

เอกสารอ้างอิง

คณะทำงานกลุ่มเป้าหมายบิดามารดา ยาและการใช้ยาในทางที่ถูกต้อง กองป้องกันยาเสพติด
สำนักงานป้องกันและปราบปรามยาเสพติด 2524.

จรัส สุวรรณเวลา "ปัญหาชนกลุ่มน้อยชาวไทยภูเขา" รายงานการวิจัย สข 2/23
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย : สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2523.

จรัส สุวรรณเวลา, จิตร ลิทธิอมร และวิชัย โปษยะจินดา "ปัญหาการติดยาในประเทศไทย"
รายงานการวิจัย สข 2/21 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย : สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2521.

วิชัย โปษยะจินดา และวิชัย อรรถคัมภีร์ "การศึกษาผู้ป่วยติดยาเสพติดที่โรงพยาบาลชัย-
ญารักษ์" รายงานการวิจัย ส.ส. 1/18 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย : สถาบันวิจัย-
วิทยาศาสตร์การแพทย์, 2518.

วิชัย โปษยะจินดา และคณะ "การศึกษาปัญหายาเสพติดในผู้ต้องโทษผิดพระราชบัญญัติยาเสพติด
ในทัณฑสถาน กรุงเทพมหานคร" รายงานการวิจัย ส.ส. 2/19 จุฬาลงกรณ์
มหาวิทยาลัย : สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2519.

สดใส อัสววิไล และคณะ ยาออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลาง กรุงเทพมหานคร :
คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2520.

Adler, F.L. and Liu, C.T. "Detection of Morphine by Hemagglutination
Inhibition" Journal of Immunology 106(1971) : 1684-1685.

Adler, F.L., Liu, C.T. and Catlin, D.H. "Immunological Studies on
Heroin Addiction I. Methodology and Application of a Hemag-
glutination Inhibition Test for Detection of Morphine"
Clinical Immunology and Immunopathology 1(1972) : 53-68.

Boerner, U. and Albott, S. "New Observations in the Metabolism of
Morphine : the Formation of Codeine from Morphine in Man"
Experientia 29(1973) : 180-181.

- Brattin, W.J. and Sunshine I "A Comparison of Available Immunoassay for Drugs of Abuse in Urine" in Immunoassay for Drugs Subject to Abuse. Mule, S.J., et al. (Eds) : pp 107-109 Cleveland : CRC Press, 1974.
- "Immunological Assays for Drugs in Biological Samples"
American Journal of Medical Technology 39 (1973) :
223-230.
- Broughton, A. and Ross, D.L. "Drug Screening by Enzymatic Immunoassay with the Centrifugal Analyzer" Clinical Chemistry 21(1975) : 186-189.
- Catlin, D.H., Cleeland, R. and Grunberg, E. "A Sensitive Rapid Radioimmunoassay for Morphine and Immunologically Related Substances in Urine and Serum" Clinical Chemistry 19(1973) : 216-220.
- Chard, T. in An Introduction to Radioimmunoassay and Related Techniques (Work, T.S. and Work, E. eds) pp.490, North-Holland Publishing company, 1978.
- Clarke, E.G.C. in Isolation and Identification of Drug pp.431-432
The Pharmaceutical Press, London, 1971.
- Comoglio, S. and Celada, F. "An Immuno-Enzymatic Assay of Cortisol Using E. Coli β -Galactosidase as Label" Journal of Immunological Methods 10(1976) : 161-170.
- Danutra, V., et al. "Research Data and Summary Analysis of Opiates in Body Fluid : Urinary Excretion Profile" Drug Dependence Research Center Technical Report DL-1(1978) : 1-3.
- Dahlstrom, B. and Paalzow, L. "Quantitative Determination of Morphine in Biological Samples by Gas-Liquid Chromatography and Electron-Capture Detection" Journal of Pharmacy and Pharmacology, 27(1975) : 172-176.

- Doedens, D.J., et al. "Confirmation of Morphine on Thin Layer Plate by Fluorometry" Journal of Chromatography 100(1974) : 225-226.
- Engvall, E. "Enzyme Immunoassay ELISA and EMIT" in Methods in Enzymology vol 70, pp. 419-439, Academic Press, New York, 1980.
- Erlanger, B.F., et al. "Steroid-Protein Conjugates II Preparation and Characterization of Conjugates of Bovine Serum Albumin with Progesterone, Deoxycorticosterone, and Estrone" Journal of Biological Chemistry 234(1959) : 1090-1094.
- Fry, D.E., Wills, P.D. and Twycross, R.G. "The Quantitative Determination of Morphine in Urine by Gas-Liquid Chromatography and Variations in Excretion" Clinica Chimica Acta 51(1974) : 183-190.
- Gorodetzky, C.W. "Efficiency and Sensitivity of Two Common Screening Methods for Detecting Morphine in Urine" Clinical Chemistry 19(1973) : 753-755.
- Gorodetzky, C.W. and Kullberg, M.P. "Validity of Screening Methods for Drugs of Abuse in Biological Fluids : II. Heroin in Plasma and Saliva" Clinical Pharmacology and Therapeutics 15(1974) : 579-587.
- Gorodetzky, C.W., et al "Validity of Screening Methods for Drugs of Abuse in Biological Fluids : I Heroin in Urine" Clinical Pharmacology and Therapeutics 15(1974) : 461-472.
- Gorodetzky, C.W. in Handbook of Experimental Pharmacology (Martin, W.R. ed) pp 319-320 Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York, 1977.

- Hayashi, K., et al. "The Inhibitory Interaction of Cationic Detergents with the Active Center of Lysozyme I Site of Interaction" Biochemistry 7(1968) : 1461-1466.
- Hayashi, Y. and Yamamoto, S. "Enzyme Immunoassay of $\text{PGF}_{2\alpha}$ " in Methods in Enzymology vol 84 pp.269-273, Academic Press, New York, 1982.
- Holcomb, J., Luers, R.B. and Fusari, S.A. "Chromatographic Separation and Assay of Morphine in Tablets" Journal of Pharmaceutical Sciences 67(1978) : 1099-1102.
- Jane, I. and Tayler, J.F. "Characterisation and Quantitation of Morphine in Urine Using High-Pressure Liquid Chromatography with Fluorescence Detection" Journal of Chromatography 109 (1975) : 37-42.
- Kerby, G.P. and Eadie, G.S. "Inhibition of Lysozyme by Heparin" Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine 83(1953) : 111-113.
- Kokoski, R.J. and Mishrilal, J. "Comparison of Results for Morphine Urinalyses by Radioimmunoassay and Thin-Layer Chromatography in a Narcotic Clinic Setting" Clinical Chemistry 21(1975) : 417-419.
- Kupferberg, H., Burkhalter, A. and Way, E.L. "A Sensitive Fluorometric Assay for Morphine in Plasma and Brain" Journal of Pharmacol and Experimental Therapeutic 145(1964) : 247-251.
- Lehninger, A.L. in Biochemistry, second edition, pp. 267, Worth Publishers, Inc., New York, 1976.
- Lowry, O.H. et al "Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent" Journal of Biological Chemistry 193(1951) : 265-275.

- Luria, S.E., Adams, J.N. and Teng, R.C. "Transduction of Lactose Utilizing Ability Among Strains of *Escherichia coli* and *Shigella dysenteriae* and the Properties of the Transducing Phage Particles" Virology 12(1960) : 348-390.
- Lund, C.J. and Harris, J.W. "The Use of Heroin (Diacetyl-Morphine) in Labor" American Journal of Obstetrics and Gynecology 45(1943) : 980-981.
- Midgley, A.R. Niswender, G.D. and Rebar, R.W. "Principles for the Assessment of the Reliability of Radioimmunoassay Methods (Precision, Accuracy, Sensitivity, Specificity)" Acta Endocrinologica Supplement 142(1969) : 163-184.
- Mule, S.J. "Determination of Narcotic Analgesics in Human Biological Materials, Application of Ultraviolet Spectrophotometry, Thin Layer and Gas Liquid Chromatography" Analytical Chemistry 36(1964) : 1907-1914.
- Mule, S.J., et al. "Evaluation of Immunoassay Methods for Detection in Urine of Drugs Subject to Abuse" Clinical Chemistry 20(1974) : 243-248.
- Nathanson, J.A. and Greengard, P. "Second Messengers in the Brain" Scientific American 237(1977) : 108-119.
- Ngo, T.T. and Lenhoff, H.M. "Enzyme Modulators as Tools for the Development of Homogeneous Enzyme Immunoassay" Febs Letters 116(1980) : 285-288.
- Osterman, T.M., Juntunen, K.O. and Gothoni, G.D. "Enzyme Immunoassay of Estrogen-Like Substances in Plasma with Polyethylene Glycol as Precipitant" Clinical Chemistry 25(1979) : 716-718.
- Pelczar, M.J. and Reid, R.D. in Microbiology, second edition, pp. 110, McGraw Hill Book Co., New York, 1958.

- Pesce, A.J., Ford, D.J. and Gaizutis, M.A. "Qualitative and Quantitative Aspects of Immunoassay" Scandinavian Journal of Immunology 8(1978) : 1-6.
- Phillips, D.C., "The Three-Dimensional Structure of an Enzyme Molecule" Scientific American 215(1966) : 78-90.
- Predmore, D.B., et al. "Recovery of Morphine from Biological Samples by Hydrolysis and Solvent Extraction" Journal of Forensic Science 23(1978) : 481-489.
- Ray, O.S. in Drugs, Society and Human Behavior, second edition, St. Louis: CV Mosby, 1978.
- Rubenstein, K.E. "Homogeneous Enzyme Immunoassay Today" Scandinavian Journal of Immunology 8(1978) : 57-62.
- Rubenstein, K.E., Schneider, R.S., and Ullman, E.F. "Homogeneous Enzyme Immunoassay : A New Immunochemical Technique" Biochemical and Biophysical Research Communications 47(1972) : 846-851.
- Rowley, G.L., et al "Mechanism by Which Antibodies Inhibit Hapten-Malate Dehydrogenase Conjugates : An Enzyme Immunoassay for Morphine" Journal of Biological Chemistry 250(1975) : 3759-3766.
- Scharpe, S.L., et al. "Quantitative Enzyme Immunoassay : Current Status" Clinical Chemistry 22(1976) : 733-738.
- Schneider, R.S., et al. "Homogeneous Enzyme Immunoassay for Opiates in Urine" Clinical Chemistry 19(1973) : 821-825.
- _____ "Use of Enzyme and Spin Labeling in Homogeneous Immunochemical Detection Methods" in Immunoassays for Drug Subject to Abuse Mule, S.J. et al.(eds) pp. 45-72, Cleveland CRC Press, 1974.

- Schuurs, A.H.W.M. and Vanweemen, B.K. "Enzyme-Immunoassay" Clinica Chimica Acta 81(1977) : 1-40.
- Sela, M. and Steiner, L.A. "Inhibition of Lysozyme by Some Copolymers of Amino Acids" Biochemistry 2(1963) : 416-421.
- Sharma, S.K., Klee, W.A. and Nirenberg, M. "Dual Regulation of Adenylate Cyclase Accounts for Narcotic Dependence and Tolerance" Proceeding of the National Academic Science U.S.A. 72(1975) : 3092-3096.
- Simon, E.J., Dole, W.P. and Hiller, J.M. "Coupling of a New Active Morphine Derivative to Sepharose for Affinity chromatography" Proceedings of the National Academy of the Science U.S.A. 69(1972) : 1834-1837.
- Skarns, R.C. and Watson, D.W. "The Inhibition of Lysozyme by Acidic Polymers from Pathogenic Bacteria" Journal of Bacteriology 70(1955) : 110-112.
- Slightom, E.L. "The Analysis of Drugs in Blood, Bile and Tissue with an Indirect Homogeneous Enzyme Immunoassay" Journal of Forensic Science 23(1978) : 292-303.
- Slouten, E.P.J. and Helm, H.J. "Comparison of the Emit (Enzyme Multiplied Immunoassay Technique) Opiate Assay and a Gas Chromatographic-Mass Spectrometric Determination of Morphine and Codeine in Urine" Clinical Chemistry 22(1976) : 1110-1111.
- Snyder, S.H. "Opiate Receptors and Internal Opiates" Scientific American 236(1977) : 44-56.
- Spector, S. and Parker, C.W. "Morphine : Radioimmunoassay" Science 168(1970) : 1347-1348.

- Steiner, M. and Spratt, J.L. "Solid-Phase Radioimmunoassay for Morphine, with Use of an Affinity-Purified Morphine Antibody" Clinical Chemistry 24(1978) : 339-342.
- Stolman, A. and Pranita, P.A.F. "XAD-2 Resin Drug Extraction Methods for Biologic Samples" Clinical Toxicology 10(1977) : 49-60.
- Suwanwela, C., et al. "The Hill Tribes of Thailand : Their Opium Use and Addiction" Drug Dependence Research Center Technical Report DH-4 (1977) : 8-9.
- Usategui-Gomez, M., et al "Simultaneous Detection of Morphine and Barbiturates in Urine by Radioimmunoassay" Clinical Chemistry 21(1975) : 1378-1382.
- Vaughan, J.R., Jr and Osato, R.L. "The Preparation of Peptides Using Mixed Carbonic-Carboxylic Acid Anhydrides" Journal of the American Chemical Society 74(1952) : 676-678.
- Vaughan, J.R.Jr. "Acylalkylcarbonates as Acylating Agents for the Synthesis of Peptides" Journal of the American Chemical Society 73(1951), 3547.
- Wainer, B.H., et al. "Morphine-3-Succinyl-Bovine Serum Albumin : An Immunogenic Hapten-Protein Conjugate" Science 176(1972) : 1143-1144.
- "Structure of Morphine Monohemisuccinate" Science 178 (1972) : 647.
- Wallace, J.E., Biggs, J.D. and Blum, K. "Gas-Liquid and Thin-Layer Chromatographic Determination of Morphine in Biologic Specimens" Clinica Chimica Acta 36(1972) : 85-91.
- Way, E.L. and Adler, T.K. "The Biological Disposition of Morphine and Its Serrogates-I" Bulletin of World Health Organization 25(1961) : 227-262.

Way, E.L. and Adler, T.K. "The Biological Disposition of Morphine and Its Serrogates-II" Bulletin of World Health Organization 26(1962) : 51-66.

WHO Meeting of Investigators "Detection of Dependence Producing Drugs in Body Fluids" WHO Technical Report Series 556, Geneva : WHO, 1974.

Wong, R.C., et al. "Substrate-Labeled Fluorescent Immunoassay for Phenytoin in Human Serum" Clinical Chemistry 25(1979) : 686-691.

Wu, C.Y. and Wittick, J.J. "Separation of Five Major Alkaloids in Gum Opium and Quantitation of Morphine, Codeine and Thebaine by Isocratic Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography" Analytical Chemistry 49(1977) : 359-363.

Yeh, S.Y. "Urinary Excretion of Morphine and Its Metabolites in Morphine Dependent Subjects" Journal of Pharmaceutical and Experimental Therapeutic 192(1975) : 201-210.

Yeh, S.Y., Gorodetzky, C.W. and Krebs, H.A. "Isolation and Identification of Morphine-3-and 6-Glucuronides, Morphine-3,6-Diglucuronide, Morphine 3-Ethereal Sulfate, Normorphine, and Normorphine-6-Glucuronide as Morphine Metabolites in Humans" Journal of Pharmaceutical Sciences 66(1977) : 1288-1293.

ภาคผนวก

1. การวัดปริมาณโปรตีน

1.1 การเตรียมสารละลายสำหรับใช้วัดปริมาณโปรตีนด้วยวิธีของ Lowry และคณะ (1951)

1.1.1 สารละลายโปรตีนมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

นำอัลบูมินของวัว (bovine serum albumin) ชนิดโคห์นแฟรคชัน V (cohn fraction V) มา 100 มิลลิกรัมละลายด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร แบ่งใส่หลอดทดลองขนาด 1.0x5.0 เซนติเมตรหลอดละ 1 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะใช้

1.1.2 สารละลายโฟลีนฟีนอลรีเอเจนต์ (Folin phenol reagent)

ละลายโซเดียมทังสเตท 100 กรัม และโซเดียมโมลิบเดท 25 กรัมในน้ำกลั่น 700 มิลลิลิตร เติมกรดฟอสฟอริกที่มีความเข้มข้น 85 เปอร์เซ็นต์จำนวน 50 มิลลิลิตร และกรดเกลือที่เข้มข้นอีก 100 มิลลิลิตร รีฟลักซ์ด้วยไฟอ่อน ๆ ประมาณ 10 ชั่วโมง แล้วเติมลิเทียมซัลเฟต 150 กรัม น้ำกลั่น 50 มิลลิลิตรและน้ำโบรมีน 2-3 หยด ต้มไล่โบรมีนที่มากเกินไปประมาณ 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นจึงเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรครบ 1 ลิตร เก็บในขวดสีชาป้องกันแสงที่อุณหภูมิห้อง ก่อนใช้เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1

1.1.3 สารละลายอัลคาไลน์คอปเปอร์

สารละลาย ก. ใช้โซเดียมคาร์บอเนต 10 กรัมละลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้น 0.1 โมล/ลิตร จนได้ปริมาตรครบ 500 มิลลิลิตร

สารละลาย ข. ใช้คอปเปอร์ซัลเฟต 1 กรัมละลายในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร

สารละลาย ค. ใช้โซเดียมโปรแตสเซียมเตตระไฮดรอกไซด์ 2 กรัมละลายในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร

เตรียมสารละลายอัลคาไลน์คอปเปอร์โดยใช้สารละลาย ข และ ค อย่างละ 1 มิลลิลิตรมาผสมกับสารละลาย ก 100 มิลลิลิตร แล้วใช้ทันที

1.2 การวัดปริมาณโปรตีนด้วยวิธีของ Lowry และคณะ (1951)

ในการวัดปริมาณโปรตีนในสารละลายตัวอย่างวัดตามวิธีของ Lowry และคณะ (1951) โดยใช้สารละลายโปรตีนมาตรฐาน (จากข้อ 1.1.1) ความเข้มข้น 0 ถึง 100 ไมโครกรัม/0.1 มิลลิลิตร และสารละลายตัวอย่างที่ต้องการหาปริมาณโปรตีน 0.1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายอัลคาไลน์คอปเปอร์ (จากข้อ 1.1.3) 3 มิลลิลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 26 องศาเซลเซียส) 10 นาที เติมสารละลายฟอสฟอโมลรีเอเจนต์ (จากข้อ 1.1.2) 0.3 มิลลิลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้เพื่อให้เกิดสีที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที หลอดที่เป็นแบลนค์ (blank) เตรียมได้ในทำนองเดียวกันแต่ใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายโปรตีนมาตรฐาน วัดความสามารถในการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตรเทียบกับหลอดที่เป็นแบลนค์ แล้วนำค่าที่วัดได้ไปเขียนกราฟ (แกนตั้ง) กับความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนมาตรฐาน (แกนนอน) ดังแสดงในรูปที่ 21 หน้า 87 อ่านค่าปริมาณโปรตีนในสารละลาย ตัวอย่างจากกราฟมาตรฐาน

2. การทดสอบฟีนอลิกริง (phenolic ring) ด้วยฟอสฟอโมลรีเอเจนต์

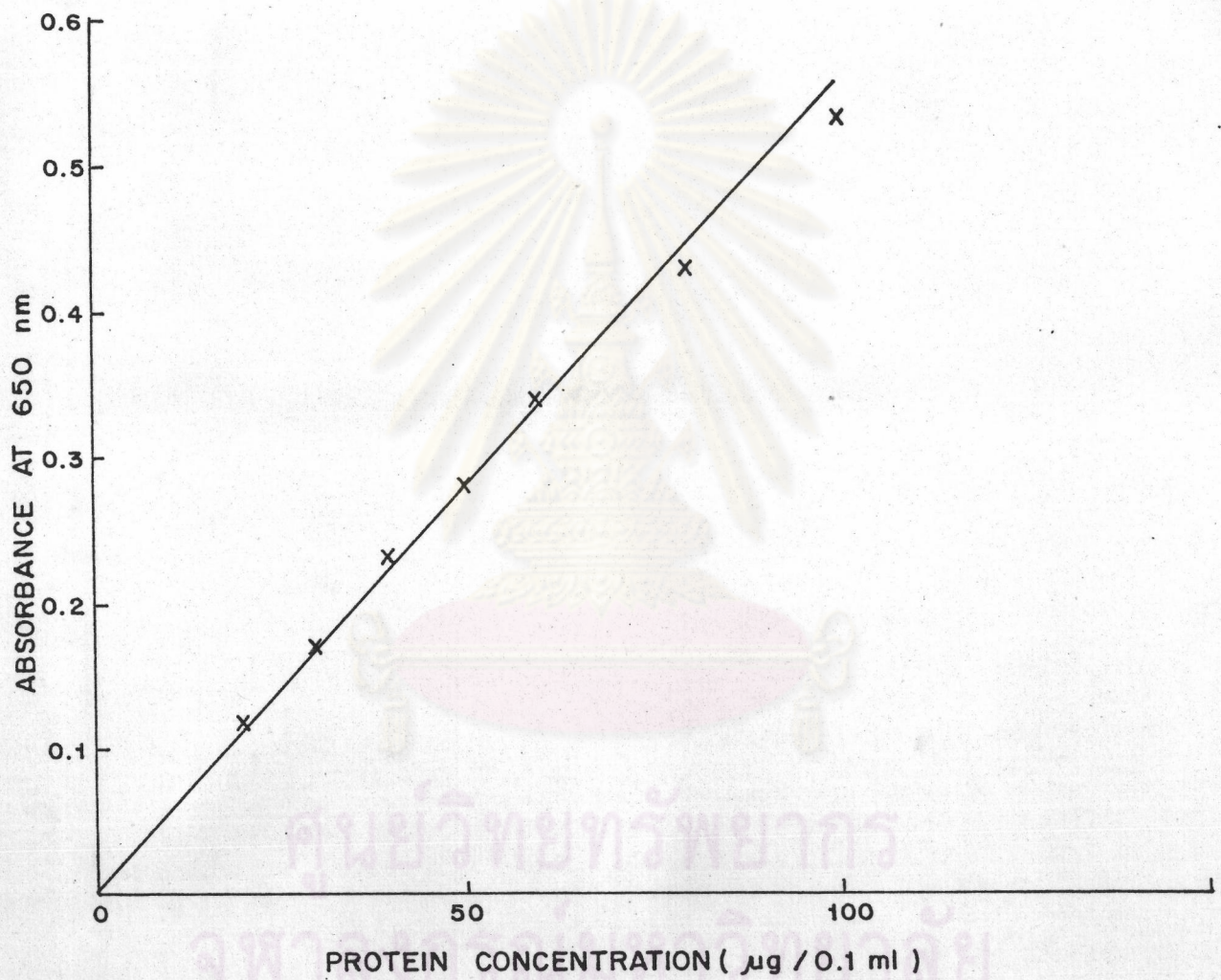
ทำการทดสอบเหมือนข้อ 1.2 แต่ใช้สารละลายที่จะทดสอบฟีนอลิกริงแทนสารละลายโปรตีนมาตรฐาน เปรียบเทียบความสามารถในการดูดกลืนแสง (ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร) กับหลอดที่เป็นแบลนค์ (blank) ซึ่งเตรียมในทำนองเดียวกันแต่ใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายที่จะทดสอบ ถ้าสารละลายที่ทดสอบมีฟีนอลิกริงจะมีความสามารถในการดูดกลืนแสงมากกว่าแบลนค์

3. การทดสอบความบริสุทธิ์ของมอร์ฟิน-6-เอมิซัคซิเนตโดยวิธีโครมาโตกราฟีชนิดผิวบาง

ทดสอบความบริสุทธิ์ของมอร์ฟิน-6-เอมิซัคซิเนตตามวิธีของ Simon และคณะ (1972) และ Wainer และคณะ (1972) โดยใช้โครมาโตกราฟีชนิดผิวบาง

ตัวทำละลายผสมชนิดที่หนึ่ง ประกอบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 40 มิลลิลิตร ไดออกเซน 5 มิลลิลิตร เบนซีน 50 มิลลิลิตร และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 5 มิลลิลิตร ผสมตัวทำละลายเหล่านี้ให้เข้ากัน แล้วทิ้งไว้จนสมดุลในถังโครมาโตกราฟี (chromatographic tank) เตรียมสารละลายผสมนี้ก่อนทำการทดลองเป็นเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง

รูปที่ 21 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณโปรตีนโดยวิธีของ
LOWRY และ คณะ (1951)



ตัวทำละลายผสมชนิดที่สอง ประกอบด้วยเอทิลอะซิเตต 85 มิลลิลิตร เมธิล - แอลกอฮอล์ 10 มิลลิลิตร แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 5 มิลลิลิตร ผสมตัวทำละลายเหล่านี้ให้เข้ากัน แล้วทิ้งไว้จนสมดุลในถังโครมาโตกราฟฟี เตรียมสารละลายผสมนี้ก่อนทำการทดลองเป็นเวลา ประมาณ 1 ชั่วโมง

สารละลายไอโอดิแพลตตินเนต (Iodoplatinate solution)

ละลายโปแตสเซียมไอโอดิด์ 2 กรัม และกรดคลอโรแพลตตินิก 0.2 กรัมในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เตรียมใส่ขวดที่จะใช้พ่น (spray)

3.1 การเตรียมแผ่นซิลิกาเจล

เตรียมแผ่นซิลิกาเจลขนาด 20x20 เซนติเมตรหนา 0.25 มิลลิลิตร โดยใช้ซิลิกาเจล 20 กรัมผสมกับน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตรในขวด (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร เขย่าแรง ๆ ให้เข้ากันดีเป็นเวลา 30-40 นาที เทสารผสมนี้ใส่ในเครื่องลาก (spreader) ซึ่งปรับความหนาไว้ 0.25 มิลลิเมตร แล้วลากไปตามแผ่นแก้วที่สะอาดและแห้งด้วยความเร็วสม่ำเสมอในราง (rectangular reservoir for chromatography) ทิ้งให้ซิลิกาเจลจับตัวเป็นเวลาประมาณ 10 นาที แล้วจึงนำแผ่นซิลิกาเจลไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที เก็บไว้ในตู้อบแห้งที่มีซิลิกาเจลสำหรับดูดความชื้นจนกว่าจะใช้

3.2 การทดสอบความบริสุทธิ์ของมอร์ฟีน-6-เฮมิซัคซิเนต

ตวงสารละลายของมอร์ฟีน-6-เฮมิซัคซิเนต (จากข้อ 3.1.4.1) มอร์ฟีนไฮโดรคลอไรด์และมอร์ฟีนฟรีเบสที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร อย่างละ 20 ไมโครลิตร แล้วหยดสารละลายแต่ละชนิดแยกกันลงบนแผ่นซิลิกาเจลที่เตรียมไว้ที่ละน้อยโดยใช้หลอดแก้วขนาดเล็ก (capillary tube) ให้ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแต่ละหยดไม่เกิน 0.5 เซนติเมตร ก่อนที่จะหยดครั้งต่อไปต้องรอให้หยดเดิมแห้งเสียก่อน นำแผ่นซิลิกาเจลนี้ไปวางในถังโครมาโตกราฟฟี ที่บรรจุตัวทำละลายผสมชนิดที่หนึ่งหรือชนิดที่สอง รอจนกระทั่งระดับของตัวทำละลายขึ้นไปตามแผ่นซิลิกาเจลได้สูงประมาณ 12 เซนติเมตรจากจุดเริ่มต้น จึงนำแผ่นซิลิกาเจลออกจากถังโครมาโตกราฟฟี ทิ้งให้ตัวทำละลายระเหยจนหมดประมาณ 20 นาที แล้วนำไปพ่นด้วยสารละลายไอโอดิแพลตตินเนต ตำแหน่งที่มอร์ฟีน-6-เฮมิซัคซิเนต มอร์ฟีนไฮโดรคลอไรด์ และมอร์ฟีนฟรีเบส จะเห็นเป็นจุดสีม่วง คำนวณ R_F ของสารแต่ละตัวตามสูตร

$$Rf = \frac{\text{ระยะทางที่สารเคลื่อนที่จากจุดตั้งต้น}}{\text{ระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่จากจุดตั้งต้น}}$$

4. การเตรียมคอลัมน์เซฟฟาเด็กซ์ จี-50

แซ่เซฟฟาเด็กซ์จี-50 จำนวน 20 กรัมในทริสมาลีเอตบัฟเฟอร์ (จากข้อ 3.1.1) 300 มิลลิลิตร ซึ่งมีโซเดียมอะไซด์ละลายอยู่ด้วย 0.2 กรัม/ลิตร ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 1 ชั่วโมงเพื่อให้เจลพองตัวเต็มที่ดูค้ำน้ำใสส่วนบนออก ล้างเจลด้วยทริสมาลีเอตบัฟเฟอร์ 2 ครั้ง ๆ ละ 300 มิลลิลิตร นำเจลที่ได้มาบรรจุในคอลัมน์ขนาด 2.5x40 เซนติเมตรจนได้เจลสูง 35 เซนติเมตร ผ่านสารละลายทริสมาลีเอตบัฟเฟอร์ลงในคอลัมน์ที่บรรจุเจลประมาณ 500 มิลลิลิตรที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการไหล 30 มิลลิลิตร/ชั่วโมง เพื่อให้เจลเรียงตัวอยู่ในสภาพสมดุล ทดสอบประสิทธิภาพของคอลัมน์ด้วยสารละลาย บลูเด็กซ์แตรน 2000 ที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จำนวน 2 มิลลิลิตร ถ้าคอลัมน์อยู่ในสภาพที่ใช้ได้ จะสังเกตเห็นแถบ (band) ของบลูเด็กซ์แตรน 2000 แคบ และอยู่ในแนวเดียวกัน เคลื่อนที่ลงมาอย่างสม่ำเสมอตลอดคอลัมน์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียน

นางสาวศุภมาส โชติเมธีภิมย์ สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และอักษรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เมื่อปี พ.ศ. 2521
ปัจจุบันทำงานในตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตร-
ศาสตร์



ศูนย์วิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย