ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในเส้นผม โดยใช้การเตรียมอนุพันธ์คู่ควบกับเทคนิคออโตเมเตดเฮดสเปซโซลิดเฟสไมโครเอ็กซแทรกชันและแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมตรี

ผู้เขียน นายพงศ์พิชาญ หอเจริญ

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พิษวิทยา)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.นพ.พงษ์รักษ์ ศรีบัณฑิตมงคล

บทคัดย่อ

การแพร่ระบาดของสารเสพติดประเภทยาบ้าในประเทศไทย ยังคงเป็นปัญหาสำคัญของประเทศและมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น ทำให้วิธีการตรวจวิเคราะห์โดยส่วนใหญ่ที่ตรวจหาเมทแอมเฟตามีนในเลือดและปัสสาวะ ไม่เพียงพอต่อการตรวจติดตามผู้ที่เสพแบบไม่ต่อเนื่องหรือผู้ที่เสพในปริมาณน้อย จึงต้องพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์ในเส้นผมให้มีความไวสูงและนำไปใช้ได้สะดวก

การศึกษานี้ผู้วิจัยได้พัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนในเส้นผม โดยการเตรียมอนุพันธ์คู่ควบออโตเมทเฮดสเปสโซลิด-เฟสไมโครเอ็กซแทรกชันและแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมตรี (HS-SPME GC-MS) และใช้ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างเส้นผมจากผู้ที่เสพยาบ้า ในการศึกษาหาสภาวะการสกัดเมทแอมเฟตามีนจากเส้นผมด้วยสารละลายกรดและด่าง พบว่าภายใต้สภาวะการสกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้นที่ 1.0 โมลาร์ที่ระยะเวลา 60 นาที อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และการสกัดเส้นผมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้นที่ 0.5 โมลาร์ ที่ระยะเวลา 30 นาที อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ให้ผลการสกัดดีที่สุด เมื่อนำไปศึกษาร่วมกับสารเตรียมอนุพันธ์เพื่อตรวจหาอนุพันธ์แอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนด้วยเทคนิค HS-SPME GC-MS พบว่า การสกัดเส้นผมด้วยสารละลายด่างและเตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl:HFBA (8:2 v/v) ให้ผลในการตรวจวัดสูงสุด โดยที่แอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนที่เตรียมอนุพันธ์ด้วย HFBCl:HFBA (8:2 v/v) มีค่า retention time เท่ากับ 7.95 และ 8.65 นาที ตามลำดับ ในการศึกษาการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ พบว่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ค่าความเป็นเส้นตรงในช่วง 0.2-10 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม แอมเฟตามีนมีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9971 มีค่าความแม่นในการทดลองภายในวันเดียวกันเท่ากับ 96.50-110.36% และการทดลองระหว่างวันเท่ากับ 93.82-100.68% มีค่าความเที่ยงในการวิเคราะห์แอมเฟตามีนของการทดลองภายในวันเดียวกันเท่ากับ 6.79-12.12% และการทดลองระหว่างวันเท่ากับ 6.37-14.93% ค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 0.15 และ 0.20 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม ตามลำดับ ส่วนเมทแอมเฟตามีนมีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9992 มีค่าความแม่นในการทดลองภายในวันเดียวกันเท่ากับ 96.16-109.55% และการทดลองระหว่างวันเท่ากับ 96.89-109.32% มีค่าความเที่ยงในการวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนของการทดลองภายในวันเดียวกันเท่ากับ 2.19-2.63% และการทดลองระหว่างวันเท่ากับ 1.76-4.00% ค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 0.10 และ 0.15 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม ตามลำดับ

ผู้วิจัยได้นำวิธีการตรวจหาแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมนี้ ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างเส้นผมจากกลุ่มตัวอย่างผู้ที่เสพยาบ้า 45 ราย จากผลการศึกษาตรวจพบแอมเฟตามีนในเส้นผมผู้เสพยาบ้าจำนวน 15 รายจากทั้งหมด คิดเป็นร้อยละ 33.33 ซึ่งมีระดับความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.22-2.76 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม ส่วนเมทแอมเฟตามีนตรวจพบจำนวน 21 รายจากทั้งหมด คิดเป็นร้อยละ 46.67 ซึ่งมีระดับความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.20-20.06 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม เมื่อเปรียบเทียบความสอดคล้องกันระหว่างการตรวจพบแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนในเส้นผมจากตัวอย่างกลุ่มเดียวกัน ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีการศึกษานี้กับวิธีการศึกษาที่รายงานก่อนหน้านี้ ไม่พบความสอดคล้องกันอย่างมากในการตรวจพบแอมเฟตามีนของทั้ง 2 วิธีนี้ ส่วนการตรวจพบเมทแอมเฟตามีนมีความสอดคล้องกัน ดังนั้นวิธีการศึกษานี้ มีความไวสูงจึงสามารถนำมาตรวจหาแอมเฟตามีนและเมทแอมเฟตามีนที่ระดับความเข้มข้น 0.2 และ 0.15 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมเส้นผม ตามลำดับ ซึ่งเป็นไปตามหลักเกณฑ์ที่ยอมรับได้ของ Society of Hair Testing (SoHT) และหาความสัมพันธ์ระหว่างแอมเฟตามีนต่อเมทแอมเฟตามีน เพื่อใช้บ่งชี้ถึงการเสพเมทแอมเฟตามีนได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title Analysis of Methamphetamine and Amphetamine in Hair Using Derivatization Coupled with Automated Headspace Solid-phase Microextraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry Technique

Author Mr. Pongpichan Horcharoen

Degree Master of Science (Toxicology)

Thesis Advisor Assoc. Prof. Dr. Pongruk Sribunditmongkol, M.D.

ABSTRACT

Methamphetamine (MA) abuse is still an important problem in Thailand. Diagnosis of MA use is based on detection of MA and its metabolites, amphetamine (AP) in blood or urine. However, with a narrow window period, MA and AP are detected in blood or urine for several hours or few days, respectively. Therefore, neither blood nor urine can be used as a diagnosis subject for those who stop using drugs for a few days. Hair, on the other hand, can be used to detect drug for longer periods of time after the last drug use.

We had validated a method for hair analysis of MA earlier. The technique is using SPME technique with this method, the LOD for MA was 0.15 and for AP was 0.2 ng/mg of hair. Compared of the SoHT, AP was higher than their criteria. Therefore, in this research project, we developed a method for hair MA and AP analysis which is more sensitive than earlier technique. Commencement with extraction process was study various factors on hair extraction. For acidic extraction using 1.0 M hydrochloric acid (HCl) for 60 min. at 60°C yielded a good result. Hair extracted with 0.5 M sodium hydroxide (NaOH) for 30 min. at 70°C also yielded a highest MA and AP detection with less variability.

To increase the sensitivity of MA and AP detection in analytes, the derivatization was performed. Difference derivatizing reagents were applied to hair extracts before subjected to a

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

SPME GC-MS analysis for MA and AP. The result shows that hairs extracted with NaOH and derivatized with combination of HFBCl and HFBA yielded a highest detection of MA and AP. This protocol was validated by following FDA guidelines. The standard curve of MA and AP was linear at the concentration of 0.2-10 ng/mg of hair. The correlation coefficients (r^2) of MA and AP derivative were 0.9971 and 0.9992, respectively. The limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) for MA analysis were 0.10 and 0.15 ng/mg of hair, respectively. The accuracy of MA hair analysis as expressed in % relative recovery was 96.16-109.55 ng/mg of hair for intra-day and 96.89-109.32 ng/mg of hair for inter-day assays. The precision of MA determination as expressed in % coefficient of variation was 2.19-2.63 for intra-day and 1.76-4.00 for inter-day analysis. The accuracy of AP analysis was 96.50-110.36% and 93.82-100.68% for intra-day and inter-day assays, respectively. The precision of AP analysis was 6.79-12.12% for intra-day assay and 6.37-14.93% for inter-day assays. The method of validation for both MA and AP hair analysis was complied with FDA guidelines.

This validation method was applied to analyze 45 hair samples from subjects who admitted using YABA at least 3 times during the past 3 months. MA was detected in 46.67% of cases with the concentration range between 0.20-20.06 ng/mg of hair. AP was detected 33.33% of cases with the concentration range between 0.22-2.76 ng/mg of hair. Compared to the result reported by Monnatee from our laboratory, there is a degree of agreement between MA analysis between the recent method and Monnatee's procedure. However, with Monnatee procedure AP can't be detected. The recent technique is more sensitive for detecting AP, with help indicated of YABA abuse.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved