

**การพัฒนาวิธีตรวจวิเคราะห์ชนิดของยาและสารเสพติดชนิดใหม่ในเลือดโดยเทคนิค
Liquid Chromatography - Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)
Method Development for Drugs and New Psychoactive Substance Analysis
in Blood by Liquid Chromatography - Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)**

ธนสิริ ยกเชื้อ

Tanasiri Yokchue

กลุ่มตรวจพิสูจน์ทางเคมี กองตรวจพิสูจน์ทางวิทยาศาสตร์ สถาบันนิติวิทยาศาสตร์ กระทรวงยุติธรรม

499 อาคารสุขประพฤติ (ชั้น 16) ถนนประชาชื่น บางซื่อ กทม. 10800

Forensic Chemistry Section, Division of Forensic Investigation, Central Institute of Forensic Science,
Ministry of Justices 499 Suprapruek Building (16th floor) Prachachuen Rd. Bang-Sui, Bangkok 10800

บทคัดย่อ

การตรวจวิเคราะห์เพื่อระบุชนิดของยาและสารเสพติดในเลือดเป็นส่วนหนึ่งของการตรวจพิสูจน์ทางนิติพิษวิทยาเพื่อหาสาเหตุของการเสียชีวิตหรือใช้เป็นหลักฐานในคดีต่างๆ เช่น การใช้ยาหรือสารเสพติดในการก่อคดีอาชญากรรมที่เกี่ยวกับความผิดทางเพศ ในช่วง 2-3 ปี ที่ผ่านมามีการแพร่ระบาดของสารเสพติดชนิดใหม่ที่รู้จักกันในชื่อ “New Psychoactive substance” หรือ NPS ซึ่งสารในกลุ่มนี้มีหลากหลายชนิดและวิธีตรวจวิเคราะห์สารในกลุ่มนี้ยังไม่แพร่หลายในประเทศไทย นอกจากนี้ปัญหาหลักของการตรวจพิสูจน์ระบุชนิดของยาและสารพิษในเลือดคือปริมาณยาที่อยู่ในกระแสเลือดนั้นมีปริมาณต่ำมาก เช่น ระดับยาที่ใช้ในการรักษาซึ่งมีปริมาณอยู่ในระดับนาโนกรัมต่อมิลลิลิตรจึงต้องอาศัยเทคนิค LC-MS/MS ในการตรวจวิเคราะห์ บทความนี้เสนอแนวทางการพัฒนาวิธีตรวจวิเคราะห์ชนิดของยาและสารเสพติดชนิดใหม่ในเลือดโดยเทคนิค LC-Triple-quadrupole ด้วยวิธีการวิเคราะห์แบบ dynamic multiple reaction monitoring (dMRM) ผลการพัฒนาพบว่า วิธีที่พัฒนาขึ้นมานี้สามารถนำมาใช้ในการตรวจชนิดของยาและสารเสพติดชนิดใหม่ NPS 34 ชนิดในเลือดได้ในระดับที่ใช้ในการรักษาด้วยการวิเคราะห์ 1 ครั้ง โดยมีค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด (limit of detection) ของเครื่องมือที่ความเข้มข้น 0.5 ng/ml

คำสำคัญ : New psychoactive substance, LC/MS/MS, วิธีตรวจวิเคราะห์ชนิด

Abstract

Forensic toxicology is involved with the detection and identification of drugs and poisons in biological samples such as blood to assist in death investigations and in drug of abuse testing in the living for example in the case of sexual assaults. In recent years, the use of new type of narcotic substances which is known as “New psychoactive substances” or NPS has been increasing globally and the detection methods for NPS in blood are not widely known in Thailand. Furthermore, the very low level of drug concentration in blood at therapeutic level (nanogram or sub-nanogram level) is a main problem for drug identification in blood sample. LC-MS/MS (Tandem Mass spectrometry) which is considered as a highly sensitive technique is required to solve this problem. This article presents the method development for drug and NPS analysis in blood by LC-Triple-Quadrupole with dynamic multiple reaction monitoring (dMRM) mode. Results showed that LC/MS/MS method that was developed can identify 34 drugs and NPS in blood at therapeutic level with the limit of detection of 0.5 ng/ml.

Keywords: New psychoactive substance, LC/MS/MS, Identification

บทนำ

ปัจจุบันงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ได้เข้ามามีบทบาทสำคัญในกระบวนการยุติธรรม โดยได้มีการนำหลักฐานทางนิติวิทยาศาสตร์ด้านต่างๆ เช่น การตรวจพิสูจน์ยาและสารพิษ การตรวจสารพันธุกรรม การตรวจพิสูจน์ลายมือลายเซ็น เป็นต้น เข้ามาเป็นพยานหลักฐานในการพิจารณาคดีในชั้นศาลเพื่อระบุตัวผู้กระทำความผิด นิติพิษวิทยา (Forensic toxicology) เป็นงานด้านนิติวิทยาศาสตร์สาขาหนึ่งซึ่งเกี่ยวข้องกับการตรวจพิสูจน์เพื่อระบุชนิดและปริมาณของยาและสารพิษในร่างกาย โดยการตรวจพิสูจน์ยาและสารพิษจากตัวอย่างชีววัตถุต่างๆในร่างกายผู้เสียชีวิต เช่น เลือด ปัสสาวะ ตับ เป็นต้นนั้น มีวัตถุประสงค์เพื่อสนับสนุนกระบวนการยุติธรรมในการหาสาเหตุของการเสียชีวิต ส่วนการตรวจพิสูจน์ยาและสารพิษในเลือด ปัสสาวะหรือเส้นผมในบุคคลที่ยังมีชีวิตนั้น มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้เป็นหลักฐานประกอบการกระทำผิดในคดีต่างๆ เช่น การใช้ยาหรือสารเสพติดในการก่อคดีอาชญากรรมหรือคดีที่เกี่ยวกับความผิดทางเพศ (Drug-facilitated sexual assault) การใช้สารเสพติดหรือแอลกอฮอล์ขณะขับขี่ยานยนต์ และการใช้สารเสพติดในสถานที่ทำงาน (Drummer, 2010)

สารที่มีความสำคัญทางนิติพิษวิทยาได้แก่ยาและสารเสพติด เช่น ยากลุ่ม opioids กลุ่มแอมเฟตามีน ยานอนหลับกลุ่มเบนโซไดอะซีปีน เป็นต้น สารส่วนใหญ่เป็นสารที่ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลางโดยกดหรือกระตุ้นการทำงานของสมอง สารในกลุ่มดังกล่าวส่วนใหญ่ถูกจัดเป็นยาเสพติดให้โทษประเภท 1 และ 2 หรือจัดเป็นวัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตประสาท (กองวัตถุเสพติด, 2561) ในเกือบทุกประเทศทั่วโลก นอกจากนี้ ในช่วง 2-3 ปี ที่ผ่านมานั้นได้มีการแพร่ระบาดของสารเสพติดหรือสารออกฤทธิ์ต่อจิตประสาทชนิดใหม่ (New psychoactive substances, NPS) ทั่วโลกโดยเฉพาะประเทศในสหภาพยุโรป สหรัฐอเมริกา และญี่ปุ่น โดยรู้จักกันในชื่อ “Legal high” หรือ “Designer drugs” สารเหล่านี้มีทั้งสารที่มีโครงสร้างทางเคมีใกล้เคียงสารเสพติดที่ถูกควบคุม ได้จากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของสารเสพติดเพียงเล็กน้อย

และสามารถออกฤทธิ์ได้เหมือนสารเสพติดและบางชนิดอาจจะออกฤทธิ์ได้รุนแรงกว่าสารดั้งเดิม 10-100 เท่า หรืออาจจะเป็นสารที่สังเคราะห์ขึ้นมาใหม่ มีโครงสร้างแตกต่างจากสารเสพติดที่ถูกควบคุมแต่ออกฤทธิ์เหมือนสารเสพติด สารที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นมาใหม่เหล่านี้ บางส่วนยังไม่ได้ถูกจัดเป็นยาเสพติดที่ถูกควบคุม ทำให้นักเสพติดทั่วโลกหันมาใช้สารประเภทนี้มากขึ้นเพื่อหลีกเลี่ยงความผิดจากการใช้สารเสพติดซึ่งเป็นสารควบคุม (UNODC, 2015)

การตรวจพิสูจน์ทางนิติพิษวิทยานั้นอาศัยเทคนิคทางโครมาโทกราฟีร่วมกับแมสสเปกโตรเมตรี เช่น GC/MS และ LC/MS เป็นหลัก ซึ่งเทคนิคที่กล่าวมาข้างต้นนั้นเป็นเทคนิคที่มีความแม่นยำสูง มีการใช้อย่างแพร่หลายทั่วโลก เป็นที่ยอมรับในระดับสากล เป็นเทคนิคที่แนะนำในการตรวจยืนยัน (Confirmatory tests) ทางนิติพิษวิทยาจากสมาคมนิติพิษวิทยาระดับสากล เช่น ใน Forensic Laboratory Guidelines ของ Society of Forensic Toxicologists (SOFT, 2006) และเป็นที่ยอมรับในระบบประกันคุณภาพ เช่น ISO/IEC 17025 อย่างไรก็ตามวิธีการตรวจวัดด้วยแมสสเปกโตรมิเตอร์ที่เป็นที่ยอมรับว่ามีความไวในการตรวจวัดมากที่สุดคือเทคนิค LC- Triple-quadrupole MS (LC-TQMS) โดยสามารถตรวจวัดสารได้ที่ระดับนาโนกรัมถึงเฟมโตกรัม

จากที่กล่าวมาข้างต้น เนื่องจากสถาบันนิติวิทยาศาสตร์ยังไม่มีวิธีตรวจวิเคราะห์สารในกลุ่ม NPS และวิธีการวิเคราะห์ที่ใช้ในปัจจุบันด้วยเทคนิค LC-ion trap MS ยังไม่สามารถตรวจยาได้ต่ำถึงในระดับที่ใช้ในการรักษา งานวิจัยชิ้นนี้จึงทำการพัฒนาวิธีการตรวจพิสูจน์ชนิดของยาและสารเสพติดชนิดใหม่ 34 ชนิด ในเลือดที่ความเข้มข้นในระดับนาโนกรัมหรือต่ำกว่า โดยเทคนิค LC-Triple-quadrupole MS โดยในกลุ่ม NPS นั้นจะเน้นไปใน 2 กลุ่มหลักที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายคือกลุ่ม Synthetic cathinones ได้แก่ 3,4-methylenedioxycathinone (MDC) และ Pentylone และกลุ่ม Synthetic cannabinoids ได้แก่ JHW-018, JWH-073 และ JWH-1503-1 เพื่อขยายขีดความสามารถในงานตรวจพิสูจน์ทางนิติพิษวิทยาของสถาบันนิติวิทยาศาสตร์ให้เท่าทันสถานการณ์การใช้ยาเสพติดที่เปลี่ยนไป ก่อให้เกิดประโยชน์แก่กระบวนการยุติธรรมในการหาหลักฐานเพื่อใช้จับกุมผู้กระทำความผิด

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจพิสูจน์ชนิดของยาและสารเสพติดชนิดใหม่ในกลุ่ม synthetic cathinones และ synthetic cannabinoids รวม 34 ชนิด ในเลือดที่ความเข้มข้นระดับนาโนกรัมหรือต่ำกว่า โดยเทคนิค LC/MS/MS (LC-Triple-quadrupole MS) เพื่อนำมาใช้ในการตรวจพิสูจน์ชนิดของยาในเลือดของห้องปฏิบัติการนิติเคมี สถาบันนิติวิทยาศาสตร์

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ศึกษาและรวบรวมองค์ความรู้เกี่ยวกับการวิเคราะห์หาชนิดของยาและสารเสพติดชนิดใหม่ในเลือดโดยเทคนิค LC-Triple quadrupole MS จากวารสารด้านพิษวิทยาและคู่มือการใช้งานเครื่องมือ
2. จัดหาสารมาตรฐาน (Reference Material, RM) ยาและสารเสพติดทั้ง 34 ชนิด ที่ต้องการวิเคราะห์ โดยแบ่งสารทั้งหมดออกเป็น 4 กลุ่ม (A-D) ตามระดับความเข้มข้นที่ให้ผลในการรักษา (therapeutic concentration) จากต่ำไปสูง รายละเอียดดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงรายชื่อสารมาตรฐานยา และช่วงความเข้มข้นที่ใช้ในการรักษา

No.	Reference standard	Therapeutic conc. range (µg/ml)	Group
1	Methamphetamine	0.01-0.05	A
2	MDMA	0.1-0.35	A
3	MDEA	-	A
4	Nitrazepam	0.03-0.07	A
5	7-Amino-flunitrazepam	0.005-0.015	A
6	Alprazolam	0.005-0.05	A
7	Flunitrazepam	0.005-0.015	A
8	Paroxetine	0.01-0.075	A
9	6-Acetylmorphine (6-MAM)	-	B
10	3,4-Methylenedioxycathinone (MDC)	-	B
11	7-Amino-nitrazepam	0.03-0.07	B
12	Amphetamine	0.02-0.15	B
13	Benzoylcegonine	-	B
14	Clonazepam	0.02-0.07	B
15	Cocaine	0.05-0.3	B
16	Codeine	0.01-0.25	B
17	EDDP	-	B
18	JWH-073	-	B
19	JWH-18	-	B
20	JWH-1503-1	-	B
21	MDA	0-0.4	B
22	Methadone	0.07-0.1	B
23	Mirtazapine	0.02-0.1	B
24	Morphine	0.08-0.12	B
25	Nor-ketamine	-	B
26	Oxycodone	0.02-0.05	B
27	Pentylone	-	B
28	Diazepam	0.125-1.5	C
29	Nordiazepam	0.2-1.8	C
30	Oxazepam	0.15-2	C
31	Temazepam	0.3-0.9	C
32	Venlafaxine	0.25-0.75	C
33	Ketamine	0.5-6.5	D
34	Phenylbutazone	3.3-12.3	D

3. พัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์ (Method development) เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวิเคราะห์ชนิดของยาและสารเสพติดชนิดใหม่ในเลือดโดยเทคนิค LC/MS/MS ประกอบด้วยขั้นตอนดังนี้

3.1 Optimized MRM (Multiple reaction monitoring) Transitions สารมาตรฐาน 34 ชนิด

3.1.1 เตรียมสารมาตรฐานทั้ง 4 กลุ่ม (A, B, C, D) ใน Methanol ที่ความเข้มข้น 250 ng/ml และนำสารมาตรฐานทั้ง 4 กลุ่ม ไปฉีดเข้าเครื่องมือเพื่อ Optimize โดยใช้ Program optimizer เพื่อหาค่าของ Product ions (MRM transition) และค่าพลังงานที่ใช้ในการแตกมวลสาร (Collision energy, CE)

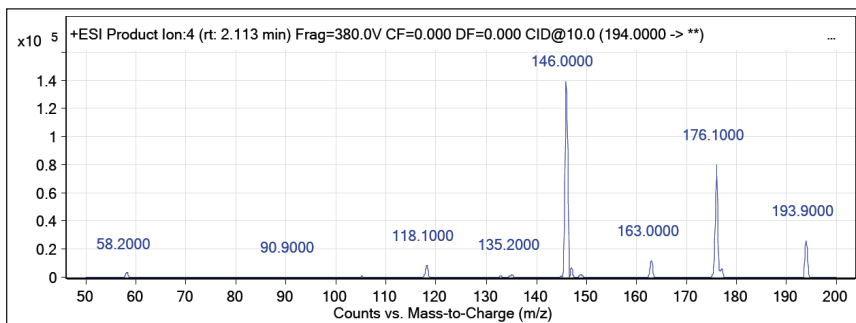
3.1.2 เลือก MRM transition และ Collision energy โดยเลือก 3 คู่ที่ให้ค่าความเข้มของสัญญาณ (Intensity) สูงสุดมากำหนดในตาราง MRM ของวิธีวิเคราะห์ ผลการ Optimize ของ Methamphetamine ด้วยโปรแกรม Optimizer ดังแสดงในภาพที่ 1

Compound Name	Formula	Mass	Sample Position
Methamphetamine		149.24	1
Method Name D:\MassHunter\Methods\Optimizer_Pos.m			
Polarity	Positive	Ion Source	AJS ESI
Precursor Ion		Fragmentor	
150.25		380	
Product Ion	Collision Energy	Abundance	
91	17	1479065	
119	9	595261	
65.1	45	442412	
63.1	53	37720	

ภาพที่ 1 ตัวอย่างผลการ Optimize ของ Methamphetamine ด้วยโปรแกรม Optimizer

3.1.3 ทดสอบ MRM transition ที่เลือกโดยการฉีดสารมาตรฐานผสม (Mixed standards) ที่ความเข้มข้น 250 ng/ml เพื่อตรวจสอบความถูกต้อง

3.1.4 นำสารที่ MRM transition ที่ให้ค่าความเข้มของสัญญาณ (Intensity) ต่ำมา Optimize ใหม่โดยใช้ Product ion scan mode ที่ ค่า CE ต่างๆกัน ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 ตัวอย่าง Mass spectrum pattern ของ MDC ใน Product ion scan mode ที่ค่า CE = 10

3.1.5 กำหนดค่า MRM transition และค่าพลังงานที่ใช้ในการแตกมวลสารของสารทั้งหมด ตั้งเป็น Method ในส่วน MS

3.2 ปรับค่าสภาวะทางลิควิดโครมาโทกราฟี (LC chromatographic conditions) ที่ใช้ในการแยกสารทั้ง 34 ชนิดออกจากกัน โดยสารที่มีค่ามวลโมเลกุลเท่ากันหรือใกล้เคียงกันต้องแยกออกจากกันได้ อย่างชัดเจนและได้โครมาโตแกรมที่สมมาตร โดยนำ Mixed standard จากตารางที่ 1 มาฉีดผ่าน LC column ที่สัดส่วน Mobile phase เท่ากับ 0.1% Formic acid ใน Acetonitrile ต่อ 0.1% Formic acid ใน 10 mM Ammonium formate buffer (1 ต่อ 1) เพื่อการแยกของสารทั้ง 34 ชนิด หลังจากนั้นปรับสัดส่วน Mobile phase แบบ Gradient จาก % Acetonitrile ต่ำไปสูง เพื่อให้สารทั้ง 34 ชนิดแยกออกจากกัน และให้ได้พีคที่สมมาตร

3.3 สร้างวิธีการวิเคราะห์ (LC/MS/MS method) แบบ Multiple Reaction Monitoring (MRM) ประกอบด้วยระบบโครมาโทกราฟี และค่าพลังงานที่ใช้ในการแตกมวลสาร แล้วทำการฉีดสารมาตรฐานทั้ง 34 ชนิดเพื่อทำการทดสอบ

3.4 สร้างวิธีการวิเคราะห์ (LC/MS/MS method) แบบ Dynamic Multiple Reaction Monitoring (dMRM) ประกอบด้วยระบบโครมาโทกราฟี ค่าพลังงานที่ใช้ในการแตกมวลสาร และค่า Retention time แล้วทำการฉีดสารมาตรฐานทั้ง 34 ชนิดเพื่อทำการทดสอบ ซึ่งวิธี dMRM นั้นจะตรวจสอบได้ปริมาณต่ำกว่าวิธี MRM แต่สภาวะของ LC ที่พัฒนาขึ้นมานั้นต้องมีความเสถียรมากกว่าเนื่องจากการกำหนดเวลาการวัดตาม Retention time

4. เปรียบเทียบวิธีที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างเลือด (Extraction method) โดยทำการทดสอบวิธีการสกัดตัวอย่างแบบ Protein precipitation และ Liquid-liquid extraction โดยใช้ Diazepam-d5 และ 3,4-Methylenedioxymethamphetamine-d5 (MDMA-d5) เป็น Internal standards

5. ทดสอบขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) เพื่อตรวจสอบปริมาณยาต่ำสุดที่วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมานั้นสามารถตรวจพบได้ โดยต้องมีค่า Signal-to-noise ratio มากกว่า 3

6. ทดสอบผลการวิเคราะห์กับตัวอย่างจริง โดยนำตัวอย่างจริงที่ตรวจพบยาจากการวิเคราะห์หายาและสารเสพติดในเลือดโดยเครื่อง LC-MS/MS ชนิด Ion trap มาวิเคราะห์เปรียบเทียบกับวิธีที่พัฒนาขึ้น

ผลและอภิปรายผล

งานวิจัยนี้ทำการพัฒนาวิธีการตรวจแยกยาและสารเสพติด 34 ชนิด ที่ความเข้มข้นระดับต่ำกว่า 50 ng/ml ด้วยเทคนิค LC-Triple-quadrupole MS ซึ่งผลการวิจัยพบว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถตรวจวิเคราะห์แยกยาและสารเสพติด 34 ชนิดในเลือดออกจากกันได้เป็นอย่างดี โดยมีค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด (limit of detection) ของเครื่องมือที่ความเข้มข้น 0.5 ng/ml รายละเอียดดังนี้

1. มีสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ ในส่วน LC ดังนี้

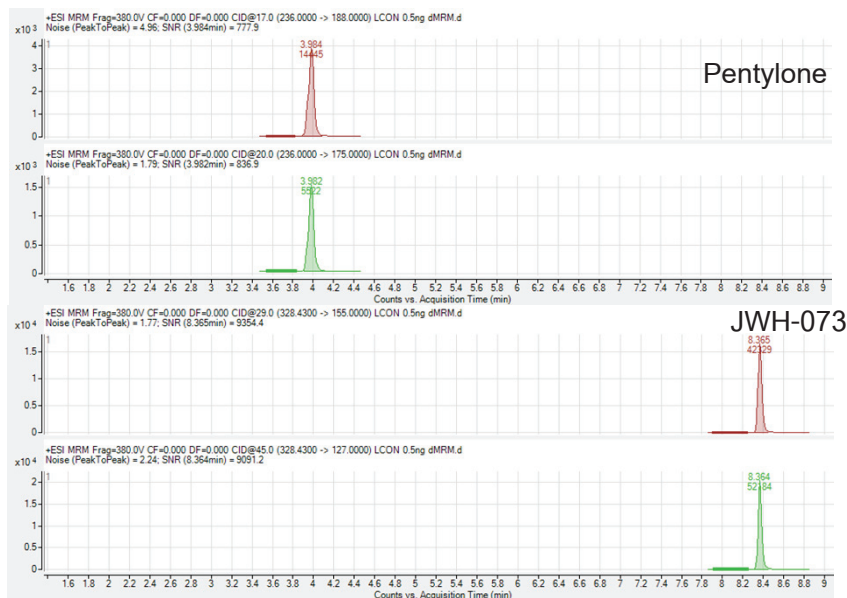
LC column ที่ใช้คือ Poroshell 120 EC-18 2.1x150 mm, 2.7 μ m โดยใช้ Mobile phase 2 ชนิด ได้แก่ ชนิด A คือ 0.1% Formic acid ใน 10 mM Ammonium formate buffer และชนิด B คือ 0.1% Formic acid ใน Acetonitrile วิเคราะห์ในโหมด Gradient ที่สัดส่วน Mobile phase ที่ 5% B ถึง 95%B ใน 10 นาที Post run time 2 นาที อัตราการไหล 0.4 ml/min ปริมาตรที่ฉีดเท่ากับ 10 ไมโครลิตร อุณหภูมิคอลัมน์ เท่ากับ 45 องศาเซลเซียส

2. ค่าสภาวะของ Mass spectrometer ในโหมด dMRM รายละเอียดดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงค่า MRM transition, Retention time และ Collision energy (CE) ที่ใช้ในการวิเคราะห์

Compound Name	Retention time (min)	Transition (quantifier)		Transition (qualifier)	
		Mass	CE	Mass	CE
Morphine	1.88	286>201	29	286>165	41
MDC	3.02	194>146	15	194>176	5
Codeine	3.11	300>165	45	300>255	30
Amphetamine	3.29	136>91	17	136>119	5
Oxycodone	3.30	316.3>298	17	316.3>256	25
6-MAM	3.33	328>165	45	328>210.9	25
MDA	3.37	180>163	9	180>105	25
Methamphetamine	3.44	150>91	17	150>119	9
MDMA-d5	3.48	199>165	10	199>107	30
MDMA	3.49	194.2>163	9	194.2>105	25
7-Aminonitrazepam	3.52	252>121	25	252>94	50
nor-Ketamine	3.68	224>206.9	10	224>125	25
MDEA	3.68	208>163	9	208>105	25
Benzoylecgonine	3.70	290>168	17	290>105	33
Ketamine	3.70	238>125	25	238>207	15
Pentylone	3.97	236>188	17	236>175	20
Mirtazapine	4.09	266>195	30	266>72	21
Cocaine	4.24	304>182	17	304>82	33
7-aminoflunitrazepam	4.46	284>135	33	284>227	25
Venlafaxine	4.47	278.4>58	25	278.4>260	9
Paroxetine	5.14	330>70	33	330>192	21
EDDP	5.18	278>234	37	278>249	25
Methadone	5.48	310>265	13	310>105	29
Oxazepam	5.56	287>269	18	287>241	35
Nitrazepam	5.58	282>236	30	282>207	30
Clonazepam	5.7	316>270	25	316>241	30
Alprazolam	5.7	309.7>275	29	309.7>205	49
Flunitrazepam	5.96	314>268	29	314>239	37
Nordiazepam	6.01	271>140	30	271>208	30
Temazepam	6.05	301>255	20	301>283	10
Diazepam	6.53	285>154	25	285>194	30
Diazepam-d3	6.53	288>157	30	288>225	30
Phenylbutazone	7.24	309>160	20	309>120	25
JWH-1503-1	7.96	360>127	45	360>155	25
JWH-073	8.35	328.4>127	45	328.4>155	29
JWH-018	8.66	342>155	25	342>127	37

3. มีค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of detection) ของเครื่องมือที่ความเข้มข้น 0.5 ng/ml ใน Methanol โดยมีค่า Signal-to-noise (S/N) ของสารทั้ง 34 ชนิดมากกว่า 3 ตัวอย่าง MRM chromatogram ของ Pentylone และ JWH-073 ที่ LOD มีค่า S/N มากกว่า 3 แสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 แสดงตัวอย่าง MRM chromatogram ของ Pentylone และ JWH-073 ที่ LOD

4. จากการเปรียบเทียบพื้นที่ใต้กราฟ (Peak area) ของสารแต่ละชนิดพบว่า วิธีที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างเลือด คือวิธีการสกัดตัวอย่างแบบ Liquid-liquid extraction โดยใช้เลือด 250 μ l ปรับค่า pH เป็นเบส แล้วสกัดด้วย Butyl chloride 1 ml ที่สามารถสกัดยาและสารเสพติดทั้ง 34 ชนิดในภาพรวมออกจากเลือดได้ดีกว่า เนื่องจากสารส่วนใหญ่เป็น Basic drugs การปรับ pH เป็นเบสทำให้สารถูกสกัดออกมาได้ดีกว่าและวิธีนี้ยังกำจัด Matrix ได้ดีกว่าวิธี Protein precipitation

5. ผลการนำตัวอย่างจริงที่ตรวจพบยามาทดสอบ พบว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมาสามารถตรวจพบชนิดยา 34 ชนิดได้ต่ำกว่าวิธีเดิม (LC- Ion trap) โดยสามารถตรวจพบเมทาบอไลต์ของยาได้ ผลแสดงในตารางที่ 3 ตารางที่ 3 แสดงผลเปรียบเทียบการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างเลือดที่ถูกส่งมาวิเคราะห์

ตัวอย่าง	สารที่พบด้วยวิธี Ion trap	สารที่พบด้วยวิธี TQMS
ตัวอย่างที่ 1	Diazepam	Diazepam และ Nordiazepam
ตัวอย่างที่ 2	Nordiazepam และ Diazepam	Alprazolam, Nordiazepam และ Diazepam
ตัวอย่างที่ 3	Nordiazepam และ Diazepam	Alprazolam, Nordiazepam และ Diazepam

สรุป

วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมานี้สามารถนำมาใช้ในการตรวจระบุชนิดของยาและเมแทบอลิต์ เช่น MDMA และ MDA และสารเสพติดชนิดใหม่ (NPS) เช่น Pentylone, JWH-073, JWH-018 และ JWH-1503-1 ในเลือดได้ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีที่พัฒนาขึ้นกับเทคนิคอื่นคือ LC-MS/MS (Ion trap) พบว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถตรวจวัดสารได้ในปริมาณที่ต่ำกว่าจึงเป็นการเพิ่มขีดความสามารถในการตรวจวิเคราะห์ทางนิติพิษวิทยาให้ดียิ่งขึ้น และเมื่อทำการทดสอบตัวอย่างจริงพบว่าสามารถตรวจพบยาและสารเสพติดได้มากกว่าเทคนิคเดิม โดยเฉพาะเมแทบอลิต์ของยาที่มีปริมาณค่อนข้างต่ำเช่น nordiazepam อย่างไรก็ตาม งานวิจัยนี้ควรพัฒนาต่อไปโดยการขอรับรองมาตรฐาน ISO/IEC 17025 ซึ่งเป็นหนึ่งในกระบวนการประกันคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ เพื่อเป็นการประกันคุณภาพการรายงานผลการตรวจพิสูจน์ว่ามีความน่าเชื่อถือและถูกต้องตามหลักวิชาการ

เอกสารอ้างอิง

- กองวัตถุเสพติด. (2561). สารเสพติด [ออนไลน์]. ค้นเมื่อ 9 มีนาคม 2561, จาก: <http://dmisc2.dmisc.moph.go.th/webroot/narcotics/other.htm>
- Drummer, O. (2010). *Forensic toxicology*. In Luch, A. (Ed.), *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology*. Basel: Birkhäuser.
- SOFT. (2006). *SOFT/AAFS Forensic Toxicology Laboratory Guidelines* [Online]. Retrieved 13 March 2018, from: http://www.soft-tox.org/files/Guidelines_2006_Final.pdf
- UNODC. (2015) *World Drug Report 2015* [Online]. Retrieved 9 March 2018, from: https://www.unodc.org/documents/wdr2015/World_Drug_Report_2015.pdf