บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาการสังเคราะห์กรดนิโคตินิกกัมมันตรังสี 2 ชนิด กรดนิโคตินิกH-3 กับ กรดนิโคตินิก C-14 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรดนิโคตินิกH-3 กับกรดนิโคติกC-14 พบว่า กรดนิโคตินิก H-3 มีวิธีการสังเคราะห์ที่ง่ายกว่า มีความบริสุทธิ์และความแรงรังสีสูงกว่ากรดนิโคตินิก C-14 เนื่องจาก ^{6}Li ที่ใช้ผลิต ^{3}H มีค่าครอสเซคชันสำหรับเทอร์มอลนิวตรอน คือ 940 บาร์น และค่าครอสเซคชันเรนซ์โซแนนซ์นิวตรอน คือ 425 บาร์น (24) มากกว่า ^{14}N ที่ใช้ผลิต ^{14}C ซึ่งมีค่าครอสเซคชันสำหรับเทอร์มอลนิวตรอน คือ 1.83 บาร์น ส่วนค่าครอสเซคชันเรนซ์โซแนนซ์ 0.85 บาร์น (24) นอกจากนี้ ค่าครึ่งชีวิตของ ^{14}C คือ 5730 ปี มากกว่า ^{3}H ซึ่งมีค่าครึ่งชีวิต 12.23 ปี ทำให้การอาบรังสี ^{14}N ให้กลายเป็น ^{14}C ต้องใช้เวลาในการอาบรังสีเป็นเวลานานมาก อีกทั้งเมื่อนำกรดนิโคตินิก H-3 และ กรดนิโคตินิก C-14 วิเคราะห์ด้วยเครื่องลิควิดซินทิลเลชันที่ต่อกับเครื่องวิเคราะห์สัญญาณแบบหลายช่อง ปรากฏว่ากรดนิโคตินิก H-3 นี้ประกอบด้วนต้นกำเนิดรังสีเบตาคือ ทริเทียมเท่านั้น แต่กรดนิโคตินิก C-14 ที่เตรียมได้ประกอบไปด้วยต้นกำเนิดรังสีเบตา คือ C-14 ,H-3 ทำให้ไม่เหมาะสมที่จะนำไปใช้งาน แต่ทั้งกรดนิโคตินิก H-3 และ กรดนิโคตินิก C-14 ไม่ปรากฏต้นกำเนิดรังสีแกมมาปะปน ดังนั้นกรดนิโคตินิก H-3 จึงเหมาะที่จะนำไปใช้ในการสังเคราะห์นิโคตินกัมมันตรังสี โดยพบว่ากรดนิโคตินิก H-3 มีความบริสุทธิ์ 97.84% มีความแรงรังสี 0.0246 ไมโครคูรี/มิลลิกรัมของกรดนิโคตินิกกัมมันตรังสี

Drawson และคณะ (13) ได้สังเคราะห์กรดนิโคตินิกกัมมันตรังสีที่มีความแรง

รังสีในช่วง 5.34×10^{6} ถึง 7.26×10^{6} CPM/มิลลิกรัมทริเทียมของกรดนิโคตินิกทริเทียม ซึ่งมีความแรงรังสีสูงกว่า 4.010 ถึง 5.440 เท่าของกรดนิโคตินิกทริเทียมที่สังเคราะห์ขึ้น เนื่องจากในการอาบรังสีของเครื่องปฏิกรณ์นิวเคลียร์ในต่างประเทศ สามารถควบคุมอุณหภูมิในช่วงการอาบรังสีได้ โดยเฉพาะในการสังเคราะห์กรดนิโคตินิกกัมมันตรังสี อุณหภูมิที่ใช้ในการอาบรังสี 29-31 องศาเซลเซียส แต่ในการทดลองนี้ไม่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้คือ 45-65 องศาเซลเซียส ซึ่งทำให้สารสลายตัวได้ง่าย

ในการสังเคราะห์กรดนิโคตินิกกัมมันตรังสีนี้เป็นการติดฉลากทริเทียมแบบรีคอล์ย ผลที่ได้จะเกิดผลผลิตข้างเคียงได้หลายแบบ และปริมาณมาก สารที่สังเคราะห์ได้จะมีความแรงรังสีจำเพาะต่ำ แต่เพื่อให้ผลผลิตมีความแรงรังสีจำเพาะสูงเช่นการทดลองของ Decker (21) ใช้ ไพริดีน ลิเทียม ทำปฏิกริยาติดฉลากแบบรีคอล์ยชนิดวัฏภาคกาซกับ $^{14}CO_2$ จะได้ กรดนิโคตินิกกัมมันตรังสีมีความแรงรังสี 0.145 มิลลิคูรี/มิลลิกรัม โดยใช้การสังเคราะห์ทางเคมีโดยตรง

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างความแรงรังสีของสารที่สังเคราะห์ขึ้น กับผลที่ได้จากการคำนวณจากสมการการอาบรังสี

เมื่อ $$A_T = A_o(1-e^{-\lambda t})e^{-\lambda T} \qquad 6)$$

ค่าความแรงรังสีของกรดนิโคตินิกกัมมันตรังสีจากการคำนวณ ถ้ากำหนดว่า ϕ_{th} = 0.7×10^{12} นิวตรอน/ตารางเซนติเมตร/วินาที , v ของ $_3Li^6$ = 7.42%, W = 1×10^{-3} กรัมของกรดนิโคตินิก หรือ 0.1878×10^{-3} กรัมของLi, A ของ $_3Li^6$ = 6.939 กรัม, $\sigma = 940 \times 10^{-24}$ ตารางเซนติเมตร, t = 12 ชั่วโมง, T = เวลาตั้งแต่หลังจากการอาบรังสีจนถึงเวลาที่ทำการนับวัดกัมมันตรังสี โดยเวลาหลังการอาบรังสีเสร็จเมื่อวันที่ 4 กันยายน พ.ศ.2532 ทำการวัดสารรังสีเมื่อวันที่ 20 ธันวาคม พ.ศ.2533 รวมเวลาทั้งหมด 473 วัน, และ $T_{1/2}$ของทริเทียม = 12.26 ปี

ซึ่งผลจากการคำนวณจะได้ความแรงรังสี 18172082.07 dpm/มิลลิกรัมทริเทียม ของกรดนิโตนิกกัมมันตรังสี(โดยที่ความแรงรังสีน้อยกว่าที่ค่าที่ควรจะเป็นเล็กน้อย เนื่องจาก ปฏิกิริยานิวเคลียร์จากresonance neutronจากเตาปฏิกรณ์ปรมาณู และมากกว่าความแรง รังสีที่วัดได้จากกรดนิโคตินิกกัมมันตรังสีที่สังเคราะห์ขึ้น 13.62 เท่า, มากกว่าความแรงรังสี ของกรดนิโคตินิกกัมมันตรังสีที่สังเคราะห์ โดย Drawson และคณะ (13) อยู่ระหว่าง 4.002-5.44 เท่า จะพบว่าจากการคำนวณความแรงรังสีสูงมากกว่าความแรงรังสีของกรด นิโคตินิกกัมมันตรังสีที่ได้จากการสังเคราะห์ เนื่องจากการคำนวณไม่คำนึงถึงผลกระทบจาก อุณหภูมิ และปริมาณฟลักซ์นิวตรอนที่เปลี่ยนแปลงและเบี่ยงเบน, การเข้าแทนที่ของทริเทียมที่ไม่ เข้าแทนที่ทุกตำแหน่งของไฮโดรเจนในกรดนิโคตินิก

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อคัลลัส เริ่มจากการเพาะเมล็ดต้นใบยาสูบให้กลายเป็นต้น ใบยาสูบแล้วใช้ฮอรโมนเป็นตัวเร่งให้กลายเป็นคัลลัสและคัลลัสที่ได้จะทำหน้าที่สังเคราะห์นิโคติน คัลลัสที่ใช้นี้ถึงแม้ผ่านการคัดเลือกรูปแบบคัลลัสแล้ว แต่กลุ่มคัลลัสนี้ไม่ได้เป็นcloneตลอด ทำให้ การเจริญเติบโตและสังเคราะห์มีแตกต่างกันไปบ้างเนื่องจากกลุ่มเซลในคัลลัสบางตัวไม่ใช่เซล ชนิดเดียวกัน การสังเคราะห์นิโคตินทำการทดลอง 2 แบบ เพื่อศึกษาการสังเคราะห์นิโคตินจาก คัลลัส และการเจริญเติบโต จากการทดลองการเจริญเติบโตของคัลลัสที่เพาะเลี้ยงแบบเปลี่ยน อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมื่อวัดในรูปน้ำหนักแห้งในช่วงสัปดาห์ที่ 0-4 สัปดาห์ มีการเจริญเติบ โตใกล้เคียงกับคัลลัสที่เพาะเลี้ยงแบบไม่เปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แต่ในช่วงสัปดาห์ที่ 5-6 การเจริญเติบโตของคัลลัสที่เพาะเลี้ยงแบบเปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมื่อวัดในรูป น้ำหนักแห้ง 1.18-1.71 เท่า ของคัลลัสที่เพาะเลี้ยงแบบไม่เปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ นอกจากนี้ คัลลัสที่เพาะเลี้ยงแบบเปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมื่อวัดในรูปน้ำหนักสดเทียบ กับน้ำหนักแห้งแล้วมีปริมาณ ความชื้น, น้ำ, พื้นที่ และอากาศลดลง ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 เป็นต้น มา และสารละลายมากกว่าคัลลัสที่เพาะเลี้ยงแบบไม่เปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ในช่วง

สัปดาห์ที่ 7-8 คัลลัสที่เพาะเลี้ยงแบบเปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และคัลลัสที่เพาะเลี้ยงแบบไม่เปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตต่ำลงเนื่องมาจากคัลลัสที่เพาะเลี้ยงแบบเปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะมีเซลที่กลายไปเป็นอวัยวะ ส่วนคัลลัสที่เพาะเลี้ยงแบบไม่เปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เซลของคัลลัสมีอัตราการตายมากขึ้นเนื่องจาก ปริมาณสารอาหาร, น้ำ, พื้นที่, และอากาศลดลง ที่น่าสังเกตุว่าคัลลัสที่เพาะเลี้ยงแบบไม่เปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในช่วงสัปดาห์ที่ 3 เป็นต้นคัลลัสจะมีสีเปลี่ยนจากสีขาวแกมเขียวเป็นสีน้ำตาลแก่

ในการสกัดนิโคตินตามวิธีการของ Lockwood และ Essa (16) นำคัลลัสสดที่บดละเอียด สกัดเอานิโคตินออกด้วยคลอโรฟอร์ม และนำไปวิเคราะห์โดยใช้เครื่องก๊าซโครมาโตรกราฟ จะพบว่าการสกัดนี้ให้ผลผลิตข้างเคียงปะปนมาสูงทำให้ไม่สามารถตรวจสอบนิโคตินได้

ส่วนการสกัดตามวิธีของ Tabata และ Hiraoka (17) นำคัลลัสที่ทำให้แห้งด้วยการเยือกแข็ง ซึ่งจะมีปริมาณนิโคตินมากกว่าการทำให้แห้งโดยใช้การอบด้วยความร้อน ทำให้สารเคมีที่อยู่ในคัลลัสถูกทำลายไปเพราะความร้อน การสกัดเอานิโคตินจะวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ และนำไปวิเคราะห์โดยใช้เครื่องแก๊ซโครมาโตรกราฟ พีคของนิโคติน ซึ่งมี retention time 12-13 นาที

การสังเคราะห์นิโคตินด้วยคัลลัสได้มาจากการเปลี่ยนกรดนิโคตินิก กรดนิโคตินิกได้มาจากการเพิ่มกรดนิโคตินิกจากภายนอก และคัลลัสสังเคราะห์กรดนิโคตินิกด้วยตัวเองจากวัฏจักรไพรีดีนนิวครีโอไทด์ ดังนั้นคัลลัสสามารถสังเคราะห์นิโคตินด้วยตัวเอง โดยคัลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงแบบไม่เปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถสังเคราะห์นิโคตินได้สูงถึง 8.34 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร หรือ 3.44 มิลลิกรัม/อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 30 มิลลิลิตร หรือ 1.16% ต่อน้ำหนักอบแห้ง ในการสังเคราะห์นิโคตินกัมมันตรังสีจะใช้การสังเคราะห์โดยอาศัยคัลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงแบบไม่เปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะได้นิโคตินกัมมันตรังสี

4.52 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร หรือ 1.15 มิลลิกรัม/อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 30 มิลลิลิตร ณ ช่วงสัปดาห์ที่ 6 แต่ถ้ากรดนิโคตินิกสามารถกลายเป็นนิโคตินกลายเป็น 100% กำหนดให้กรดนิโคตินิก 1 มิลลิกรัม กลายเป็นนิโคติน 1.32 มิลลิกรัม ณ สัปดาห์ที่ 6 มีปริมาณกรดนิโคตินิกในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 12.19 มิลลิกรัม/อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กลายเป็นนิโคติน 16.06 มิลลิกรัม/อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 30 มิลลิลิตร ดังนั้นในสัปดาห์ที่ 6 จะได้การเปลี่ยนจากกรดนิโคตินิกมาเป็นนิโคติน 21.09% และการเปลี่ยนจากกรดนิโคตินิกกัมมันตรังสีมาเป็นกรดนิโคตินิกกัมมันตรังสี 7.14% ซึ่งมีค่าต่ำกว่าเนื่องจากกรดนิโคตินิกกัมมันตรังสีถูกทำการไร้เชื้อด้วยการฉายรังสี ซึ่งทำให้กรดนิโคตินิกเสื่อมสลาย การเติมสารกัมมันตภาพรังสีลงไปในสูตรอาหารของพืชโดยปกติเมื่อพืชได้รับสารรังสีการเจริญเติบโตต่ำลง และอาจทำให้พืชมีการกลายพันธุ์

การที่อัตราส่วนระหว่างกรดนิโคตินิกต่อนิโคตินหรือกรดนิโคตินิกและกรดนิโคตินกัมมันตรังสี ทั้งในแง่ปริมาณและความแรงรังสี มีค่าเปอร์เซนต์ต่ำกว่า 100% เพราะคัลลัสไม่ได้ใช้กรดนิโคตินิกทั้งหมดในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและคัลลัสยังใช้นิโคตินิกในกระบวนการเมตาโบริซึมอื่นๆ ที่ไม่ใช่การสังเคราะห์นิโคติน

นิโคตินกัมมันตรังสีที่สังเคราะห์ขึ้น เมื่อตรวจวัดรังสีด้วยเครื่องลิควิดซินทิลเลชั่นที่ต่อกับเครื่องวิเคราะห์สัญญาณแบบหลายช่อง ปรากฏว่านิโคตินH-3นี้ประกอบด้วนต้นกำเนิดรังสีเบตาคือ ทริเทียมเท่านั้น และนิโคตินH-3 ไม่ปรากฏต้นกำเนิดรังสีแกมมาปะปน มีความแรงรังสี 3071.24 CPM/มิลลิกรัมของนิโคตินกัมมันตรังสี ในเตทตราไฮโดรฟูราน 5 มิลลิลิตร และสารละลายคอกเทล 15 มิลลิลิตร แต่ประสิทธิภาพในการวัดรังสีเมื่อนำสารประกอบ หรือสารละลายที่ติดฉลากH-3 ไปละลายในเตทตราไฮโดรฟูราน 5 มิลลิลิตร และสารละลายคอกเทล 15 มิลลิลิตร จากนั้นใช้เงื่อนไขในการวัดต้นกำเนิดรังสีเบตาทริเทียม ได้ประสิทธิภาพในการนับวัดรังสี 16.40% ดังนั้นนิโคตินกัมมันตรังสีมีความแรงรังสี 26166.66 CPM/มิลลิกรัมของนิโคตินกัมมันต

รังสี หรือ 1.18×10^{-5} มิลลิคูรี/มิลลิกรัม และเมื่อทำการเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้ กับผลการทดลองที่มีผู้วิจัยทำไว้จากต่างประเทศ แล้วจะสรุปได้ตามตารางที่ 5.1

ಕನ್ನಡ ಕಲಿ

113

จากตารางที่ 5.1 เมื่อเปรียบเทียบรายงานการวิจัยจากต่างประเทศ จะพบว่า สำหรับการทดลองที่ไม่ติดฉลาก จะพบว่าใช้ปริมาณนิโคตินิกปริมาณสูงมากทำให้ได้ปริมาณนิโคตินสูง และในการสกัดนิโคตินจะใช้อุปกรณ์การสกัดที่ทันสมัยทำให้ได้ปริมาณนิโคตินสูง เช่นเดียวกับการสังเคราะห์นิโคตินกัมมันตรังสีซึ่งมีความแรงรังสีสูงแต่น้อยกว่าการสังเคราะห์นิโคตินกัมมันตรังสีโดยกระบวนการทางเคมี

5.2 ข้อเสนอแนะ

การสังเคราะห์กรดนิโคตินิกกัมมันตรังสี โดยใช้วิธีการติดฉลากสารกัมมันตภาพรังสีแบบรีคอล์ย โดยใช้การอาบรังสีในเครื่องปฏิกรณ์ปรมาณูของสำนักงานพลังงานปรมาณูเพื่อสันตินั้น ไม่สามารถเดินเครื่องติดต่อกันเป็นเวลานานเกิน 12 ชั่วโมง แต่บางวันสามารถเดินเครื่องปฏิกรณ์ปรมาณูในช่วงเวลา 8 ชั่วโมง รวมเวลาในการเดินเครื่องปฏิกรณ์ปรมาณู 40 ชั่วโมง การอาบรังสีนิวตรอนไม่ต่อเนื่อง จึงทำให้การอาบรังสีนิวตรอนไม่ต่อเนื่อง โดยเฉพาะกรดนิโคตินิก C-14 ซึ่งมีค่าครึ่งชีวิตยาวมาก

นอกจากนี้เครื่องปฏิกรณ์ปรมาณูในประเทศไทย ไม่สามารถควบคุมอุณหภูมิในช่วงการอาบรังสีให้ต่ำลง ทำให้สารที่นำมาอาบรังสีไม่สลายตัวได้ง่ายซึ่งไม่เหมาะในการทำการทดลอง

การที่จะให้สารกัมมันตรังสีมีความแรงรังสีสูงควรที่จะใช้การสังเคราะห์โดยกระบวนการทางเคมี นำเอาต้นกำเนิดรังสีมาติดฉลากโดยตรงกับสารที่ต้องการติดฉลากแต่จะเป็นวิธีการยุ่งยากมากกว่า

ในการสังเคราะห์นิโคติน ควรทำการทดลองใช้อาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบเหลวแทน เนื่องจากสามารถสัมผัสเนื้อเยื่อทุกส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยงจะได้มีการดูดซึมกรดนิโคตินิกได้ดี และปริมาณกรดนิโคตินิกที่ใส่ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ควรทำการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารเป็นช่วงๆ เพื่อหาว่าปริมาณกรดนิโคตินิกเท่าใดจึงให้ปริมาณนิโคตินสูงสุด และควรทำการทดลองกับกรดนิโคตินิกรังสีซ้ำด้วย อาจต้องทำการเปลี่ยนแปลงปริมาณฮอรโมนพืชว่าจะมีผลต่อปริมาณ

นิโคตินอย่างไร เนื้อเยื่อที่ทำการเพาะเลี้ยงถ้ามาจากcloneเดียวกันได้จะให้ผลในการทดลองมีค่าแตกต่างกันน้อย และถ้าสามารถแยกcloneแต่ละcloneออกมาจากกลุ่มคัลลัสได้ และทำการวิเคราะห์ว่าcloneใดมีปริมาณนิโคตินสูงสุด ก็นำcloneนั้นมาสังเคราะห์นิโคติน

การติดฉลากรังสีอาจทำการติดฉลากที่เกลือไนโตรเจน-เมททิลไพโรลิเนียม และกรดนิโคตินิกทั้งสอง คาดว่าได้ความแรงรังสีของนิโคตินกัมมันตรังสีสูงขึ้น นอกจากนี้อาจจะใช้กระบวนการทางเคมีติดฉลากกับไอโซโทปรังสีที่ต้องการ จะมีความแรงรังสีสูง

ในการสกัดนิโคตินจะมีนิโคตินที่หลงเหลืออยู่ใน cell wall ทำให้สกัดออกมาไม่หมดจากเซล ควรจะทำให้เซลทุกเซลแตกหมดจึงนำไปสกัดโดยอาจใช้คลื่นเสียงทำให้เซลแตกจนหมดก่อน