านการเตรียมเมทแอมเฟตามีนแล้วของอาสาสมัครทั้ง 3 ราย มาผ่าน ความร้อน และนำไปสกัดด้วยเทคนิค Headspace SPME GC/MS ที่ผ่านการตรวจสอบความถูกต้อง ของเทคนิคการสกัดเมทแอมเฟตามีนจากเส้นผมแล้วพบว่า ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของเมท แอมเฟตามีนเมื่อผ่านความร้อน จากเส้นผมของอาสาสมัครจำนวน 2 ใน 3 ราย เมื่อนำไปคำนวณหา ค่าทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม Minitab 16 ซึ่งใช้สูตร One-way ANOVA ในการคำนวณ ให้ค่า p-value น้อยกว่า 0.05 ซึ่งมีความหมายทางสถิติว่าอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นของเครื่องหนีบผม มีผลต่อค่า ความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมที่ลดลง ในขณะที่ปริมาณความเข้มข้นของเมทแอมเฟตา มีนในเส้นผม ของอาสาสมัครจำนวน 1 ใน 3 ราย ให้ค่า p-value ที่มากกว่า 0.05 ซึ่งให้ความหมาย ในเชิงสถิติว่า อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นไม่มีผลกับความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนที่ลดลง แต่ข้อมูลตัวเลข ของปริมาณค่าความเข้มข้น ของเมทแอมเฟตามีนที่วิเคราะห์ได้จากเทคนิค Headspace SPME GC/MS มีปริมาณค่าความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีน ที่ลดลงตามอุณหภูมิความร้อนที่เพิ่มขึ้น ซึ่ง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Jana E. และคณะ ในปี ค.ศ. 2014⁽¹¹⁾ และ 2016⁽¹²⁾ ที่ทำการศึกษา วิเคราะห์หาปริมาณ เอททิลกลูโคโรไซด์ กัญชา และโคเคนในเส้นผมของผู้เสพที่ผ่านการหนีบผม เมื่อ

นำไปตรวจวิเคราะห์พบว่า เส้นผมจากผู้เสพจำนวน 35 รายจาก 65 รายมีปริมาณของสารเสพติดดังกล่าวลดลง

ค่า p-value ที่คำนวณได้จากการวิเคราะห์ มีค่ามากกว่า 0.05 ทางผู้วิจัยมีความเห็นว่ามีสาเหตุมาจาก ค่าที่วิเคราะห์ได้ของปริมาณเมทแอมเฟตามีน ที่นำมาเข้าสู่ตรรกานวน เพื่อหาความสัมพันธ์ของอุณหภูมิความร้อนและปริมาณค่าความเข้มข้น มีการกระจายตัวของความเข้มข้นค่อนข้างกว้าง และเกิดการซ้อนทับกันในแต่ละความเข้มข้น จึงเสนอแนะให้มีการเพิ่มจำนวนของอาสาสมัคร และจัดหาวัสดุอ้างอิงมาใช้ในการทดลอง เพื่อให้ค่าในการวิเคราะห์ที่ใกล้เคียงกับความเป็นจริง ซึ่งจะทำให้ได้ค่า p-value ที่ต่ำกว่า 0.05

หมายเหตุ: ดูกราฟที่ได้จากการคำนวณในภาคผนวก ข.

จากผลการศึกษาเปรียบเทียบความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ทางผู้วิจัยยังไม่สามารถให้ข้อสรุปที่ชัดเจนได้ว่า ความร้อนนั้นมีผลต่อความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนที่วิเคราะห์ได้ เพราะตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์นั้น เป็นตัวอย่างเส้นผมที่ถูกทำให้มีเมทแอมเฟตามีนกระจายอยู่ทั่วเส้นผม เพื่อให้ง่ายต่อการศึกษาวิจัย ไม่ใช่ตัวอย่างเส้นผมที่มาจากผู้เสพสารเมทแอมเฟตามีนจริง สำหรับในงานวิจัยนี้ เป็นเพียงการจำลองสถานะของเส้นผม และสถานการณ์ของการหนีบผมขึ้น เพื่อให้สอดคล้องกับชีวิตจริงมากที่สุด ซึ่งเป็นการควบคุมปัจจัยด้านอื่นที่ จะเข้ามามีผลกระทบต่อการศึกษา จึงสามารถสรุปได้เพียงว่า ค่าความร้อนที่เพิ่มขึ้น มีแนวโน้มที่ทำให้ค่าความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนมีการเปลี่ยนแปลงที่ลดลง

ทั้งนี้ทางผู้วิจัยมีความเห็นว่า อาจต้องมีการศึกษาต่อยอดเพิ่มเติม โดยการนำตัวอย่างเส้นผมจากผู้เสพสารเมทแอมเฟตามีนจริง และเส้นผมที่ได้ผ่านความร้อน ณ อุณหภูมิต่าง ๆ ตามที่งานวิจัยกำหนด จึงอาจจำเป็นที่จะต้องหาอาสาสมัครผู้เสพเมทแอมเฟตามีนเข้าโครงการวิจัย เพื่อเก็บตัวอย่างและหนีบเส้นผมตามอุณหภูมิดังกล่าว เพื่อให้ได้ค่าที่มาจากผู้เสพเมทแอมเฟตามีนที่ผ่านการหนีบเส้นผมจริง อีกทั้งยังต้องมีการศึกษาหาการสกัดสารเสพติดชนิดอื่นเพิ่มเติม เพื่อให้ครอบคลุมกับผู้เสพสารชนิดอื่นมากยิ่งขึ้น

รายการอ้างอิง

1. สำนักงานคณะกรรมการป้องกันและปราบปรามยาเสพติด. สถานการณ์เฝ้าระวังปัญหาเสพติด. กรุงเทพมหานคร: สำนักยุทธศาสตร์; 2558.
2. สถาบันบำบัดรักษาและฟื้นฟูผู้ติดยาเสพติดแห่งชาติบรมราชชนนี. จำนวนและร้อยละของผู้ป่วยยาเสพติดทั้งหมด ปีงบประมาณ 2555 - 2559. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2559.
3. พระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ.2522. กรุงเทพมหานคร: สำนักงานคณะกรรมการกฤษฎีกา; 2522.
4. Turner GJ, Colbert DL, Chowdry BZ. A broad spectrum immunoassay using fluorescence polarization for the detection of amphetamines in urine. *Annals of clinical biochemistry.* 1991;28 (Pt 6):588-94.
5. Fiona J, Barry K. *Methamphetamine (and Amphetamine) 1st ed.* Washington, D.C.: National highway traffic safety administration; 2014.
6. Han E, Paulus MP, Wittmann M, Chung H, Song Jm. Hair analysis and self-report of methamphetamine use by methamphetamine dependent individuals. *Journal of chromatography B.* 2011;879(7-8):541-7.
7. Cirimele V, Kintz P, Mangin P. Drug concentrations in human hair after bleaching. *Journal of analytical toxicology.* 1995;19(5):331-2.
8. Zhou Y, Rigoletto R, Koelmel D, Zhang G, Gillece TW, Foltis L, et al. The effect of various cosmetic pretreatments on protecting hair from thermal damage by hot flat ironing. *Journal of cosmetic science.* 2011;62(2):265-82.
9. Ruetsch SB, Kamath YK. Effects of thermal treatments with a curling iron on hair fiber. *Journal of cosmetic science.* 2004;55(1):13-27.
10. Lee Y, Kim YD, Hyun HJ, Pi LQ, Jin X, Lee WS. Hair shaft damage from heat and drying time of hair dryer. *Annals of dermatology.* 2011;23(4):455-62.
11. Ettlinger J, Kirchen L, Yegles M. Influence of thermal hair straightening on ethyl glucuronide content in hair. *Drug testing and analysis.* 2014;6 Suppl 1:74-7.
12. Ettlinger J, Yegles M. Influence of thermal hair straightening on cannabis and cocaine content in hair. *Forensic science international.* 2016;265:13-6.

13. Triggler DJ. The History of Methamphetamine. 1st, editor. New York: Chelsea House; 2008.
14. Bin S, Rahim A, Thali M, Flach P. Death by 'ice': fatal methamphetamine intoxication of a body packer case detected by postmortem computed tomography (PMCT) and validated by autopsy. *Forensic science, medicine, and pathology*. 2013;9(1):82-7.
15. Carl H, Joanne C, Don H. Methamphetamine: Fact vs. Fiction and Lessons From The Crack Hysteria. New York: New York State Psychiatric Institute; 2559.
16. Schep LJ, Slaughter RJ, Beasley DM. The clinical toxicology of metamfetamine. *Clinical toxicology*. 2010;48(7):675-94.
17. Schepers RJ, Oyler JM, Joseph RE, Cone EJ, Moolchan ET, Huestis MA. Methamphetamine and amphetamine pharmacokinetics in oral fluid and plasma after controlled oral methamphetamine administration to human volunteers. *Clinical chemistry*. 2003;49(1):121-32.
18. Cook CE, Jeffcoat AR, Hill JM, Pugh DE, Patetta PK, Sadler BM, et al. Pharmacokinetics of methamphetamine self-administered to human subjects by smoking S-(+)-methamphetamine hydrochloride. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*. 1993;21(4):717-23.
19. Cunningham JK, Liu LM, Muramoto M. Methamphetamine suppression and route of administration: precursor regulation impacts on snorting, smoking, swallowing and injecting. *Addiction*. 2008;103(7):1174-86.
20. Volkow ND, Fowler JS, Wang GJ, Shumay E, Telang F, Thanos PK, et al. Distribution and pharmacokinetics of methamphetamine in the human body: clinical implications. *PLoS one*. 2010;5(12):e15269.
21. Kara KC. Metabolic Interactions between Over-the-counter and Illicit Drugs at Cytochrome p450. Master of science. 2007.
22. Lin M, Sambo D, Khoshbouei H. Methamphetamine Regulation of Firing Activity of Dopamine Neurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the society for neuroscience*. 2016;36(40):10376-91.
23. Althobaiti YS, Almalki AH, Das SC, Alshehri FS, Sari Y. Effects of repeated high-dose methamphetamine and ceftriaxone post-treatments on tissue content of

dopamine and serotonin as well as glutamate and glutamine. *Neuroscience letters*. 2016;634:25-31.

24. Kanamori T, Tsujikawa K, Ohmae Y, Iwata YT, Inoue H, Kishi T, et al. A study of the metabolism of methamphetamine and 4-bromo-2,5-dimethoxyphenethylamine (2C-B) in isolated rat hepatocytes. *Forensic science international*. 2005;148(2-3):131-7.

25. Takayama N, Iio R, Tanaka S, Chinaka S, Hayakawa K. Analysis of methamphetamine and its metabolites in hair. *Biomedical chromatography : BMC*. 2003;17(2-3):74-82.

26. Spence AL, Guerin GF, Goeders NE. Differential modulation of the discriminative stimulus effects of methamphetamine and cocaine by alprazolam and oxazepam in male and female rats. *Neuropharmacology*. 2016;102:146-57.

27. Phillips TJ, Shabani S. An animal model of differential genetic risk for methamphetamine intake. *Frontiers in neuroscience*. 2015;9:327.

28. Mouton M, Harvey BH, Cockeran M, Brink CB. The long-term effects of methamphetamine exposure during pre-adolescence on depressive-like behaviour in a genetic animal model of depression. *Metabolic brain disease*. 2016;31(1):63-74.

29. Harkey MR. Anatomy and physiology of hair. *Forensic science international*. 1993;63(1-3):9-18.

30. Morgan BA. The dermal papilla: an instructive niche for epithelial stem and progenitor cells in development and regeneration of the hair follicle. *Cold spring harbor perspectives in medicine*. 2014;4(7):a015180.

31. Duverger O, Beniash E, Morasso MI. Keratins as components of the enamel organic matrix. *Matrix biology : journal of the International Society for matrix biology*. 2016;52-54:260-5.

32. Pragst F, Balikova MA. State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2006;370(1-2):17-49.

33. Clarence R. *Morphological and Macromolecular Structure*. New York: Springer New York; 1994.

34. Castaneto MS, Barnes AJ, Scheidweiler KB, Schaffer M, Rogers KK, Stewart D, et al. Identifying methamphetamine exposure in children. *Therapeutic drug monitoring*. 2013;35(6):823-30.
35. Potsch L. A discourse on human hair fibers and reflections on the conservation of drug molecules. *International journal of legal medicine*. 1996;108(6):285-93.
36. Castanet J, Ortonne JP. Hair melanin and hair color. *Exs*. 1997;78:209-25.
37. Stout PR, Ruth JA. Comparison of in vivo and in vitro deposition of rhodamine and fluorescein in hair. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*. 1998;26(10):943-8.
38. Baumgartner AM, Jones PF, Baumgartner WA, Black CT. Radioimmunoassay of hair for determining opiate-abuse histories. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of nuclear medicine*. 1979;20(7):748-52.
39. Pragst F, Rothe M, Spiegel K, Sporkert F. Illegal and Therapeutic Drug Concentrations in Hair Segments - A Timetable of Drug Exposure? *Forensic science review*. 1998;10(2):81-111.
40. Hayashi S, Miyamoto I, Takeda K. Measurement of human hair growth by optical microscopy and image analysis. *The British journal of dermatology*. 1991;125(2):123-9.
41. Van Neste DJ, Rushton DH. Gender differences in scalp hair growth rates are maintained but reduced in pattern hair loss compared to controls. *Skin research and technology : official journal of International Society for Bioengineering and the Skin*. 2016;22(3):363-9.
42. Poletti A, Cone EJ, Gorelick DA, Huestis MA. Incorporation of methamphetamine and amphetamine in human hair following controlled oral methamphetamine administration. *Analytica chimica acta*. 2012;726:35-43.
43. King L, Mcdermott S, Jickells S, Negrusz A. *Clarke's analytical forensic toxicology*. 2nd ed. Adam N, Gail C, editors. London: The pharmaceutical press; 2013.
44. Kaitlyn E, Shanlin F, Ronald G, Nadine K. Color Tests for the Preliminary Identification of Methcathinone and Analogues of Methcathinone *Microgram Journal*. 2007; 9(1):27-32.
45. Wang R, Qi X, Zhao L, Liu S, Gao S, Ma X, et al. Ionic-liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction coupled with high-performance liquid chromatography for

the forensic determination of methamphetamine in human urine. *Journal of separation science*. 2016;39(13):2444-50.

46. Bahmanabadi L, Akhgari M, Jokar F, Sadeghi H. Quantitative determination of methamphetamine in oral fluid by liquid-liquid extraction and gas chromatography/mass spectrometry. *Human & experimental toxicology*. 2016.

47. Juhascik MP, Jenkins AJ. Comparison of liquid/liquid and solid-phase extraction for alkaline drugs. *Journal of chromatographic science*. 2009;47(7):553-7.

48. Kuwayama K, Inoue H, Phorachata J, Kongpatnitiroj K, Puthaviriyakorn V, Tsujikawa K, et al. Comparison and classification of methamphetamine seized in Japan and Thailand using gas chromatography with liquid-liquid extraction and solid-phase microextraction. *Forensic science international*. 2008;175(2-3):85-92.

49. Queiroz ME, Silva SM, Carvalho D, Lancas FM. Comparison between solid-phase extraction methods for the chromatographic determination of organophosphorus pesticides in water. *Journal of environmental science and health Part B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes*. 2001;36(5):517-27.

50. Laura C, Joaquim B, Elena P, Félix H. Comparison of Simple and Rapid Extraction Procedures for the Determination of Pesticide Residues in Fruit Juices by Fast Gas Chromatography–Mass Spectrometry *Food Analytical Methods* 6 2013. p. 1671-84.

51. Panighel A, Flamini R. Applications of solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry (SPME-GC/MS) in the study of grape and wine volatile compounds. *Molecules*. 2014;19(12):21291-309.

52. Arthur CL, Pawliszyn J. Solid Phase Microextraction with Thermal Desorption Using Fused Silica Optical Fibers. *Analytical chemistry*. 1990;62(19):2145-8.

53. Lloyd NW, Dungan SR, Ebeler SE. Measuring gas-liquid partition coefficients of aroma compounds by solid phase microextraction, sampling either headspace or liquid. *The Analyst*. 2011;136(16):3375-83.

54. Michel F. *Solid Phase Micro extraction Basics, Theory and Environmental Analysis*. United States of America: Sigma Aldrich Co.; 2010.

55. Hawthorne SB, Miller DJ, Pawliszyn J, Arthur CL. Solventless determination of caffeine in beverages using solid-phase microextraction with fused-silica fibers. *Journal of chromatography*. 1992;603(1-2):185-91.

56. Junting L, Peng C, Suzuki O. Solid-phase microextraction (SPME) of drugs and poisons from biological samples. *Forensic science international*. 1998;97(2-3):93-100.
57. Lee MR, Song YS, Hwang BH, Chou CC. Determination of amphetamine and methamphetamine in serum via headspace derivatization solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of chromatography A*. 2000;896(1-2):265-73.
58. Xue Z, Duan L-X, Qi X. *Gas Chromatography Mass Spectrometry Coupling Techniques*. 2015:25-44.
59. Syed Z, Khushnuma M. GC-MS: Principle, Technique and its application in Food Science. *International journal of current science*. 2014;13:116-26.
60. *Guidance for the Validation of Analytical Methodology and Calibration of Equipment used for Testing of Illicit Drugs in Seized Materials and Biological Specimens*. New York: United nation; 2009.
61. Pongpichan H, Anongphan J, Pongruk S. Method Validation of Methamphetamine and Amphetamine in Hair Analysis with Its Application to Yaba Abusers. *Chiang mai medical journal*. 2011;50(2):31-41.
62. Anongphan J, Monnatee P. Validation and application of hair analysis for the detection of methamphetamine in young Thai adults. *Asian biomedicine*. 2014.
63. Turfus SC, Beyer J, Gerostamoulos D, Drummer OH. A comparison of the performance of quality controls prepared from spiked, fortified and authentic hair for ethyl glucuronide analysis. *Forensic science international*. 2013;232(1-3):60-6.
64. Pragst F. Pitfalls in hair analysis. *Analytical pitfalls and trends in clinical and forensic toxicology*. 2004;71:69-83.
65. Gentili S, Cornetta M, Macchia T. Rapid screening procedure based on headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry for the detection of many recreational drugs in hair. *Journal of chromatography B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*. 2004;801(2):289-96.



ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก ก.

การเตรียมสารเคมี

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีน 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้มีความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร เป็น Stock Solution เพื่อใช้เตรียมสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนที่มีความเข้มข้น 50 – 2,000 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อไป

เตรียม Stock Solution 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

โดย C_1 = ค่าความเข้มข้นเริ่มต้นของสารที่สนใจ

V_1 = ปริมาตรที่ใช้สำหรับการเตรียมสารให้ได้ค่าความเข้มข้นที่ต้องการ

C_2 = ค่าความเข้มข้นที่ต้องการ

V_2 = ปริมาตรที่ต้องการเตรียม

จากสูตรได้สมการ

$$10 \text{ mg/ml } (V_1) = 100 \text{ ug/ml } (1 \text{ ml})$$

$$V_1 = 0.01 \text{ ml หรือ } 10 \text{ } \mu\text{l}$$

ดังนั้น ปิเปตสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีน 10 mg/ml มา 10 μl และปรับให้มีปริมาตรสุดท้ายอยู่ที่ 1 ml ด้วยเมทานอล

2. การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 1 M

มวลโมเลกุลโซเดียมไฮดรอกไซด์มีค่า 40 กรัมต่อโมล

$$\text{ใช้สูตร } \frac{g}{MW} = \frac{C}{V}$$

โดย g = ปริมาณสารของแข็งที่ต้องการ

MW = มวลโมเลกุลของสาร

C = ค่าความเข้มข้นที่ต้องการ

V = ปริมาตรของสารละลายที่ต้องการเตรียม

จากสูตรได้สมการ

$$\frac{g}{40\text{g/mol}} = \frac{1\text{ M}}{1,000\text{ ml}}$$

$$g = 25\text{ g}$$

ดังนั้น ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์มา 25 g และปรับให้มีปริมาตรสุดท้ายอยู่ที่ 1,000 ml ด้วยน้ำกลั่น

3. การเตรียมไฮโดรคลอไรด์ เข้มข้น 1 M

มีค่าความหนาแน่นของสาร 118 g/cm³ มวลโมเลกุลไฮโดรคลอไรด์เท่ากับ 36.46094 g/mol และมีค่าความเข้มข้นของเนื้อกรด 37%

ใช้สูตร
$$C = \frac{10(d)(x)}{MW}$$

เพื่อแปลงค่าความเข้มข้นจากเปอร์เซ็นต์เป็นโมลาร์ หรือนอร์มอลิตี

โดย C = ค่าความเข้มข้นของสาร

d = ค่าความหนาแน่นของสาร

X = เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของเนื้อสาร

จากสูตรได้สมการ

$$C = \frac{10(118\text{g/cm}^3)(37)}{36.46094\text{ g/mol}}$$

$$C = 11.97\text{ M}$$

จากนั้นทำการเจือจางไฮโดรคลอไรด์ 11.97 M ให้มีความเข้มข้น 1 M

โดยเข้าสู่สูตร

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$11.97\text{ M } V_1 = 1\text{ M } (100\text{ml})$$

$$V_1 = 8.354\text{ ml}$$

ดังนั้น ปิเปตไฮโดรคลอไรด์ปริมาตร 8.354 ml และปรับให้มีปริมาตรสุดท้ายอยู่ที่ 100 ml ด้วยน้ำกลั่น

4. การเตรียมกรดแอสิติก เข้มข้น 1 M

มีค่าความหนาแน่นของสาร 1.05 kg มวลโมเลกุลกรดแอสิติกเท่ากับ 60.05 g/mol และมีค่าความเข้มข้นของเนื้อกรด 100%

โดยเข้าสู่สูตร

$$C = \frac{10(1.05 \text{ kg})(100)}{60.05 \text{ g/mol}}$$

$$C = 17.5 \text{ M}$$

จากนั้นทำการเจือจางกรดแอสิติก 17.5 M ให้มีความเข้มข้น 0.1 M

โดยเข้าสู่สูตร

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$17.5 \text{ M } V_1 = 0.1 \text{ M } (100\text{ml})$$

$$V_1 = 0.571 \text{ ml หรือ } 571 \text{ } \mu\text{l}$$

ดังนั้น ปิเปตกรดแอสิติกปริมาตร 571 μl และปรับให้มีปริมาตรสุดท้ายอยู่ที่ 100 ml ด้วยน้ำกลั่น

5. การเตรียม phosphate buffer pH 6 เข้มข้น 0.1 M

เตรียมสารละลาย Na_2HPO_4 (มวลโมเลกุล 141.96 g/mol) และ NaH_2PO_4 (มวลโมเลกุล 142.96 g/mol) ที่ความเข้มข้น 1 M จากนั้นนำมาผสมเข้าด้วยกัน

โดยเข้าสู่สูตร

$$\frac{\text{g}}{141.96 \text{ g/mol}} = \frac{1\text{M}}{1,000\text{ml}}$$

ซึ่ง Na_2HPO_4 ปริมาณ 7.0442 g

ทำให้มีปริมาตรสุดท้ายอยู่ที่ 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น (สาร A)

$$\frac{\text{g}}{142.96 \text{ g/mol}} = \frac{1\text{M}}{1,000\text{ml}}$$

ซึ่ง NaH_2PO_4 ปริมาณ 6.9990 g

ทำให้มีปริมาตรสุดท้ายอยู่ที่ 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น (สาร B)

จากนั้นนำสารละลาย A ปริมาตร 877 มิลลิลิตร ผสมเข้ากับสารละลาย B ปริมาตร 123 มิลลิลิตร

จะได้สารละลายผสม phosphate buffer pH 6 เข้มข้น 1 M จากนั้นทำให้มีความเข้มข้นอยู่ที่ 0.1 M

โดยเข้าสู่สูตร

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$1 \text{ M } V_1 = 0.1 \text{ M } (100\text{ml})$$

$$V_1 = 10 \text{ ml}$$

ดังนั้น ปิเปตสารละลายผสม phosphate buffer pH 6 ปริมาตร 10 ml และปรับให้มีปริมาตรสุดท้ายอยู่ที่ 100 ml ด้วยน้ำกลั่น

หมายเหตุ: หากสารละลายผสมมีค่า pH น้อยกว่า 6 ให้ทำการปรับค่า pH ด้วย 1 M โซเดียมไฮดรอกไซด์ และถ้าหากมีค่า pH ที่มากกว่า 6 ให้ทำการปรับค่า pH ด้วย 1 M กรดแอสติก เพื่อให้ได้ค่า pH เท่ากับ 6

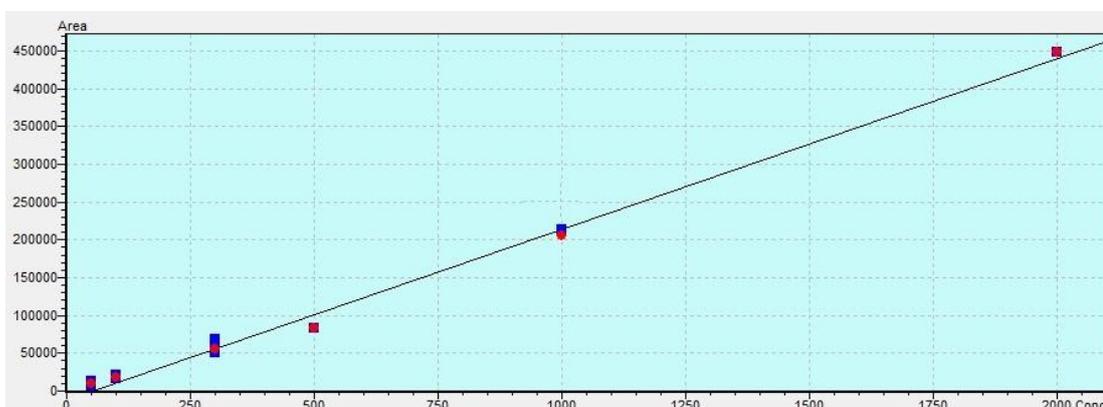
ภาคผนวก ข.

1. กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้น

กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า peak area กับค่าความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนช่วงความเข้มข้น 50 – 2,000 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ที่วิเคราะห์ได้จากเครื่อง GC/MS โดยที่

แกน x แทนค่าพื้นที่ใต้พีคของเมทแอมเฟตามีน (Peak area)

แกน y แทนค่าความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีน (Concentration)



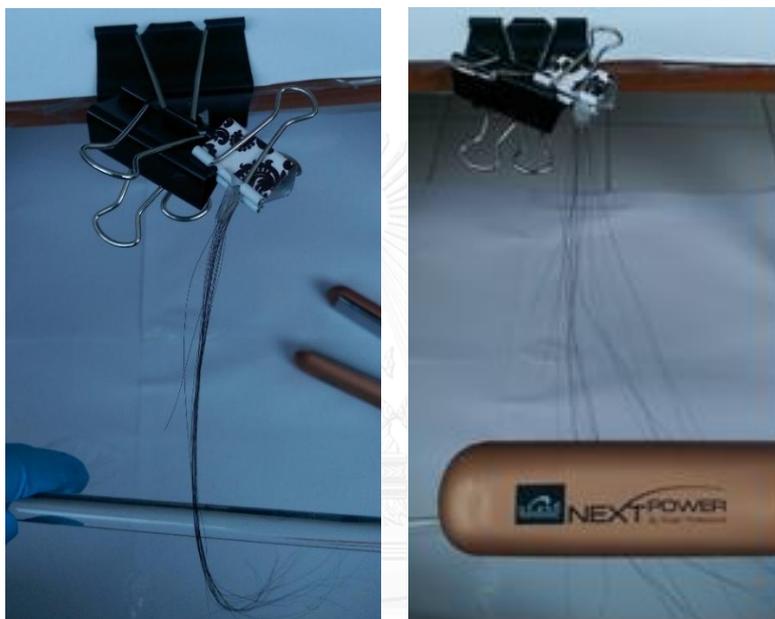
2. การนำเส้นผมผ่านความร้อนด้วยเครื่องหนีบ

2.1 ปรับอุณหภูมิเครื่องหนีบผมให้มีอุณหภูมิสุดท้ายอยู่ที่ 175 และ 215 องศาเซลเซียส โดยเปิดเครื่อง และตั้งค่าอุณหภูมิที่ต้องการทิ้งไว้เป็นเวลา 2 นาที เพื่ออุ่นเครื่องหนีบผมให้พร้อมสำหรับการใช้งาน



2.2 นำเส้นผมของอาสาสมัครที่ผ่านการเตรียมเมทแอมเฟตามีนแล้ว ห่อปลายด้านหนึ่งด้วยเทปใสเพื่อใช้เป็นตัวยึดให้เส้นผมรวมตัวกัน จากนั้นนำเส้นผมด้านที่ห่อเทปใสมายึดจับด้วยคลิปหนีบกระดาษ เพื่อเตรียมพร้อมสำหรับการหนีบด้วยเครื่องหนีบผม

2.3 นำเครื่องหนีบผมมาทำการหนีบเส้นผม โดยเริ่มหนีบเส้นผมจากปลายด้านบนที่ถูกหนีบด้วยคลิปหนีบกระดาษ จากนั้นไล่ลงมาจนถึงปลายผม ทำการหนีบเส้นผมขึ้น-ลงสลับกันเป็นเวลา 30 วินาที



2.4 หลังจากหนีบเส้นผมตามอุณหภูมิความร้อนที่ต้องการเรียบร้อยแล้ว นำเส้นผมผ่านเข้าสู่กระบวนการสกัดด้วยเทคนิค SPME และวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC/MS เพื่อหาปริมาณความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนต่อไป



3. ผลการคำนวณหา p-value จากโปรแกรม Minitab 16

ตารางแสดงข้อมูลความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีน ที่วิเคราะห์ได้จากเส้นผมของอาสาสมัครทั้ง 3 ราย ที่ผ่านการเตรียมเมทแอมเฟตามีนเรียบร้อยแล้ว และนำมาหนักด้วยเครื่องหนีบผม ตามช่วงของอุณหภูมิที่งานวิจัยกำหนด

Sample	25 °C	175 °C	215 °C
1	275.536	250.785	227.894
	293.108	244.425	219.471
	306.748	235.006	219.285
2	284.818	214.152	209.351
	298.932	229.847	158.295
	302.040	279.149	132.614
3	182.572	162.077	162.077
	187.656	178.467	159.451
	217.637	182.045	88.152

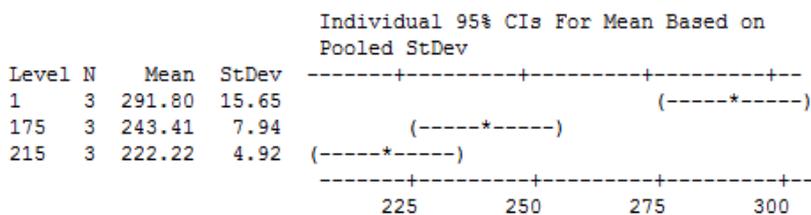
จากข้อมูลข้างต้น นำเข้าสู่การคำนวณทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ด้วย One-way ANOVA เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนที่เปลี่ยนแปลง เมื่อค่าความร้อนสูงขึ้น โดยรูปภาพที่ได้จากการคำนวณจะแสดงผลของ p-value ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

1. ผลการคำนวณทางสถิติของ Sample 1 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

One-way ANOVA: 1, 175, 215

Source	DF	SS	MS	F	P
Factor	2	7632	3816	34.48	0.001
Error	6	664	111		
Total	8	8296			

S = 10.52 R-Sq = 92.00% R-Sq(adj) = 89.33%



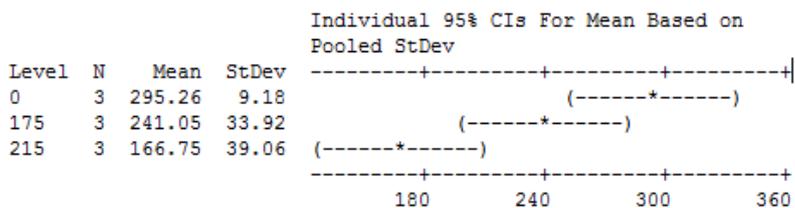
Pooled StDev = 10.52

2. ผลการคำนวณทางสถิติของ Sample 2 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

One-way ANOVA: 0, 175, 215

Source	DF	SS	MS	F	P
Factor	2	24974	12487	13.57	0.006
Error	6	5521	920		
Total	8	30494			

S = 30.33 R-Sq = 81.90% R-Sq(adj) = 75.86%



Pooled StDev = 30.33

3. ผลการคำนวณทางสถิติของ Sample 3 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

One-way ANOVA: 1,175, 215

Source	DF	SS	MS	F	P
Factor	2	5418	2709	3.64	0.092
Error	6	4463	744		
Total	8	9881			

S = 27.27 R-Sq = 54.83% R-Sq(adj) = 39.77%

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev
1	3	195.96	18.95
175	3	174.20	10.65
215	3	136.56	41.94

105 140 175 210

Pooled StDev = 27.27



ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ-สกุล: นางสาวศรสวรรค์ ฤชกรดำรง

วัน/เดือน/ปีเกิด: 8 ธันวาคม 2534 อายุ: 25 ปี

ที่อยู่: ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โทรศัพท์.
(662) 251-6981, 256-4269 โทรสาร. (662) 251-6981

Email address: sornsawan.r@student.chula.ac.th

การศึกษา:

พ.ศ. 2541 ประถมศึกษา โรงเรียนอนุบาล ราชบุรี

พ.ศ. 2547 มัธยมศึกษา โรงเรียนเบญจมราชูทิศ ราชบุรี

พ.ศ. 2553 ปริญญาตรี คณะวิทยาศาสตร์ สาขาเคมีอุตสาหกรรม แขนงวัสดุศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

พ.ศ. 2557 ปริญญาโท คณะแพทยศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์ แขนงนิติ
วิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การฝึกอบรม:

พ.ศ. 2556 หลักสูตรอบรมการจัดการความปลอดภัยและของเสียในห้องปฏิบัติการและ
การดับเพลิงข้างต้น ภาคทฤษฎีและปฏิบัติ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร
ลาดกระบัง

พ.ศ. 2559 หลักสูตรการอบรม Fundamental and Basic Operation of UV/VIS
Spectrophotometer Model UV-1800 Series, Bara Scientific Co., Ltd.

พ.ศ. 2559 หลักสูตรการอบรมมาตรฐานห้องปฏิบัติการ ฝ่าย/ภาควิชานิติวิทยาศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2559 หลักสูตรการอบรมความปลอดภัยทางเคมี ศูนย์ความเป็นเลิศด้านการ
จัดการสารและของเสียอันตราย (ศสอ.)

พ.ศ. 2559 หลักสูตรการอบรม Human Subject Protection Course, Certificate
of Attendance, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University