

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

ได้ทำการศึกษาการแตกตัวของสารต้องห้ามกลุ่ม ยาปิดกั้นบีตา, อะแนบอลิก สเตอโรยด์ และยาขับปัสสาวะ และได้ทำการเลือก cone voltage ที่เหมาะสมที่สุดในการวิเคราะห์ สารแต่ละชนิด รวมทั้งได้ศึกษาผลของอัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อน โดยทดลองเปลี่ยนอัตราการไหลตั้งแต่ 0.2 ถึง 1.0 มล./นาที่ พบว่า อัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่เหมาะสมที่สุดในการวิเคราะห์ คือ 0.7 - 0.8 มล./นาที่ และได้ศึกษาผลของชนิดของวัฏภาคเคลื่อนที่มีต่อการวิเคราะห์ โดยได้ทดลองโดยใช้ตัวทำละลายดังนี้ acetonitrile : น้ำ ในอัตราส่วน 50 : 50, เมทานอล : น้ำ ในอัตราส่วน 70 : 30 และ เอทานอล : น้ำ ในอัตราส่วน 70 : 30 พบว่าชนิดของวัฏภาคเคลื่อนที่ไม่มีผลต่อการวิเคราะห์ จึงเลือกใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ชนิดเดียวกับตัวทำละลายที่ใช้ในการละลายสารมาตรฐาน และได้ศึกษาผลของ corona voltage โดยทดลองปรับ corona voltage ตั้งแต่ 3,000 โวลต์ ถึง 4,500 โวลต์ ปรากฏว่า การปรับ corona voltage ในช่วง 3,000 โวลต์ จนถึง 4,500 โวลต์ ไม่มีผลต่อการวิเคราะห์จึงเลือกใช้ corona voltage 3,000 โวลต์ในการวิเคราะห์สารต้องห้ามกลุ่มต่าง ๆ ดังนี้

การวิเคราะห์ยาปิดกั้นบีตา

จากการศึกษาการแตกตัวของยาปิดกั้นบีตาพบว่า ยาปิดกั้นบีตาทุกชนิดสามารถเห็นพีกของไอออนที่มีมวลเท่ากับมวลโมเลกุล + 1 ชัดเจน ยาปิดกั้นทุกตัวไม่เกิดการแตกตัวอย่างชัดเจนที่ cone voltage ต่ำกว่า 50 โวลต์ ยกเว้น Labetolol และ Nadolol ที่เกิดการแตกตัวอย่างชัดเจนที่ cone voltage 40 และ 50 โวลต์ ตามลำดับ จึงเลือกใช้ไอออนที่มีมวลเท่ากับมวลโมเลกุล + 1 ในการตรวจหา ยาปิดกั้นบีตา การตรวจหา ยาปิดกั้นบีตาควรระมัดระวัง Atenolol และ Metoprolol เป็นพิเศษเนื่องจากมีมวลโมเลกุลใกล้เคียงกันมาก โดยที่ Atenolol มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 266.3 Da. และ Metoprolol มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 267.4 Da. ซึ่งจะปรากฏพีกที่มีมวลเท่ากับ 267 และ 268 Da. ตามลำดับ

การตรวจยืนยัน ยาปิดกั้นบีตาสามารถวิเคราะห์โดยใช้ cone voltage 80 โวลต์ ซึ่งสาร จะเกิดการแตกตัวมาก แล้วบันทึกกลุ่มของไอออนที่ใช้สำหรับตรวจยืนยัน ดังแสดงในตารางที่ 10

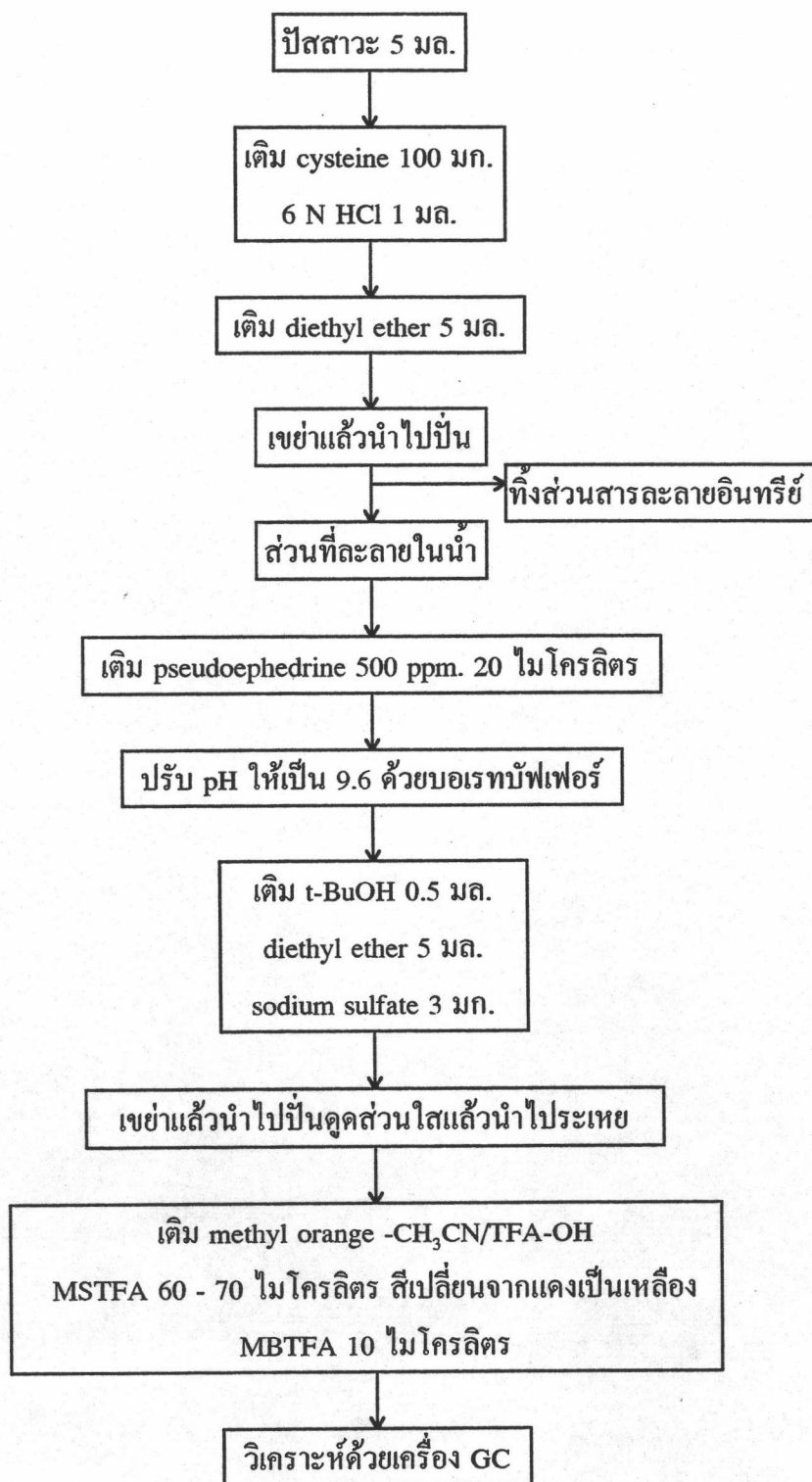
เทคนิค LC/MS สามารถตรวจพบยาปิดกั้นบีตาได้ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.2 - 1.0 นาโนกรัม/มล. ซึ่งนับว่ามีความไวสูงมากจึงสามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์ยาปิดกั้นบีตาในปัสสาวะได้

การวิเคราะห์ยาปิดกั้นบีตาโดยใช้เทคนิค LC/MS มีช่วงที่กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงตั้งแต่ 0 ถึง 50 ไมโครกรัม/มล. ซึ่งเพียงพอสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณยาปิดกั้นบีตาในปัสสาวะนักกีฬา

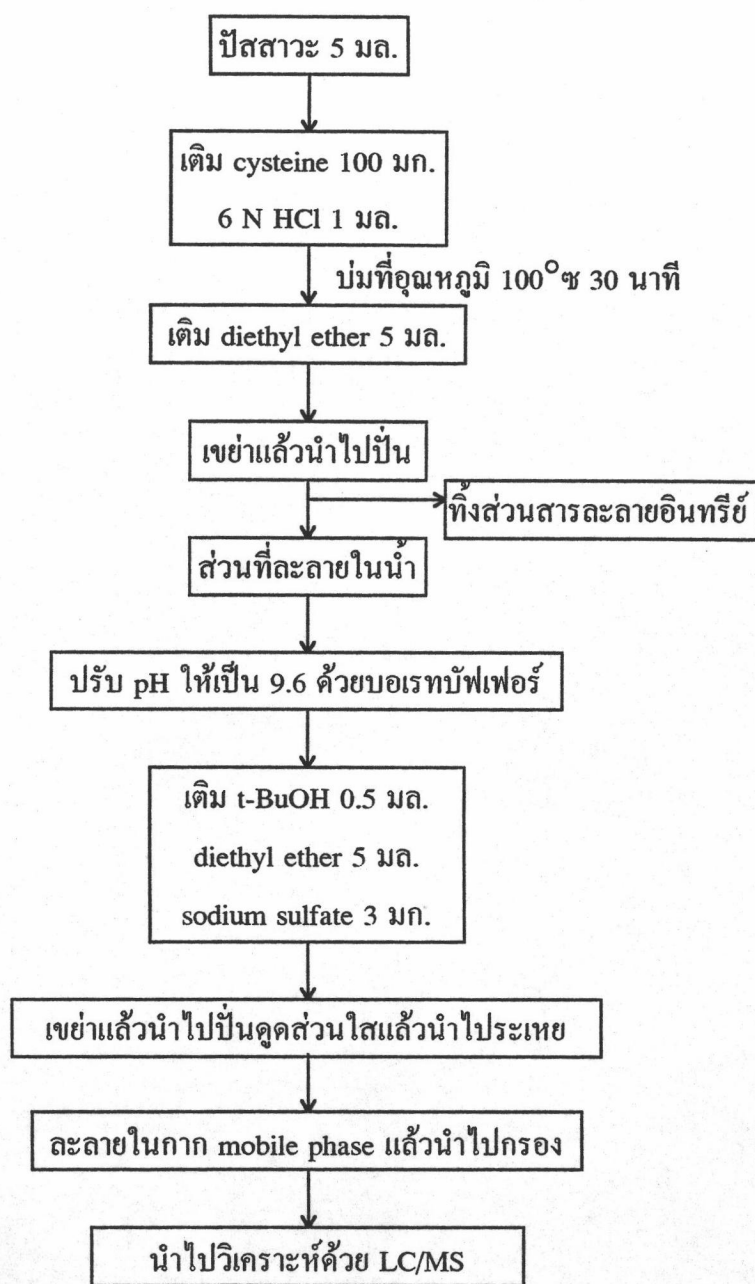
ยาปิดกั้นบีตามี % ของการสกัดกลับอยู่ในช่วง 9.70 ถึง 79.4 %

การวิเคราะห์ยาปิดกั้นบีตาโดยใช้เทคนิค LC/MS นอกจากจะมีความไวในการวิเคราะห์สูง และมีช่วงที่กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงตั้งแต่ 0 ถึง 50 ไมโครกรัม/มล. แล้ว ยังสามารถวิเคราะห์ได้สะดวกและรวดเร็วกว่าวิธีของ IOC เนื่องจากไม่ต้องเตรียมสารให้อยู่ในรูปของอนุพันธ์

เปรียบเทียบการวิเคราะห์ยาปิดกั้นบีตาโดยวิธีของ IOC กับ LC/MS ดังแสดงในภาพที่



รูปที่ 120 ขั้นตอนการวิเคราะห์ยาเสพติดก้นปีตามวิธีของ IOC



ภาพที่ 121 ขั้นตอนการวิเคราะห์ยาปิดกั้นบีตาด้วยเทคนิค LC/MS

การวิเคราะห์อะแนบอติสเทอรอยด์

จากการศึกษาการแตกตัวของอะแนบอติสเทอรอยด์พบว่า อะแนบอติสเทอรอยด์ทุกชนิดสามารถเห็นพีกของอ็อนที่มีมวลเท่ากับมวลโมเลกุล + 1 แต่ Oxymetholone สามารถเห็นพีกของอ็อนที่มีมวลเท่ากับมวลโมเลกุล + 14 ชัดเจนกว่าพีกของอ็อนที่มีมวลเท่ากับมวลโมเลกุล + 1 จึงเลือกใช้อ็อนที่มีมวลเท่ากับมวลโมเลกุล + 1 ในการตรวจหาอะแนบอติสเทอรอยด์ ยกเว้น Oxymetholone ที่ใช้อ็อนที่มีมวลเท่ากับมวลโมเลกุล + 14 ในการตรวจหา การแตกตัวของอะแนบอติสเทอรอยด์ส่วนใหญ่เกิดจากการสูญเสียน้ำออกจากโมเลกุล

การตรวจยืนยันอะแนบอติสเทอรอยด์สามารถวิเคราะห์โดยใช้ cone voltage 80 โวลต์ ซึ่งสารจะเกิดการแตกตัวมาก แล้วบันทึกกลุ่มของอ็อนที่ใช้สำหรับตรวจยืนยัน ดังแสดงในตารางที่ 12

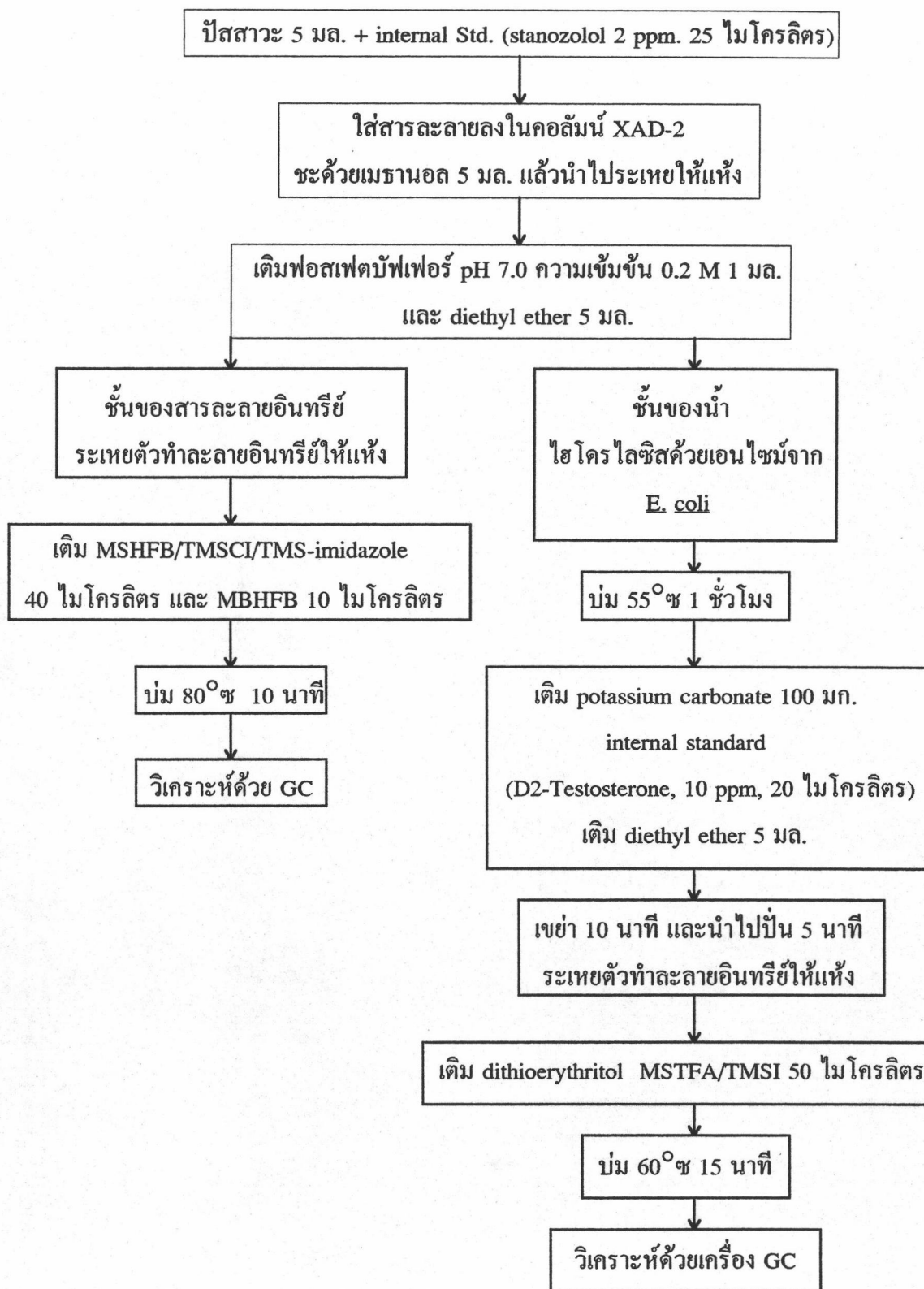
เทคนิค LC/MS สามารถตรวจพบอะแนบอติสเทอรอยด์ได้ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5 - 1.0 นาโนกรัม/มล. ซึ่งนับว่ามีความไวสูงมากจึงสามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์อะแนบอติสเทอรอยด์ในปัสสาวะได้

การวิเคราะห์อะแนบอติสเทอรอยด์โดยใช้เทคนิค LC/MS มีช่วงที่กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงตั้งแต่ 0 ถึง 50 ไมโครกรัม/มล. ซึ่งเพียงพอสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณอะแนบอติสเทอรอยด์ในปัสสาวะนักกีฬา

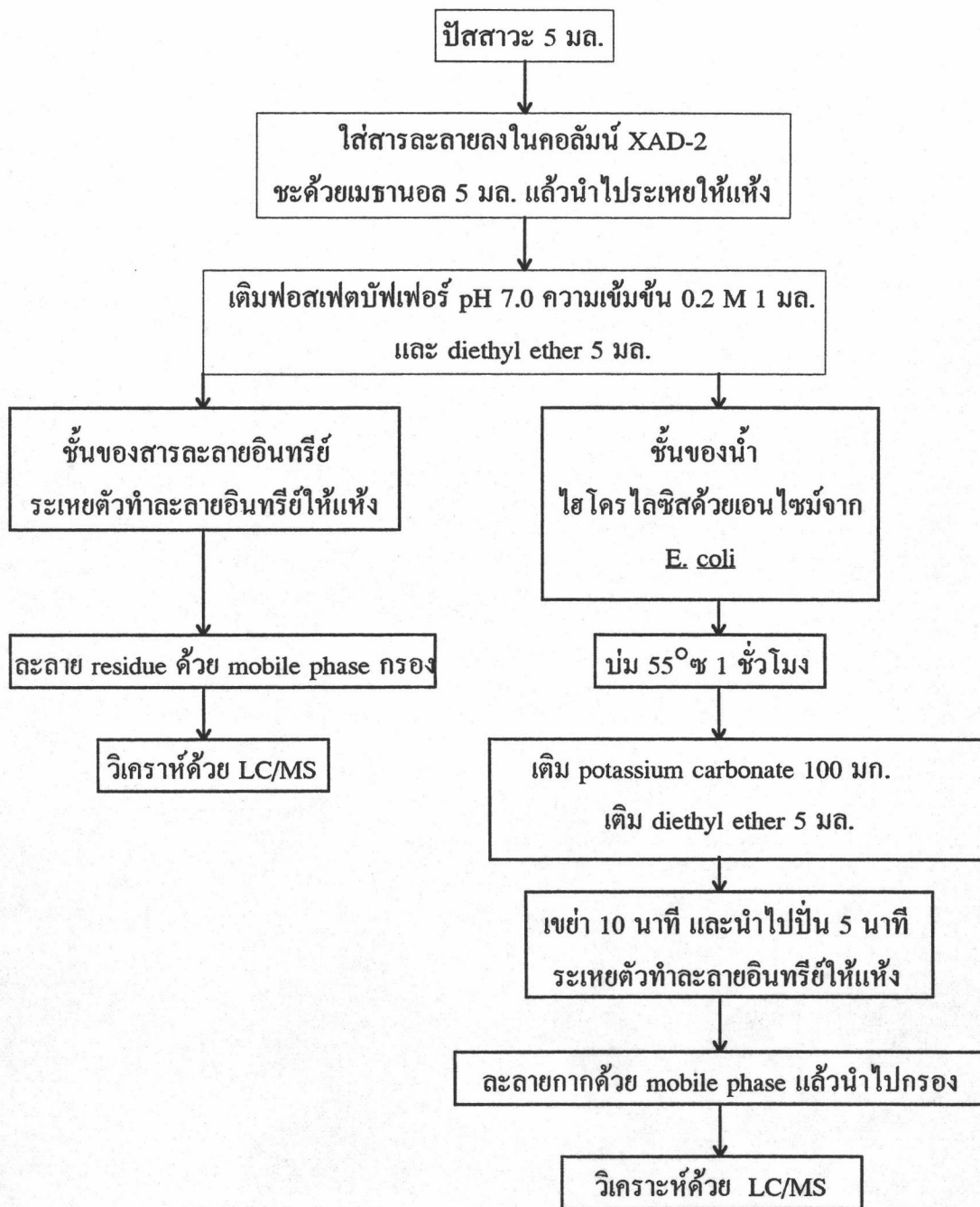
อะแนบอติสเทอรอยด์มี % ของการสกัดกลับอยู่ในช่วง 48.0 ถึง 100.0 %

การวิเคราะห์อะแนบอติสเทอรอยด์โดยใช้เทคนิค LC/MS นอกจากจะมีความไวในการวิเคราะห์สูง และมีช่วงที่กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงตั้งแต่ 0 ถึง 50 ไมโครกรัม/มล. แล้ว ยังสามารถวิเคราะห์ได้สะดวกและรวดเร็วกว่าวิธีของ IOC เนื่องจากไม่ต้องเตรียมสารให้อยู่ในรูปของอนุพันธ์

เปรียบเทียบการวิเคราะห์อะแนบอติสเทอรอยด์โดยวิธีของ IOC กับ LC/MS ดังแสดงในภาพที่ 122 - 123



ภาพที่ 122 ขั้นตอนการวิเคราะห์อะแนบอกลิสเตอรอยด์โดยวิธีของ IOC



ภาพที่ 123 ขั้นตอนการวิเคราะห์อะเนบอติกสเตอรอยด์ด้วยเทคนิค LC/MS

การวิเคราะห์ยาขับปัสสาวะ

จากการศึกษาการแตกตัวของยาขับปัสสาวะพบว่า ยาขับปัสสาวะทุกชนิดสามารถเห็นพีกของไอออนที่มีมวลเท่ากับมวลโมเลกุล + 1 จึงเลือกใช้ไอออนที่มีมวลเท่ากับมวลโมเลกุล + 1 ในการตรวจยาขับปัสสาวะส่วนใหญ่ ยกเว้น Bendroflumethiazide ที่สามารถเห็นพีกของไอออนที่มีมวลเท่ากับมวลโมเลกุล - 100 ชัดเจนกว่าไอออนที่มีมวลเท่ากับมวลโมเลกุล + 1 จึงเลือกไอออนที่มีมวลเท่ากับมวลโมเลกุล - 100 ในการตรวจหา Bendroflumethiazide และ Benzthiazide สามารถเห็นพีกของไอออนที่มีมวล 197 Da. ชัดเจนที่สุดจึงเลือกไอออนที่มีมวลเท่ากับ 197 Da. ในการตรวจหา Benzthiazide เมื่อเปรียบเทียบการแตกตัวของสารต้องห้ามทั้ง 3 กลุ่มปรากฏว่า ยาขับปัสสาวะเกิดการแตกตัวง่ายกว่า ยาปิดกั้นบีตา และ อะแนบอลิกลิสเตอรอยด์

การตรวจยืนยันยาขับปัสสาวะสามารถวิเคราะห์โดยใช้ cone voltage 80 โวลต์ ซึ่งสารจะเกิดการแตกตัวมาก แล้วบันทึกกลุ่มของไอออนที่ใช้สำหรับตรวจยืนยัน ดังแสดงในตารางที่ 14

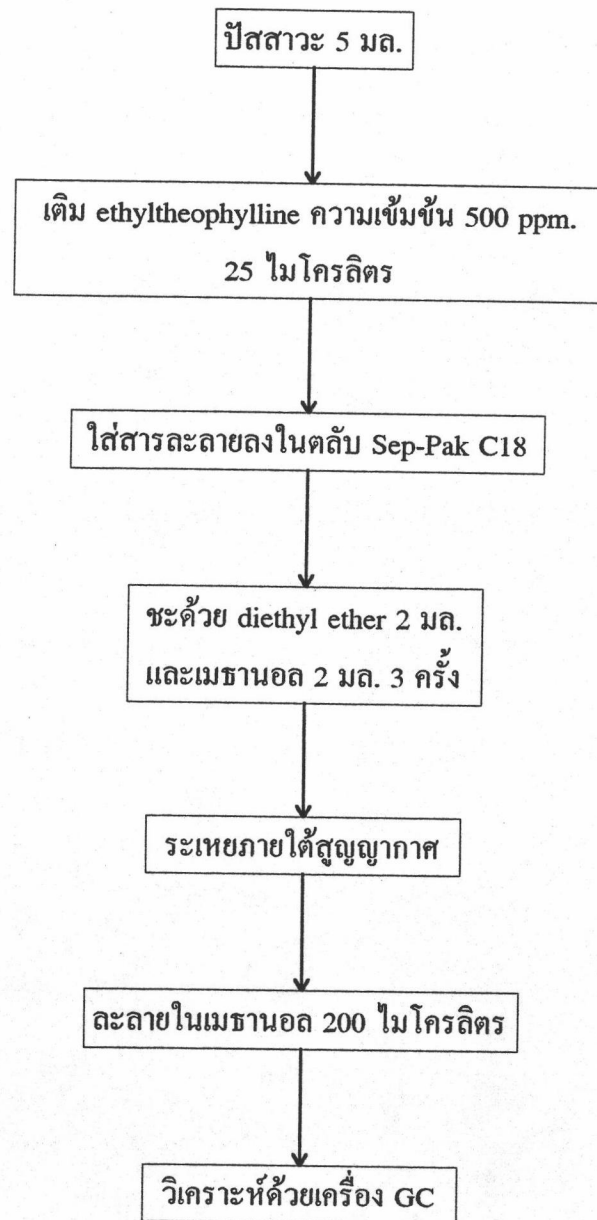
เทคนิค LC/MS สามารถตรวจพบยาขับปัสสาวะได้ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5 - 10 ไมโครกรัม/มล. ซึ่งต่ำกว่าเทคนิคอื่น ๆ แต่ยังสามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์ยาขับปัสสาวะในปัสสาวะได้ โดยอาจเพิ่มความไวในการวิเคราะห์โดยฉีดสารปริมาตรมากขึ้น

การวิเคราะห์ยาขับปัสสาวะโดยใช้เทคนิค LC/MS มีช่วงที่กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงตั้งแต่ 0 ถึง 50 ไมโครกรัม/มล. ซึ่งเพียงพอสำหรับใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณยาขับปัสสาวะในปัสสาวะนักกีฬา

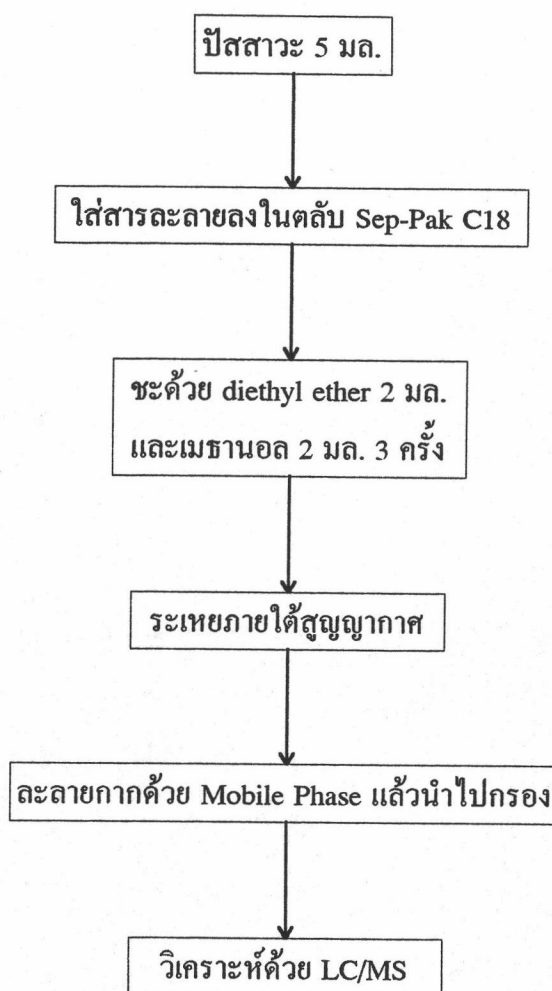
ยาขับปัสสาวะมี % ของการสกัดกลับอยู่ในช่วง 2.8 ถึง 96.4 %

การวิเคราะห์ยาขับปัสสาวะโดยใช้เทคนิค LC/MS สามารถวิเคราะห์ได้สะดวกและรวดเร็วกว่าวิธีของ IOC เนื่องจากไม่ต้องเตรียมสารให้อยู่ในรูปของอนุพันธ์ แต่มีความไวน้อยกว่าวิธีของ IOC

เปรียบเทียบการวิเคราะห์อะแนบอลิกลิสเตอรอยด์โดยวิธีของ IOC กับ LC/MS ดังแสดงในภาพที่ 124 - 125



รูปที่ 124 ขั้นตอนการวิเคราะห์ยาขับปัสสาวะโดยวิธีของ IOC



ภาพที่ 125 ขั้นตอนการวิเคราะห์ยาขับปัสสาวะด้วยเทคนิค LC/MS

ได้ทำการทดสอบความสามารถในการวิเคราะห์ซ้ำโดยทดลองวิเคราะห์ Alprenolol ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัม/มล. โดยฉีดสารปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใช้เมทานอล 70 % ในน้ำ เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ โดยใช้อัตราการไหล 0.8 มล./นาที ใช้ cone voltage เท่ากับ 40 โวลต์ และ corona voltage เท่ากับ 3,000 โวลต์ แล้วทำการวิเคราะห์ซ้ำ ๆ กัน 29 ครั้ง แล้วนำมาทำการคำนวณหาพื้นที่ใต้กราฟ ปรากฏว่าได้ค่าเฉลี่ยเลขคณิตของพื้นที่เท่ากับ 2,004,622 ตารางหน่วย และมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 82,604 ตารางหน่วย

การวิจัยครั้งนี้ได้ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างจากนักกีฬาซึ่งทางการกีฬาแห่งประเทศไทย ได้ส่งตัวอย่างมาทำการวิเคราะห์ทั้งหมด 118 ตัวอย่าง เป็นการวิเคราะห์ สารกระตุ้น 49 ตัวอย่าง, ยาปิดกั้นบีตา 97 ตัวอย่าง, อะแนบอติกสเตอรอยด์ 70 ตัวอย่าง และ ยาขับปัสสาวะ 49 ตัวอย่าง

พบสารต้องห้ามเพียงตัวอย่างเดียว เป็นตัวอย่างจากการคัดเลือกนักกีฬาขว้างน้ำหนักเพื่อไปแข่งขัน เอเชียนเกมส์ ที่เมืองฮิโรชิมา ประเทศญี่ปุ่น พบสารกระตุ้น Ephedrine และ เมทาบอลไลท์ ส่วน ตัวอย่างอื่น ๆ มักพบคาเฟอีนในปริมาณต่ำกว่า 1 ไมโครกรัม/มล. ซึ่งไม่ถือว่าเป็นการใช้สารต้องห้าม