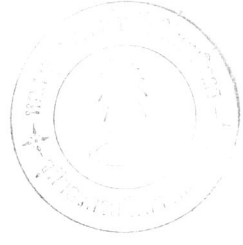
เทคนิคการวิเคราะห์สารประเภทฝิ่นในสารตัวอย่างจากร่างกายและผลิตภัณฑ์จากพืช



นางสาว พรพิมล กองทิพย์

004187

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาชีวเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2525

ISBN 974-560-673-1

I16606988

Techniques for Assesment of Opiates in Body Fluid and Plant Products

Miss Pornpimol Kongtip

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Sciences

Department of Biochemistry

Graduate School

Chulalongkorn University

1982

หัวข้อวิทยานิพนธ์	เทคนิคการวิเคราะห์สารประเภทฝิ่นในสารตัวอย่างจากร่างกายและผลิตภัณฑ์จากพืช
โดย	นางสาว พรพิมล กองทิพย์
ภาควิชา	ชีวเคมี
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราพรรณ ด่านอุตรา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุประดิษฐ์ บุนนาค)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สรรเสริญ ทรัพยโตษก)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์นายแพทย์ เทพ หิมะทองคำ)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์นายแพทย์ วิชัย โปษยะจินดา)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราพรรณ ด่านอุตรา)

..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร.ปรีดา ชัยศิริ)

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์	เทคนิคการวิเคราะห์สารประเภทฝิ่นในสารตัวอย่างจากร่างกายและผลิตภัณฑ์จากพืช
ชื่อนิสิต	นางสาว พรพิมล กองทิพย์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราพรรณ ด่านอุตรา
ภาควิชา	ชีวเคมี
ปีการศึกษา	2524

บทคัดย่อ

รายงานนี้เสนอผลการศึกษาการวิเคราะห์มอร์ฟีนและอนุพันธ์มอร์ฟีนในน้ำนม เมล็ดฝิ่น และข้าวสาร ด้วยวิธีราดิโออิมมิวโนแอสเสย์และวิธีแกสโครมาโตกราฟฟี การวิเคราะห์อนุพันธ์มอร์ฟีนในน้ำนม ศึกษาเฉพาะวิธีราดิโออิมมิวโนแอสเสย์ โดยใช้คลอโรฟอร์มสกัดน้ำนมที่ pH ประมาณ 9 แล้วกำจัดสารเจือปนโดยใช้คอลัมน์เซฟาเดกซ์ LH-20 โดยใช้สารละลายผสมของ คลอโรฟอร์ม นอร์มอลเฮพเทน เมทิลแอลกอฮอล์ น้ำ ในอัตราส่วน 500:500:75:3 โดยปริมาตร เป็นตัวชะ และนำไปหาปริมาณ โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูปจากบริษัท Roche Diagnostics ซึ่งดัดทอนปริมาณแอนติบอดีและสารติดฉลากเป็น ½ ของปริมาณที่บริษัทแนะนำ แอนติบอดีที่ใช้มีความจำเพาะอยู่ในระดับสูง และให้ปฏิกิริยาข้ามชนิดสูงสุดกับโคเดอีน การวิเคราะห์นี้มีความไว 60 พิโครกรัมต่อหลอดทดลอง หรือ 300 พิโครกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตรของน้ำนม สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนทั้งภายในการทดลองเดียวกัน และระหว่างการทดลองมีค่าน้อยกว่า 8% ในขณะที่ความถูกต้องของการวิเคราะห์มอร์ฟีนมาตรฐาน 10-25 นาโนกรัม ที่เติมลงในน้ำนมมีค่ามากกว่าร้อยละ 95

ผลการวิเคราะห์อนุพันธ์มอร์ฟีนในน้ำนมสตรีชาวไทยภูเขาที่ติดฝิ่น 4 ราย และสตรีติดเฮโรอีน 1 ราย พบว่าความเข้มข้นของอนุพันธ์มอร์ฟีนในน้ำนมสตรีที่ติดฝิ่นมีค่าระหว่าง 0-250 นาโนกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ส่วนความเข้มข้นของอนุพันธ์มอร์ฟีนในน้ำนมสตรีติดเฮโรอีน มีค่าสูงต่ำสลับกันระหว่างการรักษา กล่าวคือมีพิสัยอยู่ระหว่าง 6-900 นาโนกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ความเข้มข้นในปัสสาวะแปรตามกันกับความเข้มข้นในน้ำนม แต่มีค่าพิสัยอยู่ระหว่าง 1,100-263,000 นาโนกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

เมื่อวิเคราะห์มอร์ฟีนและอนุพันธ์มอร์ฟีนในเมล็ดฝิ่นและข้าวสารโดยวิธีแกสโครมาโตกราฟฟีและวิธีราดิโออิมมิวโนแอสเสย์ พบว่า เมื่อใช้วิธีแกสโครมาโตกราฟฟี คอลัมน์ที่บรรจุด้วย 3% SE-30 บน Gas Chrom Z (100-120 mesh) ขนาด 2 มม. x 2ม. แยกอนุพันธ์ 2 ชนิด ของมอร์ฟีน และโคเดอีนที่ได้จากอะเซทิลเลชั่นด้วยอะซิติกแอนไฮไดรด์ และซิลิเลชั่นด้วย N,O บิส (ไตรเมทิลซิลิล) อะเซตาไมด์ ได้อย่างสมบูรณ์ที่อุณหภูมิ 210-220 องศาเซลเซียส การวิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ที่บรรจุด้วย 5% OV-101 บน Chromosorp GHP (100-120 mesh) ขนาด 2 มม. x 0.5 ม. ที่อุณหภูมิ 200-210 องศาเซลเซียส ให้ผลไม่แตกต่างกัน เมื่อสกัดมอร์ฟีนและอนุพันธ์จากเมล็ดฝิ่นและข้าวสารด้วยน้ำและคลอโรฟอร์ม และทำให้บริสุทธิ์ขึ้นโดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี โดยใช้ซิลิกาเจล GF_{254} และใช้สารละลายผสมของ เบนซีน ไดออกเซน เอทิลแอลกอฮอล์ แอมโมเนีย ในอัตราส่วน 50:40:5:5 โดยปริมาตร หรือวิธี back-extraction โดยสกัดด้วยกรดเกลือ 0.1 โมลต่อลิตร แล้วสกัดอีกครั้งหนึ่งด้วยคลอโรฟอร์ม แล้วเตรียมอนุพันธ์ และวิเคราะห์ด้วยวิธีแกสโครมาโตกราฟฟี ใช้ดีเทคเตอร์ 2 ชนิด คือ Flame Ionization Detector และ Thermionic Specific Detector ปรากฏว่าวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟีกำจัดสิ่งเจือปนได้ดีกว่าวิธี back extraction

เมื่อวิเคราะห์เมล็ดฝิ่น 4 ตัวอย่าง พบว่าเมล็ดฝิ่นมีโคเดอีนมากกว่ามอร์ฟีน และในเมล็ดฝิ่น 1 กรัม มีมอร์ฟีนรวมกับโคเดอีน มากกว่า 1,200 นาโนกรัม ส่วนวิธีราดิโอ-อิมมิวโนแอสเสย์ พบอนุพันธ์มอร์ฟีนระหว่าง 2,000-6,200 นาโนกรัมต่อเมล็ดฝิ่น 1 กรัม ผลการวิเคราะห์ข้าวสารปกติและข้าวสารจากชาวเขา 4 ตัวอย่าง ด้วยวิธีแกสโครมาโตกราฟฟี ไม่พบมอร์ฟีนและโคเดอีน ส่วนวิธีราดิโออิมมิวโนแอสเสย์ พบอนุพันธ์มอร์ฟีนเพียงเล็กน้อยประมาณ 0.4-2.5 นาโนกรัมต่อข้าวสาร 1 กรัม

Thesis Title Techniques for Assesment of Opiates in Body Fluid and Plant Products

Name Miss Pornpimol Kongtip

Thesis Advisor Assistant Professor Varapan Danutra, Ph.D.

Department Biochemistry

Academic Year 1981

Abstract

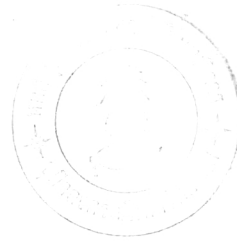
This thesis described the determination of morphine like substances in human milk, poppy seed and rice by radioimmunoassay (RIA) and gas chromatography (GC). The first technique was implemented for human milk using chloroform extracts which was purified by sephadex LH-20 column with a mixture of chloroform : n-heptane : methyl alcohol : H_2O 500:500:75:3 V/V as the eluate. The purified dried extract was assayed for morphine like substances with a modified protocol of Abruscreen from ROCHE DIAGNOSTICS. The quantity of both the antibody and the radioligand were decreased to one fourth of the recommended quantities. Among the various drugs tested, only codeine was found to have cross reaction with the antibody used and the method gave a sensitivity of 60 pg/tube or 300 pg/cm^3. The coefficient of variation for both within and between assays were less than 8% whereas the percentage recovery of 10-25 ng/cm^3 of standard morphine hydro.-chloride added into human milk was higher than 95%

Study in 4 hill tribe opium addicted women showed that the concentration of morphine like substances in their milk ranged from 0-250 ng/cm^3. Fluctuating values, 6-900 ng/cm^3, were found in one heroin addicted woman during treatment period with methadone. Urine specimen from the latter case gave similar pattern with a range from 1,100-263,000 ng/cm^3.

Poppy seed and rice were investigated by both GC and RIA. With the former technique, two types of detectors, Flame Ionization Detector and Thermionic Specific Detector were exercises for the separation of morphine and codeine after derivative formation by acetic anhydride and N,O-bis (trimethylsilyl) acetamide. The derivatives of morphine and codeine were completely separated on either 2 mm. x 2 m. of 3% SE-30 on gas chrom Z at 210-220^{o}C or 2 mm. x 0.5 m. of 5% OV-101 on chromosorp GHP at 200-210^{o}C. Purification of chloroform extracts of poppy seed and rice prior to the derivative formation for gas chromatographic analysis showed that thin-layer chromatography using GF_{254} and a mixture of benzene: dioxane:ethylalcohol:ammonia 50:40:5:5 was more effective than the back-extraction method with 0.1 mol/l hydrochloric acid.

Poppy seed from four different sources were investigated for morphine and codeine. Over 1,200 ng of the compounds were detected in one gram of all the specimen studied and codeine was present in higher concentration. Determination with RIA gave a range of 2,000-6,200 ng in one gram of the seeds.

No detectable amount of morphine or codeine was found with GC in either 4 samples of rice obtained from hill tribe villages or in one sample of low land rice whereas 0.4-2.5 ng/g were detected with RIA.



กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ และขอขอบคุณท่านผู้มีรายนามต่อไปนี้ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและช่วยเหลือ ทำให้วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จได้ด้วยดี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราพรรณ ด่านอุตรา
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สรรเสริญ ทรัพย์โตษก
รองศาสตราจารย์นายแพทย์ วิชัย โปษยะจินดา
อาจารย์ ดร. ปรีดา ชัยศิริ
รองศาสตราจารย์นายแพทย์ เทพ หิมะทองคำ
รองศาสตราจารย์แพทย์หญิง มณฑิรา ตัณฑ์เกยูร
ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์ ปรีดา ทัศนประดิษฐ์
คุณ ชู วิยกาญจน์
คุณ วิไล เยาวพลกุล
ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
เจ้าหน้าที่ศูนย์บริการสาธารณสุข 16 ลุมพินี กรุงเทพมหานคร
เจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยยาเสพติด สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย . . . . . ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ . . . . . ฉ
กิตติกรรมประกาศ . . . . . ซ
รายการตารางประกอบ . . . . . ฌ
รายการรูปประกอบ . . . . . ฐ

บทที่

1. บทนำ 1
2. เคมีภัณฑ์และเครื่องมือ 13
   1. เคมีภัณฑ์ 13
   2. เครื่องมือ 14
   3. การเก็บสารตัวอย่าง 14
   4. สารตัวอย่าง 14
3. วิธีทดลอง 16
   1. การเตรียมสารละลายสำหรับวิเคราะห์ปริมาณอนุพันธ์มอร์ฟีน โดยวิธีราดิโออิมมิวโนแอสเสย์ 16
   2. การเตรียมสารละลายสำหรับวิเคราะห์มอร์ฟีนและโคเดอีนทางคุณภาพโดยวิธีแกสโครมาโตกราฟฟี 17
   3. การเตรียมสารละลายสำหรับวิเคราะห์มอร์ฟีนและโคเดอีน โดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี 18
   4. การเตรียมแผ่นซิลิกาเจล 18
   5. การทำให้คลอโรฟอร์มบริสุทธิ์ 18
   6. การเตรียมคอลัมน์สำหรับการวิเคราะห์โดยวิธีแกสโครมาโตกราฟฟี 18
   7. การวิเคราะห์หาปริมาณอนุพันธ์มอร์ฟีนในน้ำนมคน โดยวิธีราดิโออิมมิวโนแอสเสย์ 19
   8. การวิเคราะห์หาปริมาณอนุพันธ์มอร์ฟีนในปัสสาวะโดยวิธีราดิโออิมมิวโนแอสเสย์ 25
   9. การวิเคราะห์มอร์ฟีน และโคเดอีนในเมล็ดฝิ่น และข้าวสาร โดยวิธีแกสโครมาโตกราฟฟี 26

หน้า

4. ผลการทดลอง

1. ผลการวิเคราะห์หาปริมาณอนุพันธ์มอร์ฟีนในน้ำนมคนโดยวิธีราดิโอ-อิมมิวโนแอสเสย์ 32

1.1 ผลการศึกษาโดยวิธีที่ดัดแปลงจากบริษัทแนะนำ 32

1.2 ผลการศึกษาเปรียบเทียบกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานในบัสสาวะและสารมาตรฐานในบัฟเฟอร์ 32

1.3 ผลการศึกษาอิทธิพลของน้ำนมต่อกราฟมาตรฐาน 32

1.4 ผลการหาตำแหน่ง ^{3}H - มอร์ฟีนที่ออกจากคอลัมน์และอายุการใช้งานของคอลัมน์ 32

1.5 ผลการศึกษาประสิทธิภาพของเซฟาเดกซ์ LH-20 ในการขจัดสิ่งเจือปนในคลอโรฟอร์มและน้ำนม 33

1.6 ผลการทดสอบความเชื่อถือได้ของวิธีทดลอง 40

1.6.1 ความจำเพาะของแอนติบอดี 40

1.6.2 ความไว ความแม่นยำ และความถูกต้องของการวิเคราะห์ 40

1.7 ผลการวิเคราะห์ปริมาณอนุพันธ์มอร์ฟีนในน้ำนมคนโดยวิธีราดิโออิมมิวโนแอสเสย์ 44

1.8 ผลการวิเคราะห์ปริมาณอนุพันธ์มอร์ฟีนในน้ำนมคนเปรียบเทียบกับในบัสสาวะ โดยวิธีราดิโออิมมิวโนแอสเสย์ . . . 44

2. ผลการวิเคราะห์ ปริมาณอนุพันธ์มอร์ฟีนในข้าวสารโดยวิธีราดิโอ-อิมมิวโนแอสเสย์ 45

3. ผลการวิเคราะห์ปริมาณอนุพันธ์มอร์ฟีนในเมล็ดฝิ่นโดยวิธีราดิโอ-อิมมิวโนแอสเสย์ 47

4. ผลการวิเคราะห์มอร์ฟีนและโคเดอีนในเมล็ดฝิ่น และข้าวสารโดยวิธีแกสโครมาโตกราฟฟี 48

4.1 ผลการศึกษาเพื่อหาชนิดของคอลัมน์และสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์มอร์ฟีนและโคเดอีน 48

4.2 ผลการวิเคราะห์มอร์ฟีนและโคเดอีนในเมล็ดฝิ่น. 54

4.2.1 ผลการวิเคราะห์สารจากเมล็ดฝิ่นที่ทำให้บริสุทธิ์ขึ้นโดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี ก่อนเตรียมอนุพันธ์โดยอะเซทิลเลชั่นเมื่อใช้ดีเทคเตอร์ FID และ TSD 54

4.2.2 ผลการวิเคราะห์สารจากเมล็ดฝิ่น ที่ทำให้บริสุทธิ์ขึ้น โดยวิธี Back extraction ก่อนเตรียมอนุพันธ์ โดยอะเซทิลเลชั่นและซิลิเลชั่น เมื่อใช้ดีเทคเตอร์แบบ FID 54
4.3 ผลการวิเคราะห์มอร์ฟีนและโคเดอีนกึ่งปริมาณในข้าวสารและเมล็ดฝิ่น โดยวิธีแกสโครมาโตกราฟฟี 59
5. วิจารณ์การทดลอง 62
เอกสารอ้างอิง 72
ประวัติผู้เขียน 81

รายการตารางประกอบ

ตารางที่		หน้า
1.	รายละเอียดการทำราดิโออิมมิวโนแอสเสย์ของอนุพันธ์มอร์ฟีนในปัสสาวะ	20
2.	รายละเอียดการศึกษาอิทธิพลของน้ำนมต่อกราฟมาตรฐาน	21
3.	รายละเอียดการศึกษาอิทธิพลของสารต่าง ๆ ต่อกราฟมาตรฐาน . . .	23
4.	รายละเอียดการวิเคราะห์หาปริมาณอนุพันธ์มอร์ฟีนในน้ำนมคน	24
5.	รายละเอียดการวิเคราะห์หาปริมาณอนุพันธ์มอร์ฟีนในปัสสาวะ	26
6.	ความแม่นยำของการวิเคราะห์อนุพันธ์มอร์ฟีนในน้ำนมด้วยวิธีราดิโออิมมิวโนแอสเสย์	40
7.	ความถูกต้องของการวิเคราะห์อนุพันธ์มอร์ฟีนในน้ำนมด้วยวิธีราดิโออิมมิวโนแอสเสย์	41
8.	ปริมาณอนุพันธ์มอร์ฟีนในน้ำนมสตรีที่ติดยาเสพติด 5 ราย	44
9.	ปริมาณอนุพันธ์มอร์ฟีนในข้าวสารปกติและข้าวสารตัวอย่าง	45
10.	ปริมาณอนุพันธ์มอร์ฟีนในเมล็ดฝิ่น	47
11.	Retention time ของอนุพันธ์แบบอะเซทิลเลชั่น และซิลิเลชั่นของมอร์ฟีนและโคเดอีน	52
12.	Retention time ของอนุพันธ์แบบอะเซทิลเลชั่นของมอร์ฟีนและโคเดอีน	52
13.	ผลการวิเคราะห์มอร์ฟีน และโคเดอีนกึ่งปริมาณของเมล็ดฝิ่นและข้าวสารโดยวิธีแกสโครมาโตกราฟฟี	59

รายการรูปประกอบ

รูปที่		หน้า
1.	โครงสร้างของมอร์ฟีน โคเดอีน และเฮโรอีน	6
2.	วิธีการเปลี่ยนรูปของมอร์ฟีน	7
3.	วิธีการเปลี่ยนรูปของเฮโรอีน	8
4.	วิธีการเตรียมอนุพันธ์ของมอร์ฟีน	12
5.	กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์อนุพันธ์มอร์ฟีนในปัสสาวะโดยวิธีราดิโออิมมิวโนแอสเสย์	34
6.	กราฟมาตรฐานเปรียบเทียบการวิเคราะห์อนุพันธ์มอร์ฟีนในปัสสาวะกับในบัฟเฟอร์	35
7.	อิทธิพลของน้ำนมคนปกติต่อกราฟมาตรฐาน	36
8.	ตำแหน่งของ ^{3}H-มอร์ฟีนจากคอลัมน์และอายุการใช้งานของคอลัมน์	37
9.	อิทธิพลของคลอโรฟอร์ม น้ำนม เมื่อผ่านและไม่ผ่านคอลัมน์เซฟาเดกซ์ต่อกราฟมาตรฐาน	38
10.	กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์อนุพันธ์มอร์ฟีนในน้ำนมคนโดยวิธีราดิโออิมมิวโนแอสเสย์	39
11.	ความจำเพาะของแอนติบอดี	42
12.	กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์อนุพันธ์มอร์ฟีนในน้ำนมคนโดยวิธีราดิโออิมมิวโนแอสเสย์	43
13.	รูปแบบการขับถ่ายอนุพันธ์มอร์ฟีนในน้ำนมและปัสสาวะของสตรีที่ติดเฮโรอีน	46
14.	โครมาโตแกรมแสดงอนุพันธ์แบบซิลิเลชั่น และอะเซทิลเลชั่นของมอร์ฟีนและโคเดอีน โดยใช้คอลัมน์ 3% OV-17 บน Chromosorp WHP (80-100 mesh)	49
15.	โครมาโตแกรมแสดงอนุพันธ์แบบซิลิเลชั่น และอะเซทิลเลชั่นของมอร์ฟีนและโคเดอีน โดยใช้คอลัมน์ 5% OV-101 บน Chromosorp GHP (100-120 mesh)	50
16.	โครมาโตแกรมแสดงอนุพันธ์แบบซิลิเลชั่นและอะเซทิลเลชั่นของมอร์ฟีนและโคเดอีน โดยใช้คอลัมน์ 3% SE-30 บน Gas Chrom Z (100-120 mesh)	51
17.	โครมาโตแกรมแสดงอนุพันธ์แบบอะเซทิลเลชั่นของมอร์ฟีน และโคเดอีนเปรียบเทียบระหว่างดีเทคเตอร์ FID และ TSD	53
18.	โครมาโตแกรมแสดงผลการวิเคราะห์สารจากเมล็ดฝิ่นที่ทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี และเตรียมอนุพันธ์แบบอะเซทิลเลชั่น เมื่อใช้ดีเทคเตอร์ FID	55
19.	โครมาโตแกรมแสดงผลการวิเคราะห์สารจากเมล็ดฝิ่นที่ทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี และเตรียมอนุพันธ์แบบอะเซทิลเลชั่น เมื่อใช้ดีเทคเตอร์ TSD	56

รูปที่		หน้า
20.	โครมาโตแกรมแสดงผลการวิเคราะห์สารจากเมล็ดฝิ่นที่ทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี back extraction และเตรียมอนุพันธ์แบบอะเซทิลเลชั่น	57
21.	โครมาโตแกรมแสดงผลการวิเคราะห์สารจากเมล็ดฝิ่นที่ทำให้บริสุทธิ์ โดยวิธี Back extraction และเตรียมอนุพันธ์แบบ ซิลิเลชั่น	58
22.	กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์มอร์ฟีนด้วยวิธีแกสโครมาโตกราฟฟี	60
23.	กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์โคเดอีนด้วยวิธีแกสโครมาโตกราฟฟี	61