

Thesis Title Development of Hair Analysis for Amphetamine and Methamphetamine in YABA Abusers Using Automated Headspace Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry Technique

Author Miss Monnatee Pengwong

Degree Master of Science (Toxicology)

Thesis Advisory Committee

Assoc.Prof.Dr. Pongruk Sribanditmongkol, M.D. Chairperson

Asst. Prof. Dr. Apinan Aramrattana, M.D. Member

Asst. Prof. Dr. Sunanta Wangkarn Member

Lect. Anongphan Junkuy Member

ABSTRACT

Hair analysis for amphetamine (AM) and methamphetamine (MA) determination using headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) and the gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) technique has been validated. Polydimethylsiloxane (PDMS) and polydimethylsiloxane/divinylbenzene (PDMS/DVB) fibers were tested. PDMS/DVB yielded a higher AM and MA response. PDMS/DVB fiber was used in HS-SPME under conditions of incubation temperature at 90 °C for 5 min, extraction time of 10 min. and desorption temperature of 250 °C for 5 min. GC-MS condition was included using an HP-5MS column at a flow rate of 1 ml/min and an oven temperature program that started at 60 °C (held for 2 min), increasing at 20 °C /min until 250 °C (held for 1 min). Quantitative and qualitative analysis was performed using Selected Ion Monitoring (SIM) mode. The retention time of amphetamine and methamphetamine was 6.48 min and 6.91 min, respectively. The

amphetamine linear calibration curve was observed from 2.5-10 ng/mg of hair, with a correlation coefficient (r^2) of 0.9865. Accuracy of amphetamine detection, as expressed in % relative recovery, was 101.08-104.68% for intra-day analysis and 98.49-111.22% for inter-day assays. Precision of amphetamine determination, as presented in % coefficient of variation, was 7.68-10.08% for intra-day assays and 3.14-13.09% for inter-day analysis. The limit of detection and quantitation for amphetamine analysis was 2.0 and 2.5 ng/mg, respectively. Methamphetamine concentration of 0.5-10 ng/mg of hair showed good linearity, with a correlation coefficient (r^2) of 0.9974. Accuracy and precision for methamphetamine analysis was 98.39-103.75% and 8.54-12.92%, respectively, for intra-day assays and 93.50-98.06% and 9.07-11.23%, respectively for inter-day assays. The limit of detection and quantitation for methamphetamine was 0.3 and 0.5 ng/mg of hair, respectively.

This validated method was applied to 30 AM and MA (YABA) abusers and 30 drug-free control subjects. Hairs from abusers who had experienced YABA at least 3 times during the past 3 months were cut into 3 sections of 1 cm in length. Methamphetamine was detected in 57, 63 and 67% of these subjects' hair in section 1, 2 and 3, respectively. Only 10 and 7% of hairs in section 2 and 3, respectively, found amphetamine. Methamphetamine concentration ranged from 0.43-57.59 ng/mg of hair. No methamphetamine or amphetamine was detected in the hair of drug-free control subjects. There was no strong correlation between the amount of YABA abuse and methamphetamine hair concentration. Yet, there was a tendency to use more than 4 tablets of YABA per month, which gave more positive methamphetamine readings in hair samples

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การพัฒนาการตรวจหาสารแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมของผู้ที่เสพยาบ้า โดยเทคนิคอโตเมทแฮดสเปสโซลิตเฟสไมโครเอ็กซ์แทรกชันและแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี								
ผู้เขียน	นางสาวมนต์ณี เบื้องวงศ์								
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พืชวิทยา)								
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	<table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 60%;">รศ.ดร.นพ. พงษ์รักษ์ ศรีบัณฑิตมงคล</td> <td style="width: 40%;">ประธานกรรมการ</td> </tr> <tr> <td>ผศ.ดร.นพ. อภินันท์ อร่ามรัตน์</td> <td>กรรมการ</td> </tr> <tr> <td>ผศ.ดร. สุนันทา ว่างกานต์</td> <td>กรรมการ</td> </tr> <tr> <td>อ. อนงค์พันธ์ จันทร์กฤษ</td> <td>กรรมการ</td> </tr> </table> <p style="text-align: center;">บทคัดย่อ</p>	รศ.ดร.นพ. พงษ์รักษ์ ศรีบัณฑิตมงคล	ประธานกรรมการ	ผศ.ดร.นพ. อภินันท์ อร่ามรัตน์	กรรมการ	ผศ.ดร. สุนันทา ว่างกานต์	กรรมการ	อ. อนงค์พันธ์ จันทร์กฤษ	กรรมการ
รศ.ดร.นพ. พงษ์รักษ์ ศรีบัณฑิตมงคล	ประธานกรรมการ								
ผศ.ดร.นพ. อภินันท์ อร่ามรัตน์	กรรมการ								
ผศ.ดร. สุนันทา ว่างกานต์	กรรมการ								
อ. อนงค์พันธ์ จันทร์กฤษ	กรรมการ								

การศึกษานี้ผู้วิจัยได้พัฒนาการตรวจหาสารแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมโดยวิธีอโตเมทแฮดสเปสโซลิตเฟสไมโครเอ็กซ์แทรกชันและแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (HS-SPME-GC-MS) จากการเปรียบเทียบชนิดของไฟเบอร์ระหว่าง PDMS และ PDMS/DVB พบว่าแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนให้ผลที่สูงกว่าด้วยไฟเบอร์ PDMS/DVB การวิเคราะห์ใช้ PDMS/DVB fiber สภาวะของ HS-SPME ให้ทำการ incubation ที่อุณหภูมิ 90 °C เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นสกัดใน SPME เป็นเวลา 10 นาที และให้ desorption ที่ 250 °C เป็นเวลา 5 นาที ส่วนสภาวะของ GC-MS ใช้ column ชนิด HP-5MS อัตราการไหลของก๊าซ 1 ml/min อุณหภูมิที่อุณหภูมิที่ 60 °C นาน 2 นาที จากนั้นเพิ่มขึ้น 20 °C ต่อ นาที จนถึง 250 °C คงไว้ 1 นาที การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของสารโดยใช้ MS แบบ Selected Ion Monitoring (SIM) ผลการวิเคราะห์สามารถแยกสารกลุ่มแอมเฟตามีนได้ โดย retention time ของแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนเท่ากับ 6.48 และ 6.91 ตามลำดับ แอมเฟตามีนมีค่าความเป็นเส้นตรงในช่วง 2.5-10 ng/mg ของเส้นผม มีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ

0.9865 มีค่าความแม่นยำในการทดลองภายในวันเดียวกันอยู่ในช่วง 101.08-104.68% และของการทดลองระหว่างวันเท่ากับ 98.49-111.22% มีค่าความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์แอมเฟตามีนของการทดลองภายในวันเดียวกันเท่ากับ 7.68-10.08% และของการทดลองระหว่างวันเท่ากับ 3.14-13.09% ค่าต่ำสุดที่สามารถตรวจได้ Limit of Detection (LOD) เท่ากับ 2.0 ng/mg ของเส้นผม และ ค่าต่ำสุดที่สามารถวัดปริมาณได้ Limit of Quantitation (LOQ) เท่ากับ 2.5 ng/mg ของเส้นผม ส่วนเมทแอมเฟตามีนมีค่าความเป็นเส้นตรงในช่วง 0.5-10 ng/mg ของเส้นผม มีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9974 มีค่าความแม่นยำในการทดลองภายในวันเดียวกันอยู่ในช่วง 98.39-103.75% และของการทดลองระหว่างวันเท่ากับ 93.50-98.06% มีค่าความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนของการทดลองภายในวันเดียวกันเท่ากับ 8.54-12.92% และของการทดลองระหว่างวันเท่ากับ 9.07-11.23% ค่าต่ำสุดที่สามารถตรวจได้ คือ Limit of Detection (LOD) เท่ากับ 0.3 ng/mg ของเส้นผม และ ค่าต่ำสุดที่สามารถวัดปริมาณได้ Limit of Quantitation (LOQ) เท่ากับ 0.5 ng/mg ของเส้นผม

ผู้วิจัยได้นำวิธีการตรวจหาสารแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมนี้ไปทำการตรวจเส้นผมจากกลุ่มตัวอย่างที่เสพยาบ้า 30 รายและกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการใช้ยาบ้า 30 ราย ในกลุ่มที่เสพยาบ้ามีประวัติเสพยาบ้าอย่างน้อย 3 ครั้งใน 3 เดือนที่ผ่านมา นำเส้นผมมาตัดแบ่งออกเป็น 3 ส่วน แต่ละส่วนมีความยาวประมาณ 1 เซนติเมตรเพื่อติดตามการใช้สารเสพติดใน 3 เดือนที่ผ่านมา ผลการศึกษาพบว่าสามารถตรวจพบสารเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมตอนที่ 1 ร้อยละ 57 ตอนที่ 2 ร้อยละ 63 และตอนที่ 3 ร้อยละ 67 ของกลุ่มผู้เสพยาบ้า แต่ตรวจพบสารแอมเฟตามีนเพียงร้อยละ 10 ในเส้นผมตอนที่ 2 และร้อยละ 7 ในเส้นผมตอนที่ 3 ของกลุ่มที่เสพยาบ้ามา ความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนมีค่าระหว่าง 0.43-57.59 ng/mg ของเส้นผม การวิเคราะห์นี้ไม่พบสารแอมเฟตามีนหรือเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมจากกลุ่มควบคุมที่ไม่มีประวัติการใช้สารเสพติด ไม่พบความสัมพันธ์อย่างมากระหว่างปริมาณการใช้ยาบ้ากับความเข้มข้นของสารเมทแอมเฟตามีนในเส้นผม แม้ว่ามีแนวโน้มว่าในกลุ่มที่มีการเสพยาบ้ามากกว่า 4 เม็ดต่อเดือนจะให้ผลการตรวจพบสารเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมจะสูงกว่ากลุ่มที่มีประวัติการใช้ยาบ้าน้อยกว่า 4 เม็ดต่อเดือน