

เทคนิคการวิเคราะห์สารประเภทฝิ่นในสารตัวอย่าง  
จากร่างกายและผลิตภัณฑ์จากพืช



นางสาว พรพิมล กองทิพย์

004187

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาชีวเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2525

ISBN 974-560-673-1

I1660698 X

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

เทคนิคการวิเคราะห์สารประเภทฝิ่นในสารตัวอย่างจากร่างกาย  
และผลิตภัณฑ์จากพืช

โดย

นางสาว พรพิมล กองทิพย์

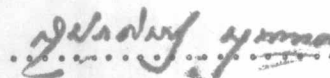
ภาควิชา

ชีวเคมี

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราพรรณ ต่านอุตรา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทมหาบัณฑิต


.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุประดิษฐ์ บุญนาค)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สรรเสริญ ทวีพิทยโตษก)

.....กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์นายแพทย์ เพ็ญ ทิมะทองคำ)

.....กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์นายแพทย์ วิชัย โปษยะจินดา)

.....กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราพรรณ ต่านอุตรา)

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

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



เมื่อวิเคราะห์มอร์ฟีนและอนุพันธ์มอร์ฟีนในเมล็ดฝิ่นและข้าวสารโดยวิธีแก๊สโครมาโตกราฟีและวิธีธาตุไอโอดิมิวโนแอสเสย์ พบว่า เมื่อใช้วิธีแก๊สโครมาโตกราฟี คอลัมน์ที่บรรจุด้วย 3% SE-30 บน Gas Chrom Z (100-120 mesh) ขนาด 2 มม. x 2ม. แยกอนุพันธ์ 2 ชนิด ของมอร์ฟีน และโคเดอีนที่ได้จากอะเซทิลเลชันด้วยอะซิติกแอนไฮไดรด์ และซิลิเลชันด้วย N<sub>2</sub>O ปิส (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 และทำให้บริสุทธิ์ขึ้นโดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจล GF<sub>254</sub> และใช้สารละลายผสมของ เบนซีน ไดออกเซน เอทิลแอลกอฮอล์ แอมโมเนีย ในอัตราส่วน 50:40:5:5 โดยปริมาตร หรือวิธี back-extraction โดยสกัดด้วยกรดเกลือ 0.1 โมลต่อลิตร แล้วสกัดอีกครั้งหนึ่งด้วยคลอโรฟอร์ม แล้วเตรียมอนุพันธ์ และวิเคราะห์ด้วยวิธีแก๊สโครมาโตกราฟี ใช้ดีเทคเตอร์ 2 ชนิด คือ Flame Ionization Detector และ Thermionic Specific Detector ปรากฏว่าวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟีทำจัดสิ่งเจือปนได้ดีกว่าวิธี back extraction

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



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 exercised 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°C or 2 mm. x 0.5 m. of 5% OV-101 on chromosorp GHP at 200-210°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<sub>254</sub> 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.



กิติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ และขอขอบคุณท่านผู้มีรายนามต่อไปนี้ ที่ได้กรุณาให้  
คำแนะนำและช่วยเหลือ ทำให้วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จได้ด้วยดี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราพรธรรม ตำนลุตตรา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สรรเสริญ ททรัพย์โตษก

รองศาสตราจารย์นายแพทย์ วิชัย โปะยะจินดา

อาจารย์ ดร. ปรีดา ชัยศิริ

รองศาสตราจารย์นายแพทย์ เทพ หิมะทองคำ

รองศาสตราจารย์แพทย์หญิง มณฑิรา คัดท์เกยูร

ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์ ปรีดา หัตถนประดิษฐ์

คุณ ชู รียกาญจน์

คุณ วิไล เยาวพลกุล

ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เจ้าหน้าที่ศูนย์บริการสาธารณสุข 16 ลุมพินี กรุงเทพมหานคร

เจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยยาเสพติด สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย . . . . .	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ . . . . .	ฉ
กิตติกรรมประกาศ . . . . .	ช
รายการตารางประกอบ . . . . .	ฉ
รายการรูปประกอบ . . . . .	ส



บทที่

1. บทนำ . . . . .	1
2. เคมีภัณฑ์และเครื่องมือ . . . . .	13
1. เคมีภัณฑ์ . . . . .	13
2. เครื่องมือ . . . . .	14
3. การเก็บสารตัวอย่าง . . . . .	14
4. สารตัวอย่าง . . . . .	14
3. วิธีทดลอง . . . . .	16
1. การเตรียมสารละลายสำหรับวิเคราะห์ปริมาณอนุพันธ์มอร์ฟีน โดยวิธีราดิโออิมมูโนแอสเสย์ . . . . .	16
2. การเตรียมสารละลายสำหรับวิเคราะห์มอร์ฟีนและโคเดอีน ทางคุณภาพโดยวิธีแกสโครมาโตกราฟี . . . . .	17
3. การเตรียมสารละลายสำหรับวิเคราะห์มอร์ฟีนและโคเดอีน โดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี . . . . .	18
4. การเตรียมแผ่นซีลิกาเจล . . . . .	18
5. การทำให้คลอโรฟอร์มบริสุทธิ์ . . . . .	18
6. การเตรียมคอลัมน์สำหรับการวิเคราะห์โดยวิธีแกสโครมาโต- กราฟี . . . . .	18
7. การวิเคราะห์หาปริมาณอนุพันธ์มอร์ฟีนในน้ำนมคน โดยวิธี ราดิโออิมมูโนแอสเสย์ . . . . .	19
8. การวิเคราะห์หาปริมาณอนุพันธ์มอร์ฟีนในปัสสาวะโดยวิธี ราดิโออิมมูโนแอสเสย์ . . . . .	25
9. การวิเคราะห์มอร์ฟีน และโคเดอีนในเมล็ดฝิ่น และข้าวสาร โดยวิธีแกสโครมาโตกราฟี . . . . .	26

4. ผลการทดลอง

1.	ผลการวิเคราะห์หาปริมาณอนุพันธ์ของพืชน้ำในน้ำนมคนโดยวิธีราดิโอ-อิมมิวโนแอสเสย์ . . . . .	32
1.1	ผลการศึกษาโดยวิธีที่ดัดแปลงจากบริษัทแนะนำ . . . . .	32
1.2	ผลการศึกษาเปรียบเทียบกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานในบีสสวอะและสารมาตรฐานในบัพเฟอร์ . . . . .	32
1.3	ผลการศึกษาอิทธิพลของน้ำนมต่อกราฟมาตรฐาน . . . . .	32
1.4	ผลการหาตำแหน่ง <sup>3</sup> H - มอร์ฟีนที่ออกจากคอสมันและอายุการใช้งานของคอสมัน . . . . .	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	ผลการวิเคราะห์ปริมาณอนุพันธ์ของพืชน้ำในน้ำนมคนโดยวิธีราดิโออิมมิวโนแอสเสย์ . . . . .	44
1.8	ผลการวิเคราะห์ปริมาณอนุพันธ์ของพืชน้ำในน้ำนมคน เปรียบเทียบกับในบีสสวอะ โดยวิธีราดิโออิมมิวโนแอสเสย์ . . . . .	44
2.	ผลการวิเคราะห์ ปริมาณอนุพันธ์ของพืชน้ำในข้าวสารโดยวิธีราดิโอ-อิมมิวโนแอสเสย์ . . . . .	45
3.	ผลการวิเคราะห์ปริมาณอนุพันธ์ของพืชน้ำในเมล็ดฝิ่นโดยวิธีราดิโอ-อิมมิวโนแอสเสย์ . . . . .	47
4.	ผลการวิเคราะห์มอร์ฟีนและโคเคอีนในเมล็ดฝิ่น และข้าวสารโดยวิธีแกสโครมาโตกราฟี . . . . .	48
4.1	ผลการศึกษาเพื่อหาชนิดของคอสมันและสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์มอร์ฟีนและโคเคอีน . . . . .	48
4.2	ผลการวิเคราะห์มอร์ฟีนและโคเคอีนในเมล็ดฝิ่น . . . . .	54
4.2.1	ผลการวิเคราะห์สารจากเมล็ดฝิ่นที่ทำให้บริสุทธิ์ขึ้นโดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี ก่อนเตรียมอนุพันธ์โดยอะเซทิลเลชันเมื่อใช้ดีเทคเตอร์ FID และ TSD . . . . .	54

4.2.2 ผลการวิเคราะห์สารจากเมล็ดฝิ่น ที่ทำให้บริสุทธิ์ขึ้น โดยวิธี Back extraction ก่อนเตรียมอนุพันธ์ โดยอะเซทิลเลชันและซิลิเลชัน เมื่อใช้ดีเทคเตอร์ แบบ FID . . . . .	54
4.3 ผลการวิเคราะห์มอร์ฟีนและโคเดอีนกึ่งปริมาณในข้าวสาร และเมล็ดฝิ่น โดยวิธีแกสโครมาโตกราฟี . . . . .	59
5. วิจารณ์การทดลอง . . . . .	62
เอกสารอ้างอิง . . . . .	72
ประวัติผู้เขียน . . . . .	81

## รายการตารางประกอบ

ตารางที่	หน้า
1. รายละเอียดการทำราดิโออิมมูโนแอสเสย์ของอนุพันธ์มอร์ฟีนในปัสสาวะ	20
2. รายละเอียดการศึกษาอิทธิพลของน้ำหนักต่อกราฟมาตรฐาน . . . . .	21
3. รายละเอียดการศึกษาอิทธิพลของสารต่าง ๆ ต่อกราฟมาตรฐาน . . . . .	23
4. รายละเอียดการวิเคราะห์หาปริมาณอนุพันธ์มอร์ฟีนในน้ำนมคน . . . . .	24
5. รายละเอียดการวิเคราะห์หาปริมาณอนุพันธ์มอร์ฟีนในปัสสาวะ . . . . .	26
6. ความแม่นยำของการวิเคราะห์อนุพันธ์มอร์ฟีนในน้ำนมด้วยวิธีราดิโออิมมูโน- โนแอสเสย์ . . . . .	40
7. ความถูกต้องของการวิเคราะห์อนุพันธ์มอร์ฟีนในน้ำนมด้วยวิธีราดิโออิมมูโน- แอสเสย์ . . . . .	41
8. ปริมาณอนุพันธ์มอร์ฟีนในน้ำนมสตรีที่ติดยาเสพติด 5 ราย . . . . .	44
9. ปริมาณอนุพันธ์มอร์ฟีนในข่าวสารปกติและข่าวสารตัวอย่าง . . . . .	45
10. ปริมาณอนุพันธ์มอร์ฟีนในเมล็ดฝิ่น . . . . .	47
11. Retention time ของอนุพันธ์แบบอะเซทิลและซีลีของ มอร์ฟีนและโคเคอีน . . . . .	52
12. Retention time ของอนุพันธ์แบบอะเซทิลและซีลีของมอร์ฟีนและโคเคอีน	52
13. ผลการวิเคราะห์มอร์ฟีน และโคเคอีนกึ่งปริมาณของเมล็ดฝิ่นและข่าวสาร โดยวิธีแกสโครมาโตกราฟี . . . . .	59

รายการรูปประกอบ

รูปที่		หน้า
1.	โครงสร้างของมอร์ฟีน โคเคอีน และเฮโรอีน	6
2.	วิธีการเปลี่ยนรูปของมอร์ฟีน	7
3.	วิธีการเปลี่ยนรูปของเฮโรอีน	8
4.	วิธีการเตรียมอนุพันธ์ของมอร์ฟีน	12
5.	กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ห่อนุพันธ์มอร์ฟีนในปัสสาวะโดยวิธีราดิโออิมมูโนแอสเสย์	34
6.	กราฟมาตรฐานเปรียบเทียบการวิเคราะห์ห่อนุพันธ์มอร์ฟีนในปัสสาวะกับในบัพเฟอร	35
7.	อิทธิพลของน้ำหนักคนปกติต่อกราฟมาตรฐาน	36
8.	ตำแหน่งของ <sup>3</sup> H-มอร์ฟีนจากคอสัมน์และอายุการใช้งานของคอสัมน์	37
9.	อิทธิพลของคลอโรฟอร์ม น้ำนม เมื่อผ่านและไม่ผ่านคอสัมน์เซฟาเดกซ์ต่อกราฟมาตรฐาน	38
10.	กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ห่อนุพันธ์มอร์ฟีนในน้ำนมคนโดยวิธีราดิโออิมมูโนแอสเสย์	39
11.	ความจำเพาะของแอนติบอดี	42
12.	กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ห่อนุพันธ์มอร์ฟีนในน้ำนมคนโดยวิธีราดิโออิมมูโนแอสเสย์	43
13.	รูปแบบการขับถ่ายอนุพันธ์มอร์ฟีนในน้ำนมและปัสสาวะของสตรีที่ติดเฮโรอีน	46
14.	โครมาโตแกรมแสดงอนุพันธ์แบบซิลิเลชัน และอะเซทิลเลชันของมอร์ฟีนและโคเคอีน โดยใช้คอสัมน์ 3% OV-17 บน Chromosorp WHP (80-100 mesh)	49
15.	โครมาโตแกรมแสดงอนุพันธ์แบบซิลิเลชัน และอะเซทิลเลชันของมอร์ฟีนและโคเคอีน โดยใช้คอสัมน์ 5% OV-101 บน Chromosorp GHP (100-120 mesh)	50
16.	โครมาโตแกรมแสดงอนุพันธ์แบบซิลิเลชันและอะเซทิลเลชันของมอร์ฟีนและโคเคอีน โดยใช้คอสัมน์ 3% SE-30 บน Gas Chrom Z (100-120 mesh)	51
17.	โครมาโตแกรมแสดงอนุพันธ์แบบอะเซทิลเลชันของมอร์ฟีน และโคเคอีน เปรียบเทียบระหว่างดีเทคเตอร์ FID และ TSD	53
18.	โครมาโตแกรมแสดงผลการวิเคราะห์สารจากเมล็ดฝิ่นที่ทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี และเตรียมอนุพันธ์แบบอะเซทิลเลชัน เมื่อใช้ดีเทคเตอร์ FID	55
19.	โครมาโตแกรมแสดงผลการวิเคราะห์สารจากเมล็ดฝิ่นที่ทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี และเตรียมอนุพันธ์แบบอะเซทิลเลชัน เมื่อใช้ดีเทคเตอร์ TSD	56

รูปที่	ท.	หน้า
20.	โครมาโตแกรมแสดงผลการวิเคราะห์สารจากเม.ว. ผื่นที่ทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี back extraction และเตรียมอนุพันธ์แบบอะเซทิลเลชัน	57
21.	โครมาโตแกรมแสดงผลการวิเคราะห์สารจากเมล็ดผื่นที่ทำให้บริสุทธิ์ โดยวิธี Back extraction และเตรียมอนุพันธ์แบบ ซิลิเลชัน	58
22.	กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์หีมอร์ฟีนด้วยวิธีแกสโครมาโตกราฟี	60
23.	กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์โคเคอินด้วยวิธีแกสโครมาโตกราฟี	61