

ผลการทดลอง

1. ผลการวิเคราะห์หาปริมาณอนุพันธ์อินทรีย์ในน้ำมันคนโดยวิธีราดิโออิมมูโนแอสเสย์

1.1 ผลการศึกษาโดยวิธีที่ดัดแปลงจากบริษัทแนะนำ

ศึกษาโดยใช้แอนติบอดี และสารติดตามปริมาณ $\frac{1}{2}$ ของที่บริษัทแนะนำ ปรากฏว่าได้กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์อินทรีย์ดังรูปที่ 5 ซึ่งให้ความแตกต่างของการรวมตัวที่ปริมาณของอินทรีย์ระหว่าง 0.125 และ 4 นาโนกรัมต่อหลอดทดลอง ประมาณ 48% ซึ่งได้ใช้สภาวะเช่นเดียวกับการศึกษานี้ในการศึกษาต่อ ๆ ไป

1.2 ผลการศึกษาเปรียบเทียบกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานในปัสสาวะและสารมาตรฐานในบัพเฟอรั

จากรูปที่ 6 เห็นได้ว่ากราฟมาตรฐาน เมื่อใช้สารมาตรฐานในปัสสาวะมีลักษณะเหมือนและเกือบขนานกับกราฟมาตรฐานเมื่อใช้สารมาตรฐานในบัพเฟอรั และกราฟมาตรฐานเมื่อใช้สารมาตรฐานในบัพเฟอรัให้ความแตกต่างของการรวมตัวที่ปริมาณอินทรีย์ระหว่าง 0.125 และ 4 นาโนกรัมต่อหลอดทดลองประมาณ 50% ในการศึกษาต่อไป จึงเลือกใช้แต่กราฟมาตรฐานซึ่งใช้สารละลายมาตรฐานในบัพเฟอรั เพื่อเปรียบเทียบอิทธิพลของสารต่าง ๆ

1.3 ผลการศึกษาอิทธิพลของน้ำมันต่อกราฟมาตรฐาน

การศึกษานี้เป็นการศึกษาขั้นต้นที่จะทดสอบว่าน้ำมันมีอิทธิพลเพียงไร ต่อการรวมตัวของอินทรีย์และแอนติบอดี จากรูปที่ 7 แสดงว่าน้ำมันเพียง 50 ไมโครลิตร มีอิทธิพลอย่างมากต่อลักษณะของกราฟมาตรฐาน ในการศึกษาต่อไป จึงได้ศึกษาโดยใช้สารละลายอินทรีย์สกัดอินทรีย์จากน้ำมันเสียก่อน แล้วจึงทดสอบอิทธิพลของสารที่ใช้สกัดคือคลอโรฟอร์ม ในขณะที่เดียวกันก็ศึกษาเพื่อทดสอบความสามารถของคอสมินซ์เซฟาเตกซ์ LH-20 ในการขจัดสิ่งเจือปนด้วย

1.4 ผลการหาตำแหน่ง ^3H -อินทรีย์ที่ ออกจากคอสมินซ์และอายุการใช้งานของคอสมินซ์

จากการศึกษาโดยใช้อินทรีย์ผ่านคอสมินซ์เซฟาเตกซ์ LH-20 และชะ ^3H -อินทรีย์ออกจากคอสมินซ์ด้วยสารละลายผสม คลอโรฟอร์ม : นอร์มอลเฮกเซน : เมทิลแอลกอฮอล์ : น้ำ ในอัตราส่วน 500:500:75:3 โดยปริมาตร พบว่าในช่วงแรก ๆ ไม่มีอินทรีย์ผ่านออกจาก

คอสม์นัลเลย์ มอร์ฟีนถูกชะออกมาในช่วงระหว่าง 16-29 ลูกบาศก์เซนติเมตร (รูปที่ 8) และโดยปกติการใช้คอสม์นัลเซฟาเดกซ์ในการแยกสารนั้น สามารถนำคอสม์นัลนั้นมาใช้ใหม่ได้ จึงได้ทดสอบอายุการใช้งานของคอสม์นัล จากรูปที่ 8 แสดงว่าคอสม์นัลแต่ละอันมีอายุการใช้งานได้อย่างน้อย 4 เดือน

1.5 ผลการศึกษาประสิทธิภาพของเซฟาเดกซ์ LH-20 ในการขจัดสิ่งเจือปนในคลอโรฟอร์มและน้ำนม

จากการศึกษาเพื่อทดสอบอิทธิพลของคลอโรฟอร์มและคลอโรฟอร์มที่สกัดมอร์ฟีนจากน้ำนมคนปกติที่มีผลต่อกราฟมาตรฐาน ดังรูปที่ 9 แสดงว่าคลอโรฟอร์มเพียงอย่างเดียวไม่มีอิทธิพลน้อยมากต่อกราฟมาตรฐาน แต่เมื่อสกัดน้ำนมด้วยคลอโรฟอร์มจะมีอิทธิพลต่อกราฟมาตรฐาน จึงได้ทดลองประสิทธิภาพของคอสม์นัลเซฟาเดกซ์ LH-20 ในการขจัดสิ่งเจือปนที่มีอยู่ในคลอโรฟอร์มและคลอโรฟอร์มที่สกัดน้ำนม ปรากฏว่าคอสม์นัลเซฟาเดกซ์ LH-20 สามารถกำจัดอิทธิพลของสิ่งเจือปนที่มาจากคลอโรฟอร์ม และน้ำนมที่มีต่อกราฟมาตรฐานได้ในการวิเคราะห์มอร์ฟีนในน้ำนม จึงใช้วิธีสกัดมอร์ฟีนจากน้ำนมก่อนด้วยคลอโรฟอร์ม แล้วใช้คอสม์นัลเซฟาเดกซ์ LH-20 กำจัดสิ่งเจือปน แล้วจึงนำไปหาปริมาณอนุพันธ์มอร์ฟีน โดยวิธีราศีโออิมมิวโนแอสเสย์

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของคอสม์นัลเซฟาเดกซ์ LH-20 ในการกำจัดสิ่งเจือปน เมื่อใช้คลอโรฟอร์มสกัดน้ำนม 0.5, 1.0 และ 2.0 ลูกบาศก์เซนติเมตร และนำไปผ่านคอสม์นัลเซฟาเดกซ์ พบว่าเซฟาเดกซ์ที่ใช้สามารถขจัดสิ่งเจือปนได้หมด (รูปที่ 10) ดังนั้นในการวิเคราะห์น้ำนมตัวอย่าง สามารถจะใช้น้ำนมในการวิเคราะห์ตั้งแต่ 0.5 ถึง 2.0 ลูกบาศก์เซนติเมตร

FIG. 5 STANDARD CURVE OF URINE MORPHINE RADIOIMMUNOASSAY

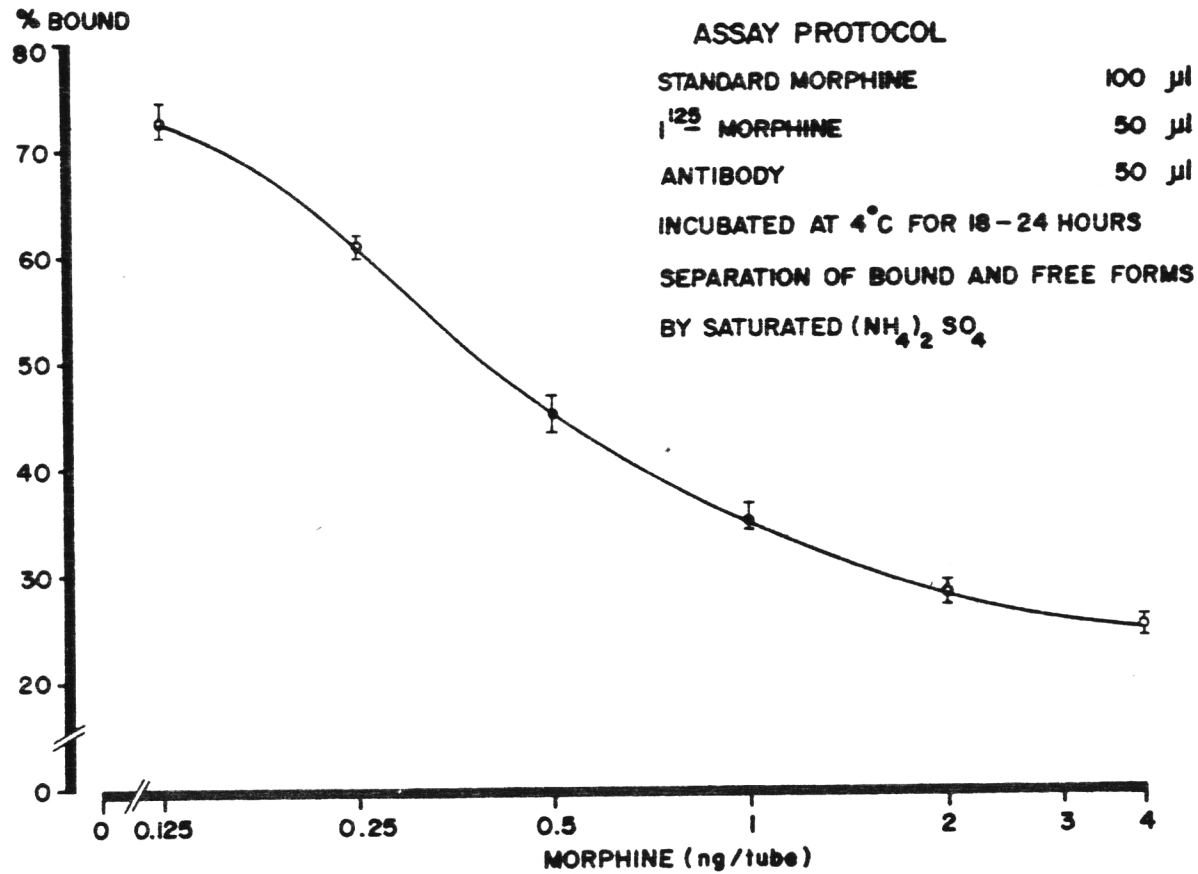
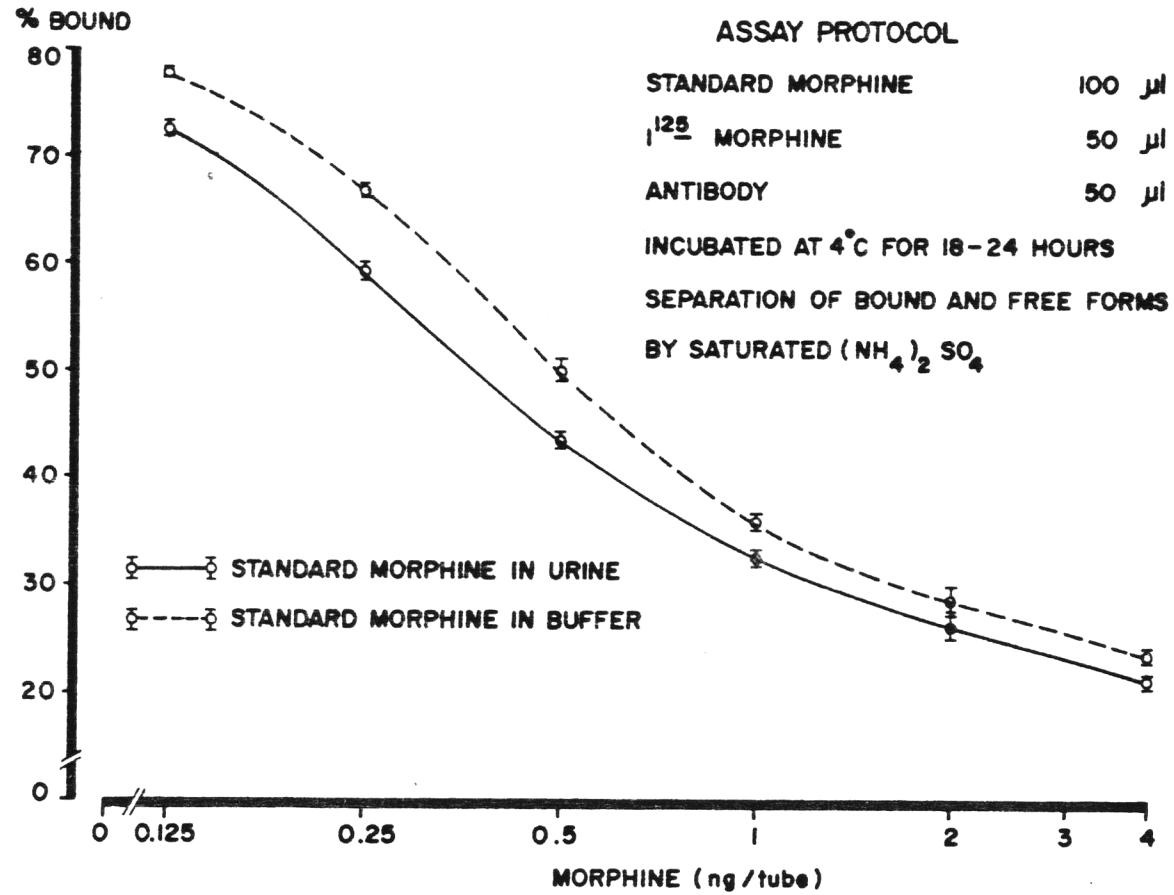


FIG. 6 STANDARD CURVE OF MORPHINE RADIOIMMUNOASSAY



1660991I

FIG. 7 EFFECT OF MILK ON STANDARD CURVE OF MORPHINE RADIOIMMUNOASSAY

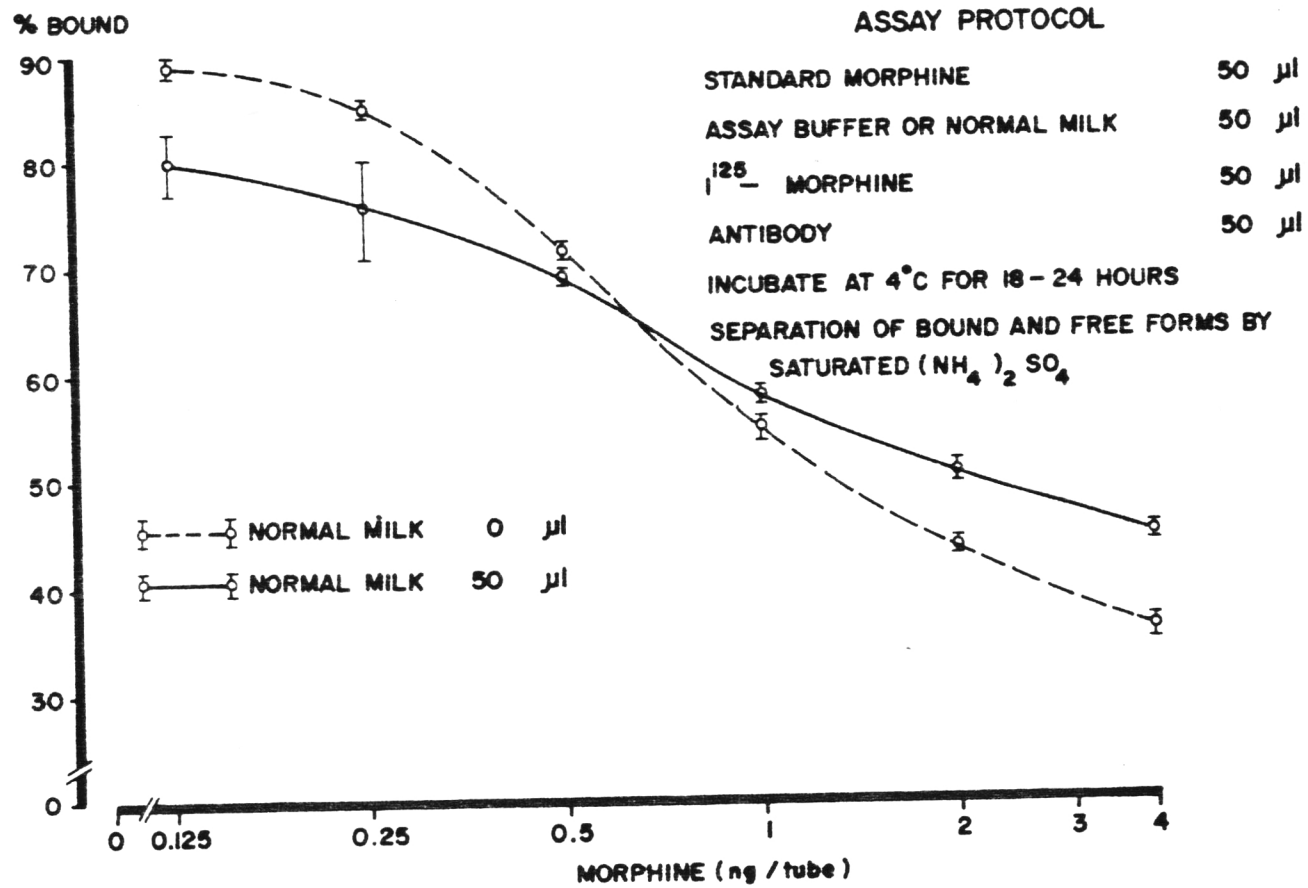


FIG.8 PROFILE OF THE SEPARATION OF MORPHINE BY SEPHADEX LH-20

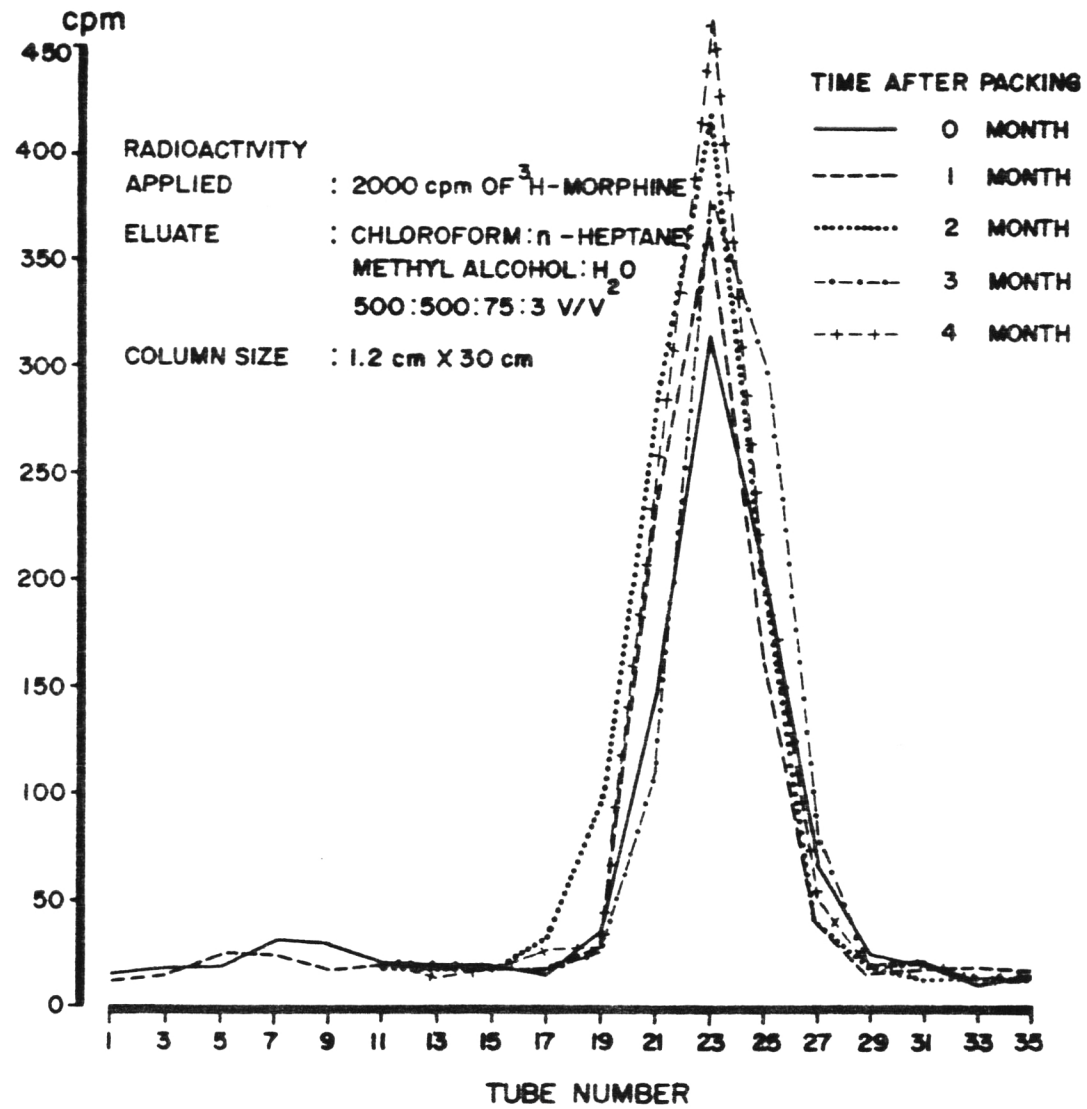


FIG.9 EFFECT OF SOLVENT AND MILK ON STANDARD CURVE OF MORPHINE RADIOIMMUNOASSAY

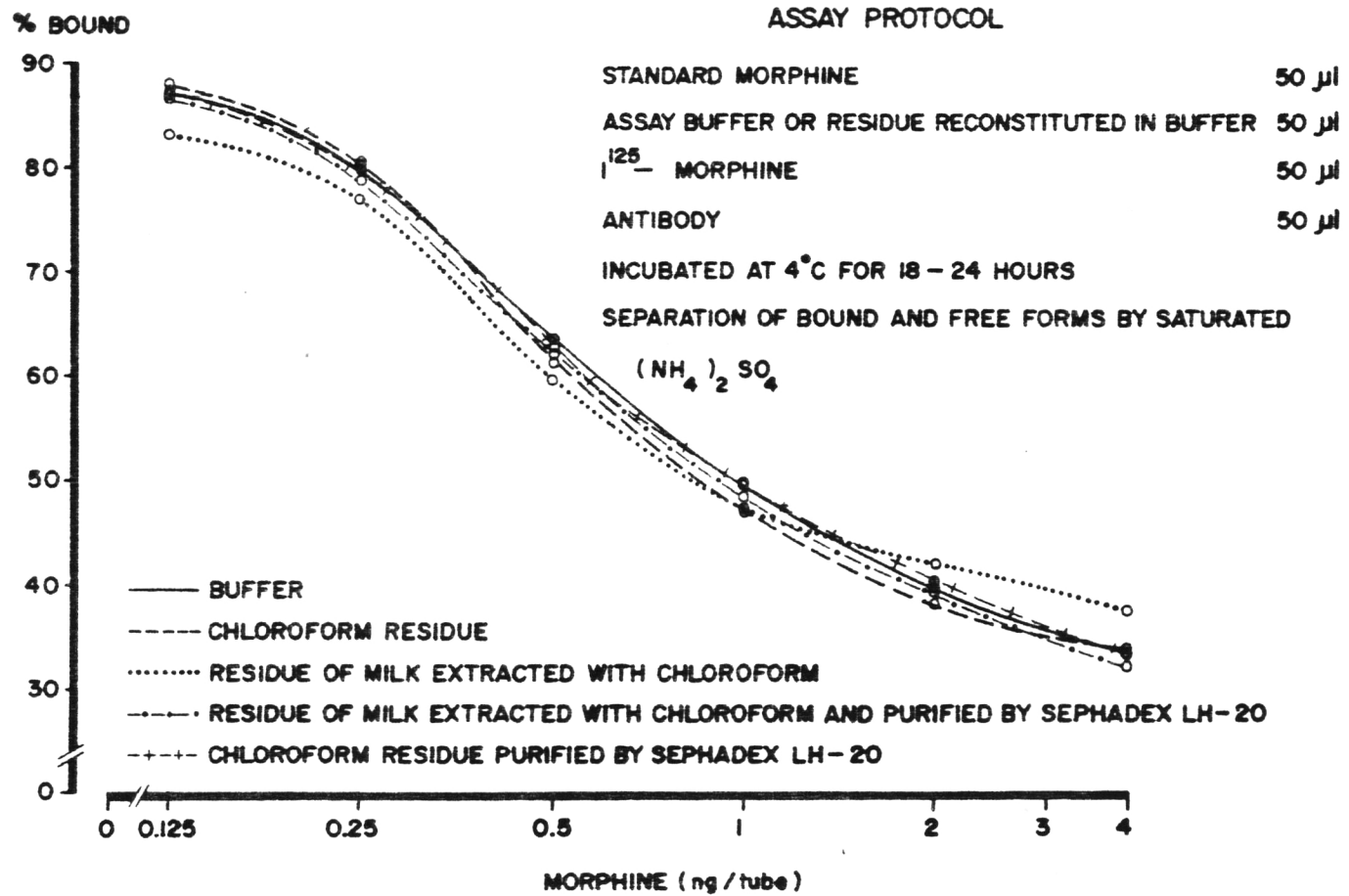
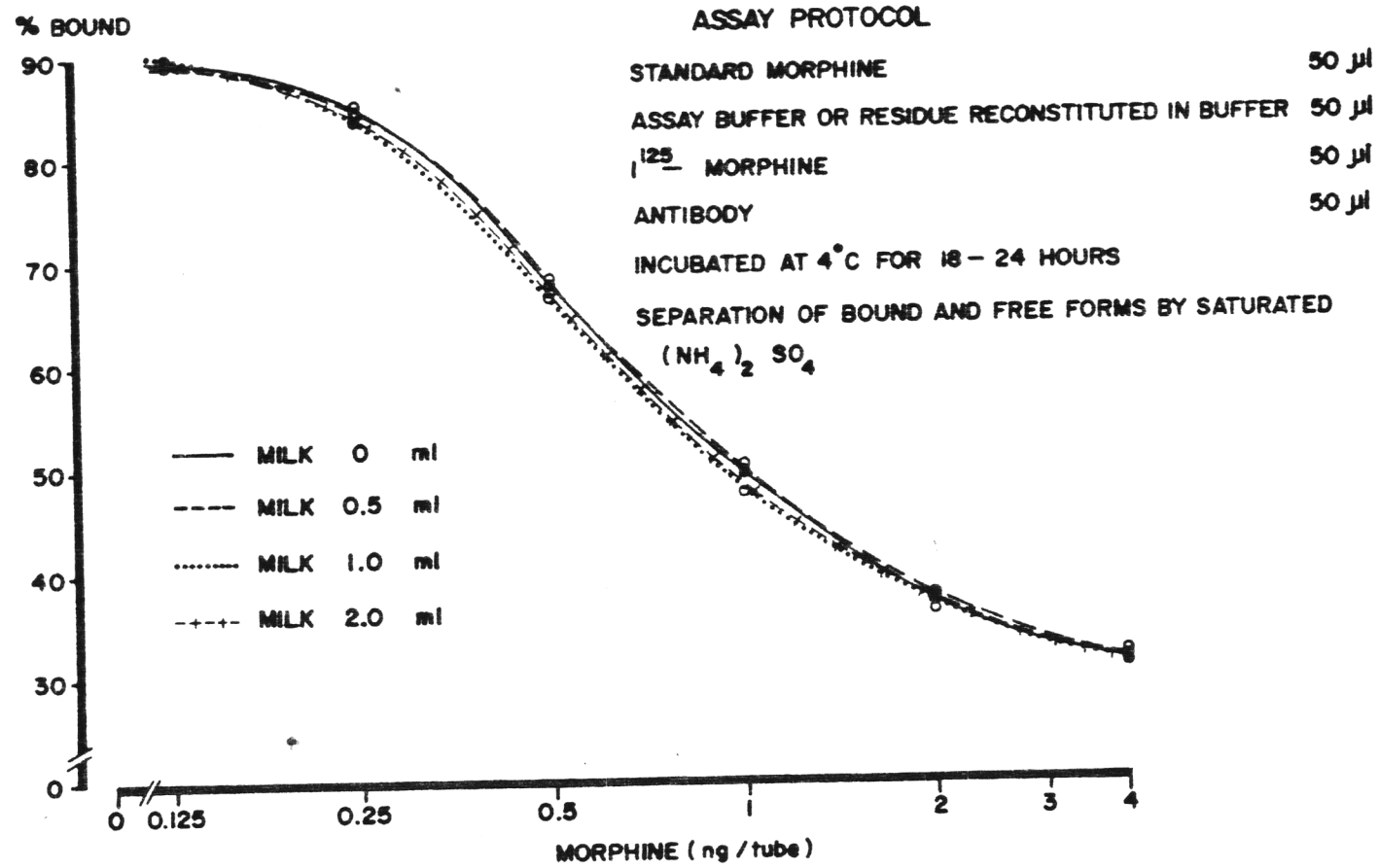


FIG.10 STANDARD CURVE OF MORPHINE RADIOIMMUNOASSAY IN HUMAN MILK



1.6 ผลการทดสอบความเชื่อถือได้ของวิธีทดลอง

1.6.1 ความจำเพาะของแอนติบอดี

รูปที่ 11 แสดงผลการทดสอบความจำเพาะของแอนติบอดี ซึ่งศึกษาในห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยยาเสพติด สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เห็นได้ว่าแอนติบอดีที่ใช้มีความจำเพาะสูง มีปฏิกิริยาข้ามชนิดสูงสุดกับโคเคอิน

1.6.2 ความไว ความแม่นยำ และความถูกต้องของการวิเคราะห์

จากการศึกษาความเชื่อถือได้ของวิธีวิเคราะห์ เมื่อใช้มอร์ฟีนมาตรฐาน 0.125-4 นาโนกรัมต่อหลอดทดลอง ได้ความไวของวิธีการวิเคราะห์เป็น 0.3 นาโนกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตรของน้ำนม หรือ 0.06 นาโนกรัมต่อหลอดทดลอง (รูปที่ 12) สำหรับการทดสอบความแม่นยำของการวิเคราะห์ที่ความเข้มข้นของมอร์ฟีนเป็น 10, 15 และ 25 นาโนกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ได้ค่าร้อยละของสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนภายในการทดลองเดียวกัน เป็น 5.1, 5.3 และ 6.6 ตามลำดับ และระหว่างการทดลองเป็น 7.5, 6.0 และ 6.2 ตามลำดับ ค่าความถูกต้องของการวิเคราะห์ระหว่างร้อยละ 95.6 ถึง 98.3 (ตารางที่ 6 และ 7)

ตารางที่ 6 ความแม่นยำของการวิเคราะห์อนุพันธ์มอร์ฟีนในน้ำนมด้วยวิธี
ราเคีโออิมมูโนแอสเสย์

Assay Variance	morphine concentration (ng/cm ³)		
	10	15	25
Within assay			
\bar{X} (n=3)	10.0	14.8	24.7
SD	0.5	0.8	1.6
%CV	5.1	5.3	6.6
Between assay			
\bar{X} (n=3)	9.9	14.2	24.6
SD	0.7	0.9	1.5
%CV	7.5	6.0	6.2

ตารางที่ 7 ความถูกต้องของการวิเคราะห์หอนุพันธ์มอร์ฟีนในน้ำนมด้วยวิธีราตีโอ-อิมมูโนแอสเสย์

Morphine added* (ng/cm ³)	Morphine measured (ng/cm ³)	Percentage recovery
10	9.9	98.0
15	14.2	95.6
25	24.6	98.3

* n = 3

FIG. 11 SPECIFICITY OF MORPHINE ANTIBODY

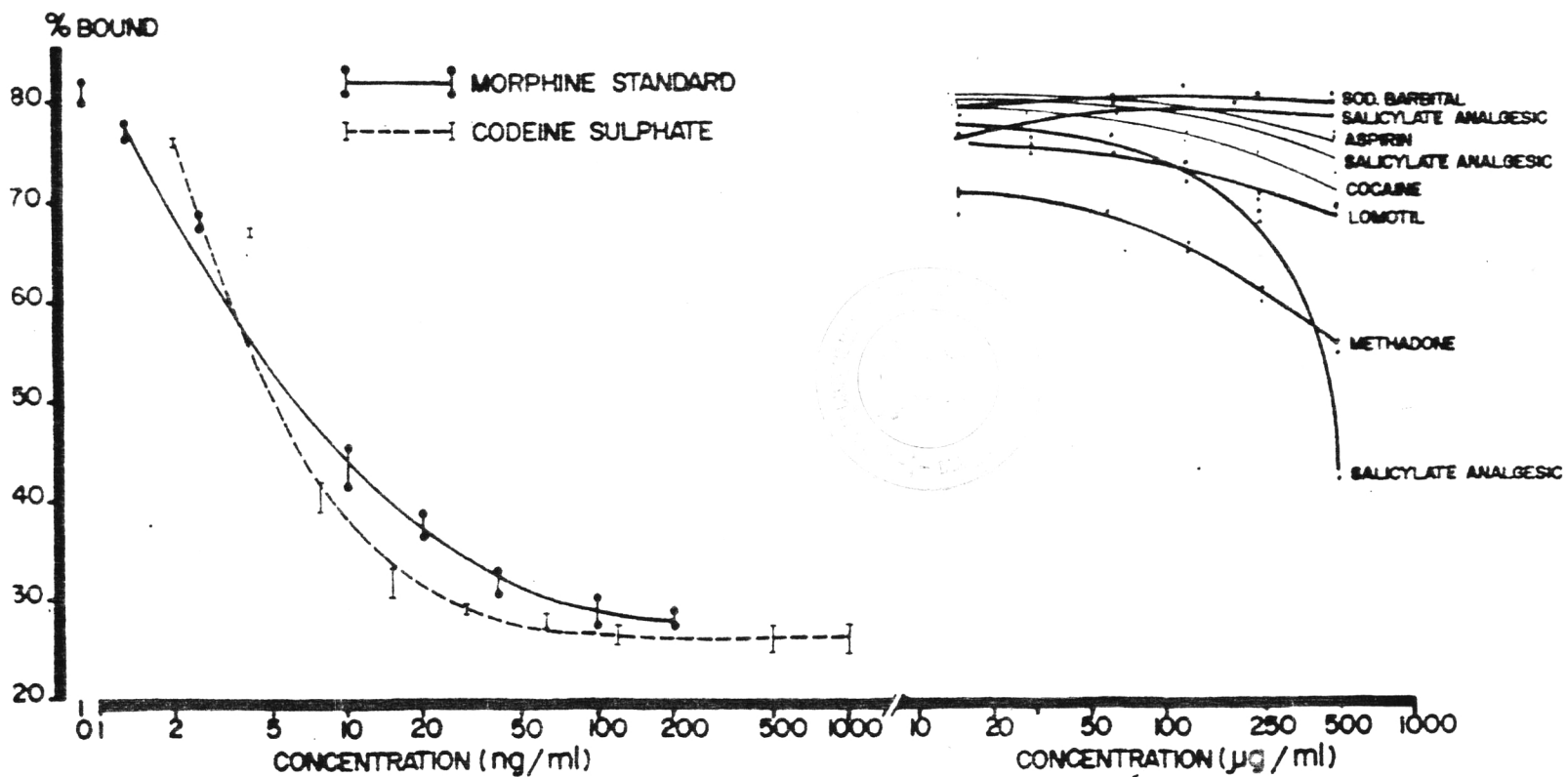
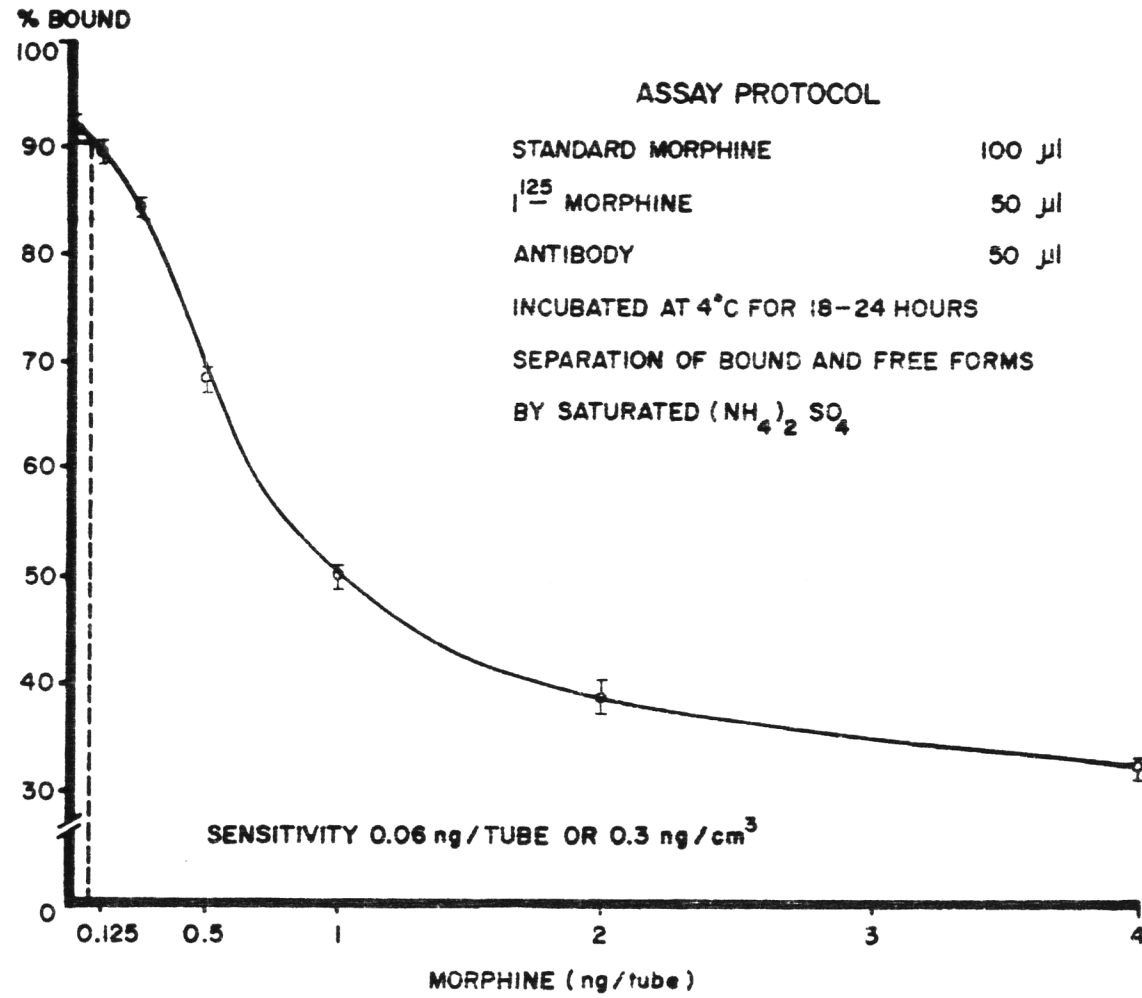


FIG.12 STANDARD CURVE OF MORPHINE RADIOIMMUNOASSAY IN HUMAN MILK



1.7 ผลการวิเคราะห์ปริมาณอนุพันธ์ฟีนในน้ำนมคนโดยวิธีราดิโออิมมูโนแอสเสย์

จากผลการหาปริมาณอนุพันธ์ฟีน ในน้ำนมสตรีชาวเขาที่ใช้สารประเภทฝิ่น 4 ราย และสตรีที่ใช้เฮโรอีน 1 ราย พบว่าปริมาณอนุพันธ์ฟีนในน้ำนมมีค่าสูงสุดถึง 243 นาโนกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร สำหรับในรายที่ 4 เก็บน้ำนมในวันเดียวกัน พบปริมาณอนุพันธ์ฟีนในน้ำนมที่เก็บแต่ละครั้ง 3 ครั้ง มีค่าแตกต่างกัน คือ 56, 243 และ 109 นาโนกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 ปริมาณอนุพันธ์ฟีนในน้ำนมสตรีที่ติดยาเสพติด 5 ราย

รายที่	ครั้งที่เก็บ	วันที่	เวลา	ปริมาณอนุพันธ์ฟีน (นาโนกรัมต่อลูกบาศก์เซนติ- เมตร)
1	1	1 กค.22	8.00 น.	9
	2	1 กค.22	13.00 น.	24
2	1	-	-	0
	2	-	-	0
	3	-	-	0
3	1	28 พค.22	-	29
	2	28 พค.22	-	29
4	1	5 กค.22	-	56
	2	5 กค.22	-	243
	3	5 กค.22	-	109
	4	6 กค.22	-	44
5	1	25 กค.22	14.45 น.	38

- ไม่ทราบวันและเวลาที่เก็บ
- รายที่ 1-4 เป็นน้ำนมสตรีชาวเขาติดยาฝิ่น
- รายที่ 5 เป็นน้ำนมสตรีที่ติดเฮโรอีน

1.8 ผลการวิเคราะห์ปริมาณอนุพันธ์ฟีนในน้ำนมคนเปรียบเทียบกับในปัสสาวะโดยวิธีราดิโออิมมูโนแอสเสย์

การศึกษารูปแบบการขับถ่ายอนุพันธ์ฟีนในน้ำนมเปรียบเทียบกับในปัสสาวะในคนไข้ที่ใช้เฮโรอีนเบอร์ 4 ที่ได้รับการรักษาด้วยเมทาโดน เพื่อออกยา (รูปที่ 13) พบว่า

ระดับอนุพันธมอร์ฟีนในน้ำนมและในปัสสาวะก่อนการรักษาเป็น 292 และ 39,375 นาโนกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ตามลำดับ ระหว่างการรักษาระดับอนุพันธมอร์ฟีนในน้ำนมกับในปัสสาวะแปรตามกัน คือ ถ้าระดับอนุพันธมอร์ฟีนในปัสสาวะสูงระดับอนุพันธมอร์ฟีนในน้ำนมก็จะสูงด้วย มีข้อน่าสังเกต คือ ระดับอนุพันธมอร์ฟีนทั้งในน้ำนมและปัสสาวะมีค่าสูงต่ำสลับกันอยู่ตลอดเวลาของการรักษาทั้ง 26 วัน ตั้งแต่วันที่ 20 ของการรักษาเป็นต้นไป ระดับอนุพันธมอร์ฟีนทั้งในน้ำนมและในปัสสาวะมีค่าสูงเกือบจะเท่ากับก่อนการรักษา จนกระทั่งวันที่ 26 ของการรักษาคนไข้หยุดรักษาและกลับไปใช้เฮโรอีนอีก ระดับอนุพันธมอร์ฟีนในน้ำนมและในปัสสาวะในระยะนี้สูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเจน ก่อนที่คนไข้จะกลับไปรักษาอีก เป็นครั้งที่ 2 พบว่าระดับอนุพันธมอร์ฟีนในน้ำนมและในปัสสาวะขึ้นสูงถึง 855 และ 165,312 นาโนกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อรักษาครั้งที่ 2 ระดับอนุพันธมอร์ฟีนทั้งในน้ำนมและในปัสสาวะค่อย ๆ ลดลง แต่สังเกตได้ว่าระดับอนุพันธมอร์ฟีนในน้ำนมระหว่างการรักษาครั้งที่ 2 ก่อนข้างต่ำกว่าการรักษาครั้งแรก หลังจากวันที่ 12 ของการรักษาครั้งที่ 2 คนไข้หยุดไป 2 วัน ปรากฏว่าระดับอนุพันธมอร์ฟีนในน้ำนมและในปัสสาวะสูงขึ้นอีก วันสุดท้ายของการรักษา ระดับอนุพันธมอร์ฟีนในปัสสาวะขึ้นสูงถึง 262,500 นาโนกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ขณะที่ระดับอนุพันธมอร์ฟีนในน้ำนมเป็น 78 นาโนกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร จากการติดตามผลการรักษา โดยวิธีนี้พอจะสรุปได้ว่าปริมาณอนุพันธมอร์ฟีนในน้ำนมและในปัสสาวะให้ผลโดยเฉลี่ยแปรตามกัน

2. ผลการวิเคราะห์ปริมาณอนุพันธมอร์ฟีนในข้าวสารโดยวิธีราติโออิมมูโนแอสเสย์

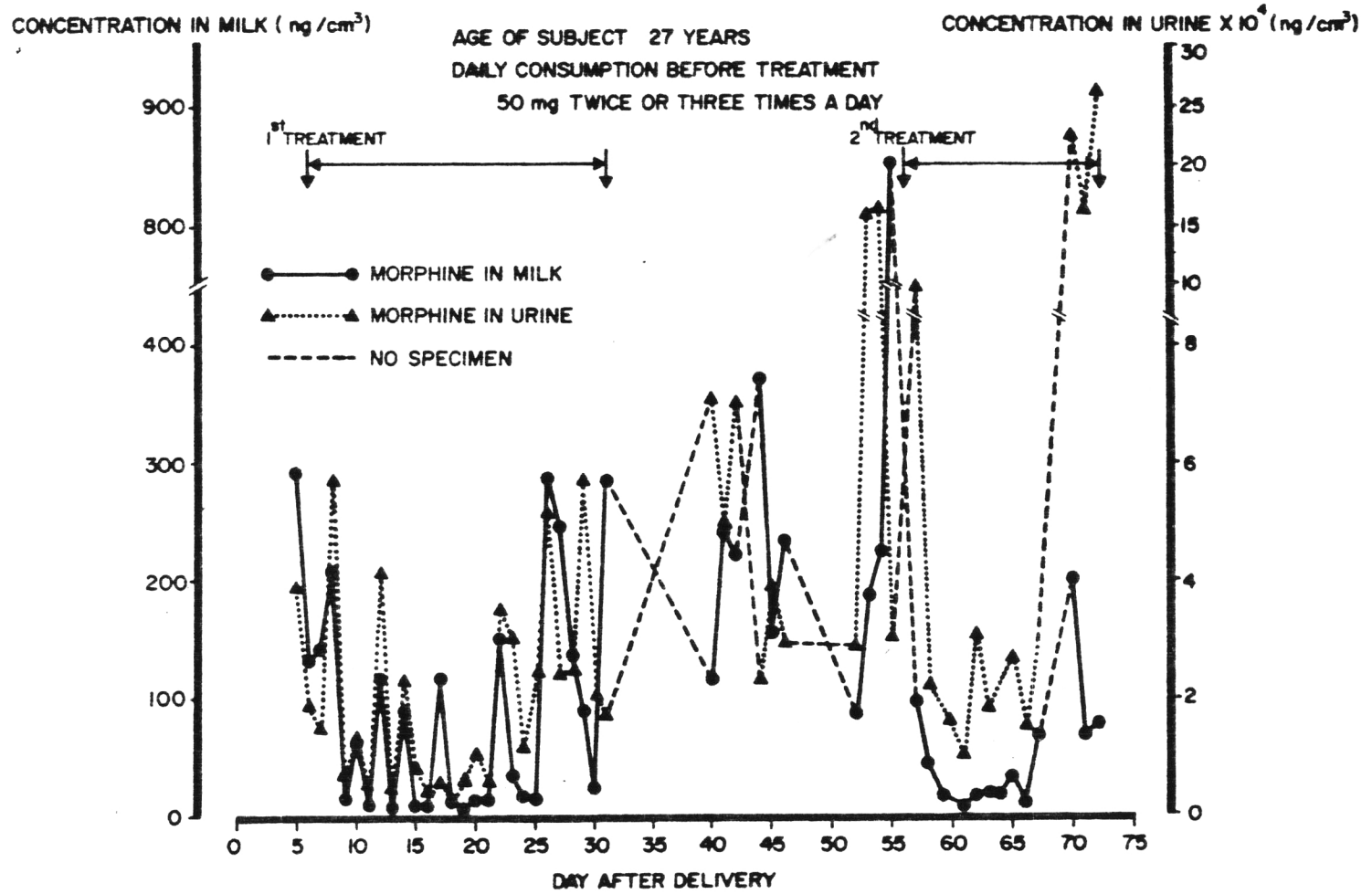
จากการวิเคราะห์ข้าวสารปกติ ไม่พบอนุพันธมอร์ฟีน แต่ในข้าวสารตัวอย่างพบอนุพันธมอร์ฟีนเพียงเล็กน้อย มีค่าอยู่ระหว่าง 0.43 ถึง 2.5 นาโนกรัมต่อข้าวสาร 1 กรัม (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 ปริมาณอนุพันธมอร์ฟีนในข้าวสารปกติ และข้าวสารตัวอย่าง

ข้าวสาร	ปริมาณอนุพันธมอร์ฟีน (นาโนกรัมต่อข้าวสาร 1 กรัม)
ข้าวสารปกติ	--
ข้าวสารตัวอย่างที่ 1	0.43
ข้าวสารตัวอย่างที่ 2	2.5
ข้าวสารตัวอย่างที่ 3	0.45
ข้าวสารตัวอย่างที่ 4	1.72
ข้าวสารตัวอย่างที่ 5	2.25
ข้าวสารตัวอย่างที่ 6	2.47

-- = ตรวจไม่พบ

FIG.13 EXCRETION PROFILE OF MORPHINE LIKE SUBSTANCE IN MILK AND URINE OF A HEROIN ADDICTED WOMAN



3. ผลการวิเคราะห์ปริมาณอนุพันธ์อินทรีย์ในเมล็ดพืชโดยวิธีธาตุไอโอดีนในแอสเสย์

เมื่อนำตัวอย่างเมล็ดพืชไปวิเคราะห์หาปริมาณอนุพันธ์อินทรีย์ พบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 2,162 ถึง 6,118 นาโนกรัมต่อเมล็ดพืช 1 กรัม (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 ปริมาณอนุพันธ์อินทรีย์ในเมล็ดพืช

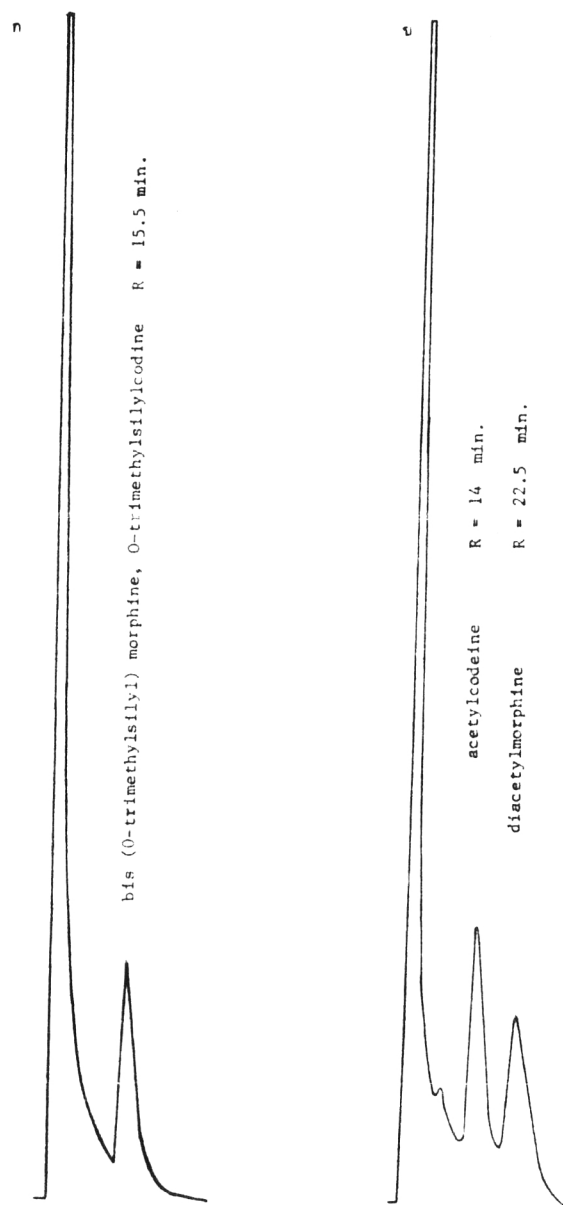
ตัวอย่างเมล็ดพืช	ปริมาณอนุพันธ์อินทรีย์ (นาโนกรัมต่อเมล็ดพืช 1 กรัม)
1	5,000
2	4,737
3	2,162
4	6,118

4. ผลการวิเคราะห์มอร์ฟีนและโคเคอินในเมล็ดฝิ่น และข้าวสารโดยวิธีแก๊สโครมาโตกราฟี

ในรายงานนี้แสดงผลการศึกษา ความสามารถของคอลัมน์ 3 ชนิด ในการวิเคราะห์อนุพันธ์มอร์ฟีนและโคเคอิน 2 ชนิด โดยใช้ดีเทคเตอร์ 2 แบบ เริ่มจากการหาสภาวะที่เหมาะสมของคอลัมน์ 3 ชนิด เมื่อใช้ดีเทคเตอร์แบบ FID เพื่อวิเคราะห์อนุพันธ์แบบอะเซทิลเลชันและซิลิเลชัน เมื่อได้คอลัมน์ที่เหมาะสมแล้ว จึงนำคอลัมน์นี้ไปศึกษาเปรียบเทียบการใช้ดีเทคเตอร์แบบ FID และ TSD แล้วจึงนำคอลัมน์และสภาวะที่เหมาะสมไปใช้วิเคราะห์มอร์ฟีนและโคเคอินในเมล็ดฝิ่นและข้าวสาร

4.1 ผลการศึกษาเพื่อหาชนิดของคอลัมน์ และสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์มอร์ฟีนและโคเคอิน

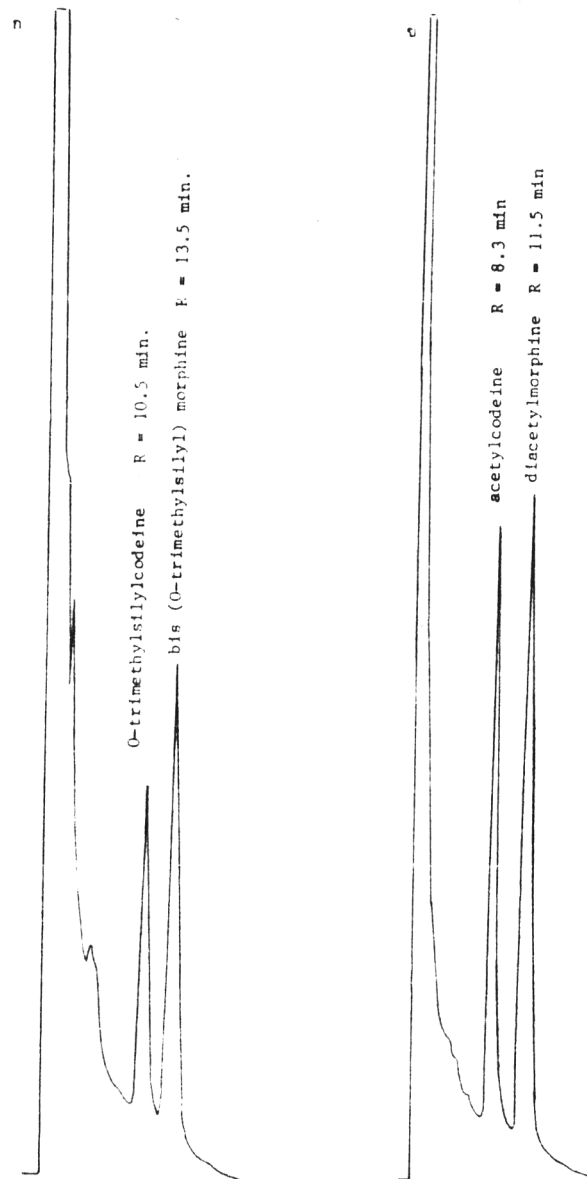
ผลการวิเคราะห์อนุพันธ์แบบอะเซทิลเลชัน และซิลิเลชันของมอร์ฟีนและโคเคอินด้วยคอลัมน์ 3 ชนิด โดยใช้ดีเทคเตอร์แบบ FID ในสภาวะที่เหมาะสมสำหรับคอลัมน์ และอนุพันธ์แต่ละชนิด ได้โครมาโตแกรม ดังรูปที่ 14, 15, 16 ปรากฏว่าคอลัมน์ที่บรรจุด้วย 3% SE-30 บน Gas Chrom Z ขนาด 100-120 mesh ให้ peak อนุพันธ์ของมอร์ฟีนและโคเคอินแคบ มี symmetry และ peak ของอนุพันธ์ 2 ชนิด ทั้งของมอร์ฟีนและโคเคอิน แยกกันอย่างชัดเจน นอกจากนี้ค่า retention time จากการใช้คอลัมน์นี้มีค่าน้อยกว่าเมื่อใช้คอลัมน์อีก 2 ชนิด (ตารางที่ 11) เมื่อใช้คอลัมน์นี้ไปวิเคราะห์อนุพันธ์แบบอะเซทิลเลชันของมอร์ฟีนและโคเคอิน เปรียบเทียบการใช้ดีเทคเตอร์แบบ FID กับ TSD ปรากฏว่าได้โครมาโตแกรม ดังรูปที่ 17 เห็นได้ว่าการใช้ TSD ให้ผลการแยกคล้ายกับการใช้ FID แต่ retention time เมื่อใช้ TSD จะนานกว่าเมื่อใช้ FID เล็กน้อย (ตารางที่ 12) ในการทดลองต่อไป ได้ใช้คอลัมน์และสภาวะนี้ในการวิเคราะห์อนุพันธ์ของมอร์ฟีนและโคเคอินในสารตัวอย่าง โดยใช้ดีเทคเตอร์ทั้ง 2 แบบ



รูปที่ 14 โครมาโตแกรมแสดงอนุพันธ์แบบซิลิเลชั่น (ก) และอะเซทิลเลชั่น (ข) ของมอร์ฟีนและโคเดอีนโดยใช้คอลัมน์ 3% OV-17 บน Chromosorp WHP (80-100 mesh)

สารตัวอย่าง มอร์ฟีน 175 นาโนกรัม และโคเดอีน 85 นาโนกรัม ผ่านการสกัดตามวิธีในข้อ 9.1 เตรียมอนุพันธ์แบบซิลิเลชั่น (ข้อ 9.6.2) และอะเซทิลเลชั่น (ข้อ 9.6.1)

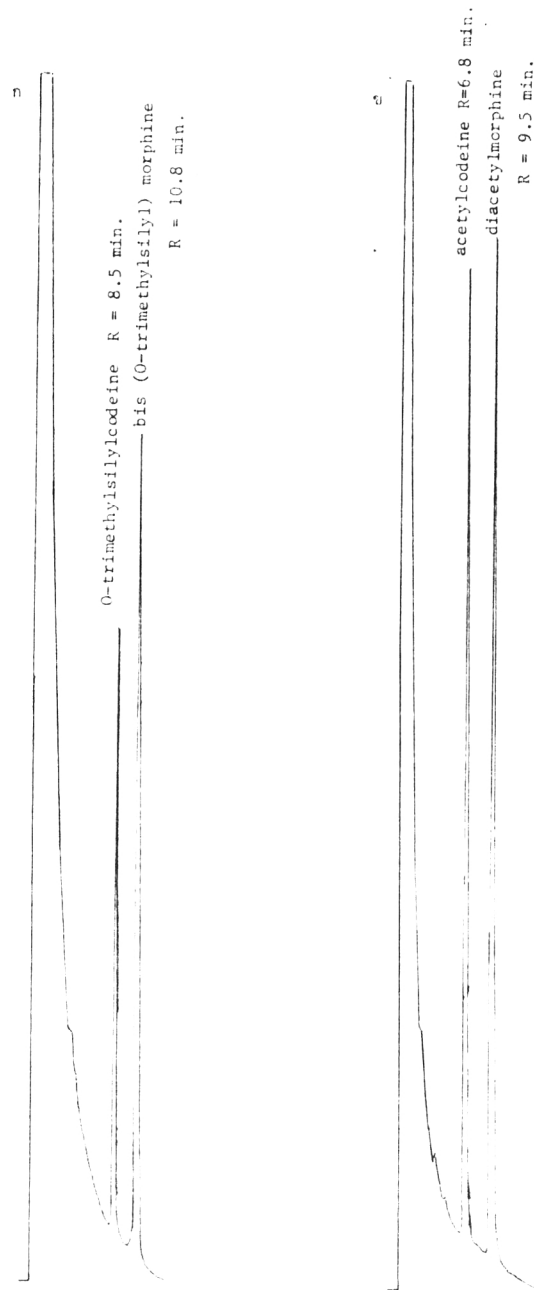
Chart Speed	0.1 ซม. ต่อ นาที	Carrier Gas	ไนโตรเจน 30 ลบ. ซม. ต่อ นาที
Attenuation	32×10^{-12}	อุณหภูมิคอลัมน์	รูป ก. 230°C รูป ข. 240°C
ขนาดคอลัมน์	คอลัมน์แก้วขนาด 2ม. x 2มม.	อุณหภูมิอินเจคเตอร์	260°C
Column Packing	3% OV-17 บน Chromosorp WHP (80-100 mesh)	อุณหภูมิดีเทคเตอร์	280°C
		ชนิดดีเทคเตอร์	FID



รูปที่ 15 โครมาโตแกรมแสดงอนุพันธ์แบบซิลิเลชัน (ก) และอะเซทิลเลชัน (ข) ของมอร์ฟีนและโคเคอินโดยใช้คอลัมน์ 5% OV-101 บน Chromosorp GHP (100-120 mesh)

สารตัวอย่าง มอร์ฟีน 175 นาโนกรัม และโคเคอิน 85 นาโนกรัม ผ่านการสกัดตามวิธีในข้อ 9.1 เครื่องอนุพันธ์แบบซิลิเลชัน (ข้อ 9.6.2) และอะเซทิลเลชัน (ข้อ 9.6.1)

Chart Speed	0.2 ซม.ต่อวินาที	Carrier Gas	ไนโตรเจน 30 ลบ.ซม.ต่อนาที
Attenuation	32×10^{-12}	อุณหภูมิคอลัมน์	รูป ก. 210°C รูป ข. 220°C
ขนาดคอลัมน์	คอลัมน์เส้นตรงขนาด 2 ม. x 2 มม.	อุณหภูมิอินเจกเตอร์	260°C
Column Packing	5% OV-101 บน Chromosorp GHP (100-120 mesh)	อุณหภูมิดีเทกเตอร์	280°C
		ชนิดดีเทกเตอร์	FID



รูปที่ 16 โครมาโตแกรมแสดงอนุพันธ์แบบซิลิเลชัน (ก) และอะเซทิลเลชัน (ข) ของมอร์ฟีนและโคเดอีนโดยใช้คอลัมน์ 3% SE-30 บน Gas Chrom Z (100-120 mesh)

สารตัวอย่าง มอร์ฟีน 175 นาโนกรัมและโคเดอีน 85 นาโนกรัม ผ่านการสกัดตามวิธีในข้อ 9.1 เครื่องอนุพันธ์แบบซิลิเลชัน (ข้อ 9.6.2) และอะเซทิลเลชัน (ข้อ 9.6.1)

Chart Speed	0.2 ซม.ต่อนาที	Carrier Gas	ไนโตรเจน 30 ลบ.ซม.ต่อนาที
Attenuation	32×10^{-12}	อุณหภูมิคอลัมน์	รูป ก. 210°C รูป ข. 220°C
ขนาดคอลัมน์	คอลัมน์แก้วขนาด 2ม. x 2 มม.	อุณหภูมิอินเจคเตอร์	260°C
Column Packing	3% SE-30 บน Gas Chrom Z (100-120 mesh)	อุณหภูมิไฟฟลैท	280°C
		ชนิดไฟฟลैท	FID

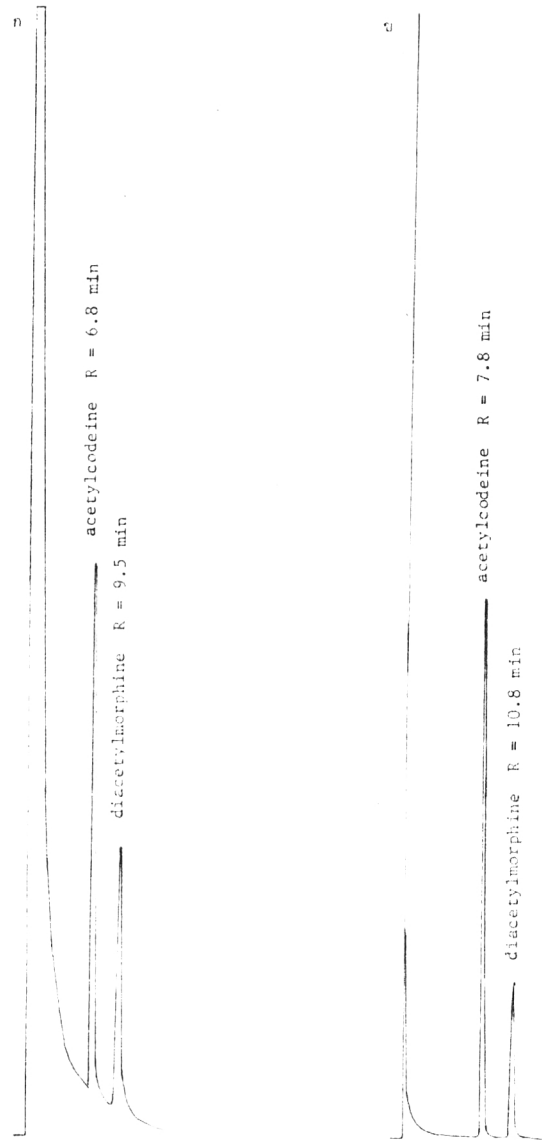
ตารางที่ 11 Retention time ของอนุพันธ์แบบอะเซทิลเลชันและซิลิลเลชันของมอร์ฟีนและโคเคอีน

ชนิดคอลัมน์	คอลัมน์แก้วขนาด 2ม. x 2มม. 3% OV-17 บน Chromosorp WHP (100-100 mesh)		คอลัมน์สแตนเลส 0.5 ม. x 2 มม. 5% OV-101 บน Chromosorp GHP (100-120 mesh)		คอลัมน์แก้วขนาด 2 ม. x 2 มม. 3% SE-30 บน Gas Chrom Z (100-120 mesh)	
	อะเซทิลเลชัน	ซิลิลเลชัน	อะเซทิลเลชัน	ซิลิลเลชัน	อะเซทิลเลชัน	ซิลิลเลชัน
อุณหภูมิคอลัมน์ (องศาเซลเซียส)	240	230	210	200	220	210
Retention time (นาที)						
อนุพันธ์ของโคเคอีน	14	15.5	8.3	10.5	6.8	8.5
อนุพันธ์ของมอร์ฟีน	22.5	15.5	11.5	13.5	9.5	10.8

อนุพันธ์ของโคเคอีนโดยอะเซทิลเลชัน คือ acetylcodeine
 อนุพันธ์ของโคเคอีนโดยซิลิลเลชัน คือ O-trimethylsilylcodeine
 อนุพันธ์ของมอร์ฟีนโดยอะเซทิลเลชัน คือ diacetylmorphine
 อนุพันธ์ของมอร์ฟีนโดยซิลิลเลชัน คือ bis-(O-trimethylsilyl) morphine

ตารางที่ 12 Retention time ของอนุพันธ์แบบอะเซทิลเลชันของมอร์ฟีนและโคเคอีน

ชนิดคอลัมน์	คอลัมน์แก้วขนาด 2 ม. x 2 มม. 3% SE-30 บน Gas Chrom Z (100-120 mesh)	
ชนิดดีเทคเตอร์	FID	TSD
Retention time (นาที)		
acetylcodeine	6.8	7.8
diacetylmorphine	9.5	10.8



รูปที่ 17 โคโรมาโตแกรมของอนุพันธ์ แบบอะเซทิลเลชันของมอร์ฟีนและโคเคอีน เปรียบเทียบระหว่างดีเทคเตอร์ FID, (ก) และ TSD (ข)

สารตัวอย่าง รูป ก. มอร์ฟีนและโคเคอีนอย่างละ 100 นาโนกรัม รูป ข. มอร์ฟีนและโคเคอีนอย่างละ 50 นาโนกรัม
 ผ่านการสกัดตามข้อ 9.1 เติชมอนุพันธ์แบบซิติเลชัน (ข้อ 9.6.2) และอะเซทิลเลชัน (ข้อ 9.6.1)

Chart Speed	0.2 ซม.ต่อนาที	Carrier Gas	ไนโตรเจน 30 ลบ.ซม.ต่อนาที
Attenuation	รูป ก. 64×10^{-12} รูป ข. 32×10^{-12}	อุณหภูมิคอลัมน์	220°C
ขนาดคอลัมน์	คอลัมน์แก้วขนาด 2ม. x2มม.	อุณหภูมิอินเจคเตอร์	260°C
Column Packing	3% SE-30 บน Gas Chrom Z (100-120 mesh)	อุณหภูมิดีเทคเตอร์	280°C
		ชนิดดีเทคเตอร์	รูป ก. FID รูป ข. TSD

4.2 ผลการวิเคราะห์มอร์ฟินและโคเคอินในเมล็ดฝิ่น

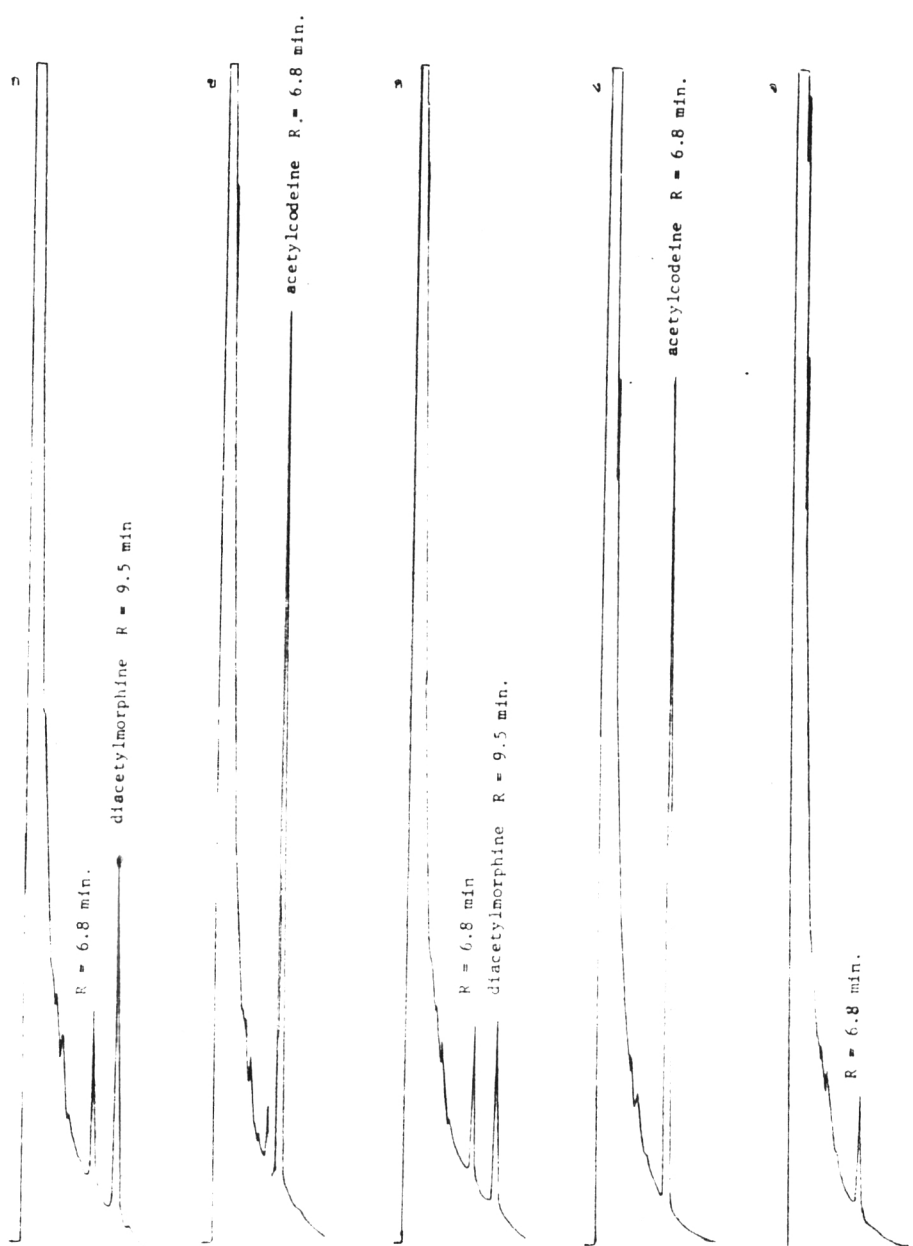
4.2.1 ผลการวิเคราะห์สารจากเมล็ดฝิ่นที่ทำให้บริสุทธิ์ขึ้นโดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี ก่อนเตรียมอนุพันธ์โดย อะเซทิลเลชัน เมื่อใช้ดีเทคเตอร์แบบ FID และ TSD

ผลการวิเคราะห์สารจากเมล็ดฝิ่น 4 ตัวอย่างเมื่อสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม และทำให้บริสุทธิ์ขึ้นโดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี เตรียมอนุพันธ์โดยอะเซทิลเลชัน และวิเคราะห์ด้วยดีเทคเตอร์แบบ FID, เปรียบเทียบกับ TSD ได้โครมาโตแกรมดังรูปที่ 18 และ 19 ตามลำดับ จะเห็นว่า เมื่อใช้ FID แผลงค์ให้ peak มีค่า retention time เท่ากับ acetylcodeine คือ 6.8 นาที แต่ peak ค่อนข้างต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับ peak ของ acetylcodeine ในสารตัวอย่างและสารมาตรฐาน เมื่อใช้ TSD ในแผลงค์มี peak ที่ retention time 5.3 นาที แต่ไม่ตรงกับตำแหน่งของ acetylcodeine หรือ diacetylmorphine นอกจากนี้จะเห็นว่า เมื่อใช้ FID peak ของตัวทำละลายกว้างกว่าเมื่อใช้ TSD แต่อย่างไรก็ตาม สามารถใช้ดีเทคเตอร์ ทั้ง 2 แบบ เพื่อวิเคราะห์มอร์ฟินและโคเคอินเชิงคุณภาพในเมล็ดฝิ่นได้

4.2.2 ผลการวิเคราะห์สารจากเมล็ดฝิ่นที่ทำให้บริสุทธิ์ขึ้นโดยวิธี Back extraction ก่อนเตรียมอนุพันธ์ โดยอะเซทิลเลชันและซิลิเลชัน เมื่อใช้ดีเทคเตอร์แบบ FID

เมื่อสกัดเมล็ดฝิ่นด้วยคลอโรฟอร์มและทำให้บริสุทธิ์ขึ้นโดยวิธี back extraction แล้ววิเคราะห์เปรียบเทียบอนุพันธ์แบบอะเซทิลเลชันและซิลิเลชัน ได้โครมาโตแกรม ดังรูปที่ 20 และ 21 ตามลำดับ เห็นได้ว่าการเตรียมอนุพันธ์ทั้ง 2 แบบ ให้รูปแบบของโครมาโตแกรมที่มี peak ของสิ่งเจือปนติดกับ peak อนุพันธ์ของมอร์ฟินและ peak ตัวทำละลายของอนุพันธ์แบบอะเซทิลเลชัน แคบกว่าตัวทำละลายของอนุพันธ์แบบซิลิเลชัน อนุพันธ์แบบอะเซทิลเลชันให้แผลงค์ที่มี peak ตรงกับ acetylcodeine peak นี้ไม่ปรากฏในแผลงค์เมื่อเตรียมอนุพันธ์โดยซิลิเลชัน แต่จะพบ peak เล็ก ๆ ที่ตรงกับ Bis - (O-trimethylsilyl) morphine แทน อย่างไรก็ตาม สามารถใช้การเตรียมอนุพันธ์ทั้ง 2 แบบ เพื่อวิเคราะห์มอร์ฟินและโคเคอินเชิงคุณภาพในเมล็ดฝิ่นได้

เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์สารจากเมล็ดฝิ่น ที่ทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟีและวิธี back-extraction จากรูปที่ 18 และ 20 พบว่าการทำให้สารที่สกัดได้บริสุทธิ์ทั้ง 2 วิธี ให้ผลไม่แตกต่างกันในการวิเคราะห์มอร์ฟินและโคเคอินเชิงคุณภาพในเมล็ดฝิ่น วิธีแรกมีข้อดีกว่า คือ สามารถกำจัด peak ของสิ่งเจือปนที่ติดกับ peak ของ diacetylmorphine ได้



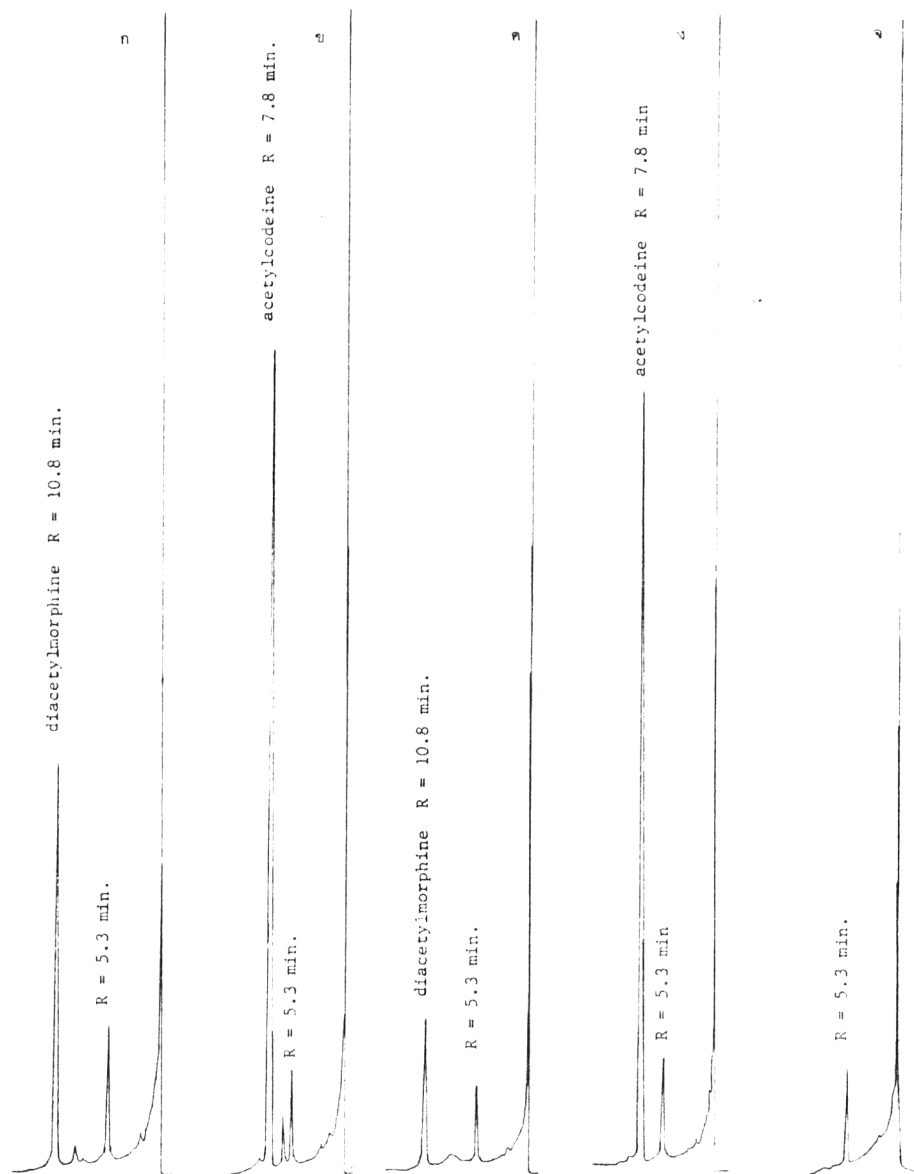
รูปที่ 18 โครมาโตแกรม แสดงผลการวิเคราะห์สารจากเมล็ดฝิ่น ที่ทำให้บริสุทธิ์ โดยวิธีดินเลเซอร์โครมาโตกราฟี และ เครื่องอนุพันธ์แบบอะเซทิลเลชั่น เมื่อใช้ดีเทคเตอร์ FID

สารตัวอย่าง (ก,ข) สกัดเมล็ดฝิ่น (ข้อ 9.2.2) ทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีดินเลเซอร์โครมาโตกราฟี (ข้อ 9.4) เครื่องอนุพันธ์โดยวิธีอะเซทิลเลชั่น (ข้อ 9.6.1)

สารมาตรฐาน (ค,ง) มอร์ฟีน 100 นาโนกรัม และโคเคอีน 100 นาโนกรัม ผ่านขั้นตอนในข้อ 9.4 และ 9.6.1

แหล่งที่ (จ) จากข้อ 9.4

Chart Speed	0.2 ซม. ต่อวินาที	Carrier Gas	ไนโตรเจน 30 ลบ.ซม. ต่อ นาที
Attenuation	32 x 10 ⁻¹²	อุณหภูมิคอลัมน์	220°C
ขนาดคอลัมน์	คอลัมน์แก้วขนาด 2 ม. x 2 มม.	อุณหภูมิอินเจคเตอร์	260°C
Column Packing	3% SE-30 บน Gas Chrom Z (100-120 mesh)	อุณหภูมิดีเทคเตอร์	280°C
		ชนิดดีเทคเตอร์	FID



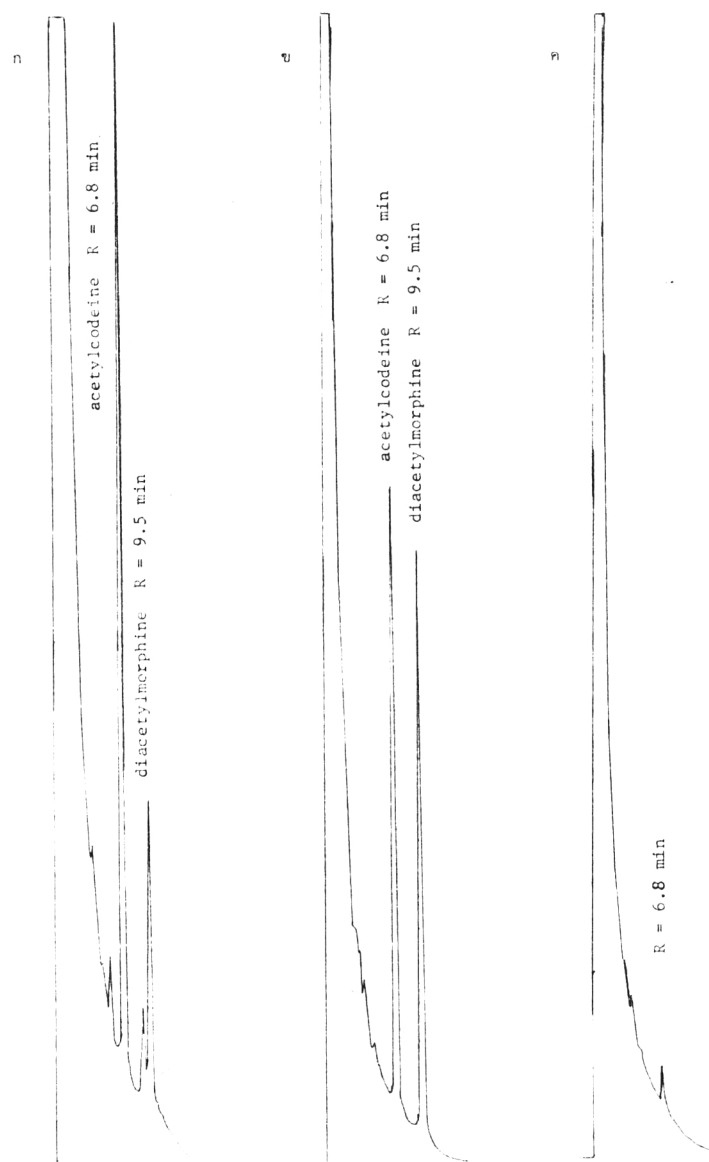
รูปที่ 19 โครมาโตแกรมแสดงผลการวิเคราะห์สารจากเมล็ดฝิ่นที่ก่อให้เกิดริ้วรอยด้วยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี และเตรียมอนุพันธ์แบบอะซีทิลเลชัน เมื่อใช้ดีเทคเตอร์ TSD

สารตัวอย่าง (ก,ข) สกัดเมล็ดฝิ่น (ข้อ 9.2.2) ทำให้บริสุทธิ์ โดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี (ข้อ 9.4) เตรียมอนุพันธ์โดยวิธีอะซีทิลเลชัน (ข้อ 9.6.1)

สารมาตรฐาน (ค,ง) มอร์ฟีน 100 นาโนกรัม โคเคอีน 100 นาโนกรัม ผ่านขั้นตอนในข้อ 9.4 และ 9.6.1

แปลงค์ (จ) จากข้อ 9.4

Chart Speed	0.2 ซม.ต่อนาที	Carrier Gas	ไนโตรเจน 30 ลบ.ซม.ต่อนาที
Attenuation	32×10^{-12}	อุณหภูมิคอลัมน์	220°C
ขนาดคอลัมน์	คอลัมน์แก้วขนาด 2 ม. x 2 มม.	อุณหภูมิอินเจคเตอร์	260°C
Column Packing	3% SE-30 บน Gas Chrom Z (100-120 mesh)	อุณหภูมิดีเทคเตอร์	280°C
		ชนิดดีเทคเตอร์	TSD
		Bead current	3.0



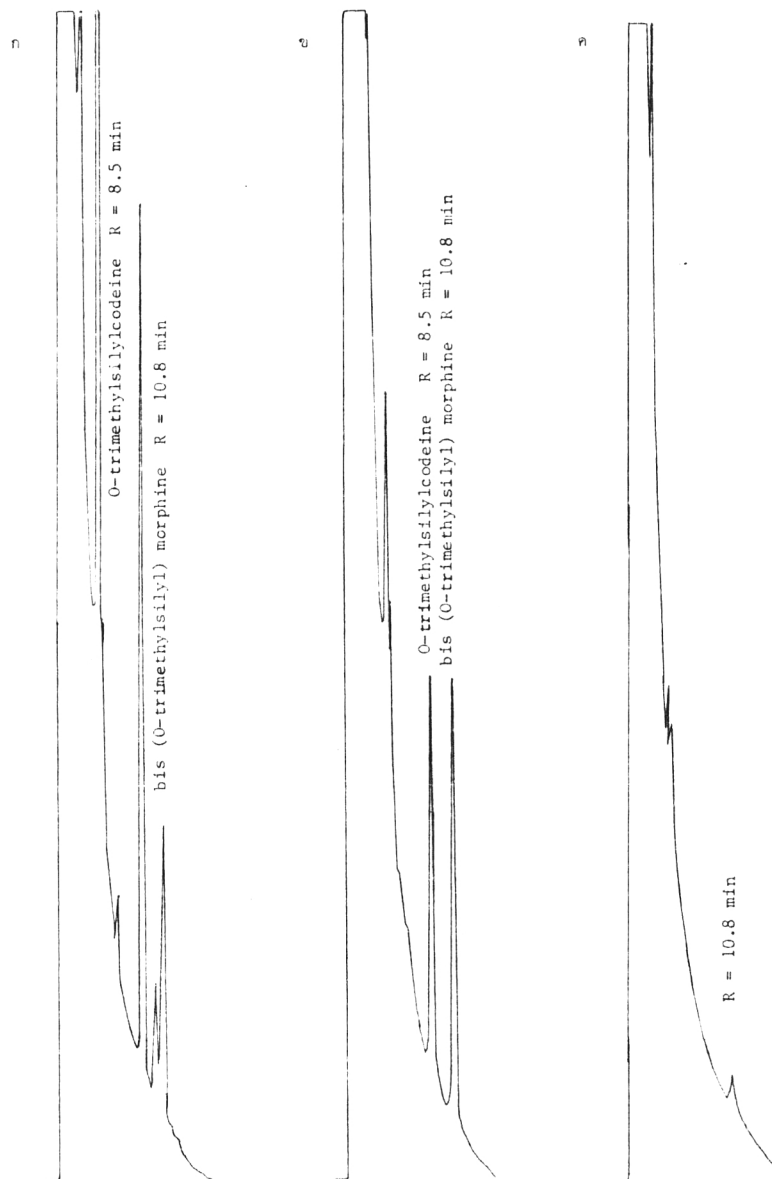
รูปที่ 20 โครมาโตแกรมแสดงผลการวิเคราะห์สารจากเมล็ดฝิ่นที่ทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี Back-extraction และเตรียมอนุพันธ์แบบอะเซทิลเลชัน

สารตัวอย่าง (ก) สกัดเมล็ดฝิ่น (ข้อ 9.2.2) ทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี Back-extraction (ข้อ 9.5) เตรียมอนุพันธ์ด้วยวิธีอะเซทิลเลชัน (ข้อ 9.6.1)

สารมาตรฐาน (ข) มอร์ฟีน 200 นาโนกรัม โคเคอิน 100 นาโนกรัม ผ่านขั้นตอนในข้อ 9.5 และ 9.6.1

แหล่ง (ค) จากข้อ 9.5

Chart Speed	0.2 ซม.ต่อนาที	Carrier Gas	ไนโตรเจน 30 ลบ.ซม.ต่อนาที
Attenuation	32×10^{-12}	อุณหภูมิคอลัมน์	220°C
ขนาดคอลัมน์	คอลัมน์แก้วขนาด 2 ม. x 2 มม.	อุณหภูมิอินเจคเตอร์	260°C
Column Packing	3% SE-30 บน Gas Chrom Z (100-120 mesh)	อุณหภูมิดีเทคเตอร์	280°C
		ชนิดดีเทคเตอร์	FID



รูปที่ 21 โครมาโตแกรมแสดงผลการวิเคราะห์สารจากเมล็ดฝิ่นที่ทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี Back-extraction และเตรียมอนุพันธ์แบบซิลิเลชัน

สารตัวอย่าง (ก) สกัดเมล็ดฝิ่น (ข้อ 9.2.2) ทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี Back-extraction (ข้อ 9.5) เตรียมอนุพันธ์โดยวิธีซิลิเลชัน (ข้อ 9.6.2)

สารมาตรฐาน (ข) มอร์ฟีน 200 นาโนกรัม โคเคอิน 100 นาโนกรัม ผ่านขั้นตอนในข้อ 9.5 และ 9.6.2

แปลงค์ (ค) จากข้อ 9.5

Chart Speed	0.2 ซม.ต่อนาที	Carrier Gas	ไนโตรเจน 30 ลบ.ซม.ต่อนาที
Attenuation	32×10^{-12}	อุณหภูมิคอลัมน์	220°C
ขนาดคอลัมน์	คอลัมน์แก้วขนาด 2 ม. x 2 มม.	อุณหภูมิอินเจคเตอร์	260°C
Column Packing	3% SE-30 บน Gas Chrom Z (100-120 mesh)	อุณหภูมิดีเทคเตอร์	280°C
		ชนิดดีเทคเตอร์	FID

4.3 ผลการวิเคราะห์มอร์ฟีนและโคเคอินกึ่งปริมาณในข้าวสาร และเมล็ดฝิ่น โดยวิธีแกสโครมาโตกราฟี

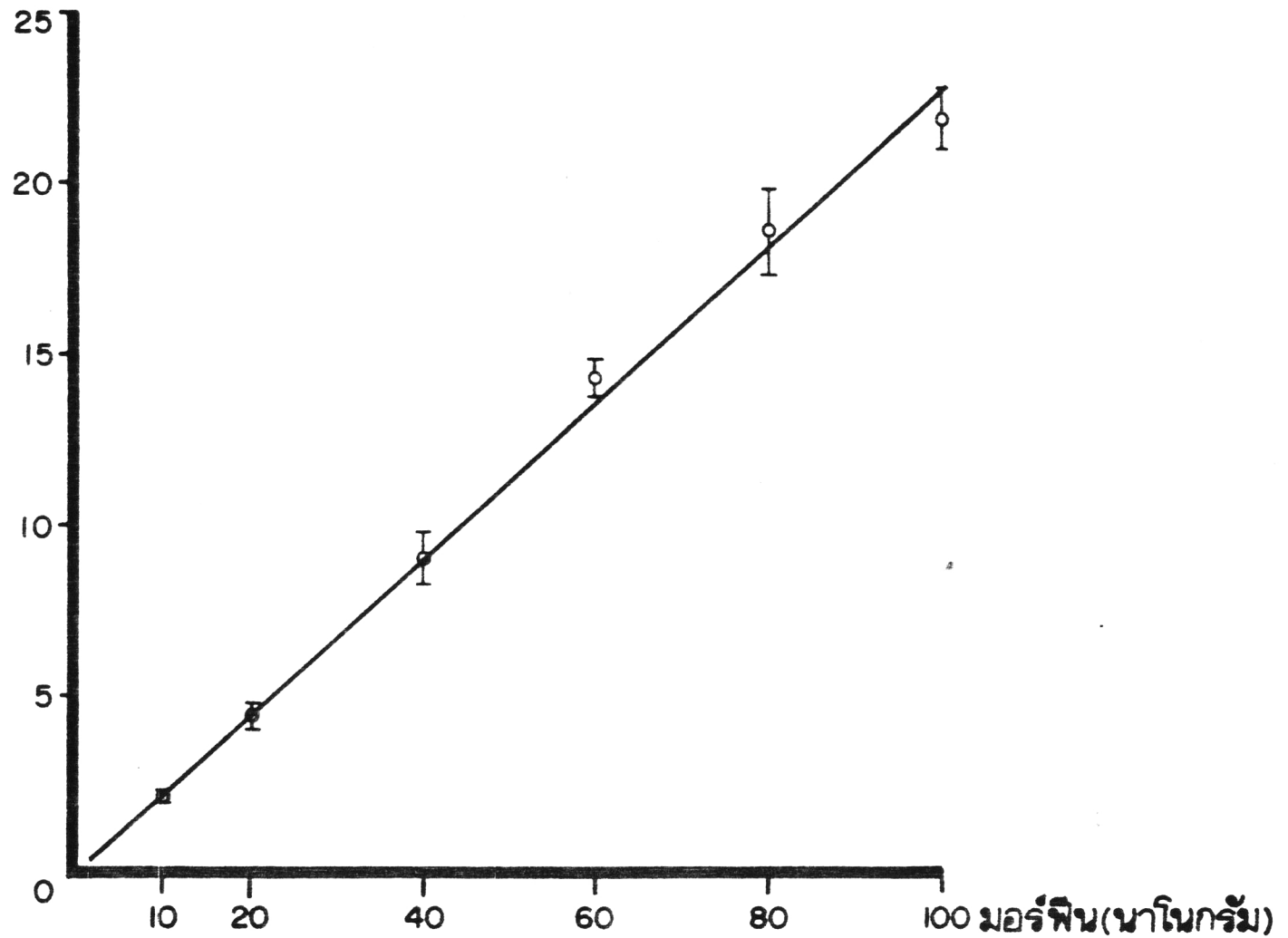
ผลการวิเคราะห์ข้าวสารเปรียบเทียบ และข้าวสารตัวอย่าง 4 ตัวอย่าง ให้ผลการวิเคราะห์เหมือนกัน คือไม่พบมอร์ฟีนและโคเคอิน (ตารางที่ 13) สำหรับเมล็ดฝิ่น 4 ตัวอย่าง วิเคราะห์โดยการทำให้สารที่สกัดได้บริสุทธิ์ 2 วิธีคือ ทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี และ back extraction นำไปเตรียมอนุพันธ์ โดยวิธีอะเซทิลเลชันและซิติลเลชัน วิเคราะห์โดยใช้ดีเทคเตอร์ FID และ TSD ให้ผลการวิเคราะห์เหมือนกันคือ พบมอร์ฟีนและโคเคอินเมื่อนำสารจากเมล็ดฝิ่นที่ทำให้บริสุทธิ์ โดยวิธี back extraction เตรียมอนุพันธ์ด้วยวิธีอะเซทิลเลชัน ไปอ่านค่าปริมาณมอร์ฟีนและโคเคอินจากกราฟมาตรฐานในรูปที่ 22 และ 23 ตามลำดับ พบว่าเมล็ดฝิ่นมีมอร์ฟีนมากกว่า 250 และโคเคอินมากกว่า 1,000 นาโนกรัมต่อเมล็ดฝิ่น 1 กรัม (ตารางที่ 13)

ตารางที่ 13 แสดงผลการวิเคราะห์มอร์ฟีนและโคเคอินกึ่งปริมาณของ เมล็ดฝิ่นและข้าวสาร โดยวิธีแกสโครมาโตกราฟี

สารตัวอย่าง	ปริมาณสาร (นาโนกรัมต่อสารตัวอย่าง 1 กรัม)	
	มอร์ฟีน	โคเคอิน
ข้าวสารตัวอย่างที่ 1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
เมล็ดฝิ่นตัวอย่างที่ 1	> 600	> 1,000
2	> 600	> 1,000
3	> 250	> 1,000
4	> 1,000	> 1,000

รูปที่ 22 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์มอร์ฟีนด้วยวิธีแก๊สโครมาโตกราฟี

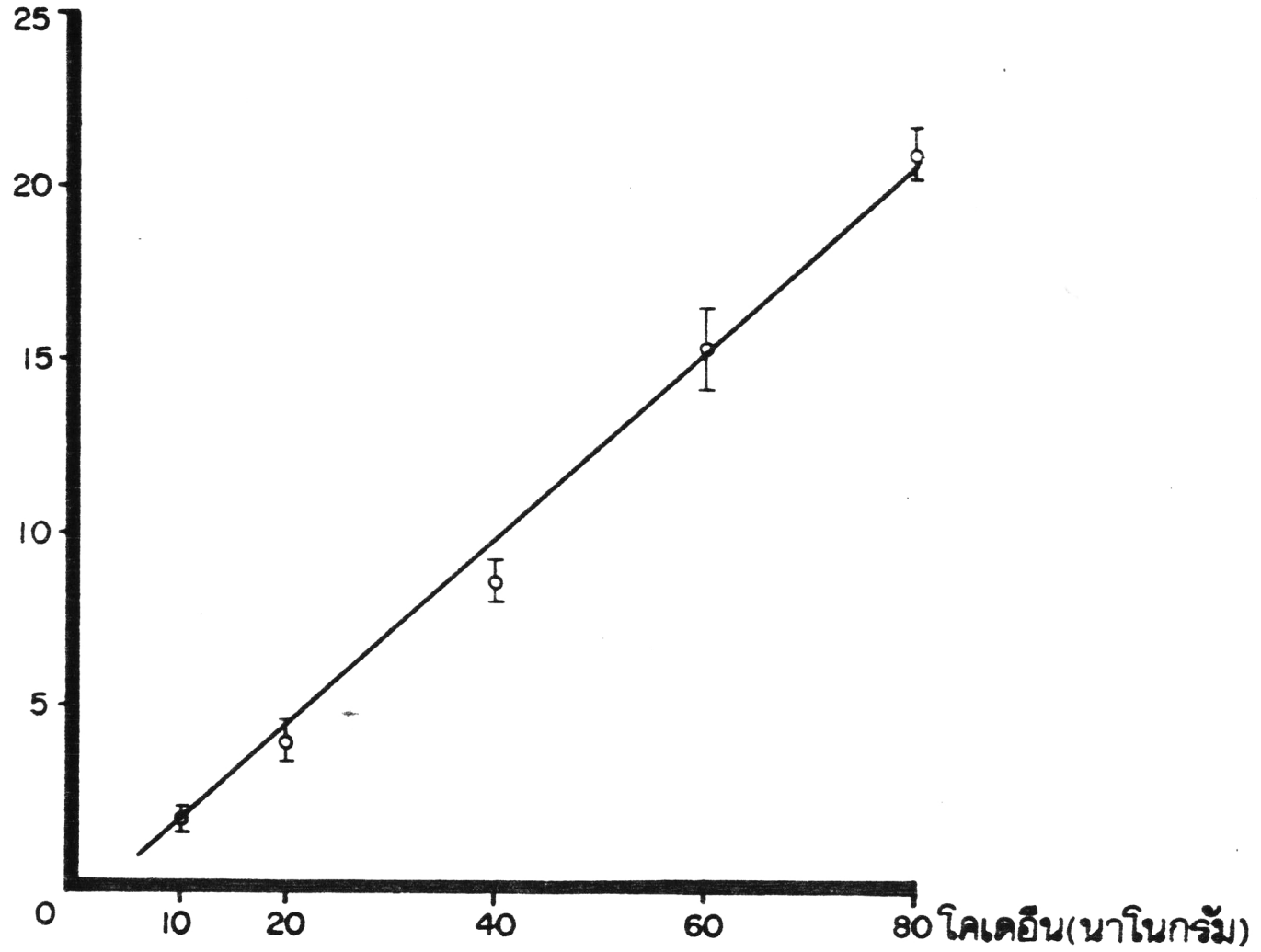
ความสูงของ PEAK (เซนติเมตร)



N = 2

รูปที่ 23 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์โคเดอีนด้วยวิธีแก๊สโครมาโตกราฟี

ความสูงของ PEAK (เซนติเมตร)



N = 2