บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 นิติพิษวิทยา (Forensic Toxicology)

นิติพิษวิทยา (9) หมายถึง การนำวิชาพิษวิทยามาประยุกต์ใช้ในการตรวจวิเคราะห์และศึกษาผลของสารพิษที่เกี่ยวข้องกับกฎหมายและกระบวนการยุติธรรม กล่าวคือ นิติพิษวิทยาเป็นสาขาที่ศึกษาเกี่ยวกับผลไม่พึงประสงค์ของสารต่าง ๆ ที่มีผลต่อร่างกายของมนุษย์ ทั้งในด้านการแพทย์และกฎหมาย ทั้งนี้ต้องอาศัยกระบวนการตรวจวิเคราะห์ทางพิษวิทยาอย่างละเอียดเพื่อมุ่งให้ได้ความจริงเกี่ยวกับการตรวจพบสารพิษที่สงสัย โดยทำการตรวจวิเคราะห์จากตัวอย่างที่เป็นวัตถุพยานทางชีวภาพ เช่น เลือด ปัสสาวะ ของเหลวในกระเพาะอาหาร เนื้อเยื่อต่าง ๆ และวัตถุพยานในที่เกิดเหตุ หรือวัตถุพยานอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง

งานด้านนิติพิษวิทยามีบทบาทสำคัญในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ และเป็นส่วนสำคัญที่ช่วยเหลืองานด้านนิติเวชในการหาสาเหตุกรณีการเสียชีวิตที่เกี่ยวข้องกับสารพิษ เช่น การกินยาเพื่อฆ่าตัวตาย การเกิดอุบัติเหตุที่เกิดจากการใช้ยาหรือสารเสพติด หรือการเสียชีวิตที่ไม่ทราบสาเหตุการตาย ดังนั้นการตรวจยาหรือสารเสพติดจึงเป็นหนึ่งในขั้นตอนมาตรฐานที่แพทย์ผู้ทำการชันสูตรพลิกศพต้องเก็บตัวอย่างไปตรวจวิเคราะห์ เพื่อให้งานครบถ้วนสมบูรณ์ที่สุด ก่อนที่จะสรุปสาเหตุการตายและพฤติการณ์ที่ตายร่วมกับเจ้าหน้าที่ตำรวจได้

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับนิติพิษวิทยา

Jönsson และคณะ (10) ได้ศึกษาการใช้ยาและสารพิษที่ทำให้เสียชีวิตในประเทศสวีเดน โดยศึกษาในช่วงระหว่างปี ค.ศ.1992-2002 โดยทำการศึกษาจากพฤติการณ์ที่ตายและชนิดของสารเพื่อศึกษารูปแบบการใช้ยาและสารพิษ พบว่ามีผู้เสียชีวิตจากยาและสารพิษต่าง ๆ ทั้งหมด 6,998 ราย แบ่งประเภทเป็นการฆ่าตัวตายร้อยละ 44 ไม่ทราบสาเหตุร้อยละ 47 และอุบัติเหตุร้อยละ 8 โดยการฆ่าตัวตายเป็นชายร้อยละ 49 หญิงร้อยละ 51 มีช่วงอายุระหว่าง 12–96 ปี และการตายโดยไม่ทราบสาเหตุ เป็นชายร้อยละ 70 หญิงร้อยละ 30 มีช่วงอายุระหว่าง <1–100 ปี การตายโดยอุบัติเหตุเป็นชายร้อยละ 78 และหญิงร้อยละ 22 มีช่วงอายุระหว่าง 3–92 ปี ซึ่งสารที่ทำให้ตายส่วนใหญ่เป็น diazepam, ethanol, propoxyphen และ paracetamol

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในปี ค.ศ.2009 Jönsson และคณะ (11) ได้รายงานผลการศึกษาการใช้ยาทางเภสัชกรรมในกลุ่มประชากรทางภาคตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศสวีเดนตลอดปี 2001 โดยเก็บข้อมูลจาก The Swedish National Board of Health and Welfare โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินอุบัติการณ์ของการใช้ยาทางเภสัชกรรมในกลุ่มประชากรชาวสวีเดน ซึ่งพบว่า มีจำนวนผู้เสียชีวิตจากการใช้ยาทางเภสัชกรรมเพียง 9 ราย จากทั้งหมด 1,574 ราย เป็นชาย 5 ราย หญิง 4 ราย มีช่วงอายุระหว่าง 26–85 ปี และมีพฤติการณ์ส่วนใหญ่เป็นการตั้งใจกระทำตัวเอง ยาที่ใช้เป็นยาประเภทยานอนหลับ (benzodiazepines) ร้อยละ 33, ยาแก้แพ้ (antihistamines) ร้อยละ 33 และยาแก้ปวด (analgesics) ร้อยละ 22

จากรายงานดังกล่าวจะเห็นว่าในต่างประเทศมีการใช้ยานอนหลับในทางที่ผิดทั้งที่เป็นกรณีที่เป็นสาเหตุการตาย หรือเป็นปัจจัยเสริมที่เป็นเหตุแห่งการตายนั้นกันค่อนข้างมาก แต่ที่เป็นปัญหาในทางนิติพิษวิทยามากก็คือ การตรวจหายาหรือสารเคมีต่าง ๆ ในศพที่ได้มีการฉีดสารฟอร์มาลินเพื่อรักษาสภาพศพ จะทำให้การตรวจวิเคราะห์สารพิษหรือยานั้นได้หรือไม่

Takayasu และคณะ (12) ได้ทำการวิเคราะห์หาสารระเหยในเนื้อเยื่อที่ผ่านการแช่ฟอร์มาลิน โดยศึกษาจากการให้ diethylether, chloroform, และ toluene โดยวิธีการสูดดม และฉีด ethanol เข้าทางเส้นเลือดดำแก่กระต่ายจนตาย หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อ ได้แก่ สมอง ปอด ตับ ไต และกล้ามเนื้อ โดยแช่ตัวอย่างในสารละลายฟอร์มาลินความเข้มข้นร้อยละ 10 ที่อุณหภูมิห้องในเวลา 1, 2, 5 และ 14 วัน แล้วนำตัวอย่างดังกล่าวไปตรวจวิเคราะห์หาสารระเหยด้วยวิธี GC/MS ซึ่งผลการทดลองพบว่า สามารถตรวจพบสารระเหยได้อย่างชัดเจนในตัวอย่างทุกชนิดแม้ทิ้งระยะเวลาไว้นาน 14 วัน

ในปี ค.ศ.2003 Alunmi-Perret และคณะ (13) ได้ทำการตรวจหาเฮโรอีนจากศพหลังการรักษาสภาพศพ โดยศพที่นำมาศึกษานั้นเป็นศพชายชาวฝรั่งเศสที่มาเสียชีวิตในประเทศไทย ผู้ตายมีประวัติการใช้โคเคนร่วมกับแอลกอฮอล์ และมีหลายครั้งก่อนหน้านี้ที่ผู้ตายได้พยายามฆ่าตัวตายก่อนที่จะมีการส่งศพกลับไปประเทศฝรั่งเศสได้มีการให้สารละลายรักษาสภาพศพ ผลการตรวจร่างกายภายนอกไม่มีบาดแผลบาดเจ็บและการช้ำ ตามปกติแล้วในกรณีที่ศพมีการฉีดสารละลายรักษาสภาพศพแล้ว วัตถุพยานทางชีวภาพที่เป็นของเหลว เช่น เลือด และปัสสาวะ จะไม่สามารถหาสารพิษทางพิษวิทยาได้ แต่จะใช้น้ำดีและตับแทน การตรวจทางพิษวิทยาโดยใช้ GC/MS ของศพรายนี้ไม่พบแอลกอฮอล์ในน้ำดี แต่พบมอร์ฟีนและโคเดอีนในระดับสูง ในปริมาณ 2,476 และ 350 ng/ml ตามลำดับ ในตับพบมอร์ฟีน 4.3 mg/kg ในเส้นผมพบมอร์ฟีน และโคเดอีน 4.21 และ 0.23 ng/mg ตามลำดับ และพบ 6-MAM ซึ่งเป็น metabolite ของเฮโรอีน 6.99 ng/mg จึงทำให้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สามารถสรุปถึงสาเหตุการตายได้ว่า เป็นการตายจากการเสพเฮโรอีนแบบเฉียบพลัน (acute heroin poisoning)

2.3 เบนโซไดอะซีปีน (benzodiazepine)

ยาในกลุ่มเบนโซไดอะซีปีน (14) เป็นยาที่มีการสังเคราะห์ได้ครั้งแรกในปี ค.ศ. 1961 โดยใช้เป็นยารักษาโรควิตกกังวล (anxiolytic) ป้องกันชัก (anticonvulsant) เป็นยานอนหลับ (hpynotic) และยาคลายกล้ามเนื้อ (muscle relaxant) ยาชนิดแรกในกลุ่มนี้ที่สังเคราะห์ขึ้นมา ได้แก่ chlordiazepoxide

ยาในกลุ่มนี้มีการนำมาใช้ทางคลินิกมากกว่า 20 ชนิด แบ่งออกเป็น 4 ประเภท ตามระยะเวลาที่ออกฤทธิ์ ได้แก่

1. Ultra short acting ออกฤทธิ์ในร่างกายน้อยกว่า 6 ชั่วโมง เช่น midazolam, triazolam
2. Short acting ออกฤทธิ์ในร่างกาย 12-18 ชั่วโมง เช่น lorazepam, temazepam
3. Medium acting ออกฤทธิ์ในร่างกาย 18-24 ชั่วโมง เช่น alprazolam, nitrazepam
4. Long acting ออกฤทธิ์ในร่างกายนานกว่า 24 ชั่วโมง เช่น chlordiazepoxide, diazepam

ตาราง 1 ข้อมูลที่สำคัญของยาในกลุ่มเบนโซไดอะซีปีน (14)

Drugs	Half life (h)	Active metabolite	Metabolite half life (h)	Overall duration	Main use
Triazolam	2-4	hydroxylated	2	< 6	Hypnotic
Lorazepam	8-12	no	-	12-18	Anxiolytic
Oxazepam					Hypnotic
Temazepam					
Alprazolam	6-12	hydroxylated	6	24	Anxiolytic
Nitrazepam	16-40	no	-	-	Anxiolytic
					Hypnotic
Diazepam	20-40	nordiazepam	60	24-48	Anxiolytic
Chlordiazepoxide					Anticonvulsant
Flurazepam	1	Desmethyl-	60	Long acting	Anxiolytic
		flunitrazepam			
Clonazepam	50	no	-		Anxiolytic
					Anticonvulsant

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

มีรายงานการวิเคราะห์หายากลุ่มเบนโซไดอะซีปีนและยาชนิดลอราซีแพมในตัวอย่างทางชีวภาพด้วยวิธีการต่าง ๆ ดังนี้

Shiota และคณะ (15) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ triazolam และ diazepam ในเนื้อเยื่อของหนูทดลองภายหลังตาย โดยการให้ triazolam หรือ diazepam ทางปากจนตาย จากนั้นนำไปตรวจหาระดับความเข้มข้นของยาในเนื้อเยื่อตับ ไต สารในกระเพาะอาหาร และลำไส้เล็ก โดยเก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 12 และ 24 ชั่วโมงหลังสัตว์ทดลองตาย และวัดระดับความเข้มข้นของยาในตัวอย่าง โดยใช้ GC/MS พบว่าระดับความเข้มข้นของยาทั้งสองชนิดในระบบทางเดินอาหารลดลง แต่ในทางกลับกันระดับความเข้มข้นของยาที่อยู่ในตับและไตมีระดับที่สูงขึ้นอย่างชัดเจน ในปอดและเลือดจากหัวใจมีระดับยาเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ในช่วงระยะเวลาหลังตาย การแพร่กระจายของยาจากระบบทางเดินอาหาร การเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของยาทั้งสองมีความคล้ายคลึงกัน แต่ triazolam มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงระดับยามากกว่า diazepam ผลการศึกษาบ่งชี้ว่า triazolam และ diazepam กระจายจากบริเวณเนื้อเยื่อรอบ ๆ ทางเดินอาหารหลังตาย และแพร่กระจายของยามีอิทธิพลต่อระดับยาในเนื้อเยื่อต่าง ๆ

Zucccaro และคณะ (16) ได้ศึกษาการหายาลอราซีแพม ในตัวอย่างเลือดและปัสสาวะที่ปรับให้เป็นอนุพันธ์ของ trimethylsilyl โดยใช้วิธี GC/MS/MS หลังการสกัดตัวอย่างภายใต้สภาวะที่เป็นด่างด้วยการสกัดแบบ solid-phase extraction ใช้ Extrelut-1 column และใช้ oxazepam-d_5 เป็น internal standard ผลการศึกษาพบว่าตรวจพบลอราซีแพม (m/z 341, 306 และ 267 ของอนุพันธ์ของลอราซีแพม) และ internal standard (m/z 346, 309 และ 271 ของอนุพันธ์ของ oxazepam-d_5) ที่มี limit of quantitation (LOQ) เท่ากับ 0.1 ng/ml

Kintz และคณะ (17) ได้ศึกษาการตรวจหายาลอราซีแพมในปัสสาวะ ของเหลวในช่องปาก และเส้นผม โดยให้ยาลอราซีแพม ปริมาณ 2.5 มิลลิกรัม แก่อาสาสมัครจำนวน 3 คน และเก็บน้ำลายหลังได้รับยา 8 ชั่วโมง เก็บปัสสาวะหลังได้รับยา 144 ชั่วโมง และเก็บเส้นผมหลังได้รับยาเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นวิเคราะห์หายาลอราซีแพม โดยใช้ LC/MS/MS หลังจากปรับตัวอย่างให้เป็นด่าง (alkalinisation) (pH 8.4) ด้วย phosphate buffer และสกัดด้วย dichloromethane/diethylether ที่มี diazepam-d_5 เป็น internal standard แยกโดยวิธี reverse-phase บน XTerra C18 column เป็นเวลา 12 นาทีภายใต้ gradient condition ลอราซีแพม และ internal standard มี molecular ions m/z 321 และ 290 ตามลำดับ daughter ions (m/z 321 และ 275 ของยาลอราซีแพม และ m/z 198 ของ internal standard) ในปัสสาวะได้ผลบวกของยาลอราซีแพมหลังจากได้รับยา 144 ชั่วโมง (411-880 ng/ml) ในน้ำลายได้ผลบวกของยาลอราซีแพมหลัง 8 ชั่วโมง (0.7 ng/ml) แต่ไม่สามารถตรวจหายาลอราซีแพมในเส้นผมได้ ดังนั้นกรณีของคดี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อาชญากรรมที่เกี่ยวข้องกับยาลอราซีแพม งานวิจัยนี้สรุปว่า ตัวอย่างปัสสาวะเป็นตัวอย่างที่ดีที่สุดเมื่อตรวจวิเคราะห์โดย LC/MS/MS

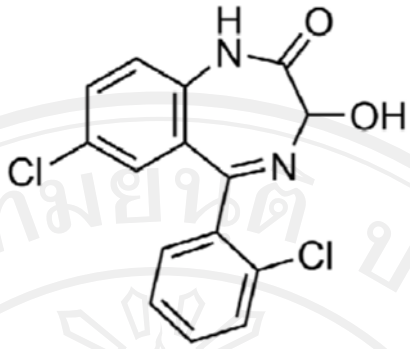
ในปี ค.ศ.2005 Kintz และคณะ (18) ได้ศึกษาวิธีตรวจคัดกรองและวิธีการตรวจยืนยันสำหรับยาในกลุ่มเบนโซไดอะซีปีน 17 ชนิด (alprazolam, 7-aminoclonazepam, 7-aminoflunitrazepam, bromazepam, clobazam, diazepam, lorazepam, lormetazepam, midazolam, nordiazepam, oxazepam, temazepam, tetrazepam, triazolam, zaleplon, zopiclone และ zolpidem) ในตัวอย่างน้ำลายที่เก็บด้วยเครื่องมือ Intercept® ซึ่งตัวอย่างได้มาจากผู้ต้องหาที่ตำรวจได้ควบคุมตัวไว้ ทำการสกัดตัวอย่างจากน้ำลาย 0.5 ml แล้วเติม 0.5 ml phosphate buffer (pH 8.4) และใช้ 5 ng ของ diazepam-d_5 เป็น internal standard ซึ่งได้ผลดังนี้ LOQ เท่ากับ 0.1-0.2 ng/ml และสามารถตรวจพบยาเบนโซไดอะซีปีนทั้ง 17 ชนิด จากน้ำลายได้แม้มีความเข้มข้นต่ำ

นอกจากนี้ Kazemifad และคณะ (19) ได้ทำการตรวจหายาลอราซีแพมในเลือดโดยการสกัดและวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC โดยมีจุดประสงค์พัฒนาวิธีการวิเคราะห์ให้มีความไว ถูกต้อง และแม่นยำ โดยตัวอย่างเลือดได้จากอาสาสมัครชายที่ไม่สูบบุหรี่ อายุเฉลี่ย 23±2.4 ปี น้ำหนัก 57±4.1 กิโลกรัม และอาสาสมัครแต่ละคนได้รับยาลอราซีแพมโดยการกินในปริมาณ 2 mg จากนั้นเก็บตัวอย่างเลือดจำนวน 5 ml หลังได้รับยาไป 1-5 ชั่วโมง แล้วนำเลือดไปปั่นแยกด้วยความเร็ว 5,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที แล้วเก็บส่วนใสที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อทำการสกัดด้วยเทคนิค liquid-liquid extraction ใช้ dichloromethane และวิเคราะห์สารประกอบด้วย HPLC โดยใช้ nordazepam เป็น internal standard ผลการศึกษาพบว่าได้ LOQ เท่ากับ 2.5 ng/ml ทั้งลอราซีแพมและตัวอย่างมาตรฐาน สรุปได้ว่ากระบวนการดังกล่าวมีความเร็วและความไวเพียงพอสำหรับการตรวจหาลอราซีแพมในเลือดได้

2.4 ลอราซีแพม (Lorazepam)

ลอราซีแพม (20) เป็นยาในกลุ่มเบนโซไดอะซีปีนที่มีการออกฤทธิ์สั้น มีชื่อทางเคมี 7-chloro-5-(2-chlorophenyl)-3-hydroxy-1,3-dihydro-1,4-benzodiazepin-2-one (21) สูตรโมเลกุลเป็น $C_{15}H_{10}Cl_2N_2O_2$ น้ำหนักโมเลกุล 321.16 g/mol ลักษณะทางกายภาพของยา คือ มีสีขาว ไม่มีกลิ่น ไม่ละลายในน้ำ ละลายได้น้อยในคลอโรฟอร์ม แต่ละลายได้ดีในแอลกอฮอล์ จุดหลอมเหลว 166-168°C ลักษณะของลอราซีแพม เป็นได้ทั้งของแข็งและของเหลว (tablet and syrup) มีตัวยาอยู่ 0.5, 1 หรือ 2 mg และเป็นยาฉีดที่มีความเข้มข้นของตัวยา 2-4 mg/ml โดยใช้ครั้งละ 1 ถึง 10 ml

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 1 โครงสร้างทางเคมีของลอราซีแพม

(ที่มา: http://en.wikipedia.org/wiki/File:Lorazepam.svg)

คุณสมบัติทางเภสัชวิทยา

เภสัชพลศาสตร์ (Pharmacodynamic)

ลอราซีแพมเป็น benzodiazepine receptor agonist จับกลุ่มอยู่กับ gamma-aminobutyric acid ($GABA_A$) receptor และ chloride channel ที่เยื่อหุ้มเซลล์ประสาท ทำให้ $GABA_A$ receptor ทำงานได้มากขึ้น ส่งผลให้ chloride channel เปิด ยอมให้ chloride ions เข้าสู่เซลล์มากขึ้น เกิด hyperpolarization และยับยั้งการทำหน้าที่ของเซลล์ประสาทมีผลลดอาการวิตกกังวล ทำให้ง่วงนอน ต้านอาการชัก คลายกล้ามเนื้อ และอาจเกิดภาวะสูญเสียความจำข้างหน้า (22)

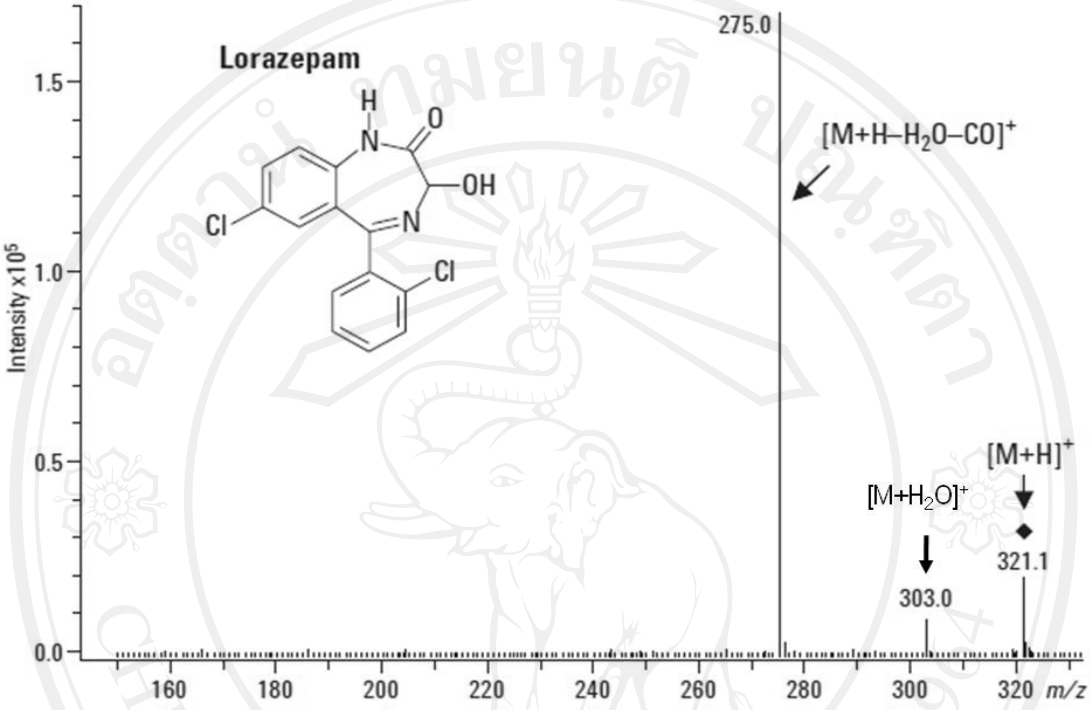
เภสัชจลนศาสตร์ (Pharmacokinetic)

ยาถูกดูดซึมได้ดีในทางเดินอาหาร ความเข้มข้นของยาในพลาสมาจะสูงสุดหลังรับประทานยาประมาณ 1-6 ชั่วโมง โดยยากระจายไปยังเนื้อเยื่อต่าง ๆ จับกับโปรตีนในพลาสมาได้มากถึงร้อยละ 85 มีค่า half-life ประมาณ 10-20 ชั่วโมง ถูกเปลี่ยนแปลงสภาพโดยกระบวนการ gluculonide conjugation ได้เป็น inactive metabolite และถูกกำจัดออกทางไต (22)

การได้รับยาเกินขนาดจะทำให้มีอาการง่วงซึม สับสน พูดเสียงลาก (slurred speech) สั่น ชัก หัวใจเต้นช้า เดินโซเซ อ่อนแรง รีเฟกซ์ ลดลง โคม่า และกดการหายใจ

เมื่อทำการวิเคราะห์ยาลอราซีแพมด้วยเทคนิค MS ได้แมสสเปกตรัมดังภาพ 2 (23, 24) แสดงค่า m/z 321, 303 และ 275

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



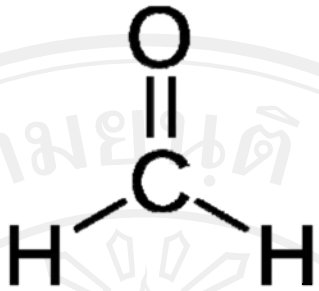
ภาพ 2 แมสสเปกตรัมของการวิเคราะห์ยาลอราซีแพมด้วยเทคนิค MS

2.5 ฟอร์มาลิน (Formalin)

ฟอร์มาลินเป็นสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 37-50 โดยน้ำหนัก และมีเมทานอลผสมอยู่ร้อยละ 10-15 เพื่อป้องกัน spontaneous polymerization ฟอร์มาลินในทางการแพทย์ใช้ฆ่าแมลงและเป็นน้ำยาดองศพ นอกจากนี้ใช้เป็นส่วนผสม หรือเป็นสารเคมีตั้งต้นในอุตสาหกรรมผลิตสี น้ำยาเคลือบเงาไม้ กาว เชื้อเพลิง กระดาษ และพลาสติกพอลิเมอร์ เช่น เมลามีน (melamine) และ urethrane ในสิ่งแวดล้อมฟอร์มาลดีไฮด์เกิดจากการเผาไหม้เครื่องยนต์ของรถที่ไม่มี catalytic converter และจากการสูบบุหรี่ (4)

ฟอร์มาลดีไฮด์ เป็นสารอินทรีย์ (14) ที่มีสูตรโมเลกุล CH_2O มีมวลโมเลกุล 30.03 g/mol ที่อุณหภูมิห้อง ลักษณะทั่วไปของฟอร์มาลดีไฮด์เป็นแก๊ส ไม่มีสี ติดไฟ และมีกลิ่นฉุนเฉพาะตัว ละลายได้ดีในน้ำ ในแอลกอฮอล์ และในสารละลายที่มีขั้ว แต่ละลายได้น้อยในสารละลายไม่มีขั้ว ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นสารที่มีความไวในการทำปฏิกิริยาสูง เมื่อถูกแสงแดดจะออกซิไดส์เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และจะย่อยสลายที่อุณหภูมิ 150°C ได้เมทานอลและคาร์บอนมอนอกไซด์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 3 โครงสร้างทางเคมีของฟอร์มาดีไฮด์

(ที่มา: http://en.wikipedia.org/wiki/File:Formaldehyde-2D.svg)

ฟอร์มาดีไฮด์ถูกดูดซึมได้ดีทั้งการหายใจ และการกินในรูปสารละลาย แต่ฟอร์มาดีไฮด์ดูดซึมผ่านผิวหนังได้น้อย เมื่อดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดจะถูกเปลี่ยนรูปอย่างรวดเร็ว ก่อนที่จะแพร่ไปยังอวัยวะต่าง ๆ ทำให้ตรวจไม่พบฟอร์มาดีไฮด์ในเลือดและอวัยวะ หรืออาจตรวจพบได้น้อยมาก ฟอร์มาลดีไฮด์เมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้วจะถูกออกซิไดส์อย่างรวดเร็วเป็นกรดฟอร์มิก (formic acid) ซึ่งกรดฟอร์มิกจะไปสะสมในส่วนต่าง ๆ ของร่างกายอย่างรวดเร็ว และทำให้เกิดภาวะ metabolic acidosis ในส่วนที่ไม่สะสมจะถูกขับออกทางลมหายใจ และทางปัสสาวะ ฟอร์มาดีไฮด์ออกฤทธิ์ทำลายเนื้อเยื่อที่สัมผัสในรูปแบบ coagulation necrosis และมีฤทธิ์กดกระบวนการทำงานระดับเซลล์เกือบทุกกระบวนการ (4)

ไอของฟอร์มาลดีไฮด์มีกลิ่นฉุนเฉพาะตัว ระคายเคืองต่อระบบต่าง ๆ ของร่างกายได้แก่ เยื่อบุตาและเยื่อบุระบบทางเดินหายใจ ทำให้มีน้ำตาไหล คันตา แสบตา แสบจมูก แสบคอ ไอ จนกระทั่งเกิดอาการหายใจลำบาก มีผลต่อระบบประสาทส่วนกลาง ทำให้รู้สึกอ่อนแรง ปวดศีรษะ นอนไม่หลับ เบื่ออาหาร และเมื่อได้รับในปริมาณมากจะกดระบบประสาทส่วนกลางทำให้หมดสติได้ มีผลต่อระบบการไหลเวียนโลหิต อาจทำให้เกิดระบบการไหลเวียนโลหิตล้มเหลว และทำให้เกิดภาวะไตวายได้ และมีผลต่อระบบทางเดินอาหาร ทำให้เกิดการระคายเคืองต่อเยื่อบุทางเดินอาหาร เกิดอาการปวดท้อง ผู้ที่มีความไวต่อสารนี้จะแสดงอาการปวดศีรษะ หายใจติดขัดแน่นหน้าอก การสัมผัสกับสารละลายฟอร์มาลินที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2-10 เป็นเวลานานจะทำให้ผิวหนังอักเสบ พอง และเป็นตุ่มคันได้ และเมื่อนำสารละลายฟอร์มาลินมาทดลองกับหนู mice พบว่าเมื่อให้สารละลายนี้เข้าไปทางปากในปริมาณ 800 mg/kg หนูร้อยละ 50 จะตาย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

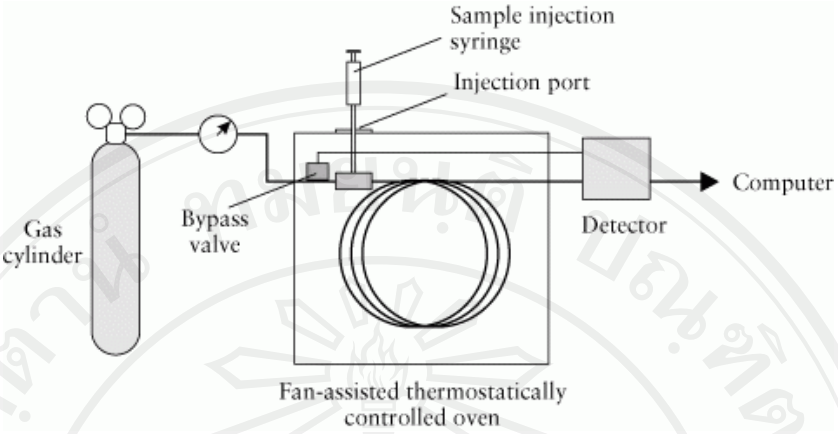
2.6 แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมตรี (GC/MS)

แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมตรี (25-27) หรือที่นิยมเรียกกันโดยทั่วไปว่า GC/MS ใช้เทคนิคผสมระหว่างแก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography) ซึ่งตามปกติใช้ในการแยกสารผสมที่ระเหยได้ง่าย (volatile substances) กับแมสสเปกโทรเมตรี (mass spectrometry) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (qualitative analysis) สามารถบอกเอกลักษณ์ของสารที่วิเคราะห์ได้

แก๊สโครมาโทกราฟีเป็นรูปแบบหนึ่งของกระบวนการแยกสารทางโครมาโทกราฟี โดยที่โครมาโทกราฟีทุกรูปแบบเกี่ยวข้องกับการแจกแจง (distribution) หรือพาร์ทิชัน (partitioning) ของสารประกอบใด ๆ ระหว่างวัฏภาค (phase) ที่แตกต่างกันสองวัฏภาค ซึ่งเป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) วัฏภาคหนึ่ง และวัฏภาคคงที่ (stationary phase) อีกวัฏภาคหนึ่ง แต่ละสารประกอบในของผสมมีพาร์ทิชันแตกต่างกันไปในระหว่างวัฏภาคทั้งสอง สารที่ต้องการวิเคราะห์จะต้องถูกทำให้อยู่ในสภาวะแก๊ส เคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีเข้าสู่แมสสเปกโทรมิเตอร์ ในการเชื่อมต่อระหว่างเครื่องจะมีระบบเชื่อมต่อ (interface system) ที่เหมาะสม โดยมีอุณหภูมิสูงเพื่อให้สารคงตัวในสภาวะแก๊ส และมีการปรับลดความดันบรรยากาศจากปลายคอลัมน์ของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟให้เป็นสุญญากาศ ก่อนเข้าสู่ระบบแมสสเปกโทรเมตรี หลังจากนั้นโมเลกุลของสารจะถูกทำให้เกิดเป็นไอออนในเหล่งกำเนิดไอออน (ion source) กลายเป็นอนุภาคที่มีประจุแล้วถูกผลักหรือดึงดูดเข้าสู่ส่วนแยกมวล (mass analyzer) ซึ่งจะแยกไอออน โดยอัตราส่วนของมวลต่อประจุ (m/z) อิทธิพลของสนามแม่เหล็กหรือสนามไฟฟ้าภายหลังการแยกไอออนเฉพาะที่กำหนดหรือเลือกไว้จะผ่านเข้าสู่ตัวตรวจวัด (detector) ซึ่งปกติเป็นไอออนต่อเนื่องของอิเล็กตรอนมัลติไพลเออร์ (electron multiplier) จะทำหน้าที่นับไอออนและให้สเปกตรัม (spectrum) ออกมาโดยแมสสเปกตรัมที่ได้จะเป็นกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของไอออน (ion abundance) กับค่ามวลต่อประจุ ภายใต้สภาวะที่ควบคุม อัตราส่วนปริมาณของไอออนกับค่ามวลต่อประจุที่จำเพาะ ที่แสดงลักษณะของแต่ละสารประกอบ

แมสสเปกตรัมจึงเป็นผลที่สามารถนำไปใช้ในการหามวลโมเลกุลและโครงสร้างทางเคมีของแต่ละสารที่ผ่านการแยกโดยเทคนิค GC ได้ การทำงานของแต่ละส่วนควบคุมโดยระบบคอมพิวเตอร์ ซึ่งควบคุมการทำงานของระบบรายงานสภาวะของเครื่องแต่ละส่วนและประมวลผลการวิเคราะห์ ระบบ GC/MS แยกส่วนประกอบได้ดังภาพ 4

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 4 ส่วนประกอบของ GC/MS

(ที่มา: http://www.kmitl.ac.th/sisc/GC/MS/main.html)

2.7 ลิควิดโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมตรี (LC/MS)

ลิควิดโครมาโทกราฟี (28-30) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารออกจากสารผสม โดยอาศัยความแตกต่างของ interaction ของแต่ละสารระหว่างวัฏภาคคงที่กับวัฏภาคเคลื่อนที่ทำให้สารถูกจับอยู่ในคอลัมน์นานมากน้อยแตกต่างกัน สารจะถูกชะ (elute) ออกมาทีละชนิดด้วยวัฏภาคเคลื่อนที่ซึ่งเป็นของเหลวที่ไม่ผสมเป็นเนื้อเดียวกันกับวัฏภาคคงที่ กลไกในการแยกโดยวิธีลิควิดโครมาโทกราฟีมีหลายแบบขึ้นกับชนิดของวัฏภาคคงที่ อาจเป็น adsorption (liquid-solid chromatography), partition (liquid-liquid chromatography), ion-exchange chromatography หรือ size-exclusion chromatography นอกจากนั้นยังแบ่งย่อยออกเป็นแบบ normal-phase, reversed-phase และ ion-pair chromatography เป็นต้น

กลไกการแยกสารของลิควิดโครมาโทกราฟี แบ่งเป็นรูปต่าง ๆ ได้ 4 ประเภท ดังนี้

ก. แบบดูดซับ (adsorption) เทคนิคนี้มีกลไกการแยกที่เกิดจากความแตกต่างในการดูดซับ โดยวัฏภาคคงที่เป็นอนุภาคแข็ง เช่น ซิลิกาหรืออะลูมินา มีพื้นผิวที่ดูดซับได้ และมีวัฏภาคเคลื่อนที่เป็นตัวทำละลายที่มีคุณสมบัติตั้งแต่ไม่มีขั้วถึงมีขั้ว

ข. แบบแลกเปลี่ยนไอออน (ion-exchange) เป็นการแลกเปลี่ยนไอออนของสารตัวอย่างโดยมีเรซินสำหรับแลกเปลี่ยนไอออนเป็นวัฏภาคคงที่ สารประกอบที่ถูกแยกมีความแรงไอออนิกต่างกัน กระบวนการขึ้นกับชนิดของเรซินที่ใช้ ความเป็นกรด-ด่าง และค่าของความแรงไอออนิกของวัฏภาคเคลื่อนที่

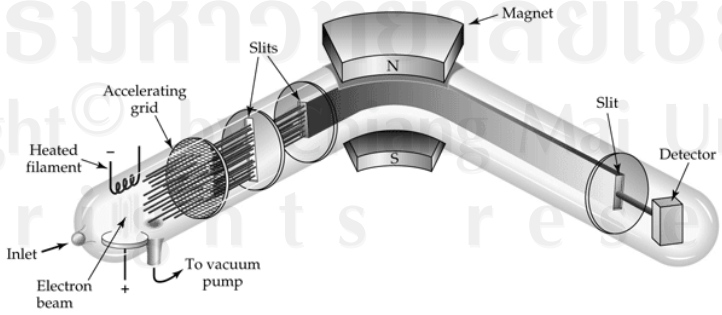
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ค. เอ็กซ์คลูชัน (exclusion) เป็นกระบวนการแยกทีเกิดขึ้นในของแข็งรองรับ ซึ่งมีรูพรุนหรือมีขนาดรูของอนุภาคเป็นตัวกำหนดการแยก หลักการแยกเกิดขึ้นเนื่องจากน้ำหนักโมเลกุลและ/หรือขนาดโมเลกุล โดยสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลหรือขนาดโมเลกุลใหญ่กว่าจะถูกแยกออกมาก่อนสารที่มีขนาดเล็กกว่า

จ. พาร์ทิชัน (partition) เทคนิคนี้อาศัยหลักการที่โมเลกุลของสารประกอบกระจายตัวระหว่างวัฏภาคทั้งสองที่ไม่ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน วัฏภาคทั้งสองจะต้องเลือกจากของเหลวที่มีสภาพขั้วต่างกันมาก ๆ ถ้าวัฏภาคคงที่มีขั้ว (polar) จะต้องเลือกใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ที่ไม่มีขั้ว (non-polar) สารประกอบที่มีขั้วจะถูกยึดอยู่กับวัฏภาคคงที่อย่างแน่น เทคนิคนี้ คือ normal-phase chromatography แต่ถ้าวัฏภาคคงที่ไม่มีขั้ว วัฏภาคเคลื่อนที่ต้องมีขั้ว สารประกอบที่มีขั้วจะชอบวัฏภาคเคลื่อนที่ จึงถูกชะออกจากคอลัมน์อย่างรวดเร็ว เทคนิคนี้คือ reversed-phase chromatography

ปัจจุบันอนุภาคบรรจุคอลัมน์ที่นิยมใช้ใน partition chromatography อย่างแพร่หลาย คือ การนำวัฏภาคคงที่ไปทำให้เกิดพันธะทางเคมีกับวัสดุ หรืออนุภาคที่เป็นของแข็งรองรับ (solid support) เรียกอนุภาคชนิดนี้ว่า “bonded-phase” มากกว่าการใช้ของเหลวเคลือบบนผิวของตัวรองรับเฉื่อย (inert support) นอกจากนี้ยังมีการนำ reversed-phase มาใช้ร่วมกับวัฏภาคเคลื่อนที่ที่มีประจุ (ionic mobile phase) และมีชื่อเรียกใหม่ว่า “ion-pair chromatography”

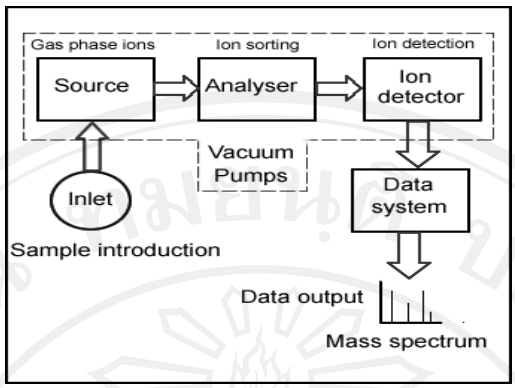
แมสสเปกโทรมิเตอร์ (25, 31) มีหน้าที่ทำให้โมเลกุลของสารตัวอย่างเกิดการเป็นไอออนแล้วเลือกไอออนเฉพาะมวลต่อประจุที่ต้องการเพื่อทำการตรวจวัดปริมาณไอออน มีส่วนประกอบดังภาพ 5 และ 6 และภาพ 7 แสดงวงจรการทำงานของเครื่อง LC/MS



ภาพ 5 ส่วนประกอบของแมสสเปกโทรมิเตอร์

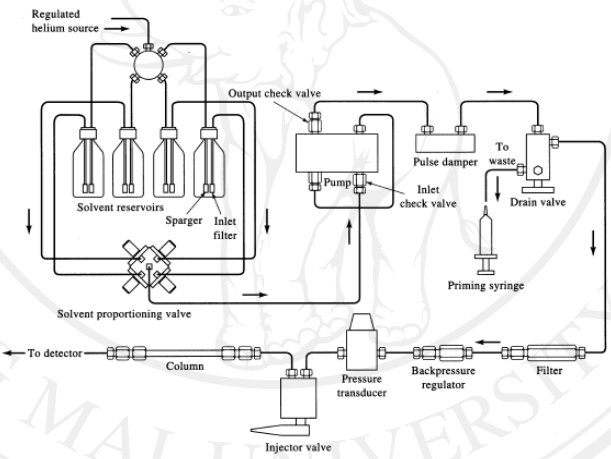
(ที่มา: https://www.myfirstbrain.com/student_view.aspx?ID=34110)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 6 บล็อกไดอะแกรมของแมสสเปกโทรมิเตอร์

(ที่มา: http://www.hull.ac.uk/chemistry/masspec3/principles%20of%20ms.html)



ภาพ 7 วงจรการทำงานของเครื่อง LC/MS

(ที่มา: http://www.cem.msu.edu/~cem333/Week16.pdf)

แหล่งกำเนิดไอออน ในส่วนนี้โมเลกุลของสารตัวอย่างเกิดการทำให้เป็นไอออนก่อนที่จะถูกดึงดูดหรือผลักโดยสนามแม่เหล็กหรือสนามไฟฟ้าที่พอเหมาะเข้าสู่ส่วนแยกมวล เทคนิคที่ใช้ในการทำให้เกิดไอออนในการวิเคราะห์นี้คือ การตกกระทบด้วยอิเล็กตรอน (electron impact : EI) ซึ่งเป็นเทคนิคที่นิยมใช้เพราะสะดวกในการใช้งานมาก และเป็นเทคนิคที่ดีและสามัญที่สุด โดยสารตัวอย่างจะผ่านจากคอลัมน์ของเครื่องโครมาโทกราฟเข้ามาในแหล่งกำเนิดไอออนที่ร้อนและอยู่ภายใต้สุญญากาศ อิเล็กตรอนจะถูกปล่อยออกจากฟิลาเมนต์ (filament) โดยมีพลังงาน 70 อิเล็กตรอนโวลต์ อิเล็กตรอนที่มีพลังงานสูงจะวิ่งกระทบโมเลกุลของสาร เกิดการถ่ายทอดพลังงานสู่โมเลกุลทำให้ระดับพลังงานในโมเลกุลของสารเพิ่มขึ้น ถ้าระดับพลังงานเพียงพอก็จะทำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ให้เกิดไอออน โดยโมเลกุลของสารสูญเสียอิเล็กตรอนไป 1 ตัว เรียกว่าเป็นไอออนโมเลกุล (molecular ion) มีประจุเป็นบวก ไอออนโมเลกุลที่มีพลังงานมากเกินพอจะไม่เสถียร เกิดการแตกออกเป็นส่วน ๆ ยิ่งมีพลังงานมากขึ้น ขบวนการนี้จะเกิดซ้ำแล้วซ้ำอีกจากโมเลกุลของสารที่ผ่านเข้าไป เทคนิคการเกิดไอออนซ์แบบนี้จะทำให้ได้ไอออนประจุบวกเกือบทั้งหมด ในรูปของแฟรกเมนต์ไอออน (fragment ion) ไอออนโมเลกุล (molecular ion) และมวลที่เป็นกลาง (neutral species) ไอออนที่ต้องการจะถูกทำให้เคลื่อนที่ไปส่วนแยกมวล กลุ่มที่เป็นกลางและไอออนที่ไม่ต้องการจะถูกระบบสุญญากาศดูดทิ้งไป หรือถูกกำจัดไป ในระบบของแหล่งกำเนิดไอออน

จากการค้นคว้าการศึกษาที่ได้กล่าวมาทั้งหมดสามารถตรวจวิเคราะห์หายาลอราซีแพมในตัวอย่างทางชีวภาพต่าง ๆ โดยใช้เทคนิค GC/MS และ LC/MS และเทคนิคทั้งสองนี้มีความไวความจำเพาะ ความแม่นยำ และความถูกต้องในการระบุเอกลักษณ์ของสารพิษได้ดีมาก ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงได้ใช้ GC/MS และ LC/MS เพื่อวิเคราะห์หายาลอราซีแพมในตัวอย่างที่มีการรักษาสภาพศพด้วยสารละลายฟอร์มาลินมาก่อนการเก็บตัวอย่าง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved