

การศึกษาค่าคงที่การกระจายตัวของนิโคตินในวัฏภาคอนุภาคต่อวัฏภาคแก๊ส
ในควันบุหรี่ (Kp) โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

ปริญญานิพนธ์
ของ
วันเพ็ญ บุญรักษา

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต วิชาเอกเคมี
พฤษภาคม 2545
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

54.2.10702

14702

8. 1

การศึกษาค่าคงที่การกระจายตัวของนิโคตินในวัฏภาคอนุภาคต่อวัฏภาคแก๊ส
ในควันบัพรี(Kp) โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

บทคัดย่อ

ของ

วันเพ็ญ บุญรักษา

4 8. 2545

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต วิชาเอกเคมี

พฤษภาคม 2545

147082

วันเพ็ญ บุญรักษา. (2545). การศึกษาค่าคงที่การกระจายตัวของนิโคตินในวัฏภาคอนุภาคต่อ
วัฏภาคแก๊สในควันบุหรี่(Kp) โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง.
ปริญญาานิพนธ์ กศ.ม. (เคมี) กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัย
ศรีนครินทรวิโรฒ. คณะกรรมการควบคุม : รองศาสตราจารย์ ดร.ยงยุทธ
ตันกุลเวสส, รองศาสตราจารย์ ดร.ประเสริฐ ศรีไพโรจน์.

การวิจัยครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อหาค่าคงที่การกระจายตัวของนิโคตินในวัฏภาคอนุภาค
ต่อวัฏภาคแก๊สในควันบุหรี่ (Kp) โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง(HPLC)
ใช้คอลัมน์ Inertsil ODS-3 ชนิด reversed phase C₁₈ (4.6 x 250 mm) ขนาดอนุภาค 5 µm
ตรวจวัดด้วยเครื่องตรวจวัดอัลตราไวโอเลต – วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่นสูงสุด 260 nm
สารละลายเฟสเคลื่อนที่ระบบ isocratic ที่ประกอบด้วย acetonitrile : methanol (95 : 5) อัตรา
การไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1 mL/min พบว่ารีเทนชันไทม์ของนิโคตินมีค่าประมาณ 4.5 นาที
วิธีการวิเคราะห์มีความแม่นยำค่อนข้างสูง (CV < 5%) มีความไวสูง ปริมาณต่ำสุดที่
สามารถตรวจวัดได้มีค่า 0.025 µg/mL ค่าร้อยละประสิทธิภาพของวิธี อยู่ในช่วง 74.70 –
83.45 และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) มีค่ามากกว่า 0.997

รูพรุนของ filter ขนาด 0.45 µm มีความเหมาะสมในการเก็บควันบุหรี่ มากกว่ารูพรุน
ของ filter ขนาด 0.20 µm การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในตัวอย่างควันบุหรี่ ใช้บุหรี่ 4 รหส์
เครื่องหมายการค้าคือ KT1, KT2, KT3 และ KT4 ผลการวิจัยพบว่ามีค่า Kp เฉลี่ย 3.555×10^{-4} ,
 2.138×10^{-4} , 3.039×10^{-4} และ 2.101×10^{-4} m³/µg ตามลำดับ และค่า Kp โดยวิธีการทำดี
ซอร์พชันลดลง ในบุหรี่ 4 รหส์เครื่องหมายการค้าคือ KT1, KT2, KT3 และ KT4 มีค่า Kp เฉลี่ย
 3.416×10^{-5} , 4.798×10^{-5} , 2.976×10^{-5} และ 2.855×10^{-5} m³/µg ตามลำดับ

A STUDY OF PARTICLE PHASE / GAS PHASE DISTRIBUTION CONSTANT (K_p)
OF NICOTINE IN TOBACCO SMOKE BY
HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY TECHNIQUE

AN ABSTRACT
BY
WANPHEN BOONRUKSA

Presented in fulfillment of requirements
for the Master of Education degree in Chemistry
at Srinakharinwirot University
May 2002

Wanphen Boonruksa. (2002). *A Study of Particle Phase / Gas Phase Distribution Constant (Kp) of Nicotine in Tobacco Smoke by High Performance Liquid Chromatography Technique*. Master Thesis, M.Ed. (Chemistry). Bangkok : Graduate School, Srinakharinwirot University. Advisor Committee : Assoc. Prof. Dr. Yongyuth Tundulawessa, Assoc. Prof. Dr. Prasert Sripirot.

The purpose of this study is to determine the distribution constant (Kp) in particle to gas phase of nicotine from four brands of tobacco's smoke by using high performance liquid chromatography (HPLC) technique. The C-18 reversed phase Inertsil ODS-3 column, 4.6 x 250 mm and 5 μ m particle-size, and a UV detector at maximum wavelength of 260 nm were used. A mixture of acetonitrile and methanol in 95 : 5 by volume was an isocratic mobile phase in this system. The mobile phase flow rate 1.0 mL/min gave 4.5 minute retention time for the separated nicotine. This method had relatively high precision (CV < 5 %), high sensitivity and low detection limit (0.025 μ g/mL). The recovery percentage was 74.71 – 83.45 and the correlation coefficient was over 0.997.

The analysis of four brands of tobacco coded as KT1, KT2, KT3 and KT4 indicated that 0.45 μ m filter-pore-size gave a better result than the 0.20 μ m filter-pore-size. The Kp for the KT1, KT2, KT3 and KT4 were 3.555×10^{-4} , 2.138×10^{-4} , 3.039×10^{-4} and 2.101×10^{-4} m³/μg, respectively. After desorption process, the Kp values were lower. The Kp after desorption for KT1, KT2, KT3 and KT4 were 3.416×10^{-5} , 4.798×10^{-5} , 2.976×10^{-5} and 2.855×10^{-5} m³/μg, respectively.

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

การศึกษาค่าคงที่การกระจายตัวของนิโคตินในวัฏภาคอนุภาคต่อวัฏภาคแก๊ส
ในควันบัพรี(Kp) โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

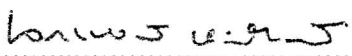
ของ

นางสาววันเพ็ญ บุญรักษา

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต วิชาเอกเคมี

ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

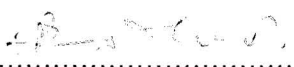
 คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

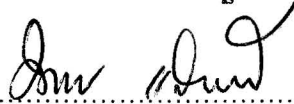
(รองศาสตราจารย์ ดร.นภาพร หะวานนท์)

วันที่ 10 เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2545

คณะกรรมการสอบปริญญานิพนธ์

..... ประธาน
(รองศาสตราจารย์ ดร. ยงยุทธ ดันทุลเวสส)

 กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ประเสริฐ ศรีไพโรจน์)

 กรรมการที่แต่งตั้งเพิ่มเติม
(อาจารย์ ดร. จินดา แท้มบรรจง)

 กรรมการที่แต่งตั้งเพิ่มเติม
(รองศาสตราจารย์ ดร. รมัต ไชชัย)

ประกาศคุณูปการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยคำแนะนำ ความช่วยเหลือ และให้ความอนุเคราะห์อย่างดีจากคณาจารย์หลายท่าน ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ยงยุทธ ดันทุลเสส ประธานควบคุมปริญญานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. ประเสริฐ ศรีไพโรจน์ กรรมการควบคุมปริญญานิพนธ์ อาจารย์วราดุล ฉัตรทอง ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ในทุกขั้นตอนของการวิจัยและการเขียนปริญญานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณ ดร. จินดา แต้มบรรจง และรองศาสตราจารย์ ดร.ระมัต โชชัย ในการเป็นกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์ ตลอดจนให้คำแนะนำต่างๆ ที่ทำให้ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ขอกราบขอบพระคุณและคณาจารย์ภาควิชาเคมีทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และให้ความเมตตาแก่ผู้วิจัยตลอดมา

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ไพบุลย์ แสงแก้ว ผู้อำนวยการศูนย์วิทยาศาสตร์ สถาบันราชภัฏเพชรบุรีวิทยาเขตกรรณ ในพระบรมราชูปถัมภ์ และ ดร. ศิริกานต์ ผาสุข ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือ ตลอดจนเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ได้ให้ความรู้เกี่ยวกับการใช้เครื่องมือ เพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ นิสิตปริญญโททุกท่านที่ได้ให้คำแนะนำช่วยเหลือ และขอขอบคุณคุณชัยวิชิต เจริญไชย ที่ให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยตลอดมา ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณา และขอกราบขอบพระคุณไว้ ณ โอกาสนี้

ขอโน้มรำลึกถึงพระคุณบิดา มารดา ที่ให้กำลังใจและให้การสนับสนุนในด้านการศึกษาแก่ผู้วิจัยด้วยดีตลอดมา และขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีได้กล่าวนาม ณ ที่นี้ ที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือในด้านต่างๆ จนปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จเรียบร้อย

วันเพ็ญ บุญรักษา

สารบัญ

บทที่		หน้า
1	บทนำ.....	1
	ภูมิหลัง	1
	ความมุ่งหมายในการวิจัย.....	3
	ความสำคัญของการวิจัย.....	3
	ขอบเขตของการวิจัย.....	3
	คำนิยามศัพท์เฉพาะ.....	4
2	เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
	โครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง.....	5
	การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี.....	11
	การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบ สมรรถนะสูง.....	14
3	วิธีดำเนินการวิจัย.....	15
	สารเคมีและอุปกรณ์.....	15
	วิธีดำเนินการวิจัย.....	17
	การหาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง HPLC ในการวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน.....	19
	การศึกษาขนาดรูพรุนของ filter ที่เหมาะสม.....	23
	การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในบุหรี่.....	24
	การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในควันบุหรี่.....	25
	สถิติที่ใช้ในงานวิจัย.....	27
4	ผลการวิจัย.....	29
	การหาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง HPLC ในการวิเคราะห์ปริมาณ นิโคติน	29
	การศึกษาขนาดรูพรุนของ filter ที่เหมาะสม.....	37
	การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในบุหรี่.....	38
	การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในควันบุหรี่.....	39
	การหาค่าคงที่การกระจายตัวของนิโคตินในควันบุหรี่.....	43

สารบัญ(ต่อ)

บทที่	หน้า
5 สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	45
ข้อเสนอแนะ.....	50
บรรณานุกรม.....	50
ภาคผนวก.....	53
ประวัติย่อผู้วิจัย.....	59

บัญชีตาราง

ตาราง		หน้า
1	ระบบที่ใช้ในการหาเฟสเคลื่อนที่ และ flow rate ของเฟสเคลื่อนที่ในการวิเคราะห์ปริมาณสารละลายมาตรฐานนิโคติน.....	19
2	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารละลายมาตรฐานนิโคติน ความเข้มข้น 2.0, 4.0, 6.0 และ 8.0 µg/mL.....	31
3	ร้อยละประสิทธิภาพของวิธี ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน ของนิโคตินในควินบุรี่ (n = 5).....	32
4	ปริมาณนิโคตินในวัฏภาคอนุภาคและวัฏภาคแก๊ส รูปพรุนของ filter ขนาด 0.20 µm (n = 5).....	37
5	ปริมาณนิโคตินในวัฏภาคอนุภาคและวัฏภาคแก๊ส ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน รูปพรุนของ filter ขนาด 0.45 µm (n = 5).....	37
6	ปริมาณนิโคติน ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน และร้อยละความชื้นในบุรี่ 1 มวน จากบุรี่ 4 รหัสเครื่องหมายการค้า ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 260 nm.....	38
7	ปริมาณนิโคติน ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน ในควินบุรี่ KT1, KT2, KT3 และ KT4 ในวัฏภาคอนุภาค และวัฏภาคแก๊ส ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 260 nm	39
8	ปริมาณนิโคติน ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน ในควินบุรี่ KT1, KT2, KT3 และ KT4 ในวัฏภาคอนุภาค และวัฏภาคแก๊ส โดยวิธีการทำดีซอร์พชัน ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 260 nm	41
9	ค่าคงที่การกระจายตัวของนิโคตินในวัฏภาคอนุภาคต่อวัฏภาคแก๊ส ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน ในควินบุรี่ 4 รหัสเครื่องหมายการค้า	43
10	ค่าคงที่การกระจายตัวของนิโคตินในวัฏภาคอนุภาคต่อวัฏภาคแก๊ส ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน ในควินบุรี่ 4 รหัสการค้าโดยวิธีการทำดีซอร์พชัน.....	44

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 โครงสร้างของนิโคตินในรูปแบบต่างๆ.....	1
2 แผนภูมิการศึกษาขนาดรูพรุนของ filter ที่เหมาะสม.....	17
3 แผนภูมิการวิเคราะห์หาค่า Kp ในควันบุหรี่.....	18
4 การต่ออุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างควันบุหรี่.....	23
5 การต่ออุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างควันบุหรี่โดยวิธีการทำดีซอร์พชัน.....	26
6 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ตรวจวัดที่ ความยาวคลื่น 260 nm.....	30
7 โครมาโทแกรมของ methanol (blank) ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 260 nm.....	30
8 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานนิโคตินที่ความเข้มข้น 2.0, 4.0, 6.0 และ 8.0 µg/mL.....	32
9 โครมาโทแกรมของสัญญาณรบกวน.....	33
10 โครมาโทแกรมของสารละลาย blank.....	34
11 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ความเข้มข้น 1.0 µg/mL ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 260 nm.....	34
12 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานนิโคตินความเข้มข้น 0.5 µg/mL ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 260 nm.....	35
13 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานนิโคตินความเข้มข้น 0.125 µg/mL ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 260 nm.....	35
14 โครมาโทแกรมของสารละลาย จากการสกัดปริมาณนิโคตินจากตัวอย่างบุหรี่ ในวัฏภาคอนุภาค รูพรุนของ filter ขนาด 0.45 µm.....	40
15 โครมาโทแกรมของสารละลายจากการสกัดปริมาณนิโคตินจากตัวอย่างบุหรี่ ในวัฏภาคแก๊ส รูพรุนของ filter ขนาด 0.45 µm.....	40
16 โครมาโทแกรมของสารละลายจากการสกัดปริมาณนิโคตินจากตัวอย่างบุหรี่ ในวัฏภาคอนุภาค รูพรุนของ filter ขนาด 0.45 µm โดยวิธีการทำ ดีซอร์พชัน.....	42
17 โครมาโทแกรมของสารละลายจากการสกัดปริมาณนิโคตินจากตัวอย่างบุหรี่ ในวัฏภาคแก๊ส รูพรุนของ filter ขนาด 0.45 µm โดยวิธีการทำ ดีซอร์พชัน.....	42

บัญชีภาพประกอบ(ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
18 โคโรมาโทแกรมการซ้อนทับพีคของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ความเข้มข้น 2.0, 4.0, 6.0 และ 8.0 µg/mL.....	54
19 โคโรมาโทแกรมการซ้อนทับพีคของสารละลายมาตรฐานนิโคติน กับสารตัวอย่างในคว้นบูหรี่วัฏภาคอนุภาค.....	54
20 โคโรมาโทแกรมการซ้อนทับพีคของสารละลายมาตรฐานนิโคติน กับสารตัวอย่างในคว้นบูหรี่วัฏภาคแก๊ส.....	55
21 โคโรมาโทแกรมการซ้อนทับพีคของสารละลายมาตรฐานนิโคติน กับสารตัวอย่างในคว้นบูหรี่วัฏภาคอนุภาค โดยวิธีการทำดีซอร์พชัน.....	55
22 โคโรมาโทแกรมการซ้อนทับพีคของสารละลายมาตรฐานนิโคติน กับสารตัวอย่างในคว้นบูหรี่วัฏภาคแก๊ส โดยวิธีการทำดีซอร์พชัน.....	56
23 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ความเข้มข้น 20, 40, 60 และ 80 µg/mLตรวจวัดด้วย UV – VIS Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 260 nm.....	56
24 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ใน methanol.....	57
25 กราฟเส้นตรงระหว่างค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ peak height กับ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้นของนิโคตินในคว้นบูหรี่.....	58
26 กราฟเส้นตรง detection limit ของนิโคตินในคว้นบูหรี่.....	58

บทที่ 1

บทนำ

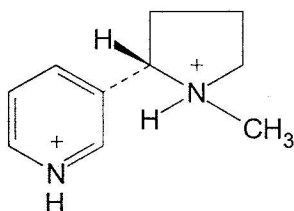
ภูมิหลัง

บุหรี่เป็นสารเสพติดชนิดหนึ่งทำมาจากใบยาสูบมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Nicotiana tabacum* Linn. (เดิม สมิตินันท์. 2523 : 241)

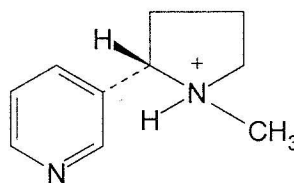
ควันบุหรี่ที่เผาไหม้โดยตรงเกิดจากการเผาไหม้บุหรี่ส่วนปลายและรอบนอก อุณหภูมิจากการเผาไหม้ประมาณ 600 °C ความเข้มข้นของสารที่เกิดจากควันบุหรี่ในห้องที่มีผู้สูบบุหรี่จะทำให้มีสารที่ปนในอากาศสูง สำหรับอากาศในที่โล่งจะมีน้อยกว่า (ศิริวัฒน์ ทิพย์ธราดล. 2534 : 8 – 9) ในควันบุหรี่จะมีสารนิโคตินเป็นองค์ประกอบหลัก ควันบุหรี่ที่ผู้สูบได้รับโดยตรง (mainstream tobacco smoke, MSS) จะมีสารนิโคตินมากกว่าในอากาศบริเวณที่มีการสูบบุหรี่ (environmental tobacco smoke, ETS) (Eatough, et al. 1989 : 679)

นิโคตินเป็นสารประกอบประเภทอัลคาลอยด์ (alkaloid) ที่พบในใบยาสูบ มีสูตรเคมี $C_{10}H_{14}N_2$ มีชื่อทางเคมีว่า 1 – methyl – 2 – (3-pyridyl)pyrrolidine ละลายได้ดีในน้ำ เมทานอล คลอโรฟอร์ม และอีเทอร์ มีจุดเดือด 247 °C ดัชนีหักเห 1.5280 ความหนาแน่น 1.01 g/ml นิโคตินเปลี่ยนสารละลาย cyanogen bromide เป็นสีส้ม การดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลต (UV) ในสารละลายกรด(0.1 M HCl) มีค่า λ_{max} เท่ากับ 259 nm และ ในสารละลายเบส (0.1 M NaOH) มีค่า λ_{max} เท่ากับ 261 nm (Moffat, A. C. 1986 : 807 – 808)

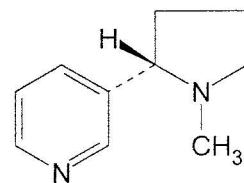
นิโคตินที่พบในควันบุหรี่โดยทั่วไปมี 2 วัฏภาค คือ วัฏภาคแก๊ส (gas phase) และ วัฏภาคอนุภาค (particle phase) ทั้งสองวัฏภาคมี 3 รูป คือ diprotonated monoprotonated และ free-base ซึ่งมีโครงสร้างดังนี้



diprotonated



monoprotonated



free - base

ภาพประกอบ 1 โครงสร้างของนิโคตินในรูปต่างๆ (Pankow, et al. 1997 : 2829)

บุหรี่ที่วางขายในสหรัฐอเมริกา มีการเติมแต่งสารประกอบแอมโมเนียลงไป ซึ่งองค์การอาหารและยา (The U.S. food and drug administration, FDA) ว่าการเติมแต่งสารประกอบแอมโมเนียลงในบุหรี่ จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของนิโคติน ไปอยู่ในรูปแบบอิสระเพิ่มขึ้น ทำให้คนติดบุหรี่มากขึ้น (Pankow, et al. 1997 : 2428)

นิโคตินในควันบุหรี่ จะมีค่าคงที่การกระจายตัว ซึ่งหาได้จากอัตราส่วนของนิโคตินในวัฏภาคอนุภาคต่อวัฏภาคแก๊ส (Kp) (Pankow, et al. 1997 : 2428) ดังสูตร

$$Kp = Cp / Cg$$

Cp คือ ความเข้มข้นของนิโคตินในวัฏภาคอนุภาค (ng/μg)

Cg คือ ความเข้มข้นของนิโคตินในวัฏภาคแก๊ส (ng/m³)

จากงานวิจัยที่ผ่านมา มีการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในควันบุหรี่ โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี และผ่านไอแอมโมเนียทำให้นิโคตินในวัฏภาคอนุภาค หลุดจากแหล่งดูดซับ กลายเป็นเบสอิสระในวัฏภาคแก๊สเพิ่มขึ้นทั้งในควันบุหรี่ที่ผู้สูบบุหรี่ได้รับโดยตรง และในอากาศบริเวณที่มีการสูบบุหรี่ แต่ไม่มีการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography, HPLC) ซึ่งเป็นเทคนิคที่สามารถตรวจวัดปริมาณสารได้ในระดับที่ละเอียดมาก

ผู้ที่สูบบุหรี่จะได้รับนิโคตินที่อยู่ในวัฏภาคอนุภาคและวัฏภาคแก๊ส นิโคตินเมื่อเข้าสู่ร่างกายจะไปออกฤทธิ์ที่สมองส่วนกลาง ระบบหัวใจทำให้ความดันสูง หลอดเลือดตีบตัน ระบบการหายใจ ทำให้ผู้สูบบุหรี่จัดมีอาการแน่นหน้าอกและหายใจไม่สะดวก (อรรณพ หุ่นดี. 2542 : 17) ในงานวิจัยครั้งนี้ทำให้ทราบขนาดรูพรุน ของ filter ที่เหมาะสมจับนิโคตินในวัฏภาคอนุภาคและวัฏภาคแก๊ส สามารถนำไปประยุกต์ในการทำกันกรองบุหรี่ต่อไป ทำให้ผู้สูบบุหรี่ได้รับปริมาณนิโคตินน้อยลง ทำให้ลดปัญหาต่อการเกิดโรคมะเร็งที่เกิดจากการสูบบุหรี่ได้

ด้วยเหตุผลดังกล่าวทำให้ผู้วิจัย สนใจศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในควันบุหรี่ที่อยู่ในวัฏภาคแก๊ส และวัฏภาคอนุภาค และขนาดรูพรุนของ filter ที่เหมาะสม โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

ความมุ่งหมายในการวิจัย

1. เพื่อศึกษาขนาดรูพรุน (pore size) ของ filter ที่แยกระหว่างวัฏภาคอนุภาค และ วัฏภาคแก๊ส
2. เพื่อศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในควันบุหรี่ที่มีโครงสร้างแบบเบสอิสระ
3. เพื่อศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในควันบุหรี่ที่มีโครงสร้างแบบเบสอิสระโดยวิธีการทำดีซอร์พชัน (desorption)
4. เพื่อศึกษาหาค่าพารามิเตอร์ในการวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน

ความสำคัญของการวิจัย

1. ทำให้ทราบขนาดรูพรุนของ filter ที่มีผลต่อการจับนิโคตินในวัฏภาคอนุภาค
2. ทำให้ทราบปริมาณนิโคตินในวัฏภาคอนุภาคและวัฏภาคแก๊ส ที่มีโครงสร้างแบบเบสอิสระ
3. ทำให้ทราบปริมาณนิโคตินในวัฏภาคอนุภาคและวัฏภาคแก๊ส ที่มีโครงสร้างแบบเบสอิสระโดยวิธีการทำดีซอร์พชัน
4. ทำให้ทราบค่าพารามิเตอร์ ในการวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน
5. ทำให้ทราบหลักการและสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน โดยใช้เทคนิคโครมาโตกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

ขอบเขตของการวิจัย

1. ใช้ cellulose nitrate filter ที่มีรูพรุน 2 ขนาดคือ 0.2 μm และ 0.45 μm ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 mm
2. เก็บตัวอย่างควันบุหรี่ที่ผู้สูบบุหรี่ได้รับโดยตรงเท่านั้น
3. ศึกษาปริมาณนิโคตินที่มีโครงสร้างแบบเบสอิสระเท่านั้น
4. ศึกษาปริมาณนิโคตินที่มีในบุหรี่ 4 เครื่องหมายการค้าที่ผลิตในประเทศไทย โดยใช้สัญลักษณ์ดังนี้ คือ KT1, KT2, KT3 และ KT4 ทำการสั่งซื้อจากร้านขายของชำในเขตห้วยขวาง กรุงเทพมหานคร

คำนิยามศัพท์เฉพาะ

1. วัฏภาคแก๊ส หมายถึง นิโคตินที่อยู่ในรูปแก๊ส
2. วัฏภาคอนุภาค หมายถึง นิโคตินที่อยู่ในรูปของแข็ง
3. ดีซอร์พชัน หมายถึง การผ่านไอแอมโมเนียทำให้นิโคตินในวัฏภาคอนุภาค

หลุดจากแหล่งดูดซับ ไปอยู่ในรูปเบสอิสระ

4. พารามิเตอร์ หมายถึง ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ที่ใช้ในวิธีการทางเคมีวิเคราะห์ ประกอบด้วย ปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (detection limit) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation) และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient) ค่าร้อยละประสิทธิภาพของวิธี (percent recovery) และค่ารีเทนชันไทม์ (retention time)

5. หลอดแก้ว 2 ชั้น หมายถึง หลอดแก้วที่ใช้เก็บตัวอย่างควันบุหรี่ และจับนิโคตินในวัฏภาคแก๊ส

6. filter holder หมายถึง อุปกรณ์ที่บรรจุ filter ซึ่งใช้จับนิโคตินในวัฏภาคอนุภาค

7. mainstream tobacco smoke (MSS) หมายถึง ควันบุหรี่ที่ผู้สูบบุหรี่ได้รับเข้าไปโดยตรง

8. environmental tobacco smoke (ETS) หมายถึง ควันบุหรี่ที่มีอยู่ในอากาศบริเวณที่มีการสูบบุหรี่

9. ค่า Kp หมายถึง ค่าคงที่การกระจายตัวของนิโคตินในควันบุหรี่ คำนวณจากอัตราส่วนระหว่างปริมาณนิโคตินในวัฏภาคอนุภาคต่อวัฏภาคแก๊ส ($\text{m}^3/\mu\text{g}$)

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในงานวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้อง โดยนำเสนอตามหัวข้อต่อไปนี้

1. โครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง
2. การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี
3. การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

1. โครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (HPLC)

HPLC คือ เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบคอลัมน์ที่สามารถแยกองค์ประกอบของสารผสมได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ โดยใช้ปั๊มที่มีสมรรถนะสูงดันเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) เคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ซึ่งภายในบรรจุเฟสที่อยู่กับที่ (stationary phase) ที่มีขนาดเล็กมากเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวในการเกิดอันตรกิริยา (interaction) กับสารผสมได้ดีขึ้นทำให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น เมื่อเฟสเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์จะเคลื่อนที่ไปยังเครื่องตรวจจับ (detector) ซึ่งจะต่อเข้ากับเครื่องอ่านผล (read out) สารผสมแต่ละชนิดจะมีอัตราเร็วในการเคลื่อนที่ต่างกัน ทำให้ใช้เวลาในการวิเคราะห์ต่างกัน

โครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง มีส่วนประกอบดังนี้

- 1.1 ภาชนะใส่เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase reservoir)
- 1.2 ปั๊มความดันสูง (high pressure pump)
- 1.3 บริเวณฉีดสารตัวอย่าง (injector)
- 1.4 การ์ดคอลัมน์ (guard column)
- 1.5 คอลัมน์ (column)
- 1.6 เครื่องตรวจจับ (detector)
- 1.7 เครื่องบันทึกข้อมูล (recorder)

1.1 ภาชนะใส่เฟสเคลื่อนที่

ภาชนะที่นำมาใส่เฟสเคลื่อนที่จะต้องไม่เกิดปฏิกิริยากับเฟสเคลื่อนที่ โดยทั่วไปนิยมใช้ภาชนะที่ทำด้วยแก้วขนาด 1 ลิตร เฟสเคลื่อนที่ก่อนใช้ต้องกรองฝุ่นละออง และอนุภาคแขวนลอยออกก่อน กรองด้วยกระดาษกรองที่มีรูพรุน 0.20 ไมโครเมตร 2 ครั้ง และกำจัดแก๊สที่ละลายในเฟสเคลื่อนที่ออกก่อนนำไปใช้

ข้อควรระวังเกี่ยวกับ เฟสเคลื่อนที่

1.1.1 ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งเพื่อให้ผลการแยกเหมือนเดิม สารที่เตรียมไว้ค้างคืนไม่ควรนำกลับมาใช้ใหม่ เพราะจะทำให้ค่ารีเทนชันไทม์ resolution หรือ ความสูงของพีคเปลี่ยนแปลงไป ถ้าจะเก็บค้างคืนควรแช่เย็น และปิดฝาให้มิดชิด

1.1.2 เลือกใช้ เฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสมกับชนิดของคอลัมน์

1.1.3 ไม่ควรใช้ เฟสเคลื่อนที่ เป็นสารละลายบัฟเฟอร์ที่มี ฮาโลเจนอออน (halogen ion) อยู่ด้วย หรือ เฟสเคลื่อนที่ ที่ทำให้เกิดฮาโลเจนอออน เพราะสามารถกัดกร่อน flow line ที่ทำจาก stainless steel ได้

1.1.4 วิธีที่ใช้เตรียมเฟสเคลื่อนที่ ที่มีตัวทำละลายหลายชนิดผสมกันอยู่ มีความสำคัญเช่นกัน เพราะถ้าผสมสารด้วยวิธีต่างกันสัดส่วนของสารจะไม่เหมือนกันทำให้ผลที่ได้ต่างกัน ในการทดลองจึงควรเตรียมสารด้วยวิธีที่เหมือนกัน ดังนั้นควรบันทึกไว้ด้วยว่าเตรียมอย่างไร เพื่อให้ได้ผลเหมือนเดิมทุกครั้ง

1.2 ป้อนความดันสูง

ทำหน้าที่ดันเฟสเคลื่อนที่เข้าสู่คอลัมน์ ความดันที่ใช้ในการอัดเฟสเคลื่อนที่เข้าสู่คอลัมน์โดยทั่วไปจะแสดงในหน่วยกิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร (kg.cm^{-2}) บาร์(Bar) ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (psi) นิวตันต่อตารางเมตร หรือ พาสคาล (Pa) ความดันจะเป็นตัวกำหนดคอลัมน์แต่ละชนิด ป้อนที่นำมาใช้ควรมีสสมบัติดังนี้

1.2.1 ให้ความดันสูง

1.2.2 ทนต่อสารเคมี

1.2.3 อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่คงที่

1.2.4 มีความสะดวกในการเปลี่ยนอัตราการไหล

1.2.5 วัดหรือปรับอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ได้ง่าย

1.2.6 สามารถทำงานที่อุณหภูมิสูงๆ ได้

1.2.7 เปลี่ยนชนิดของเฟสเคลื่อนที่ได้ง่าย

1.2.8 สามารถเปลี่ยนใช้งานแบบ gradient ได้

1.2.9 มีความสะดวกในการบำรุงรักษาซ่อมแซม และมีราคาถูก

1.3 บริเวณฉีดสารตัวอย่าง

การฉีดสารตัวอย่างเข้าเครื่อง HPLC นั้นควรฉีดในปริมาณน้อย และต้องคอยระวังไม่ให้เกิดฟองอากาศ การฉีดสารตัวอย่างที่นิยมใช้ในปัจจุบันคือการฉีดผ่านลู่วาล์ว (loop valve) การฉีดสารผ่านลู่วาล์วมี 2 วิธีคือ ชนิดที่มีลู่วาล์วอยู่ภายนอก (external loop valve) กับชนิดที่มีลู่วาล์วอยู่ภายใน (internal loop valve) เป็นส่วนที่ใช้นำสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์เข้าสู่คอลัมน์บริเวณฉีดสารตัวอย่าง ที่ดีควรมีลักษณะ ดังนี้

1.3.1 ใช้ฉีดสารตัวอย่างชนิดใดก็ได้

1.3.2 สะดวกต่อการใช้งาน

1.3.3 ปริมาณของสารตัวอย่างที่ฉีดแต่ละครั้งเท่ากัน

1.3.4 สามารถฉีดสารตัวอย่างขณะที่มีแรงดันกลับสูงๆ ได้

1.4 การ์ดคอลัมน์

เป็นคอลัมน์สั้น ๆ อนุภาคที่บรรจุภายในเป็นชนิดเดียวกันกับที่บรรจุในคอลัมน์มีขนาดใหญ่กว่าหรือเท่ากับที่บรรจุในคอลัมน์ ทำหน้าที่ป้องกันการอุดตันของคอลัมน์ โดยการดักจับสารมลทินและโมเลกุลแขวนลอยขนาดใหญ่ไว้ ก่อนที่จะผ่านคอลัมน์ใช้งาน

1.5 คอลัมน์

ทำหน้าที่แยกองค์ประกอบต่าง ๆ ของสารผสมออกจากกันให้บริสุทธิ์ คอลัมน์ที่ใช้ในงานวิเคราะห์ HPLC ทำด้วยเหล็กกล้าไร้สนิม ยาว 15 ถึง 150 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 4.6 มิลลิเมตร อนุภาคที่ใช้บรรจุมีขนาด 3 ถึง 10 ไมโครเมตร ปัจจุบันนิยมใช้คอลัมน์สำหรับงานตรวจวิเคราะห์ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4.6 มิลลิเมตร ยาว 15 เซนติเมตร อนุภาคที่ใช้บรรจุมีขนาด 5 ไมโครเมตร สำหรับอนุภาคที่ใช้บรรจุในคอลัมน์เป็นอนุภาคที่มีรูพรุนขนาดเล็ก ๆ

ชนิดของคอลัมน์ แบ่งออกตามหน้าที่การใช้งาน ของ HPLC ได้ดังนี้

1.5.1 adsorption column

1.5.2 partition column

- normal phase column

- reversed phase column

1.5.3 ion exchange column

- anion exchange column

- cation exchange column

1.5.4 size exclusion column

- aqueous gel filtration (GFC)

- non-aqueous gel permeation (GPC)

ข้อควรคำนึงในการใช้คอลัมน์

1. สารละลายที่เลือกใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ ควรเลือกใช้สารละลายให้เหมาะสมกับคอลัมน์ เพื่อให้ได้คอลัมน์ที่มีประสิทธิภาพสูงและผลการวิเคราะห์ที่ออกมาดี นั่นคือ พีค (peak) แยกออกจากกันทั้งหมด และคมชัด สารละลายที่ใช้ขึ้นอยู่กับชนิดของคอลัมน์และสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์

2. การกรอง (filtration) เพื่อลดปัญหาสำคัญที่เป็นตัวทำลายคอลัมน์หรือตะกอนและสารตกค้างต่าง ๆ ที่อยู่บริเวณส่วนหัวของคอลัมน์ ซึ่งจะทำให้แรงดันกลับสูงและ พีคผิดปกติ

ไป การป้องกันทำได้โดยการกรองสารละลาย และสารตัวอย่างก่อนใช้ ด้วยกระดาษกรองที่มีขนาดรูพรุน $2\ \mu\text{m}$ 2 ครั้ง และควรกรองเฟสเคลื่อนที่ ให้เหมาะสมกับการใช้งานในแต่ละวัน

การดูแลรักษาคอลัมน์ในแต่ละวัน ถ้าปฏิบัติเป็นประจำ อายุการใช้งานของคอลัมน์จะนานขึ้น และช่วยแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นในระบบได้

1. การเปิดเครื่องครั้งแรกในแต่ละวัน ควรเพิ่มอัตราการไหล และความดันคอลัมน์ที่เล็กน้อยๆ เพื่อป้องกันคอลัมน์เสื่อม

2. ก่อนฉีดสารตัวอย่าง ต้องรอกจนคอลัมน์ถึงสมดุลด้วยเฟสเคลื่อนที่ก่อน โดยดูจาก base line

3. ก่อนฉีดสารควรตรวจสอบรอยรั่วตามข้อต่อต่างๆ ซึ่งโดยมากมักรั่วเพียงเล็กน้อย และตรวจพบได้โดยใช้มือแตะจะรู้สึกเย็น เนื่องจากตัวทำละลายระเหยไป ถ้ามีรอยรั่วเกิดขึ้นมักมีผลต่อ base line คือทำให้เกิด drift มีอากาศเข้าไปในระบบ และสามารถมีผลกระทบต่อความสูง และพื้นที่ของพีค ทำให้ผลการหาปริมาณแต่ละครั้งไม่เท่ากัน

4. ไม่ควรขึ้นข้อต่อต่างๆ แน่นจนเกินไปเพราะจะทำให้เกิดรอยรั่ว และถึงแม้ว่าจะขึ้นต่อไปอีกก็ไม่สามารถหยุดรอยรั่วนั้นได้ เมื่อมีรอยรั่วเกิดขึ้นควรขันเพิ่มขึ้นอีกเพียงเล็กน้อย และถ้ายังรั่วอยู่ควรถอดออกมาทั้งหมดแล้วจึงใส่กลับเข้าไปใหม่

5. ห้ามวางคอลัมน์ในทิศทางที่มีกระแสลมแรง หรือมีแสงแดดส่องถึง เพราะทำให้อุณหภูมิของคอลัมน์มีการเปลี่ยนแปลง

6. ถ้าต้องการวิเคราะห์เพื่อควบคุมคุณภาพ (quality control) ของสารควรแยกคอลัมน์เฉพาะสำหรับสารแต่ละตัว เพื่อป้องกันการปะปนกัน รวมทั้งยังช่วยยืดอายุการใช้งานของคอลัมน์ด้วย เนื่องจากใช้สารละลายเพียงระบบเดียว

7. เมื่อนัดตัวอย่างที่มีการเติมสารปนเปื้อนลงไป ควรล้างคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม ประมาณ 200-300 มิลลิลิตร โดยใช้อัตราการไหลต่ำๆ และล้างข้ามคืน รุ่งเช้าจึงล้างคอลัมน์ใหม่ ด้วยเฟสเคลื่อนที่ซึ่งอาจใช้เวลาจนถึง 30 นาที

8. ขณะวางหรือจับคอลัมน์ควรกระทำอย่างเบามือ ไม่กระแทกแรง ๆ เพราะ จะทำให้การเรียงตัวของเฟสอยู่กับที่ ภายในคอลัมน์เกิดการเปลี่ยนแปลงได้

9. เก็บคอลัมน์ที่ใช้แล้วแยกออกจากคอลัมน์ใหม่ และจัดบันทึกไว้เรียบร้อย ไม่ควรเก็บคอลัมน์ในที่ชื้นหรือในที่อุณหภูมิที่ทำให้คอลัมน์และ เฟสอยู่กับที่บรรจุอัดแน่นอยู่ภายในเกิดการขยายและหดตัวเข้าไปเข้ามา เพราะจะทำให้เกิดช่องว่างขึ้นในคอลัมน์ได้ ดังนั้นควรเก็บที่อุณหภูมิระหว่าง $15-30\ ^\circ\text{C}$ และเก็บในสภาพเปียก ไม่ควรปล่อยให้คอลัมน์แห้งเพราะจะทำให้เกิดช่องว่างขึ้นในคอลัมน์เนื่องจากการหดตัว และแตก (crack) ของเฟสอยู่กับที่ ถ้าเก็บคอลัมน์ไว้นานมากกว่า 1 สัปดาห์ ก่อนทำการเก็บคอลัมน์ควรผ่านด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมตามชนิดของคอลัมน์ ดังนี้

silica gel column	: hexane, iso-octane
reversed phase column	: methanol
ion exchange column	: H ₂ O(+0.005% NaN ₃) หรือ methanol
polar bonded column	: hexane หรือ methanol (ขึ้นกับ mode)

ตามปกติคอลัมน์ที่เป็นซิลิกาเจล (silica gel) จะใช้ได้นาน 6-12 เดือน และ reversed phase column นาน 2-6 เดือน แต่ขึ้นอยู่กับการใช้งานของคอลัมน์ด้วย

1.6 เครื่องตรวจจับ

ทำหน้าที่ตรวจจับสารที่แยกออกจากคอลัมน์ เมื่อเฟสเคลื่อนที่ชะสารตัวอย่างออกจากคอลัมน์จะผ่านเข้าสู่เครื่องตรวจจับ สัญญาณที่ได้จะถูกแปลงเป็นสัญญาณไฟฟ้า เครื่องตรวจจับที่ใช้ในเครื่อง HPLC มีหลายชนิด

1.6.1 เครื่องตรวจจับสัญญาณแบบอัลตราไวโอเลต - วิสิเบิล (UV - VIS light detector) ปัจจุบันเป็นตัวตรวจจับที่ใช้อย่างกว้างขวาง มีความไวต่อการตอบสนองสูง มีช่วงเส้นตรงกว้าง (wide liner range) ความแปรปรวนของอุณหภูมิ (temperature fluctuations) ไม่มีผลต่อการตอบสนอง สารที่ดูดกลืนคลื่นแสงแสงอัลตราไวโอเลต ส่วนมากจะเป็นพวกที่มีอิเล็กตรอนที่พันธะไพ (π-bonding electrons) และพวกที่มีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยว (lone paired electron) เช่น โอลิฟิน สารประกอบอะโรมาติก ตลอดจนสารประกอบคาร์บอนิล และสารประกอบที่มีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวจำนวนมาก สารประกอบที่มีอยู่ในโมเลกุล การดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่นหนึ่งจะเป็นไปตามกฎของแลมเบิร์ต และเบียร์ (Lambert - Beer law)

$$A = \epsilon bc$$

A = Absorbance

b = ความหนาของเซลล์ที่บรรจุสาร หน่วยเป็นเซนติเมตร

c = ความเข้มข้นของสาร

ϵ = โมลาร์แอบซอร์ปติวิตี (molar absorptivity) หน่วยเป็น dm³/mol-cm

เครื่องตรวจจับสัญญาณที่มีอยู่ในเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง มี 2 แบบ คือ แบบที่ตรึง (fixed) ความยาวคลื่น และแบบที่ปรับความยาวคลื่นได้

1.6.2 เครื่องตรวจจับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence detectors)

สารประกอบบางชนิดสามารถเกิดการเรืองแสงได้ เมื่อได้รับการกระตุ้นแสงที่มีความยาวคลื่นที่เหมาะสม

1.6.3 เครื่องตรวจจับสัญญาณโดยอาศัยสมบัติทางเคมีไฟฟ้า (electrochemical detector, EC detector)

เครื่องตรวจวัดสัญญาณชนิดนี้วัดคุณสมบัติทางเคมีไฟฟ้า(electrochemical) ได้แก่ เทคนิคโพลารोगราฟี่ (polarography) แอมเปโรเมตรี (amperometry) คูลอมเมตรี (colommetry) สภาพการนำไฟฟ้า (conductometry) ในปัจจุบันนิยมใช้ตัววัดสัญญาณชนิด แอมเปโรเมตรี และสภาพการนำไฟฟ้า

1.6.4 เครื่องตรวจวัดสัญญาณดัชนีหักเหของสาร (refractive index detector, RI detector)

เครื่องตรวจวัดสัญญาณชนิดนี้วัดค่าความแตกต่างของค่าดัชนีหักเหของสารที่ออกมาจากคอลัมน์ เมื่อเทียบกับ เฟสเคลื่อนที่ จัดเป็นตัววัดสัญญาณแบบยูนิเวอร์ซัล (universal)

1.6.5 เครื่องตรวจวัดสัญญาณชนิดโฟโตไดโอด แอร์เรย์ (photodiode array)

เครื่องตรวจวัดสัญญาณชนิดนี้จะทำจากสารกึ่งตัวนำ (semiconductor) ชนิด P และ N (P,N type) นำมาต่อกันด้วยวงจร reverse biased ทำให้รอยต่อ PN (PN junction) ที่เกิดบน silicon chip อันเนื่องมาจาก reverse biased เกิดเป็นชั้นเดพลีชัน (depletion layer) ซึ่งจะลดการนำไฟฟ้าตรงรอยต่อเกือบเป็นศูนย์ เมื่อแสงตกบริเวณนี้จะทำให้เกิดช่องว่าง (holes) และอิเล็กตรอน ให้กระแสไฟฟ้าเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณความเข้มของแสง

1.7 เครื่องบันทึกข้อมูล

โดยทั่วไปนิยมใช้เพื่อเก็บผลวิเคราะห์ เพราะสามารถใช้เก็บและเรียกข้อมูลกลับคืนมาได้ รวมทั้งนำไปใช้กับเครื่องมืออื่นๆ ได้ วิธีการใช้เครื่อง recorder แต่ละชนิดก็แตกต่างกันไป

ความปลอดภัยในการใช้เครื่อง HPLC

ตัวทำละลายเป็นสารเคมีที่อันตรายและใช้บ่อย โดยใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ ใช้เตรียมสารตัวอย่าง ใช้ล้าง และทำความสะอาด อันตรายเกิดจากไอระเหยของสารที่เป็นพิษ ซึ่งอาจสูดดมหรือดูดซึมเข้าทางผิวหนัง และติดไฟได้ง่าย ผู้ที่ใช้เครื่อง HPLC ที่ทำงานกับตัวทำละลาย ควรระวังดังนี้

1. เก็บขวดตัวทำละลาย ในที่ที่เหมาะสมเช่นในตู้เก็บสารเคมี ในที่มีอากาศถ่ายได้สะดวก
2. ต้องแน่ใจในเรื่องความปลอดภัยและความปลอดภัยของภาชนะเก็บสาร ซึ่งต้องเหมาะสมกับตัวทำละลาย เพื่อป้องกันการปนเปื้อน
3. เตรียมเฟสเคลื่อนที่ และตัวทำละลายทุกชนิดในที่ที่อากาศถ่ายเทดี เช่น ในตู้ดูดควัน เพราะการเตรียม เฟสเคลื่อนที่ในปริมาณมาก ไอของสารที่เป็นพิษมีอยู่เสมอเหมาะสมในการไล่ฟองอากาศ
4. เตรียมสารตัวอย่างในที่ที่มีอากาศถ่ายเทได้ดี เช่น ในตู้ดูดควัน

5. ปิดฝาภาชนะที่ใช้เก็บเฟสเคลื่อนที่ เพื่อป้องกันไม่ให้สัดส่วนเปลี่ยนแปลง ถ้ามีตัวทำละลายมากกว่า 1 ชนิด และป้องกันไม่ให้สารระเหย

6. ล้างและไล่หัวเข็มด้วยความระมัดระวังในที่ที่มีอากาศถ่ายเทดี

7. ไม่ควรให้ตัวทำละลายตกค้างอยู่บนผิวหนัง เมื่อตรวจสอบรอยรั่วด้วยมือ หรือเมื่อร่างกายส่วนใดส่วนหนึ่งสัมผัสตัวทำละลาย ควรรีบล้างออกด้วยน้ำจำนวนมากๆ สารบางชนิดสามารถตกค้างอยู่ได้หลายวัน แม้โดนที่ผิวหนังในปริมาณเล็กน้อย เช่น DMSO

8. ปิดฝาภาชนะที่ใช้งานทั้งหมด รวมทั้ง sample waste อาจปิดด้วยจุกหรืออลูมิเนียมฟอยด์

9. ไม่ควรทิ้งตัวทำละลายลงบนพื้นแม้เพียงเล็กน้อยก็ตาม ไอของสารที่เป็นอันตรายจะระเหยปนอยู่ในอากาศของห้องทดลอง โดยเฉพาะห้องทดลองที่เป็นห้องปรับอากาศ

10. ไม่ควรตั้งเครื่อง HPLC ในห้องที่มีประกายไฟ หรือความร้อนสูง

11. ควรทิ้งตัวทำละลายที่ใช้แล้วและไม่ต้องการลงในภาชนะที่เหมาะสม ตัวทำละลายอินทรีย์ส่วนใหญ่จะทิ้งรวมกันในขวดเดียวกันได้ ยกเว้น ตัวทำละลายที่มีฮาโลเจนอะตอมเป็นองค์ประกอบ เช่น CHCl_3 และ CH_2Cl_2 ควรเก็บแยกต่างหาก

12. เขียนฉลากติดกำกับขวดตัวทำละลาย และสารตัวอย่างทุกชนิด

2. การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

เฟเยอราเบนด์ เลวิตต์ และ รัสเซลล์ (Feyerabend, Levitt & Russell. 1975 : 434 – 436) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในพลาสมาของผู้สูบบุหรี่ และไม่สูบบุหรี่ สกัดตัวอย่างพลาสมาด้วย diethyl ether ใช้ quinoline เป็นสารอ้างอิงมาตรฐานภายใน (Internal standard) วิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี ผลการวิจัยพบปริมาณนิโคตินของผู้ที่ไม่สูบบุหรี่อยู่ในช่วง 2 - 5 ng/mL และผู้ที่สูบบุหรี่อยู่ในช่วง 7 - 30 ng/mL สูงกว่าผู้ไม่สูบบุหรี่อย่างชัดเจน นอกจากนี้ผลการวิจัยพบว่าค่ารีเทนชันไทม์ ของ quinoline และนิโคติน มีค่าเท่ากับ 2.8 นาที และ 3.6 นาที ตามลำดับ ปริมาณนิโคตินต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ เท่ากับ 0.1 ng/mL และร้อยละประสิทธิภาพของวิธี เท่ากับ 75

นอกจากนี้ เฟเยอราเบนด์ และ รัสเซลล์ (Feyerabend & Russell. 1979 : 73-76) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน ในพลาสมา ปัสสาวะ น้ำลาย และน้ำนม ของผู้สูบบุหรี่ โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี การวิจัยครั้งนี้ใช้ quinoline เป็นสารอ้างอิงมาตรฐานภายใน เช่นเดียวกัน แต่เปลี่ยนชนิดตัวทำละลายในขั้นตอนการสกัดเป็น butyl acetate ผลการวิจัยพบว่าปริมาณนิโคตินในพลาสมา ปัสสาวะ น้ำลาย และน้ำนม ของผู้สูบบุหรี่ 26.9 21.0 34.0 และ 31.1 ng/mL ตามลำดับ ปริมาณนิโคตินต่ำสุดที่ตรวจวัดได้เท่าเดิม แต่ค่ารีเทนชันไทม์ของ quinoline และนิโคติน มีค่าเท่ากับ 2.5 นาที และ 3.0 นาที ตามลำดับ

ออกเดน (Ogden. 1989 : 1002 - 1006) ใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี วิเคราะห์ปริมาณนิโคติน ในอากาศที่มีการสูบบุหรี่ การเก็บตัวอย่างการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยใช้ปั๊มดูดอากาศ บริเวณที่มีการสูบบุหรี่ ผ่านหลอดเก็บตัวอย่างที่เคลือบด้วยเรซิน XAD-4 โดยเก็บตัวอย่างอากาศนาน 2 ชั่วโมง ทุกจุดของรอยต่อปิดทับด้วย polyurethane นำเรซิน XAD-4 ชะด้วย ethyl acetate : triethylamide (99.90 : 0.01) เติม quinoline เป็นสารอ้างอิงมาตรฐานภายใน ใช้คอลัมน์ชนิด DB-5 ตรวจวัดด้วย nitrogen phosphorus detector ผลการวิจัยพบค่ารีเทนชันไทม์ของ quinoline และนิโคติน มีค่าเท่ากับ 1.9 นาที และ 2.6 นาที ตามลำดับ ปริมาณนิโคตินที่ตรวจพบอยู่ในช่วง 4.31 – 5.86 ng/mL ปริมาณนิโคตินต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้เท่ากับ 0.1 ng/mL กราฟมาตรฐานมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.990 และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) อยู่ในช่วง 4.4 – 11.1 เปอร์เซ็นต์

ออกเดน และคณะ (Ogden, et al. 1989 : 1005 – 1008) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในอากาศที่มีการสูบบุหรี่ การเก็บตัวอย่างและการสกัดเหมือนกับการทดลอง ที่ผ่าน มา (Ogden. 1989 : 1002 – 1006) วิเคราะห์ปริมาณด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี โดยใช้คอลัมน์ DB-WAX ตรวจวัดด้วย nitrogen phosphorus detector รีเทนชันไทม์ของ quinoline และนิโคตินเท่ากับ 1.9 นาที และ 2.6 นาที ตามลำดับ ปริมาณนิโคตินต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้มีค่าเท่ากับ 10 ng/mL ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานอยู่ในช่วง 0.8 - 3.2 และร้อยละประสิทธิภาพของวิธีเท่ากับ 99.3 ± 2.7

อเบต และคณะ (Abad, et al. 1993 : 3227 – 3231) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในอากาศที่มีการสูบบุหรี่ โดยใช้เทคนิค ELISA เปรียบเทียบกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี โดยสังเคราะห์จาก 3-(hydroxymethyl)nicotine ได้เป็น haptane เชื่อมต่อกับ bovine serum albumine นำไปฉีดให้หนู หนูจะสร้างแอนติบอดีขึ้นได้เป็น MAb ซึ่ง MAb จะมีความจำเพาะต่อนิโคติน ในการวิเคราะห์ใช้ MAb เชื่อมกับเอนไซม์ peroxidase ตรวจสอบกับสเตรทของเอนไซม์ด้วย o-phenylenediamine ได้เป็นสารละลายมีสีวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 nm ผลการวิจัยพบเทคนิค ELISA มีความจำเพาะชัดเจน และเที่ยงตรง ปริมาณนิโคตินต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้เท่ากับ 70 ng/mL กราฟมาตรฐานมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.997 ส่วนเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี กราฟมาตรฐานมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.886

เบอร์โทนิ และคณะ (Bertoni, et al. 1996 : 296 - 300) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน และ 3-ethenylpyridine โดยใช้หลอดทดลองที่บรรจุแกรไฟต์ ใช้ปั๊มดูดอากาศบริเวณบ้านที่มีการสูบบุหรี่โดยการทำดีซอร์พชัน สกัดด้วยน้ำ วิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี ใช้คอลัมน์ C-18 ตรวจวัดด้วย nitrogen phosphorus detector ผลการวิจัยพบว่าปริมาณนิโคตินที่ตรวจพบอยู่ในช่วง 5 - 20 ng/mL ปริมาณนิโคตินต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้เท่ากับ 2.5 ng/mL

กราฟมาตรฐานมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.980 และ ร้อยละประสิทธิภาพของวิธี เท่ากับ 85

ฮาเกอร์ และ เนสเซนเนอร์ (Hager & Niessener. 1997 : 163 -174) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน และการกระจายตัวของนิโคตินในวัฏภาคแก๊ส และวัฏภาคอนุภาค โดยเก็บตัวอย่างอากาศในบริเวณที่มีการสูบบุหรี่ เข้าใน filter holder ภายในบรรจุ filter ต่อกับ denuder ที่เคลือบด้วย benzenesulfonic acid วิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในวัฏภาคอนุภาค โดยนำ filter สกัดด้วยน้ำ ปรับ pH ของสารละลายตัวอย่างให้เป็นเบสด้วยสารละลาย NaOH สกัดด้วย CH_2Cl_2 นำชั้น CH_2Cl_2 ไประเหย และเติม n-hexadecane เป็นสารมาตรฐานอ้างอิง วิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในวัฏภาคแก๊ส โดยนำ denuder ชะด้วยน้ำ ปรับ pH ของสารละลายให้เป็นเบสด้วยสารละลาย NaOH สกัดด้วย CH_2Cl_2 นำชั้น CH_2Cl_2 ไประเหย และเติม n-hexadecane เป็นสารมาตรฐานอ้างอิง นำสารละลายที่ได้วิเคราะห์ด้วย แก๊สโครมาโทกราฟี ตรวจวัดด้วย flame ionization detector ผลการวิจัยพบว่า ปริมาณนิโคตินต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ เท่ากับ 5 ng/mL และ ร้อยละประสิทธิภาพของวิธี เท่ากับ 101.6 ± 3.6

แพนคอฟ และคณะ (Pankow, et al. 1997 : 2428 - 2433) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน ในอากาศบริเวณที่มีการสูบบุหรี่โดยผ่านแก๊สแอมโมเนีย เก็บตัวอย่างโดยใช้ปั๊มดูดอากาศบริเวณที่มีการสูบบุหรี่เข้าใน filter holder ซึ่งภายในบรรจุ filter ต่อกับ denuder เคลือบด้วยสารละลายกรดออกซาลิก เก็บตัวอย่าง 3 ชั่วโมง 35 นาที นำส่วนนิโคตินในวัฏภาคอนุภาคมามาเติมสารละลายมาตรฐานนิโคติน ปรับ pH ให้เป็นกรด สกัดด้วยน้ำ แล้วปรับ pH ให้เป็นเบส สกัดด้วย CH_2Cl_2 นำชั้น CH_2Cl_2 ไประเหยให้เหลือปริมาตร 0.5 mL เติมแนพทาไลน์ เป็นสารมาตรฐานอ้างอิง นำสารละลายที่ได้วิเคราะห์ปริมาณด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี ส่วนนิโคตินใน วัฏภาคแก๊สนำ denuder เติมสารละลายมาตรฐานนิโคตินเพื่อหาค่าร้อยละประสิทธิภาพของวิธี สกัดด้วยน้ำ นำสารละลายที่ได้ไประเหยให้เหลือปริมาตร 0.5 mL เติมแนพทาไลน์ นำสารละลายที่ได้วิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี

การทำดีซอร์พชั่น นำ filter ETS บรรจุใน filter holder ต่อกับ filter holder อีกอันหนึ่งซึ่งภายในบรรจุ filter อันใหม่ใช้ปั๊มเป่าสารละลาย NH_4OH นำ filter เติมสารละลายมาตรฐานนิโคติน ปรับ pH ให้เป็นเบสด้วย NaOH สกัดด้วย CH_2Cl_2 นำสารละลายที่ได้วิเคราะห์ปริมาณนิโคตินด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี ผลการวิจัยพบว่าการทำดีซอร์พชั่น ค่าคงที่การกระจายตัวของนิโคตินในวัฏภาคอนุภาคต่อวัฏภาคแก๊ส (K_p) ลดลง 100 เท่า

3. การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบ สมรรถนะสูง

พาเวียเนน และ บาร์โลว์ (Parviainen & Barlow. 1988 : 216 - 221) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน cotinine และ 3-pyridylcarbinol ในปัสสาวะของคนที่อยู่ในบริเวณที่มีการสูบบุหรี่ ผู้วิจัยนำตัวอย่างปัสสาวะเดิม sodium acetate buffer สารละลาย potassium cyanide และ สารละลาย chloramine-T ปรับ pH ให้เป็นกรด เดิม Na_2SO_4 ใน butanol นำสารละลายชั้นบน วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ C-18 เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วย น้ำ : เมทานอล : กรดเพนเทนซัลโฟนิก (3.5 : 5.5 : 1.0) อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ เท่ากับ 1.0 mL/min ผลการวิจัยพบว่ารีเทนชันไทม์ของนิโคติน เท่ากับ 4.5 นาที ปริมาณนิโคตินที่ตรวจวัดได้อยู่ในช่วง 7.0 – 15 ng/mL ปริมาณนิโคตินต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้เท่ากับ 1.0 ng/mL กราฟมาตรฐานมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.995

รอฟ และคณะ (Rop, et al. 1993 : 302 – 309) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน และอนุพันธ์ของนิโคติน ในปัสสาวะของผู้สูบบุหรี่ ผู้วิจัยเก็บตัวอย่างปัสสาวะของผู้สูบบุหรี่ใส่หลอดเซนตริฟิวจ์ ปรับ pH ให้เป็นเบส นำสารละลายสกัดด้วย CHCl_3 : CH_3OH (95:5) นำชั้นสารละลายอินทรีย์ ปรับ pH ให้เป็นกรดนำไประเหย และ ละลายด้วยกรดฟอสฟอริก นำสารละลายที่ได้สกัดด้วยอีเทอร์ นำสารละลายชั้นกรดฟอสฟอริก วิเคราะห์ปริมาณนิโคติน cotinine trans-3'-(hydroxy)cotinine nicotine-1'-N-oxide และ 3-pyridylcarbinol ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ C-18 ตรวจวัดด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลต - วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 260 nm ผลการวิจัยพบว่า ร้อยละประสิทธิภาพของวิธีของ nicotine, trans-3-(hydroxy)cotinine, cotinine, nicotine-1-N-oxide และ 3-pyridylcarbinol มีค่าเท่ากับ 65, 65, 70, 60 และ 55 ตามลำดับ และกราฟมาตรฐานมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.996, 0.998, 0.998, 0.995 และ 0.995 ตามลำดับ

ดาส และ วอง (Dash & Wong. 1996 : 81 – 85) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินใน nicotine gum โดยผู้วิจัยนำ nicotine gum แช่ใน hexane แล้วสกัดด้วย methanol – citrate phosphate buffer (15 : 85 โดยปริมาตร) นำสารละลายมาวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ C-18 ตรวจวัดด้วยอัลตราไวโอเลต - วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 260 nm ใช้เฟสเคลื่อนที่ชนิดเดียวกับสารละลายที่ใช้ในการสกัด อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ เท่ากับ 0.7 mL/min รีเทนชันไทม์ของนิโคตินเท่ากับ 4.4 นาที กราฟมาตรฐานที่ใช้งานอยู่ในช่วง 1.0 - 50.8 ng/mL ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานอยู่ในช่วง 1.3 – 4.4 และกราฟมาตรฐานมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.999 ปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ เท่ากับ 0.06 $\mu\text{g/mL}$

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

วิธีดำเนินการวิจัยประกอบด้วย 5 ขั้นตอน

1. การหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณนิโคติน
2. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน
3. การศึกษาคุณภาพของ filter ที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างนิโคติน
4. การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในควันบุหรี่
5. สถิติที่ใช้ในการวิจัย

สารเคมี และอุปกรณ์

สารเคมี

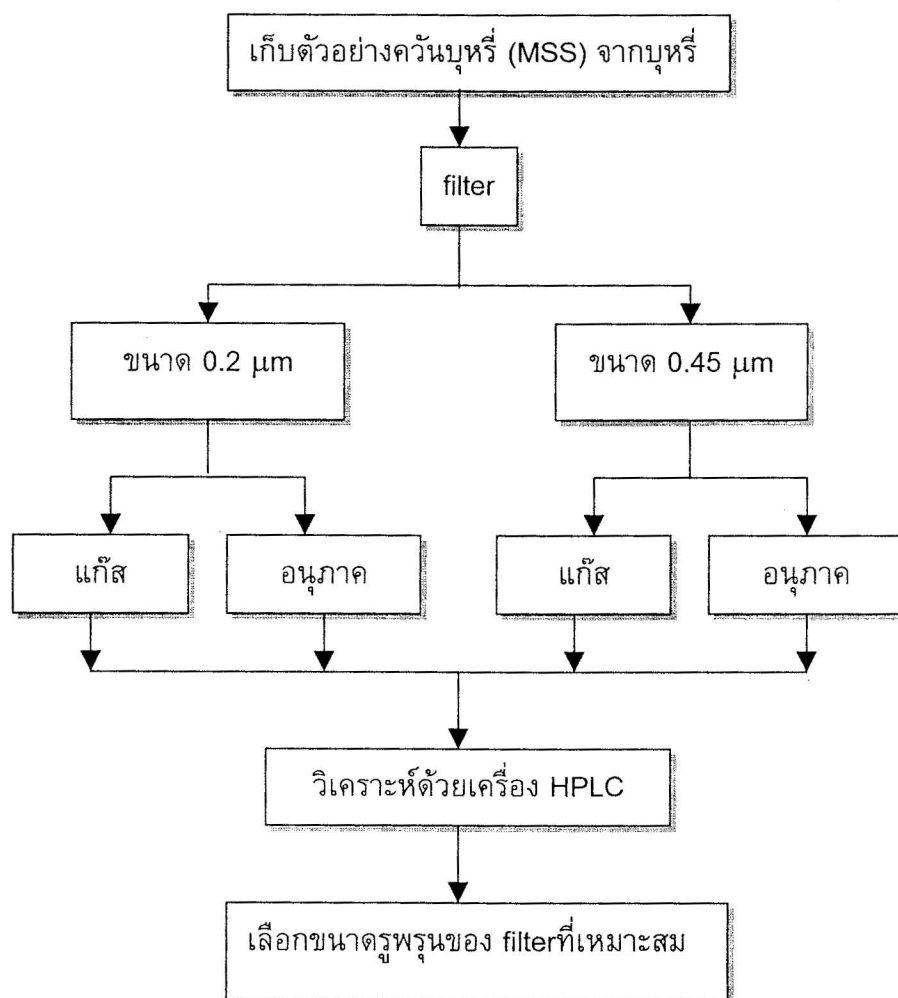
1. acetonitrile (CH_3CN) HPLC grade (LAB SCAN)
2. methanol (CH_3OH) HPLC grade (LAB SCAN)
3. dichloromethane (CH_2Cl_2) AR grade (LAB SCAN)
4. 1 M oxalic acid (HOOCCOOH) AR grade (CARLO ERBA)
5. 5 M sodium hydroxide (NaOH) AR grade (CARLO ERBA)
6. สารละลายมาตรฐานนิโคติน (-) nicotine (Fluka)
7. น้ำบริสุทธิ์สำหรับ HPLC
8. บุหรี่ รหัสเครื่องหมายการค้า KT1
9. บุหรี่ รหัสเครื่องหมายการค้า KT2
10. บุหรี่ รหัสเครื่องหมายการค้า KT3
11. บุหรี่ รหัสเครื่องหมายการค้า KT4

อุปกรณ์

1. cellulose nitrate filter pore size 0.20 μm เส้นผ่านศูนย์กลาง 25 mm
2. cellulose nitrate filter pore size 0.45 μm เส้นผ่านศูนย์กลาง 47 mm
3. nylon filter pore size 0.45 μm เส้นผ่านศูนย์กลาง 47 mm
4. nylon filter pore size 0.45 μm เส้นผ่านศูนย์กลาง 13 mm
5. filter holder
6. ปุ่มดูดอากาศ
7. ปุ่มเป่าอากาศ
8. ชุดกรองลดความดัน
9. นาฬิกาจับเวลา
10. หลอดแก้ว 2 ชั้น
11. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (METTLER TOLET รุ่น AG 245)
12. เครื่องวัด pH
13. rotary evaporator (BUCHI รุ่น B – 480)
14. เครื่อง HPLC (SHIMADZU รุ่น LC – 10 AVP)
15. UV-VIS spectrophotometer (SHIMADZU รุ่น UV 1601)

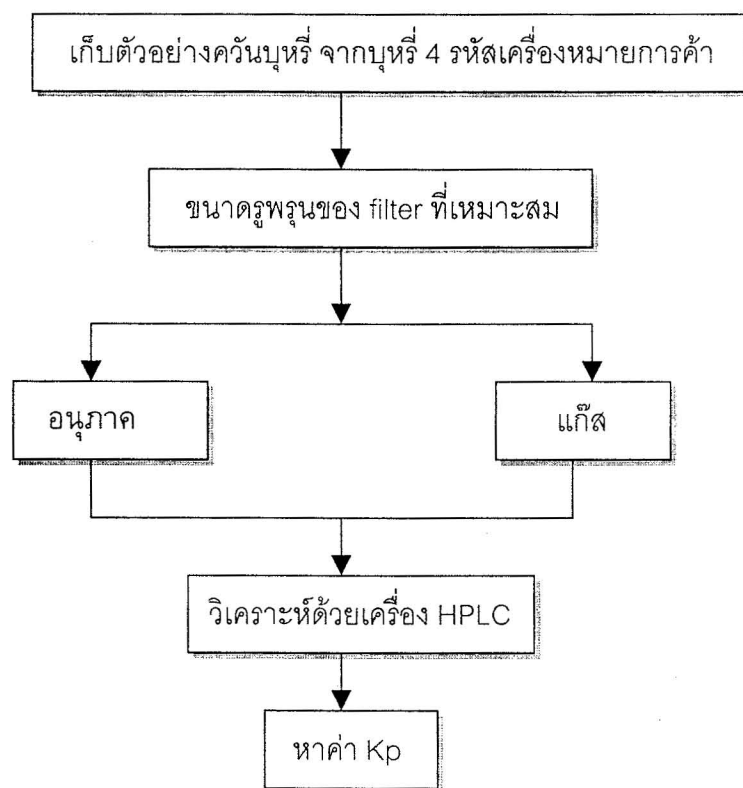
วิธีดำเนินการวิจัย

1. การศึกษาขนาดรูพรุนของ filter ที่เหมาะสม



ภาพประกอบ 2 แผนภูมิการศึกษาขนาดรูพรุนของ filter ที่เหมาะสม

2. การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในควันบุหรี่และค่า Kp



ภาพประกอบ 3 แผนภูมิการวิเคราะห์หาค่า Kp ในควันบุหรี่

1. การหาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง HPLC ในการวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน

ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยทำการศึกษาค้นคว้าหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินโดยใช้เครื่อง HPLC คอลัมน์ C₁₈ (ODS) ระบบการวิเคราะห์ของเฟสเคลื่อนที่แบบ isocratic ตรวจวัดด้วยเครื่องอัลตราไวโอเล็ต – วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 260 nm

1.1 การหาเฟสเคลื่อนที่

1.1.1 ใช้ methanol เป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 0.75 mL/min ล้างคอลัมน์จน base line เรียบ

1.1.2 ฉีดสารละลายมาตรฐานนิโคตินความเข้มข้นอยู่ในช่วง 2.0 – 10.0 µg/mL ดูการแยก ลักษณะของพีค

1.1.3 ทำการทดลองซ้ำข้อ 1.1.1–1.1.2 โดยเปลี่ยนอัตราส่วน และอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ ดังตาราง 1

1.1.4 เลือกเฟสเคลื่อนที่ ที่เหมาะสมโดยพิจารณาจากการแยกของพีค ลักษณะของพีค และรีเทนชันไทม์

ตาราง 1 ระบบที่ใช้ในการหาเฟสเคลื่อนที่ และ flow rate ของเฟสเคลื่อนที่ ในการวิเคราะห์ปริมาณสารละลายมาตรฐานนิโคติน

ระบบที่ใช้แยก	อัตราส่วน	flow rate(ml/min)
methanol	100	0.75
methanol	100	1.00
acetonitrile	100	0.75
acetonitrile	100	1.00
acetonitrile : methanol	95 : 5	0.75
acetonitrile : methanol	95 : 5	1.00
acetonitrile : methanol	90 : 10	0.75
acetonitrile : methanol	90 : 10	1.00
acetonitrile : methanol	85 : 15	0.75
acetonitrile : methanol	85 : 15	1.00
acetonitrile : water	95 : 5	0.75
acetonitrile : water	95 : 5	1.00
acetonitrile : water	90 : 10	0.75
acetonitrile : water	90 : 10	1.00

1.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

1.2.1 ชั่งสารละลายมาตรฐานนิโคติน (99 %) 0.1010 กรัม ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL ปรับปริมาตรด้วย methanol สารละลายมาตรฐานนิโคตินที่ได้มีความเข้มข้น 1000 µg/mL

1.2.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานนิโคติน 1000 µg/mL ปริมาตร 10 mL ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL ปรับปริมาตรด้วย methanol สารละลายมาตรฐานนิโคตินที่ได้มีความเข้มข้น 100 µg/mL

1.2.3 ปิเปตสารละลายมาตรฐานนิโคตินความเข้มข้น 100 µg/mL ปริมาตร 200, 400, 600 และ 800 µL ตามลำดับ ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL ปรับปริมาตรด้วย methanol สารละลายมาตรฐานนิโคตินที่ได้มีความเข้มข้น 2.0, 4.0, 6.0 และ 8.0 µg/mL ตามลำดับ

1.2.4 นำสารละลายมาตรฐานนิโคตินความเข้มข้น 2.0, 4.0, 6.0 และ 8.0 µg/mL ไปกรองด้วย nylon filter ที่มีขนาดรูพรุน 0.20 µm นำสารละลายที่ได้ฉีดเข้าเครื่อง HPLC ความเข้มข้นละ 20 µL ตรวจวัดด้วยเครื่องอัลตราไวโอเล็ต – วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 260 nm

1.2.5 นำพื้นที่พีคที่วัดได้ กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ไปสร้างกราฟมาตรฐาน

1.3 การหาช่วงที่เป็นเส้นตรง

1.3.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานนิโคติน เข้มข้น 2.0, 4.0, 6.0 และ 8.0 µg/mL เหมือนข้อ 1.2.1 – ข้อ 1.2.3

1.3.2 นำสารละลายมาตรฐานที่ได้ กรองด้วย nylon filter ขนาดรูพรุน 0.20 µm 2 ครั้ง

1.3.3 นำสารละลายมาตรฐานที่ได้ฉีดเข้าเครื่อง HPLC ความเข้มข้นละ 20 µL ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 260 nm

1.3.4 นำพื้นที่พีคที่ได้กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไปสร้างกราฟมาตรฐาน ทำการทดลอง 5 ซ้ำ เพื่อหาข้อมูลทางสถิติ และเส้นตรงการถดถอยของกราฟ - มาตรฐาน เพื่อคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์

1.4 การหาค่าร้อยละประสิทธิภาพของวิธี

1.4.1 เก็บตัวอย่างคว้นบุหรี ตามวิธีการศึกษาขนาดรูพรุนของ filter ที่เหมาะสม ในการทดลอง 2.1

1.4.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานนิโคติน 2.0, 4.0, 6.0 และ 8.0 µg/mL ลงในตัวอย่างที่เก็บได้

1.4.3 ทำการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในวัฏภาคอนุภาค และวัฏภาคแก๊ส ตามการทดลอง 2.1.1 และ 2.1.2

1.4.4 ฉีดสารละลายมาตรฐานนิโคตินที่ความเข้มข้น 2.0, 4.0, 6.0 และ 8.0 µg/mL เข้าเครื่อง HPLC ตรวจวัดด้วยเครื่องอัลตราไวโอเล็ต – วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 260 nm

1.4.5 นำสารละลายตัวอย่างที่ได้ฉีดเข้าเครื่อง HPLC

1.4.6 นำพื้นที่พีคของสารละลายมาตรฐาน กับความเข้มข้นไปสร้างกราฟมาตรฐาน

1.4.7 นำพื้นที่พีคของสารตัวอย่างที่ได้ คำนวณเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อหาประสิทธิภาพของวิธี

การคำนวณหาค่าร้อยละประสิทธิภาพของวิธี

$$\text{ร้อยละประสิทธิภาพของวิธี} = \frac{A \times 100}{B}$$

A แทน ปริมาณสารละลายมาตรฐานนิโคตินหลังจากเติมลงในตัวอย่างบุหรี และผ่านกระบวนการเตรียมตัวอย่าง (µg/mL)

B แทน ปริมาณสารละลายมาตรฐานก่อนเติมลงในตัวอย่างบุหรี (µg/mL)

ทำการทดลอง 5 ซ้ำเพื่อหาข้อมูลทางสถิติ

1. 197013 3.3

1.5 การหาปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้

1.5.1 เปิดเครื่อง HPLC เดินเครื่องไว้อย่างน้อย 30 นาที ขยายสัญญาณรบกวน (noise)

1.5.2 ฉีดสารละลาย blank (methanol) วิเคราะห์ความสูงของพีค ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 260 nm เพื่อหาขนาดของสัญญาณรบกวน ทำทั้งหมด 5 ครั้ง

1.5.3 นำสารละลายมาตรฐานนิโคตินความเข้มข้น 1 $\mu\text{g/mL}$ ฉีดเข้าเครื่อง HPLC ตรวจวัดด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลต – วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 260 nm วัดความสูงของพีค

1.5.4 เจือจางสารละลายมาตรฐานนิโคตินที่ความเข้มข้น 0.50, 0.25, 0.125, 0.050 และ 0.025 $\mu\text{g/mL}$ ฉีดเข้าเครื่อง HPLC

1.5.5 คำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้น และ peak height นำค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้น และ peak height สร้างกราฟเส้นตรง โดยแกนตั้งคือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ peak height และแกนนอนคือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้น

1.5.6 ลากกราฟเส้นตรงที่ได้ให้ตัดแกนตั้ง จะได้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ peak height ของความเข้มข้นนิโคตินเป็นศูนย์ และคูณด้วยแฟคเตอร์ 3 เพื่อสร้างสมการเส้นตรงที่ใช้หาปริมาณต่ำสุดของวิธีที่สามารถตรวจวัดได้

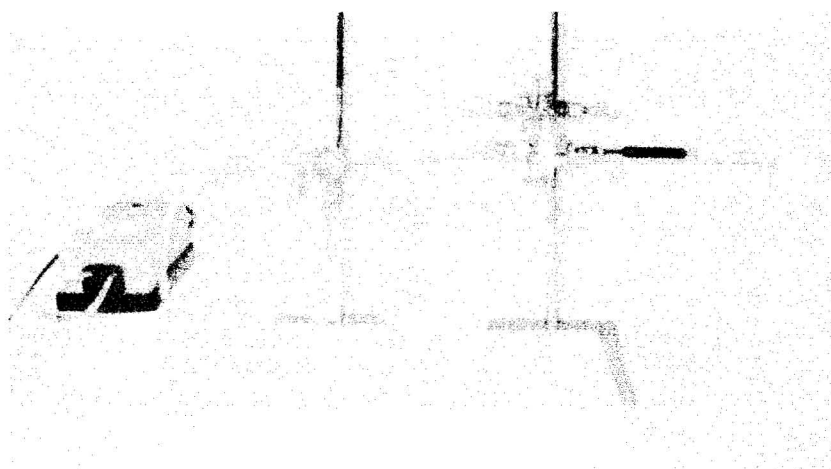
1.5.7 สร้างกราฟเส้นตรงระหว่าง peak height กับความเข้มข้น โดยให้แกนตั้งคือความสูงของ peak height และแกนนอนคือความเข้มข้น

1.5.8 จากกราฟเส้นตรงระหว่าง peak height กับความเข้มข้น อ่านความเข้มข้นจากกราฟเส้นตรงที่ค่า 3 เท่า ของ peak height เช่นเดียวกับข้อ 1.5.6 จะได้ปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ของนิโคตินในการวิจัยครั้งนี้

2. การศึกษารูพรุนของ filter ที่เหมาะสม

2.1 ทำการเก็บตัวอย่างคว้นบุหรี โดยใช้ cellulose nitrate filter ขนาด $0.20\ \mu\text{m}$ และ $0.45\ \mu\text{m}$ ทำการทดลอง 5 ซ้ำ ดังภาพประกอบ 4

1. บุหรี
2. filter holder
3. หลอดแก้ว 2 ชั้น
4. บั้มดูดอากาศ



ภาพประกอบ 4 การต่ออุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างคว้นบุหรี

ต่ออุปกรณ์ดังภาพประกอบ 4 เรียงตามลำดับดังนี้ บุหรี ต่อกับ filter holder ภายในบรรจุ cellulose nitrate filter ที่ต้องการศึกษา ต่อกับ หลอดแก้ว 2 ชั้น บรรจุกรดออกซาลิกเข้มข้น 1 M ต่อกับ บั้มดูดอากาศ อัตราการไหลของบั้มเท่ากับ 2 ลิตร/นาที เปิดบั้มจุดบุหรี ใช้เวลาในการเก็บตัวอย่าง 15 นาที ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง

2.1.1 การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในวัฏภาคอนุภาค

2.1.1.1 นำ filter ที่เก็บตัวอย่างไปชั่งน้ำหนัก และแช่ในสารละลายกรดออกซาลิกเข้มข้น 1 M จำนวน 20 mL 2 ชั่วโมง

2.1.1.2 ปรับ pH ของสารละลายให้เป็นเบสด้วยสารละลาย NaOH 5 M ให้ $\text{pH} > 12$

2.1.1.3 สกัดด้วย CH_2Cl_2 4 ครั้งๆ ละ 20 mL ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น

2.1.1.4 นำชั้น CH_2Cl_2 ไประเหย ด้วยเครื่อง rotary evaporator

2.1.1.5 นำสารที่สกัดได้ปรับปริมาตรด้วย CH_3OH เป็น 5 mL ในขวดวัดปริมาตร นำสารละลายที่ได้กรองด้วย nylon filter ขนาด 0.20 μm

2.1.1.6 ฉีดสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น 2.0, 4.0, 6.0 และ 8.0 $\mu\text{g/mL}$ นำพื้นที่พีคและความเข้มข้น สร้างกราฟมาตรฐาน

2.1.1.7 นำสารละลาย ในข้อ 2.1.1.5 ฉีดเข้าเครื่อง HPLC

2.1.2 การวิเคราะห์นิโคตินในวัฏภาคแก๊ส

2.1.2.1 เทสารละลายกรดออกซาลิกในหลอดแก้ว ใส่กรวยแยกขนาด 250 mL ชะหลอดแก้ว 2 ชั้น ด้วยน้ำกลั่น ครั้งละ 5 mL 3 ครั้ง

2.1.2.2 ปรับ pH ของสารละลายให้เป็นเบสด้วยสารละลาย NaOH เข้มข้น 5 M ให้ $\text{pH} > 12$

2.1.2.3 สกัดด้วย CH_2Cl_2 4 ครั้งๆ ละ 20 mL ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น

2.1.2.4 นำชั้น CH_2Cl_2 ไประเหยด้วยเครื่อง rotary evaporator

2.1.2.5 นำสารที่สกัดได้ ปรับปริมาตรด้วย CH_3OH เป็น 5 mL ในขวดวัดปริมาตร กรองด้วย nylon filter ขนาด 0.20 μm 2 ครั้ง

2.1.2.6 ฉีดสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น 2.0, 4.0, 6.0 และ 8.0 $\mu\text{g/mL}$ นำพื้นที่พีค และความเข้มข้น สร้างกราฟมาตรฐาน

2.1.2.7 นำสารละลายตัวอย่างข้อ 2.1.2.5 ฉีดเข้าเครื่อง HPLC หาปริมาณนิโคตินกับกราฟมาตรฐาน

3. การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในบุหรี่ยี่ห้อ

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในบุหรี่ยี่ห้อ 1 มวน

3.1.1 นำบุหรี่ยี่ห้อ 4 รหัสเครื่องหมายการค้า คือ KT1, KT2, KT3 และ KT4 1 มวน ชั่งน้ำหนัก ทำการทดลอง 5 ซ้ำ

3.1.2 นำบุหรี่ยี่ห้อที่ชั่งน้ำหนักแช่ในน้ำกลั่น 100 mL

3.1.3 ปรับ $\text{pH} > 12$ ด้วยสารละลาย NaOH เข้มข้น 5 M

3.1.4 สกัดด้วย CH_2Cl_2 4 ครั้งๆ ละ 50 ml ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น

3.1.5 นำชั้น CH_2Cl_2 ไประเหยด้วยเครื่อง rotary evaporator

3.1.6 นำสารที่สกัดได้ ปรับปริมาตรด้วย CH_3OH เป็น 50 mL ในขวดวัดปริมาตร กรองด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 42

3.1.7 นำสารละลายมาตรฐาน เข้มข้น 20 ,40, 60 และ 80 µg/mL ตรวจวัดด้วย UV-VIS spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 260 nm นำค่าการดูดกลืนแสงและความ เข้มข้น สร้างกราฟมาตรฐาน

3.1.8 นำสารละลายตัวอย่างที่ได้ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 nm หาปริมาณนิโคตินกับกราฟมาตรฐาน

3.2 การหาความชื้นในบุหรี 1 มวน

3.2.1 อบขวดชั่งสารที่อุณหภูมิ 110 – 120 °C นาน 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นใน dessicator

3.2.2 ชั่งน้ำหนักขวดชั่งสาร

3.2.3 ใส่บุหรี 1 มวน ในขวดชั่งสาร ชั่งน้ำหนัก

3.2.4 นำไปอบที่อุณหภูมิ 110 – 120 °C นาน 2 ชั่วโมงทิ้งให้เย็นใน dessicator ชั่งน้ำหนัก

3.2.5 นำไปอบที่อุณหภูมิ 110 – 120 °C นาน 1 ชั่วโมงทิ้งให้เย็นใน dessicator ชั่งน้ำหนัก

3.2.6 ทำการทดลองจนกว่าน้ำหนักจะคงที่

ทำการทดลองในบุหรีเครื่องหมายการค้าละ 3 ซ้ำ นำค่าที่ได้คำนวณหาความชื้น จากสูตร

$$\text{ร้อยละความชื้น} = \frac{C - D \times 100}{C}$$

C แทน น้ำหนักบุหรีก่อนอบ

D แทน น้ำหนักบุหรีหลังอบ

4. การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในควันบุหรี

4.1 การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในควันบุหรี

4.1.1 ทำการเก็บตัวอย่างควันบุหรีโดยใช้รุ่มของ filter ที่เหมาะสมในการเก็บ ตัวอย่าง ในบุหรี 4 เครื่องหมายการค้า คือ KT1, KT2, KT3 และ KT4 ตามลำดับ เหมือนข้อ 2.1 ทำการทดลอง 5 ซ้ำ

4.1.2 ทำการวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในวัฏภาคอนุภาค เหมือนข้อ 2.1.1

4.1.3 ทำการวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในวัฏภาคแก๊ส เหมือนข้อ 2.1.2.

4.1.4 คำนวณหาค่าคงที่การกระจายตัวของนิโคตินในวัฏภาคอนุภาคต่อวัฏภาคแก๊ส (Kp) จากสูตร

$$Kp = Cp/Cg$$

Cp คือ ความเข้มข้นนิโคตินในวัฏภาคอนุภาค ng/ μ g

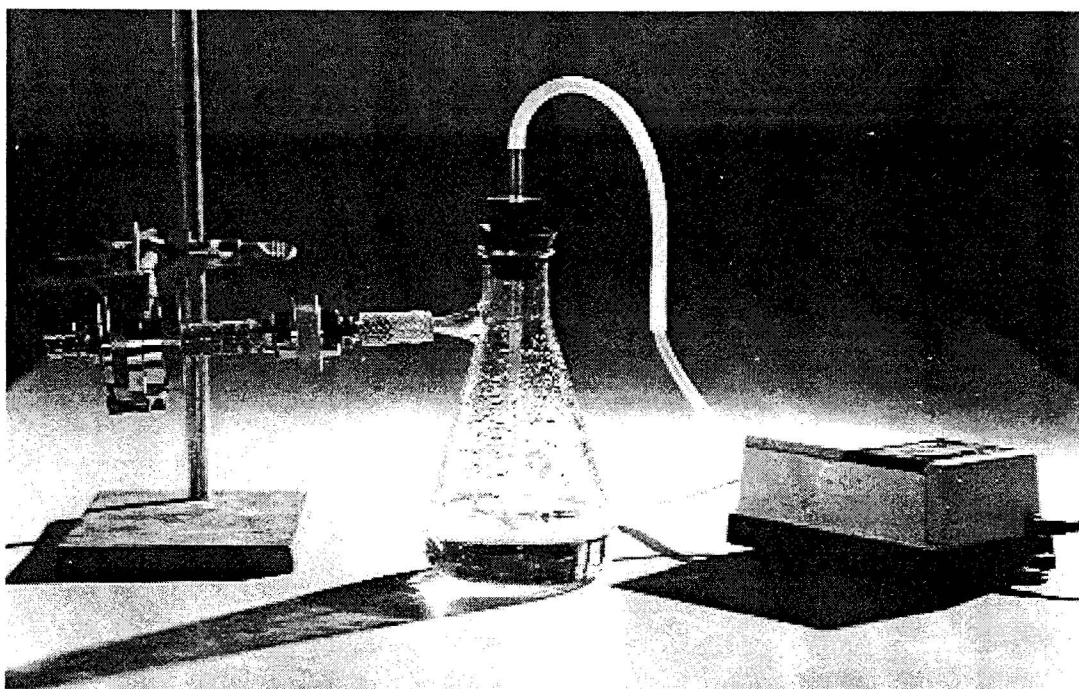
Cg คือ ความเข้มข้นนิโคตินในวัฏภาคแก๊ส ng/m³

4.2 การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินโดยวิธีการดีซอร์พชัน

4.2.1 เก็บตัวอย่างเหมือนข้อ 4.1

4.2.2 ตัวอย่างนิโคตินในวัฏภาคอนุภาคมานำมาทำการดีซอร์พชัน โดยจัดอุปกรณ์ดังภาพประกอบ 5

1. บั๊มเป่าอากาศ
2. suction flask
3. filter holder -1
4. filter holder -2



ภาพประกอบ 5 การต่ออุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างควันบุหรี่โดยวิธีการดีซอร์พชัน

ต่ออุปกรณ์ดังภาพประกอบ 5 เรียงตามลำดับดังนี้ บั๊มเป่าอากาศ ต่อกับ เข้า ต่อกับ suction flask (ภายในบรรจุ conc. NH_4OH) ต่อกับ filter holder -1 ที่บรรจุ cellulose nitrate filter ที่เก็บตัวอย่างควันทะไหรในวัฏภาคอนุภาค ตามวิธีการทดลอง 2.1 filter holder -2 บรรจุ filter อันใหม่ (ที่ภายในบรรจุ filter ขนาด $0.20\ \mu\text{m}$ 2 อัน) เปิดบั๊มใช้เวลาในการผ่านไอแอมโมเนีย 30 นาที อัตราการไหลของบั๊ม 2 ลิตร/นาที ทำการทดลองซ้ำ 5 ซ้ำ

4.2.3 นำ filter -1 และ filter -2 วิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในวัฏภาคอนุภาค ตามการทดลองเหมือนข้อ 2.1.

4.2.4 ปริมาณนิโคตินที่เหลืออยู่ใน filter -1 จะเป็นนิโคตินในวัฏภาคอนุภาค

4.2.5 ปริมาณนิโคตินใน filter -2 เป็นนิโคตินที่หลุดออกจาก filter -1 โดยการผ่านไอของแอมโมเนีย เป็นปริมาณนิโคตินในวัฏภาคแก๊สที่เกิดจากวิธีการทำดีซอร์พชัน

4.2.6 นำปริมาณนิโคตินที่ได้คำนวณหาค่าคงที่การกระจายตัวของนิโคตินในวัฏภาคอนุภาคต่อวัฏภาคแก๊ส (K_p) จากสูตร

$$K_p = C_p/C_g$$

C_p คือ ความเข้มข้นนิโคตินในวัฏภาคอนุภาค $\text{ng}/\mu\text{g}$

C_g คือ ความเข้มข้นนิโคตินในวัฏภาคแก๊ส ng/m^3

5. สถิติที่ใช้ในงานวิจัย

สถิติพื้นฐานที่ใช้ในงานวิจัยมีดังนี้ (อุษา ช่อผล. 2536 : 10 – 12)

5.1 ค่าเฉลี่ย (mean, $\bar{X}$) คำนวณได้จากสูตร

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^N X_i}{N}$$

$\bar{X}$ แทนค่าเฉลี่ย

X_i แทนค่าที่ได้จากการทดลองแต่ละครั้ง

N แทนจำนวนครั้งในการทดลอง

5.2 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) คำนวณได้จากสูตร

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (X_i - \bar{X})^2}{N - 1}}$$

$\bar{X}$ แทนค่าเฉลี่ย

SD แทนค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

X_i แทนค่าที่ได้จากการทดลอง

5.3 ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation, CV) คำนวณได้

จากสูตร

$$CV = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100$$

5.4 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) คำนวณได้จากสูตร

$$r = \frac{\sum (x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x - \bar{x})^2 \sum (y - \bar{y})^2}}$$

X แทนความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน

$\bar{X}$ แทนค่าเฉลี่ยของตัวแปร X

Y แทนพื้นที่ผิวของสารละลายมาตรฐาน

$\bar{Y}$ แทนค่าเฉลี่ยของตัวแปร Y

บทที่ 4

ผลการวิจัย

การศึกษาวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยเสนอผลการวิจัยตามลำดับ ดังนี้

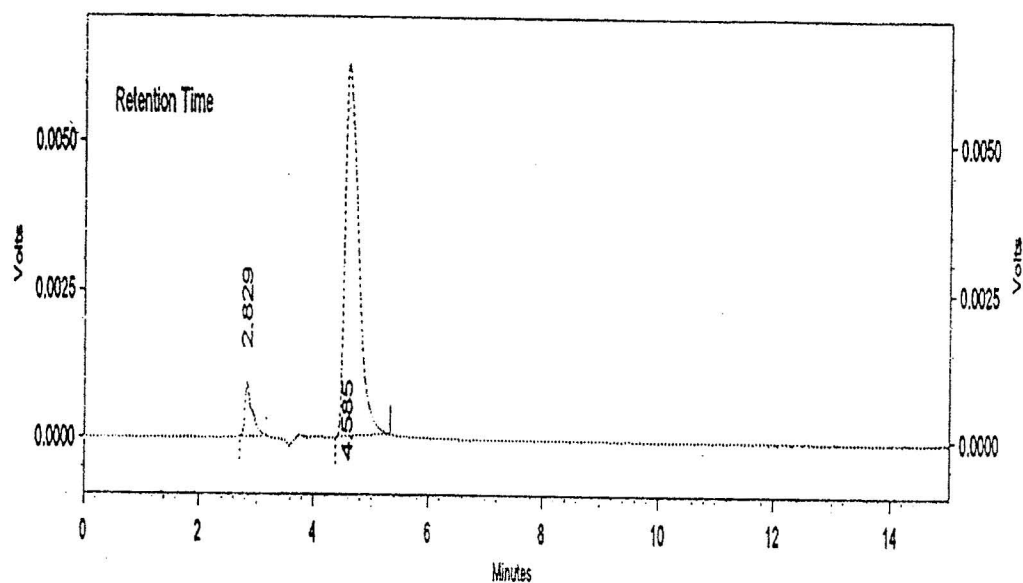
1. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง HPLC ในการวิเคราะห์นิโคติน
2. การศึกษาขนาดรูพรุนของ filter ที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างควันบุหรี่
3. การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในบุหรี่ และในควันบุหรี่
4. การหาค่าคงที่การกระจายตัวของนิโคตินในควันบุหรี่

1. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง HPLC ในการวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน

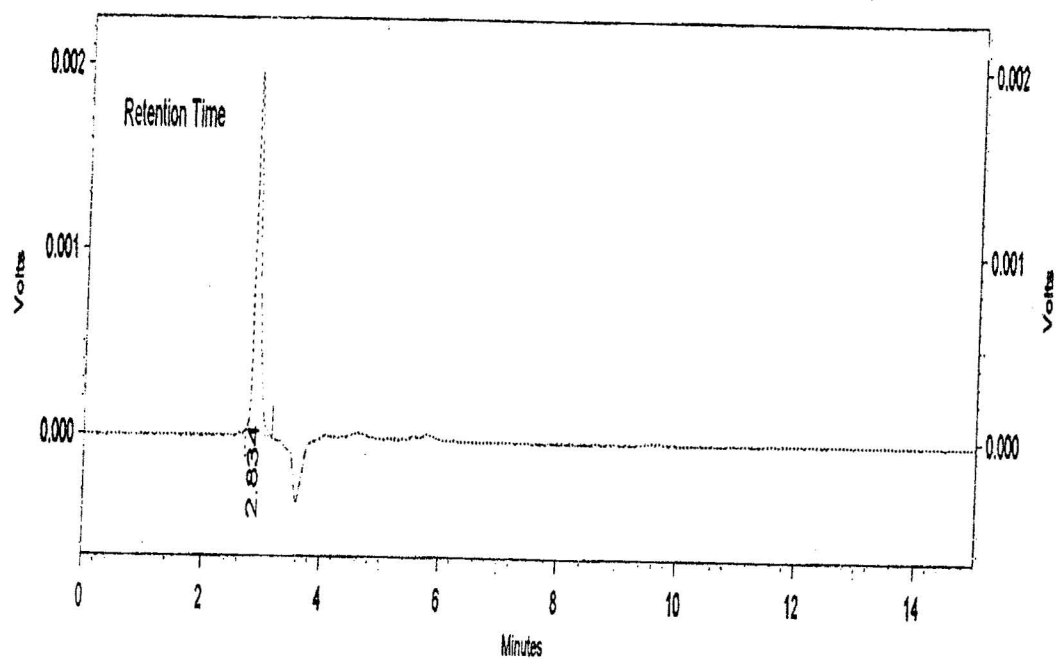
1.1 การหาเฟสเคลื่อนที่

การหาเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสม เพื่อใช้ในการวิเคราะห์สารนิโคติน โดยนำสารละลายมาตรฐานนิโคตินละลายใน methanol จากนั้นดำเนินการวิจัยหาสภาวะที่เหมาะสม โดยเปลี่ยนเฟสเคลื่อนที่ตามตาราง 1(หน้า 19)

เมื่อใช้คอลัมน์ C_{18} (Inertsil ODS – 3 , 5 μm , 4.6 I.D. x 250 mm) อนุภาคที่บรรจุภายในมีขนาด 5 μm สารละลายเฟสเคลื่อนที่ คือ acetonitrile : methanol (95 : 5) ระบบของเฟสเคลื่อนที่ระบบ isocratic อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ เท่ากับ 1 mL/min ตรวจวัดด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลต - วิสิเบิล ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ที่ 260 nm พบว่าสารละลายมาตรฐานนิโคตินใน methanol มีค่ารีเทนชันไทม์ เท่ากับ 4.58 นาที ดังภาพประกอบ 6 แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานนิโคติน และภาพประกอบ 7 แสดงโครมาโทแกรมของ methanol (blank)



ภาพประกอบ 6 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานนิโคตินตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 260 nm



ภาพประกอบ 7 โครมาโทแกรมของ methanol (blank) ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 260 nm

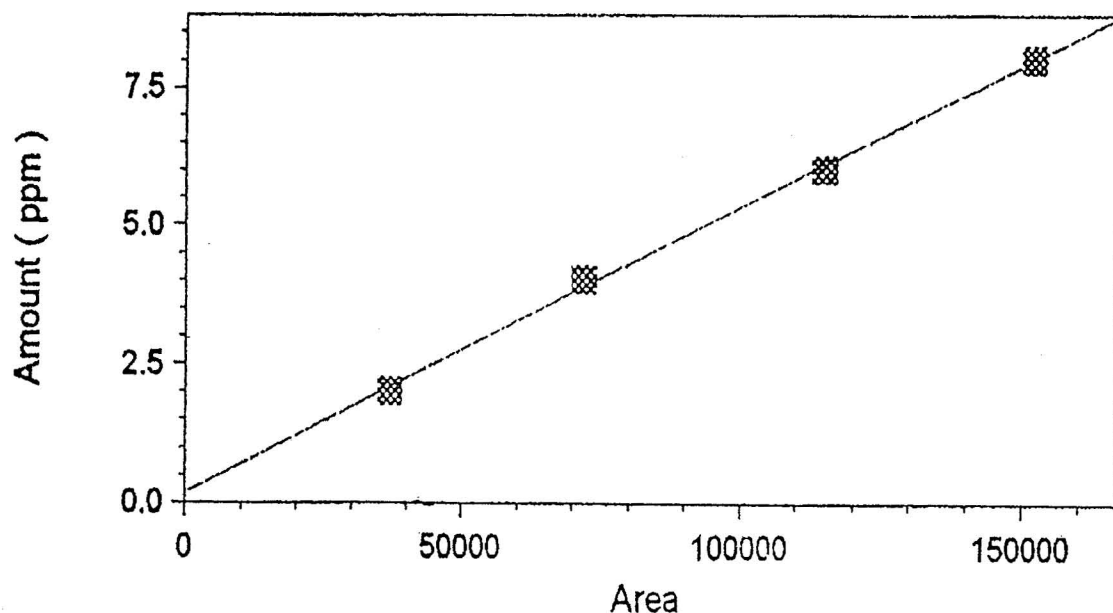
1.2 การหาช่วงที่เป็นเส้นตรง

จากกราฟมาตรฐานสามารถนำมาคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) แสดงในตาราง 2

ตาราง 2 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารละลายยามาตรฐานนิโคติน ความเข้มข้น 2.0, 4.0, 6.0 และ 8.0 µg/mL

ครั้งที่	(r)
1	0.997
2	0.999
3	0.998
4	0.999
5	0.998
Mean	0.998
SD	0.0009
CV	0.090

จากตาราง 2 เมื่อนำสารละลายนิโคตินที่ความเข้มข้น 2.0, 4.0, 6.0 และ 8.0 µg/mL ฉีดเข้าเครื่อง HPLC ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 260 nm แล้วนำความเข้มข้นที่วัดได้กับพื้นที่พีค นำมาสร้างกราฟมาตรฐาน นำมาคำนวณหาช่วงที่เป็นเส้นตรง พบว่าได้ค่า (r) อยู่ในช่วง 0.997 – 0.999 ค่าเฉลี่ยเท่า 0.998 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.0009 และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเท่ากับ 0.090 และกราฟมาตรฐาน แสดงดังภาพประกอบ 8



ภาพประกอบ 8 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ที่ความเข้มข้น 2.0, 4.0, 6.0 และ 8.0 $\mu\text{g/mL}$

1.3 การหาค่าร้อยละประสิทธิภาพของวิธี

การหาค่าร้อยละประสิทธิภาพของวิธี หาได้จากการนำสารละลายมาตรฐานนิโคติน ที่ความเข้มข้น 2.0, 4.0, 6.0 และ 8.0 $\mu\text{g/mL}$ เติมลงในสารละลายตัวอย่าง ทำการทดลอง เหมือนสารตัวอย่างทุกประการ การหาค่าร้อยละประสิทธิภาพของวิธีที่ใช้ในการวิจัย ปรากฏผล ดังตาราง 3

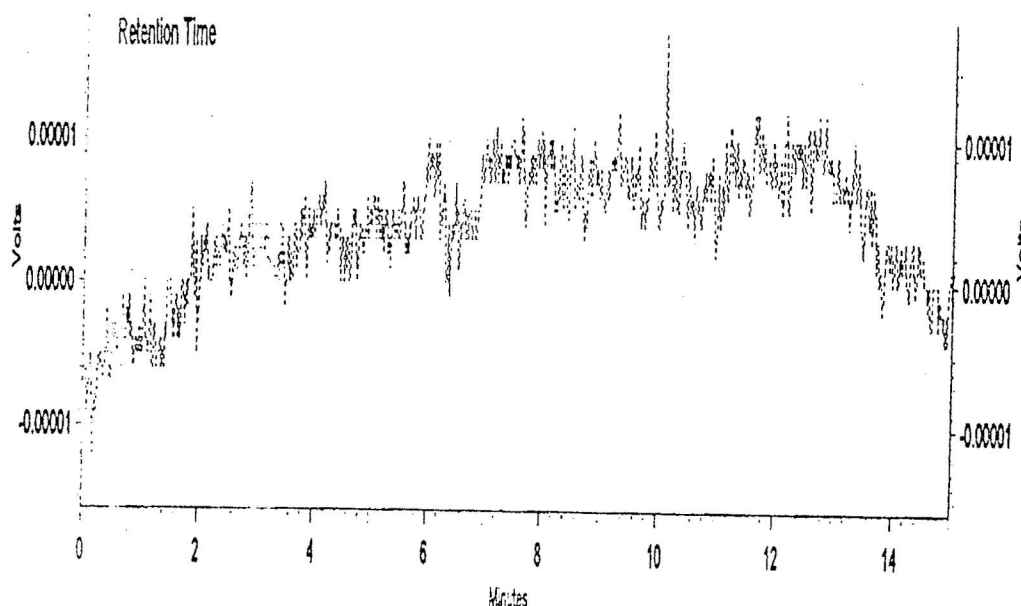
ตาราง 3 ร้อยละประสิทธิภาพของวิธี ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน ของนิโคตินในคว้นบุหรี่ ($n = 5$)

ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$)	ค่าเฉลี่ย (Mean)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)	CV	Recovery (%)
2	1.669	0.081	4.858	83.450
4	2.988	0.095	3.142	74.700
6	4.941	0.083	1.667	82.350
8	6.601	0.086	1.289	82.512

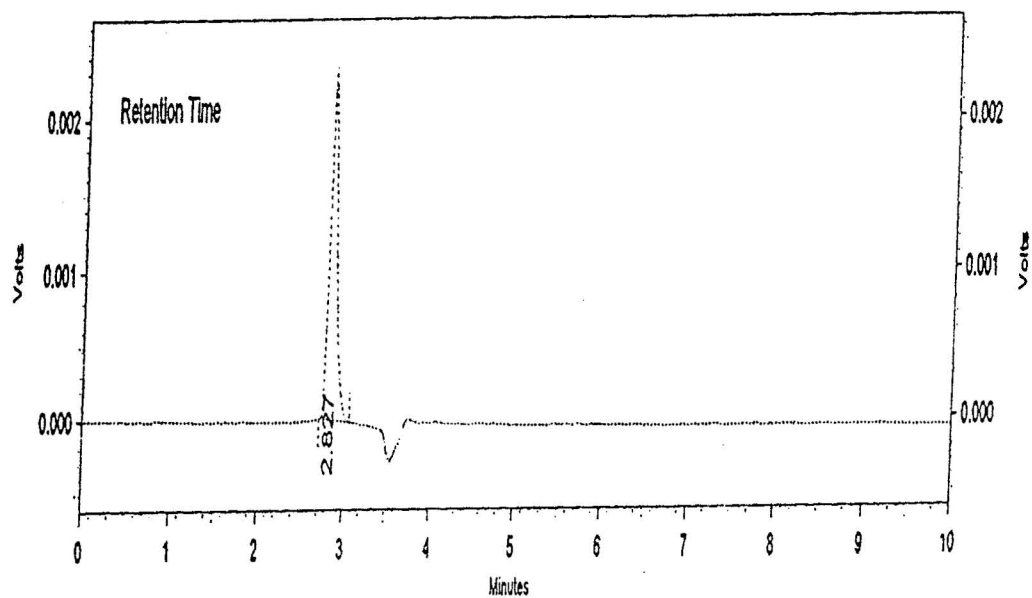
จากตาราง 3 ร้อยละประสิทธิภาพของวิธีที่ความเข้มข้น 2.0, 4.0, 6.0 และ 8.0 $\mu\text{g/mL}$ ได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.669, 2.988, 4.941 และ 6.601 ตามลำดับ มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.810, 0.095, 0.083 และ 0.086 ตามลำดับ ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเท่ากับ 4.858, 3.142, 1.667 และ 1.289 ตามลำดับ ร้อยละประสิทธิภาพของวิธีเท่ากับ 83.450, 74.700, 82.350 และ 82.512 ตามลำดับ

1.4. การหาปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้

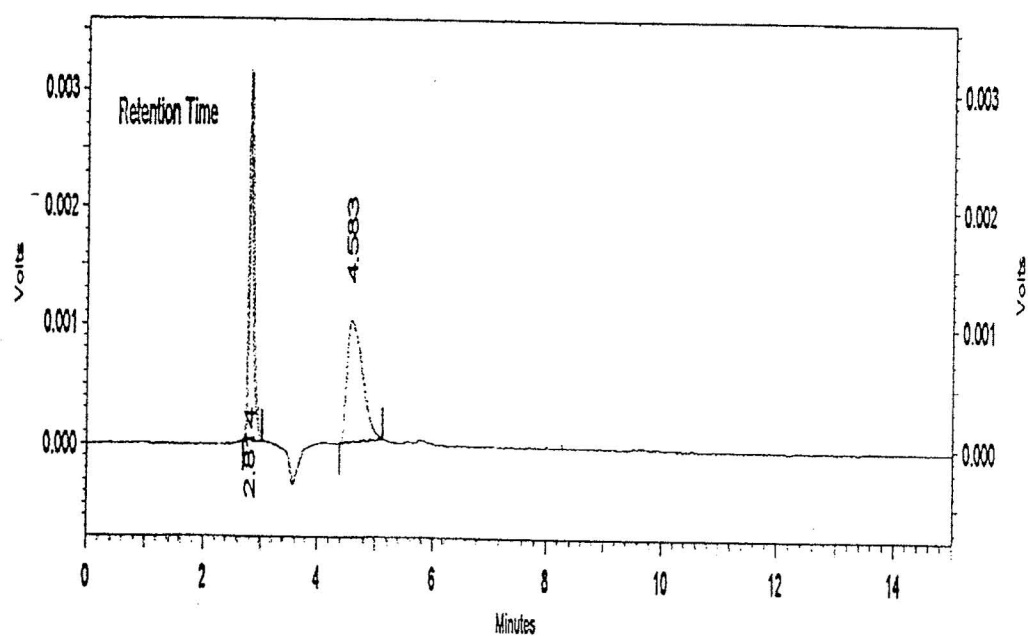
การหาความสามารถของวิธีที่สามารถวิเคราะห์ได้ปริมาณต่ำสุด หาได้โดยการฉีดสารละลาย blank เพื่อหาขนาดของสัญญาณรบกวน แล้วฉีดสารละลายมาตรฐานนิโคตินที่ความเข้มข้น 1.0 , 0.5 , 0.125 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ ดังแสดงดังภาพประกอบ 9, 10, 11, 12 และ 13



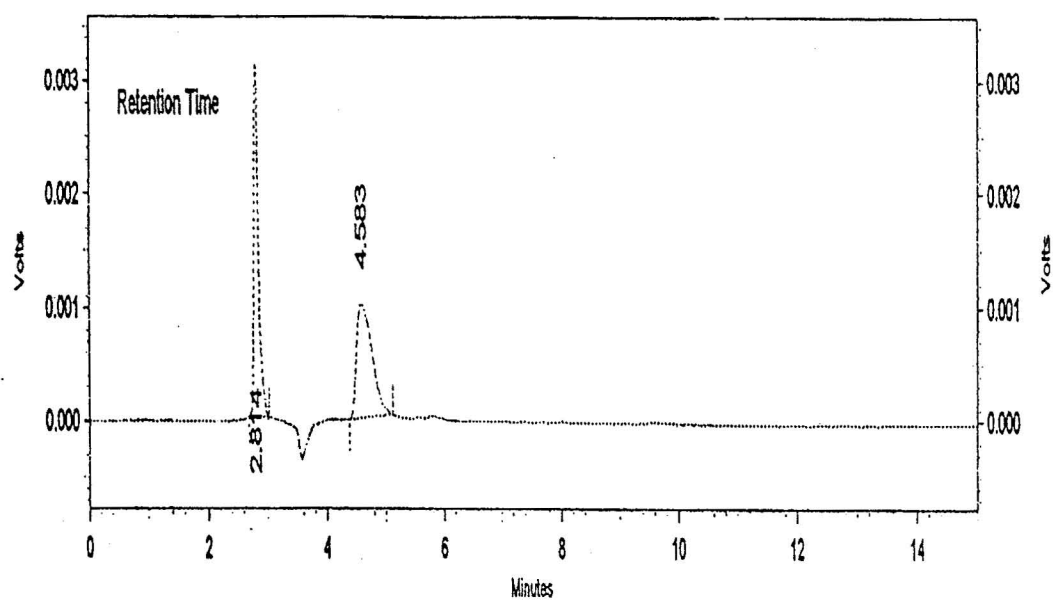
ภาพประกอบ 9 โครมาโทแกรมของสัญญาณรบกวน



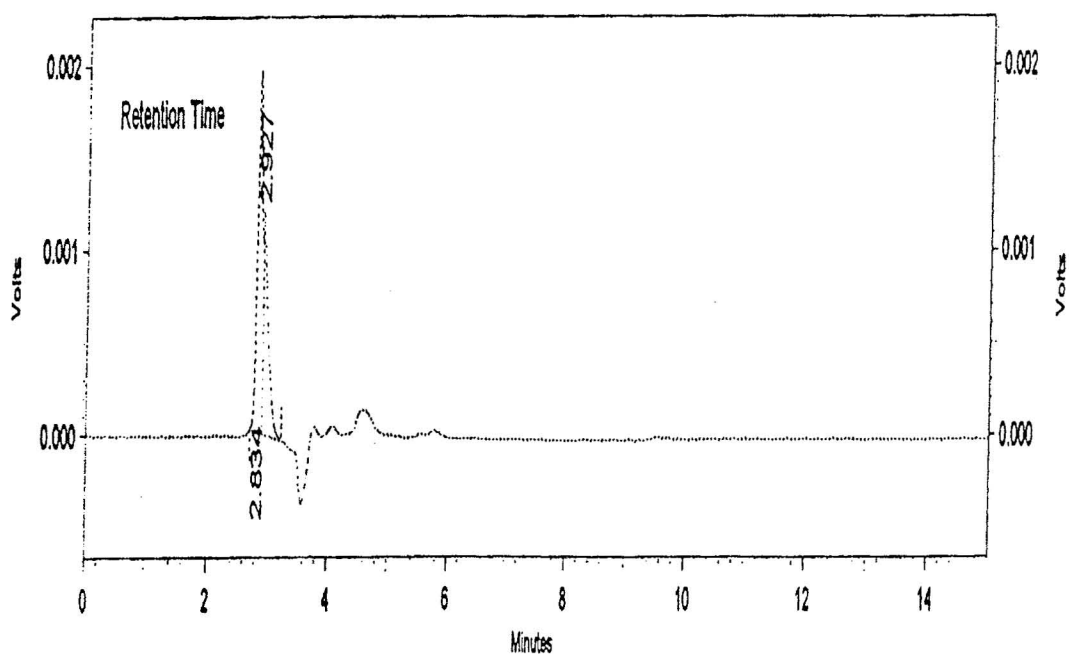
ภาพประกอบ 10 โครมาโทแกรมของสารละลาย blank



ภาพประกอบ 11 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานนิโคตินความเข้มข้น $1.0 \mu\text{g/mL}$
ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 260 nm



ภาพประกอบ 12 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ความเข้มข้น 0.50 $\mu\text{g/mL}$
ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 260 nm



ภาพประกอบ 13 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ความเข้มข้น
0.125 $\mu\text{g/mL}$ ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 260 nm

คำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้น และ peak height นำค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้น และ peak height สร้างกราฟเส้นตรง โดยแกนตั้งคือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ peak height และแกนนอนคือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้น จะได้สมการเส้นตรง $y = 2.6046X + 0.3122$

เมื่อสร้างกราฟเส้นตรงระหว่าง peak height กับความเข้มข้นเรียบร้อยแล้ว อ่านความเข้มข้นจากกราฟเส้นตรงด้วยค่า 3 เท่า ของ peak height เมื่อแกนตั้งคือ peak height แกนนอนคือ ความเข้มข้น จะได้สมการเส้นตรง $y = 15.364X + 0.522$ สามารถคำนวณปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ในการวิจัยครั้งนี้ ดังนี้

การคำนวณปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้

เมื่อ $S/N = 3$

จากสมการ $y = 2.6046 X + 0.3122$

เมื่อ SD ของความเข้มข้น (X) = 0

$$y = 0.3122$$

เมื่อคูณด้วย factor 3

$$y = 0.3122 \times 3$$

$$y = 0.9366$$

จากสมการ $y = 15.364X + 0.522$

เมื่อ $y = 0.9366$

$$X = \frac{0.9366 - 0.522}{15.364}$$

$$LOD = 0.025 \mu\text{g/mL}$$

ปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ในการวิจัยในครั้งนี้ เท่ากับ $0.025 \mu\text{g/mL}$

2. การศึกษาขนาดรูพรุนของ filter ที่เหมาะสม

ในการวิจัยเก็บตัวอย่างควันบุหรี่โดยใช้รูพรุน filter ขนาด 0.20 และ 0.45 μm เก็บตัวอย่างบุหรี่ยี่ห้อเครื่องหมายการค้า KT1 ทำการเก็บตัวอย่าง 5 ซ้ำ พบปริมาณนิโคตินในวัฏภาคอนุภาคและวัฏภาคแก๊ส ปรากฏดังตาราง 4 และ 5

ตาราง 4 ปริมาณนิโคตินวัฏภาคอนุภาคและวัฏภาคแก๊ส รูพรุนของ filter ขนาด 0.20 μm
(n = 5)

ครั้งที่	ปริมาณนิโคติน	
	Cp (ng/ μg)	Cg (ng/m ³)
1	4.161	ตรวจไม่พบ
2	4.131	ตรวจไม่พบ
3	3.811	ตรวจไม่พบ
4	3.758	ตรวจไม่พบ
5	3.881	ตรวจไม่พบ

ตาราง 5 ปริมาณนิโคตินวัฏภาคอนุภาคและวัฏภาคแก๊ส ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน รูพรุนของ filter ขนาด 0.45 μm (n = 5)

ครั้งที่	ปริมาณนิโคติน	
	Cp (ng/ μg)	Cg (ng/m ³)
1	4.024	1.1367×10^4
2	4.071	1.1733×10^4
3	4.321	1.3167×10^4
4	4.260	1.1467×10^4
5	4.387	1.1633×10^4
Mean	4.212	1.1873×10^4
SD	0.158	7.370
CV	3.751	0.062

จากการศึกษาอนุพรุนของ filter ขนาด $0.20\ \mu\text{m}$ ไม่สามารถจับนิโคตินในวัฏภาคแก๊สได้ทุกตัวอย่าง แต่อนุพรุน filter ขนาด $0.45\ \mu\text{m}$ สามารถจับนิโคตินได้ทั้งสองวัฏภาค ผู้วิจัยจึงเลือกอนุพรุนของ filter ขนาด $0.45\ \mu\text{m}$ เก็บตัวอย่างควันบุหรี่ในบุหรี่ 4 เครื่องหมายการค้า

3. การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในบุหรี่

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในบุหรี่ 1 มวน

การปริมาณนิโคตินในบุหรี่ 1 มวน จากบุหรี่ 4 รหัสเครื่องหมายการค้า ผลการวิเคราะห์ ปรากฏดังตาราง 6

ตาราง 6 ปริมาณนิโคติน ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน และร้อยละความชื้น ในบุหรี่ 1 มวน จากบุหรี่ 4 รหัสเครื่องหมายการค้า ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น $260\ \text{nm}$

บุหรี่	ปริมาณนิโคติน (mg/g)			ความชื้น (%)		
	Mean	SD	CV	Mean	SD	CV
KT1	11.931	0.574	4.811	85.029	0.620	0.729
KT2	16.016	0.115	0.718	86.187	0.044	0.051
KT3	15.015	1.174	7.818	86.214	0.557	0.646
KT4	6.687	0.153	2.288	84.585	0.043	0.051

จากตาราง 6 พบว่าปริมาณนิโคตินในบุหรี่ 1 มวน ในบุหรี่ บุหรี่ KT1, KT2, KT3 และ KT4 มีค่าเฉลี่ย 11.931, 16.016, 15.015 และ 6.687 mg/g ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.574, 0.115, 1.174 และ 0.153 ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 4.811, 0.718, 7.818 และ 2.288 ตามลำดับ ความชื้นในบุหรี่ KT1, KT2, KT3 และ KT4 มีค่าเฉลี่ย 85.029, 86.187, 86.214 และ 84.585 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.620, 0.044, 0.557 และ 0.508 ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 0.729, 0.051, 0.646 และ 0.051 ตามลำดับ

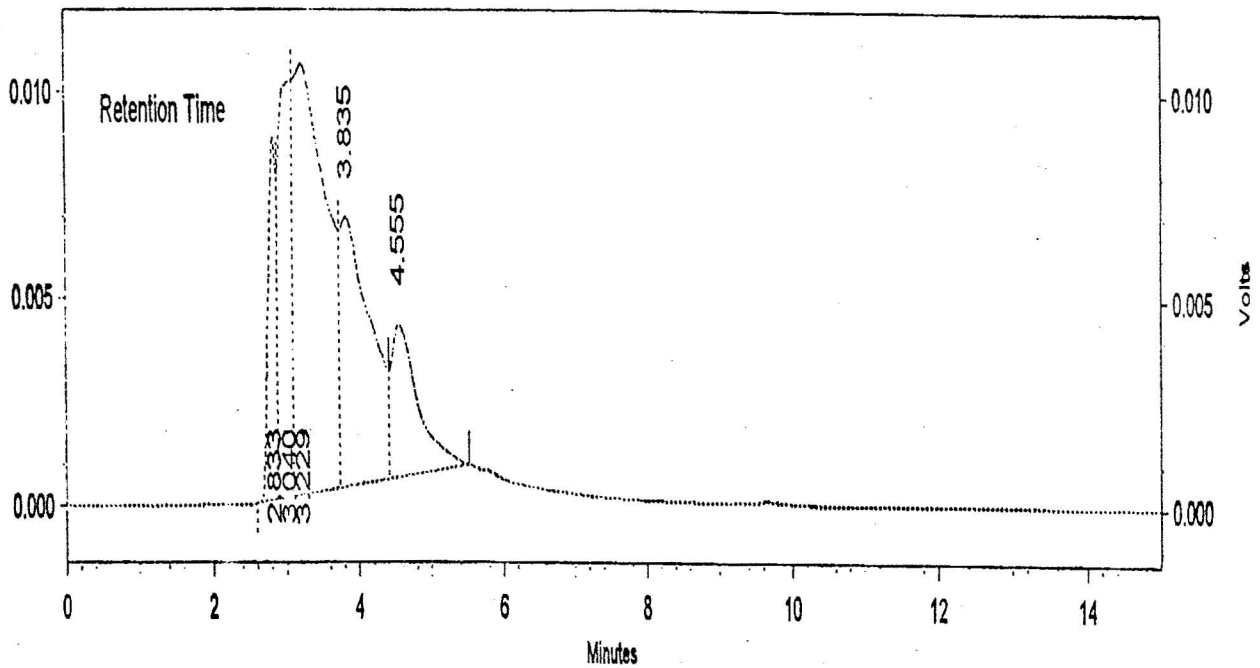
3.2 การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในควันบุหรี่

ปริมาณนิโคตินในควันบุหรี่ 4 รหัสเครื่องหมายการค้า ผลการวิจัยปริมาณนิโคตินในวัฏภาคอนุภาค และวัฏภาคแก๊ส ปรากฏผล ดังตาราง 7

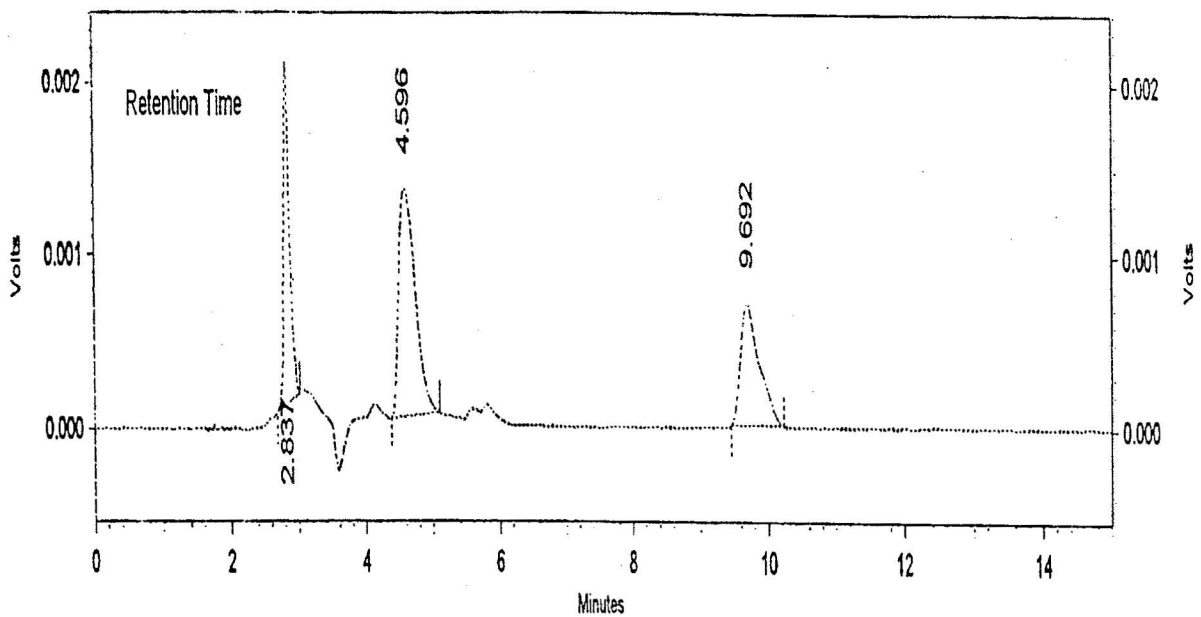
ตาราง 7 ปริมาณนิโคติน ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน ในควันบุหรี่ KT1, KT2, KT3 และ KT4 ในวัฏภาคอนุภาค และวัฏภาคแก๊ส ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 260 nm

บุหรี่	Cp (ng/ μ g)			Cg (ng/m ³)		
	Mean	SD	CV	Mean	SD	CV
KT1	21.060	0.158	0.750	5.9365×10^4	7.370	0.0124
KT2	13.675	0.029	0.212	6.4030×10^4	6.480	0.0101
KT3	12.010	0.085	0.707	4.2265×10^4	2.472	0.0058
KT4	9.515	0.060	0.631	4.5300×10^4	3.950	0.0087

จากตาราง 7 แสดงปริมาณนิโคตินในบุหรี่ โดยใช้เครื่องตรวจวัดอัลตราไวโอเลต – วิสิเบิล พบว่าปริมาณนิโคติน ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 260 nm ลักษณะฟิค ดังภาพประกอบ 14 และ 15 ปริมาณนิโคตินในบุหรี่ 4 รหัสเครื่องหมายการค้า คือ KT1, KT2, KT3 และ KT4 ในวัฏภาคอนุภาค 21.060, 13.675, 12.010 และ 9.515 ng/ μ g ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.158, 0.029, 0.085 และ 0.060 ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 0.750, 0.212, 0.707 และ 0.631 ตามลำดับ ปริมาณนิโคตินในวัฏภาคแก๊สเฉลี่ย 5.9365×10^4 , 6.4030×10^4 , 4.2265×10^4 และ 4.5300×10^4 ng/m³ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 7.370, 6.480, 2.472 และ 3.950 ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 0.012, 0.0101, 0.0058 และ 0.0087 ตามลำดับ



ภาพประกอบ 14 โครมาโทแกรมของสารละลายจากการสกัดปริมาณนิโคตินจาก
ตัวอย่างบุหรี่ ในวัฏภาคอนุภาค รูพรุนของ filter ขนาด 0.45 μm



ภาพประกอบ 15 โครมาโทแกรมของสารละลายจากการสกัดปริมาณนิโคตินจาก
ตัวอย่างบุหรี่ ในวัฏภาคแก๊ส รูพรุนของ filter ขนาด 0.45 μm

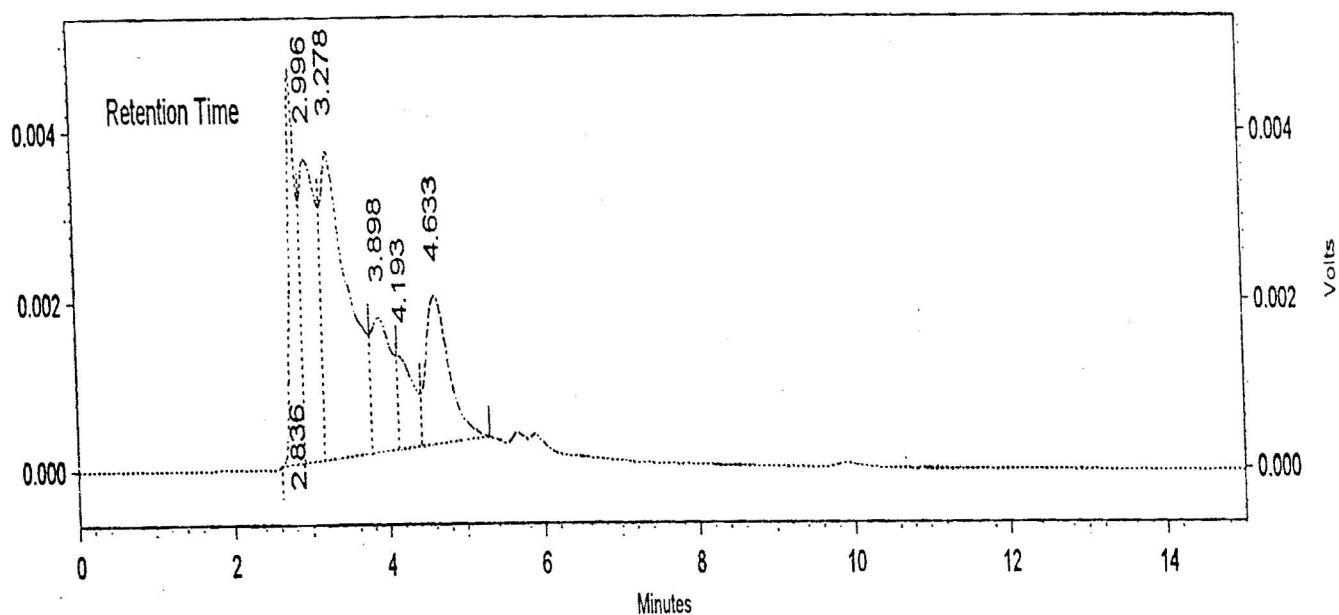
3.3 การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินโดยวิธีการทำดีซอร์พชัน

ปริมาณนิโคตินในควันบุหรี่ 4 รหัสเครื่องหมายการค้า โดยวิธีการทำดีซอร์พชัน ผลการวิจัยปริมาณนิโคตินในวัฏภาคอนุภาค และวัฏภาคแก๊ส ปรากฏผล ดังตาราง 8

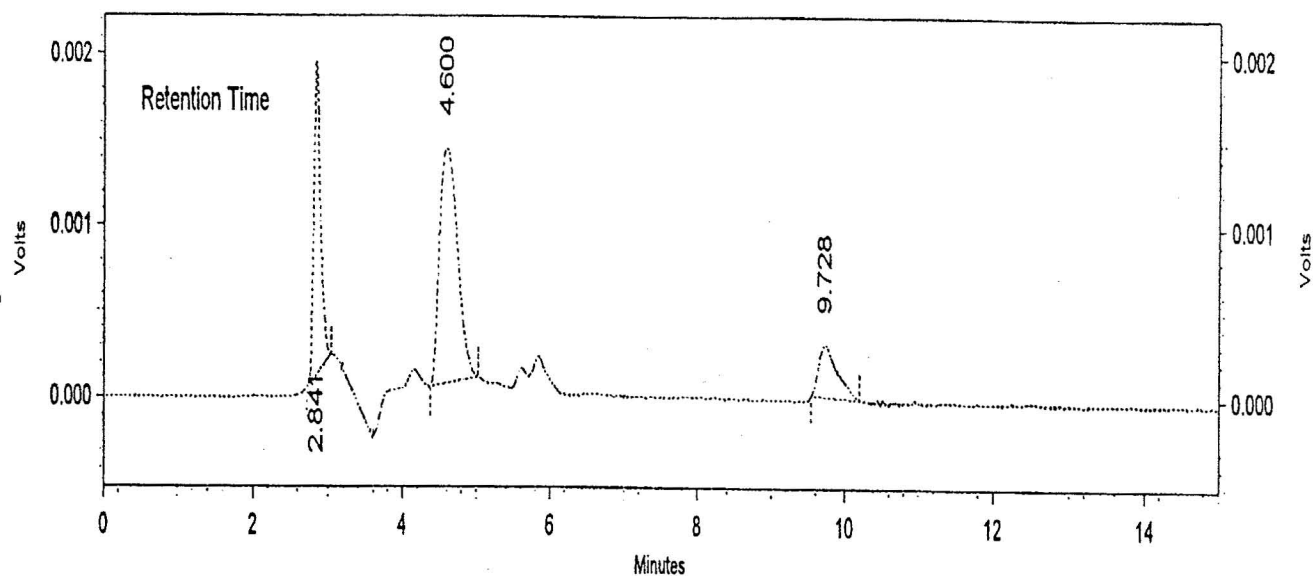
ตาราง 8 ปริมาณนิโคติน ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน ในควันบุหรี่ KT1, KT2, KT3 และ KT4 ในวัฏภาคอนุภาคและวัฏภาคแก๊ส โดยวิธีการทำดีซอร์พชัน ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 260 nm

บุหรี่	Cp (ng/μg)			Cg (ng/m ³)		
	Mean	SD	CV	Mean	SD	CV
KT1	3.895	0.009	0.231	1.14115×10^5	3.435	0.0030
KT2	5.760	0.011	0.191	1.20080×10^5	1.297	0.0011
KT3	2.890	0.017	0.588	9.7115×10^4	1.703	0.0017
KT4	2.985	0.007	0.234	1.01105×10^5	1.372	0.0014

จากตาราง 8 แสดงปริมาณนิโคตินในควันบุหรี่ โดยใช้เครื่องตรวจวัดอัลตราไวโอเลต – วิสibel ที่ความยาวคลื่น 260 nm ลักษณะฟิค ดังภาพประกอบ 14 และ 15 ปริมาณนิโคตินในควันบุหรี่ 4 รหัสเครื่องหมายการค้า คือ KT1, KT2, KT3 และ KT4 โดยวิธีการทำดีซอร์พชัน พบปริมาณนิโคตินในวัฏภาคอนุภาค 3.895, 5.760, 2.890 และ 2.985 ng/μg ค่าเบี่ยงเบน – มาตรฐาน 0.009, 0.011, 0.017 และ 0.007 ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 0.231, 0.191, 0.588 และ 0.234 ตามลำดับ ปริมาณนิโคตินในวัฏภาคแก๊สเฉลี่ย 1.14115×10^5 , 1.20080×10^5 , 9.7115×10^4 และ 1.01105×10^5 ng/m³ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 3.435, 1.297, 1.703 และ 1.372 ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 0.0030, 0.0011, 0.0017 และ 0.0014 ตามลำดับ



ภาพประกอบ 16 โครมาโทแกรมของสารละลายจากการสกัดปริมาณโคตินจากตัวอย่าง
บุหรี่ยี่ห้อภูภาคอนุภาค รูปพรุนของ filter ขนาด 0.45 μm โดยวิธีการทำดีซอร์พชัน



ภาพประกอบ 17 โครมาโทแกรมของสารละลายจากการสกัดปริมาณโคตินจากตัวอย่าง
บุหรี่ยี่ห้อภูภาคแก๊ส รูปพรุนของ filter ขนาด 0.45 μm โดยวิธีการทำดีซอร์พชัน

4. การหาค่าคงที่การกระจายตัวของนิโคตินในควันบุหรี่

4.1 การคำนวณค่าการกระจายตัวของนิโคตินในวัฏภาคอนุภาคต่อวัฏภาคแก๊ส โดยนำปริมาณนิโคตินในตาราง 6 คำนวณหา ค่า Kp ดังแสดงในตาราง 9

ตาราง 9 ค่าคงที่การกระจายตัวของนิโคตินในวัฏภาคอนุภาคต่อวัฏภาคแก๊ส ค่าเบี่ยงเบน - มาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน ในควันบุหรี่ 4 รหัสเครื่องหมายการค้า

บุหรี่ (รหัส)	Kp ($\text{m}^3/\mu\text{g}$)		
	Mean	SD	CV
KT1	3.555×10^{-4}	1.964×10^{-6}	0.553
KT2	2.138×10^{-4}	8.702×10^{-7}	0.407
KT3	3.093×10^{-4}	1.269×10^{-6}	0.410
KT4	2.101×10^{-4}	5.929×10^{-7}	0.282

จากตาราง 9 บุหรี่ 4 รหัสเครื่องหมายการค้า KT1, KT2, KT3 และ KT4 ที่ทำการวิจัยมีค่า Kp เฉลี่ย 3.555×10^{-4} , 2.138×10^{-4} , 3.093×10^{-4} และ $2.101 \times 10^{-4} \text{ m}^3/\mu\text{g}$ มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 1.964×10^{-6} , 8.702×10^{-7} , 1.269×10^{-6} และ 5.929×10^{-7} ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 0.553, 0.407, 0.410 และ 0.282 ตามลำดับ

4.2 การหาค่าคงที่การกระจายตัวของนิโคตินในควันบุหรี่ในวัฏภาคอนุภาคต่อวัฏภาคแก๊ส โดยวิธีการทำดีซอร์พชัน ดังตาราง 10

ตาราง 10 ค่าคงที่การกระจายตัวของนิโคตินในวัฏภาคอนุภาคต่อวัฏภาคแก๊ส ค่าเบี่ยงเบน – มาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน ในควันบุหรี่ 4 รหัสเครื่องหมายการค้า โดยวิธีการทำดีซอร์พชัน

บุหรี่ (รหัส)	Kp (m ³ /μg)		
	Mean	SD	CV
KT1	3.416 x 10 ⁻⁵	3.398 x 10 ⁻⁸	0.099
KT2	4.798 x 10 ⁻⁵	2.981 x 10 ⁻⁷	0.621
KT3	2.976 x 10 ⁻⁵	6.563 x 10 ⁻⁸	0.221
KT4	2.855 x 10 ⁻⁵	3.917 x 10 ⁻⁸	0.137

จากตาราง 9 บุหรี่ 4 รหัสเครื่องหมายการค้า KT1, KT2, KT3 และ KT4 ที่ทำการวิจัยโดยวิธีการทำดีซอร์พชัน มีค่า Kp เฉลี่ย 3.416 x 10⁻⁵, 4.798 x 10⁻⁵, 2.976 x 10⁻⁵ และ 2.855 x 10⁻⁵ m³/μg มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 3.398 x 10⁻⁸, 2.981 x 10⁻⁷, 6.563 x 10⁻⁸ และ 3.917 x 10⁻⁸ ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 0.099, 0.621, 0.221 และ 0.137 ตามลำดับ

บทที่ 5

สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาค่าคงที่การกระจายตัวของนิโคตินในควันบุหรี่ โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ซึ่งศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง HPLC ในการวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน การศึกษารูพรุนของ filter การวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน ในบุหรี่ 4 รหัสเครื่องหมายการค้าคือ KT1, KT2, KT3 และ KT4 และ ทั้งที่ผ่านกระบวนการดีซอร์พชัน และไม่ผ่านกระบวนการดีซอร์พชัน นำค่าที่ได้คำนวณหาค่าคงที่การกระจายตัวของนิโคติน การวิจัยในครั้งนี้ทำให้ทราบขนาดรูพรุนของ filter ที่เหมาะสมในการจับนิโคตินในภูมิภาคอนุภาคและภูมิภาคแก๊ส ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานในการประยุกต์ สำหรับทำกันกรองบุหรี่ต่อไป ทำให้ผู้สูบบุหรี่ได้รับปริมาณนิโคตินน้อยลง ทำให้ลดปัญหาต่อโรคที่เกิดจากการสูบบุหรี่ได้จะได้

สรุปผลและอภิปรายผล

จากการศึกษาวิจัย สรุปผลได้ดังนี้

1. การหาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง HPLC ในการวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน

ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง HPLC ในการวิเคราะห์

ปริมาณนิโคติน ผลการวิจัยโดยใช้คอลัมน์ Inertsil ODS – 3 (C_{18}) ขนาด 4.6 I.D. x 250 mm อนุภาคบรรจุภายใน 5 μ m โปรแกรมการวิเคราะห์แบบ isocratic สารละลายเฟสเคลื่อนที่ ประกอบด้วย acetonitrile : methanol (95 : 5) อัตราการไหล 1 mL/min ตรวจวัดด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลต - วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 260 nm พบว่านิโคตินมีค่ารีเทนชันไทม์ 4.5 นาที

ผลการวิจัยในการหาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง HPLC ในการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในควันบุหรี่ พบว่ามีแนวโน้มของรีเทนชันไทม์ สอดคล้องกับ ดาส และวอง (Dash & Wong. 1996 : 81 – 85) ที่ใช้คอลัมน์ชนิด reversed phase C_{18} ขนาด 4.6 x 150 mm อนุภาคบรรจุภายในขนาด 5 μ m โปรแกรมการวิเคราะห์แบบ isocratic สารละลายเฟสเคลื่อนที่ ประกอบด้วย methanol : citrate phosphate buffer (15 : 85) อัตราการไหลของการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 0.70 mL/min ใช้เครื่องตรวจวัดอัลตราไวโอเลต - วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 260 nm พบว่ารีเทนชันไทม์ของนิโคตินเท่ากับ 4.4 นาที

จากงานวิจัยครั้งนี้ จะเห็นว่าสารละลายเฟสเคลื่อนที่ต่างชนิดกับของ ดาส และวอง (Dash & Wong. 1996 : 81 – 85). และใช้โปรแกรมการวิเคราะห์แบบ isocratic ใช้คอลัมน์ C_{18} ตรวจวัดด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลต - วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 260 nm ผลการวิจัยครั้งนี้พบว่าค่ารีเทนชันไทม์ของนิโคติน ช้ากว่างานวิจัยนี้ประมาณ 0.1 นาที ทั้งนี้อาจเป็น

เพราะชนิดของสารละลายเฟสเคลื่อนที่ต่างชนิดกัน และใช้ความยาวคอลัมน์มากกว่า

2. การศึกษาพารามิเตอร์การวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน

จากการวิจัยเมื่อนำกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ไปคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์(r) พบว่าการตอบสนองของสัญญาณการตรวจวิเคราะห์ต่อนิโคตินในช่วงความเข้มข้น 2.0 – 8.0 $\mu\text{g/mL}$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่าง 0.997 – 0.999 ค่าเฉลี่ย 0.998 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0009 และ ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 0.090 ตามลำดับ จากข้อมูลพบว่า ค่าตอบสนองของการตรวจวัดเป็นเส้นตรงมีค่าเข้าใกล้ 1 แสดงให้เห็นว่ามีความแม่นยำในการวิเคราะห์ดีมาก

เมื่อพิจารณาร้อยละประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ พบว่ามีค่าร้อยละประสิทธิภาพของวิธีเฉลี่ย 83.450, 74.700, 82.350 และ 82.512 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.081, 0.095, 0.083 และ 0.086 และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 4.858, 3.142, 1.667 และ 1.289 ตามลำดับ

ผลการวิจัยในการหาค่าร้อยละประสิทธิภาพของวิธี ผู้วิจัยทำการสกัดตัวอย่างนิโคตินในควันทุหรือคล้ายกับ แพนคอฟ และคณะ (Pankow, et al. 1997 : 2428 – 2433) สกัดด้วย CH_2Cl_2 พบว่ามีประสิทธิภาพของวิธีอยู่ในช่วง 60 – 75 ผลการวิจัยครั้งนี้พบว่ามีค่าร้อยละประสิทธิภาพของวิธีมากกว่างานวิจัยที่กล่าวมาข้างต้น แต่จะเห็นว่าประสิทธิภาพของวิธีมีค่าค่อนข้างต่ำ อาจเป็นเพราะปริมาณนิโคตินสูญเสียไประหว่างการสกัด

ปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ ของนิโคตินในงานวิจัยครั้งนี้ อยู่ที่ 0.025 $\mu\text{g/mL}$ เมื่อ $S/N = 3$

3. การศึกษาขนาดรูพรุนของ filter ที่เหมาะสม

การวิจัยในครั้งนี้ได้ทำการการศึกษารูพรุนของ filter ที่ใช้ในงานวิจัย คือ cellulose nitrate filter รูพรุนขนาด 0.2 และ 0.45 μm เส้นผ่านศูนย์กลาง 25 mm พบว่าขนาดรูพรุนที่เหมาะสมสำหรับการเก็บตัวอย่างนิโคติน คือ รูพรุน filter ขนาด 0.45 μm เพราะสามารถวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินได้ทั้งวัฏภาคอนุภาคและวัฏภาคแก๊ส

ผลการวิจัยศึกษาขนาดรูพรุนของ filter ในการเก็บตัวอย่างนิโคตินในควันทุหรือ ในครั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ แพนคอฟ และคณะ ทำการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในควันทุหรือ โดยใช้รูพรุนของ filter ขนาด 0.45 μm เส้นผ่านศูนย์กลาง 47 mm

4. การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในบุหรี่

4.1 การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในบุหรี่ 1 มวน

งานวิจัยครั้งนี้ทำการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในบุหรี่ 1 มวน ในบุหรี่ 4 รหัศเครื่องหมายการค้า ที่ผลิตในประเทศไทย คือ KT1, KT2, KT3 และ KT4

การวิจัยพบปริมาณนิโคตินในบุหรี่รหัศเครื่องหมายการค้า KT1, KT2, KT3 และ KT4 เฉลี่ย 11.931, 16.016, 15.015 และ 6.687 mg/g ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.574, 0.115, 1.174 และ 0.153 ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 4.811, 0.718, 7.818 และ 2.288 ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาข้อมูลทางสถิติ พบว่ามีความแม่นยำดีมาก และทำให้ทราบว่าปริมาณนิโคตินในบุหรี่รหัศเครื่องหมายการค้า KT2 พบมากที่สุดคือ 16.016 mg/g

ร้อยละความชื้นในบุหรี่ 4 รหัศเครื่องหมายการค้า KT1, KT2, KT3 และ KT4 เฉลี่ย 85.029, 86.187, 86.214 และ 84.585 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.620, 0.044, 0.557 และ 0.508 ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 0.729, 0.051, 0.646 และ 0.051 ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาข้อมูลทางสถิติ พบว่ามีความแม่นยำดีมาก และทำให้ทราบว่าบุหรี่รหัศเครื่องหมายการค้า KT3 มีร้อยละความชื้นมากที่สุดคือ 86.214

4.2 การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในควันบุหรี่

งานวิจัยครั้งนี้ทำการศึกษาปริมาณนิโคตินในควันบุหรี่ 4 รหัศเครื่องหมายการค้า ที่ผลิตในประเทศไทย คือ KT1, KT2, KT3 และ KT4

พบปริมาณนิโคตินในบุหรี่รหัศเครื่องหมายการค้า KT1, KT2, KT3 และ KT4 ในวัฏภาคอนุภาคเฉลี่ย 21.060, 13.675, 12.010 และ 9.515 ng/ μ g ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.158, 0.029, 0.085 และ 0.060 ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 0.750, 0.212, 0.707 และ 0.631 ตามลำดับ ในวัฏภาคแก๊สเฉลี่ย 5.9365×10^4 , 6.4030×10^4 , 4.2265×10^4 และ 4.5300×10^4 ng/m³ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 7.370, 6.480, 2.472 และ 3.950 ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 0.0124, 0.0101, 0.0058 และ 0.0087 ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาข้อมูลทางสถิติ พบว่ามีความแม่นยำดีมาก และทำให้ทราบว่าปริมาณนิโคตินวัฏภาคอนุภาค บุหรี่รหัศเครื่องหมายการค้า KT1 มากที่สุดคือ 21.060 ng/ μ g และปริมาณนิโคตินในวัฏภาคแก๊ส ในบุหรี่รหัศเครื่องหมายการค้า KT2 มากที่สุดคือ 6.4030×10^4 ng/m³

4.3 การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินโดยการทำให้ชอร์พชัน

งานวิจัยครั้งนี้ทำการศึกษากำหนดนิโคตินในควันบุหรี่ 4 เครื่องหมายการค้าที่ผลิตในประเทศไทย คือ KT1, KT2, KT3 และ KT4 โดยวิธีการทำให้ชอร์พชัน

พบปริมาณนิโคตินในบุหรี่ยี่ห้อเครื่องหมายการค้า KT1, KT2, KT3 และ KT4 ในวัฏภาคอนุภาค เฉลี่ย 3.895, 5.760, 2.890 และ 2.895 ng/ μ g ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.009, 0.011, 0.017 และ 0.007 ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 0.231, 0.191, 0.588 และ 0.234 ตามลำดับ ในวัฏภาคแก๊ส 1.14115×10^5 , 1.20080×10^5 , 9.7115×10^4 และ 1.01105×10^5 ng/m³ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 3.435, 1.297, 1.703 และ 1.372 ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 0.0030, 0.0011, 0.0017 และ 0.0014 ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาข้อมูลทางสถิติ พบว่ามีความแม่นยำดีมาก และทำให้ทราบว่าปริมาณนิโคตินวัฏภาคอนุภาค ในบุหรี่ยี่ห้อเครื่องหมายการค้า KT1 มากที่สุดคือ 5.760 ng/ μ g และปริมาณนิโคตินในวัฏภาคแก๊ส ในบุหรี่ยี่ห้อเครื่องหมายการค้า KT2 มากที่สุดคือ 1.20080×10^5 ng/m³

5. การหาค่าคงที่การกระจายตัวของนิโคตินในควันบุหรี่ (Kp)

การวิจัยครั้งนี้พบค่าคงที่การกระจายตัวในบุหรี่ 4 รหัสนิโคตินเครื่องหมายการค้าที่ผลิตในประเทศไทย คือ KT1, KT2, KT3 และ KT4 มีค่าคงที่การกระจายตัวของนิโคตินในควันบุหรี่ (Kp) เฉลี่ย 3.555×10^{-4} , 2.138×10^{-4} , 3.093×10^{-4} และ 2.101×10^{-4} m³/ng ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 1.964×10^{-6} , 8.702×10^{-7} , 1.269×10^{-6} และ 5.929×10^{-7} ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 0.553, 0.407, 0.410 และ 0.282 ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาข้อมูลทางสถิติ พบว่ามีความแม่นยำดีมาก ทำให้ทราบว่าค่า Kp ในบุหรี่ยี่ห้อเครื่องหมายการค้า KT1 มากที่สุดคือ 3.555×10^{-4} m³/ng

ค่าคงที่การกระจายตัวของนิโคตินโดยวิธีการทำให้ชอร์พชันในบุหรี่ 4 รหัสนิโคตินเครื่องหมายการค้าที่ผลิตในประเทศไทย คือ KT1, KT2, KT3 และ KT4 มีค่าคงที่การกระจายตัวของนิโคตินในควันบุหรี่ (Kp) เฉลี่ย 3.416×10^{-5} , 4.798×10^{-5} , 2.976×10^{-5} และ 2.855×10^{-5} m³/ng ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 3.389×10^{-8} , 2.981×10^{-7} , 6.563×10^{-8} และ 3.917×10^{-8} ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 0.099, 0.621, 0.221 0.137 ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาข้อมูลทางสถิติ พบว่ามีความแม่นยำดีมาก และทำให้ทราบว่าค่า K_p โดยวิธีการทำดีซอร์พชัน ในบุหรีรหัสเครื่องหมายการค้า KT2 มากที่สุดคือ $4.798 \times 10^{-5} \text{ m}^3/\text{ng}$

งานวิจัยนี้พบว่าค่าคงที่การกระจายตัวของนิโคตินในควันบุหรี (K_p) โดยวิธีการทำดีซอร์พชันลดลง พบว่าการทำดีซอร์พชันนิโคตินในวัฏภาคอนุภาค จะเปลี่ยนเป็นนิโคตินในวัฏภาคแก๊สเพิ่มขึ้น จึงทำให้ค่า K_p ลดลง งานวิจัยนี้สอดคล้องกับ แพนคอฟ และคณะ (Pankow, et al. 1997 : 2428 – 2433) ศึกษาวิธีการทำดีซอร์พชันโดยการพ่นไอแอมโมเนียไปยังนิโคตินวัฏภาคอนุภาคจะถูกเปลี่ยนเป็นวัฏภาคแก๊สเพิ่มขึ้นจึงทำให้ค่า K_p ลดลงประมาณ 100 เท่า ในการวิจัยครั้งนี้พบค่า K_p ลดลง ประมาณ 10 เท่า ซึ่งค่าที่ได้น้อยกว่างานวิจัยข้างต้นประมาณ 10 เท่า อาจเป็นเพราะในงานวิจัยครั้งนี้เก็บตัวอย่างควันบุหรีแค่ 1 มวน และใช้เวลาในวิธีการทำดีซอร์พชัน 30 นาที

ข้อเสนอแนะ

1. ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ได้คำร้อยละประสิทธิภาพของวิธีค่อนข้างต่ำ เนื่องจากสกัดสารตัวอย่างด้วย CH_2Cl_2 ในงานวิจัยครั้งต่อไปควรทำการสกัดตัวอย่างด้วยตัวทำละลายชนิดอื่นๆ ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน
2. ควรทำการศึกษาวิธีการแยกวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในควันบุหรี ในวัฏภาคอนุภาค ให้บริสุทธิ์ก่อนทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC
3. ในการวิจัยครั้งนี้ทำให้ทราบขนาดรูพรุนของ filter ที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างควันบุหรี ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการประยุกต์สำหรับการทำกั้นกรองบุหรี เพื่อกรองนิโคตินและสารอื่นๆ ที่มีในควันบุหรี ทำให้ผู้สูบบุหรีได้รับปริมาณนิโคตินน้อยลง

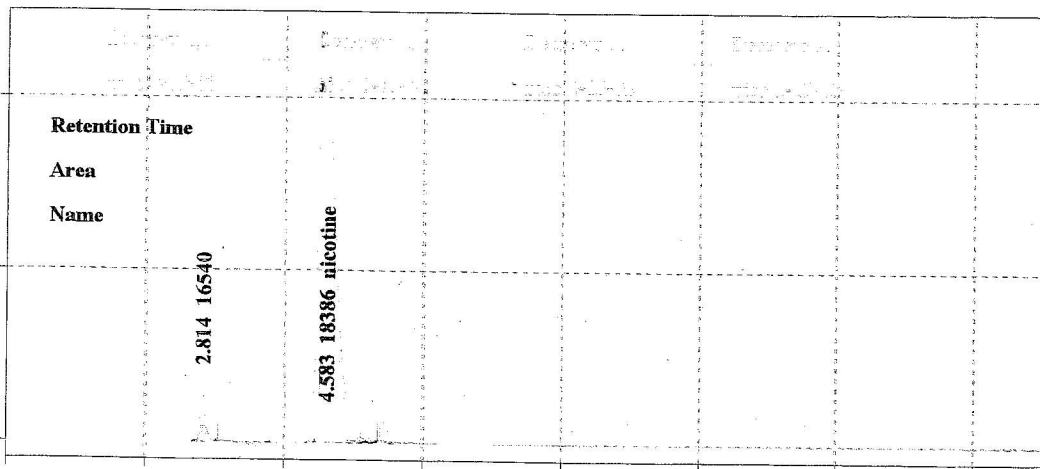
บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

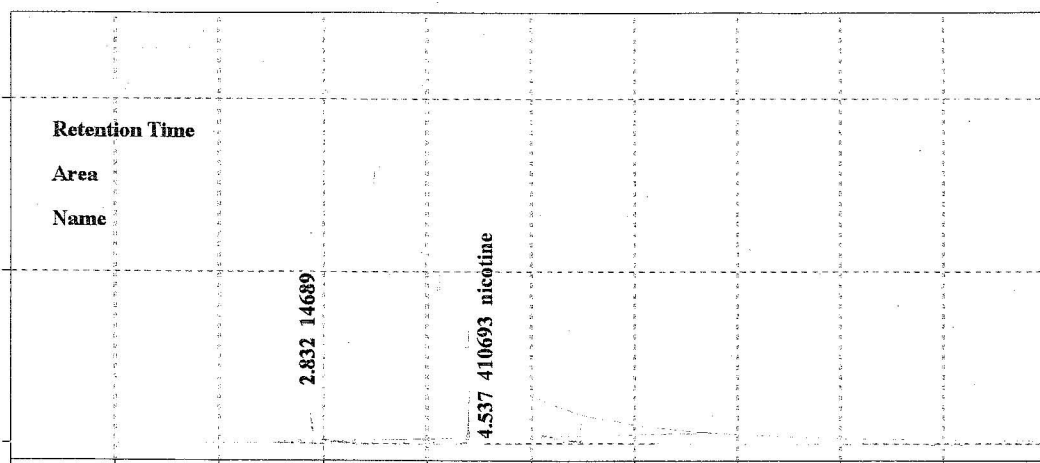
- เต็ม สมิตินันท์. (2523). *ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย (ชื่อพฤกษศาสตร์และชื่อพื้นเมือง)*.
กรุงเทพฯ : ฟันี่พับลิชชิ่ง.
- ศิริวัฒน์ ทิพย์ธาดล. (2534, พฤศจิกายน - ธันวาคม). "มหันตภัยของผู้ไม่สูบบุหรี่,"
บุหรืและสุขภาพ. 2 : 8.
- แม่น อมรสิทธิ์. และ อมร เพชรสม. (2539). *หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ*.
กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ชวนชื่น.
- อุษา ช่อผล. (2536). *วิธีการทางสถิติกับผลการทดลอง*. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันราชภัฏยะลา.
- อรรณ หุ่นดี. (2542). *ยาและสิ่งเสพติดให้โทษ*. กรุงเทพฯ : อักษรบัณฑิต.
- Abad, A., et al. (1993, November). "Comparison of Monoclonal Antibody Based
Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and Gas Chromatography for the
Determination of Nicotine in Cigarette Smoke Condensates," *Analytical
Chemistry*. 65 : 3227 – 3231.
- Bertoni, G., et al. (1996, August). "Fast Determination of Nicotine and 3-Ethenylpyridine
Indoor Environments," *Chromatographic*. 43 : 296 – 300.
- Dash, A. W. & Wong, S. T. (1996, April). "Liquid Chromatographic Method for the
Determination of Nicotine in Pharmaceutical Formulations ," *Journal of
Chromatography A*. 749 : 81 – 85.
- Eatough, D. J., et al. (1989, March). "Chemical Composition of Environmental Tobacco
Smoke," *Environmental Science Technology*. 23 : 697 – 689.
- Feyerabend, C., Levitt, T. & Russell, M. A. (1975, December). "A Rapid Gas Liquid
Chromatographic Estimation of Nicotine in Biological Fluid," *Journal Pharmacy
and Phamacology*. 27 : 434 – 436.
- Feyerabend, C. & Russell, M. A. (1979, July). "Improved Gas Chromatographic and
Micro-extraction in Biological Fluid," *Journal Pharmacy and Phamacology*.
31 : 73 – 76.
- Hager, B. & Niessner, R. (1997, February). "On the Distribution of Nicotine Between the
Gas and Particle Phase and Its Measurement," *Aerosol Science And
Technology*. 26 : 163 – 174.

- Moffat, A. C., et al. (1986). *Clake's Isolation and Identification of Drug*. 2nd ed. London : The Pharmaceutical Society of Great Britain.
- Lofroth, G. (1995). Phase Distribution of Nicotine in Real Environmental As Determination by Two Sampling Method," *Environmental Science Technology*. 29 : 975 - 978.
- Ogden, M. W. (1989, November - December). "Gas Chromatographic Determination of Nicotine in Environmental Tobacco Smoke," *Journal of Association of Analytical Chemistry*. 72 (6) : 1002 – 1006.
- Ogden, M. W., et al. (1989, September). "Improved Gas Chromatographic Determination of Nicotine in Enviromental Tobacco Smoke," *Analyst*. 114 (9) : 1005 – 1008.
- Pankow, J. F., et al. (1997, August). "Conversion of Nicotine in Tobacco Smoke to Its Volatile and Available Free Base Form through the Action of Gaseous Ammonia," *Environmental Science Technology*. 31 : 2428 – 2433.
- Paraviainen, M. T. & Barlow, R. D. (1988, June). Assessment of Exposure to Environmental Tobacco Smoke Using a High – Performance Liquid Chromatographic Method for the Simultaneous Determination of Nicotine and Two of Its Metabolites in Urine," *Journal of Chromatography*. 431 : 216 – 221.
- Rop, P. P., et al. (1993, February). "Determination of Nicotine and Its Main Metabolites in Urine by High – Performance Liquid Chromatography," *Journal of Chromatography*. 612 (2) : 302 – 309.
- Skoog, D. A. (1992). *Principle of Instrumental Analysis*. 4th ed. New York : Sanuder.

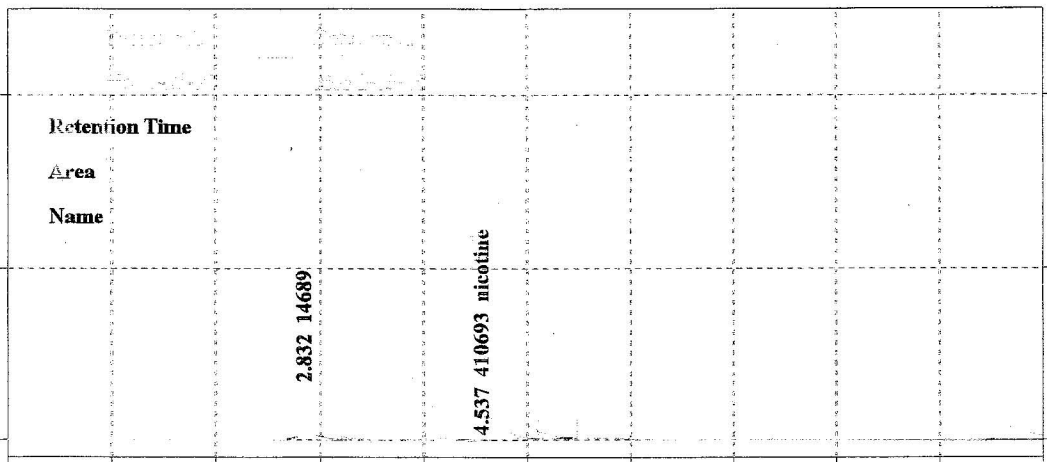
ภาคผนวก



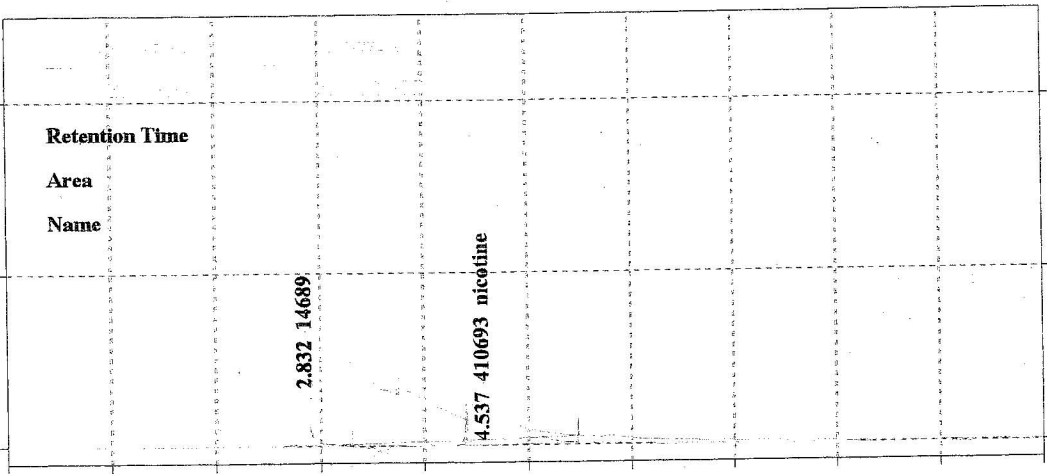
ภาพประกอบ 18 โครมาโทแกรมการซ้อนทับพีคของสารละลายมาตรฐานนิโคติน
ความเข้มข้น 2.0, 4.0, 6.0 และ 8.0 $\mu\text{g/mL}$



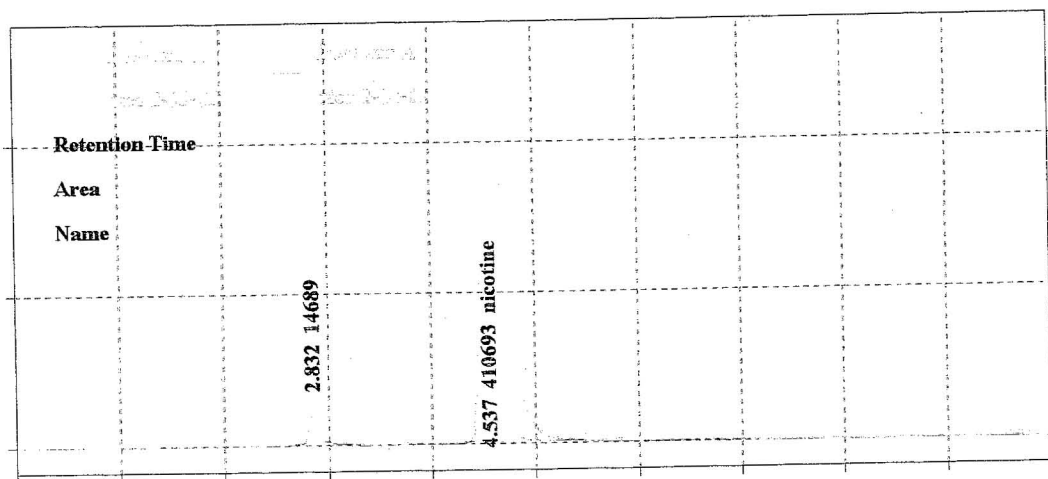
ภาพประกอบ 19 โครมาโทแกรมการซ้อนทับพีคของสารละลายมาตรฐานนิโคติน กับสาร
ตัวอย่างในควันบุหรี่หรือวัฏภาคอนุภาค



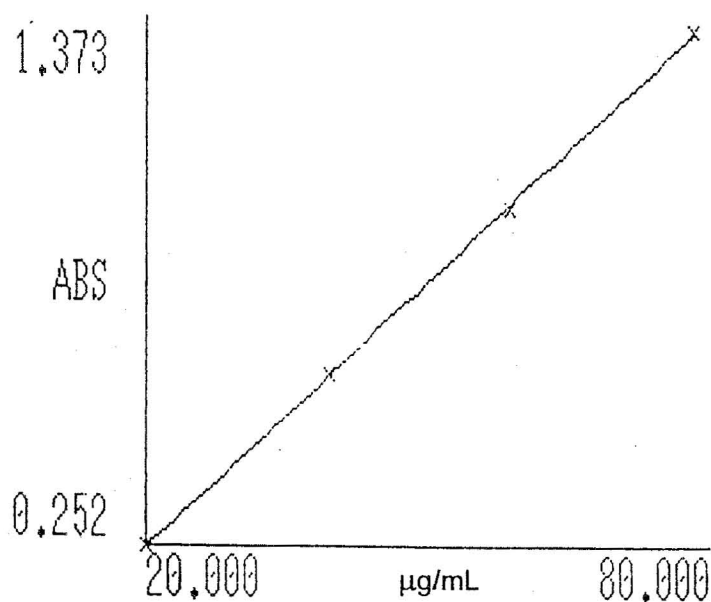
ภาพประกอบ 20 โครมาโทแกรมการซ้อนทับพีคของสารละลายมาตรฐานนิโคติน กับสารตัวอย่างในควันบุหรี่วิภูภาคแก๊ส



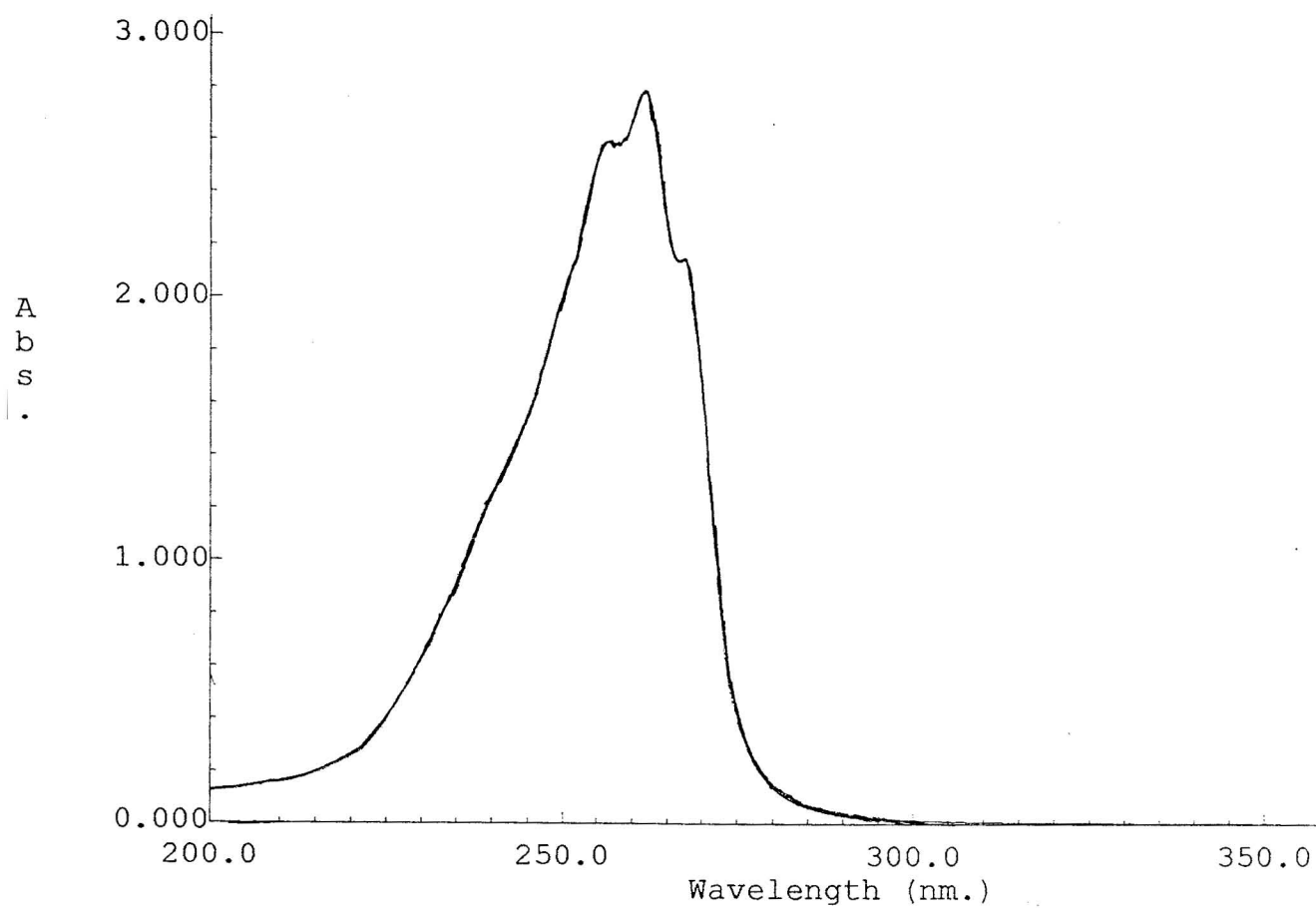
ภาพประกอบ 21 โครมาโทแกรมการซ้อนทับพีคของสารละลายมาตรฐานนิโคติน กับสารตัวอย่างในควันบุหรี่วิภูภาคอนุภาค โดยวิธีการทำดีซอร์ชัน



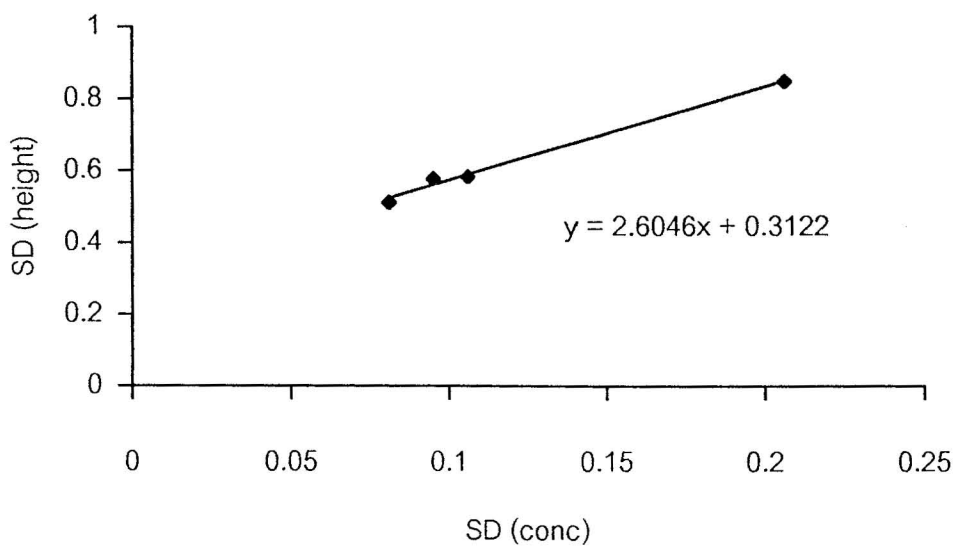
ภาพประกอบ 22 โครมาโทแกรมการซ้อนทับพีคของสารละลายมาตรฐานนิโคติน กับสารตัวอย่างในควันบุหรี่วิทยาศาสตร์ โดยวิธีการทำดีซอร์พชัน



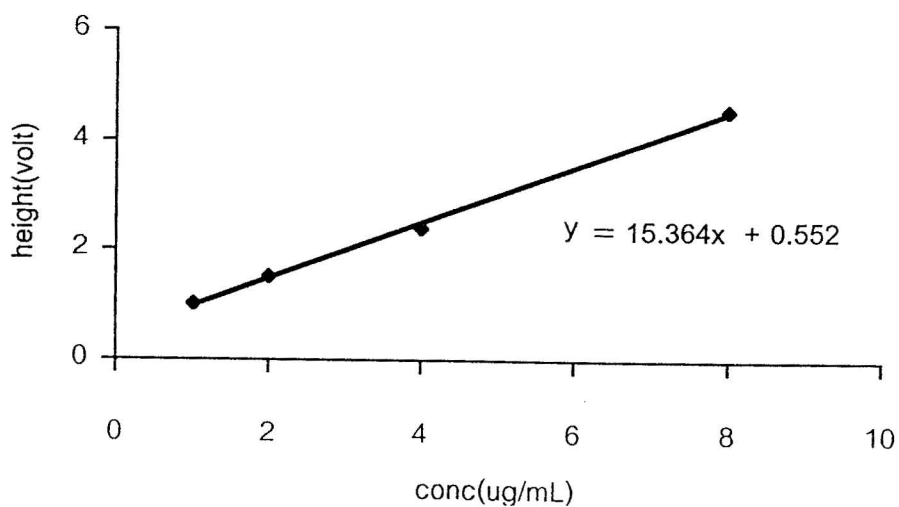
ภาพประกอบ 23 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ความเข้มข้น 20, 40, 60 และ 80 $\mu\text{g/mL}$ ตรวจวัดด้วย UV - VIS spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 260 nm



ภาพประกอบ 24 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ใน methanol



ภาพประกอบ 25 กราฟเส้นตรงระหว่างค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ peak height กับค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้นของนิโคตินในควันบุหรี่



ภาพประกอบ 26 กราฟเส้นตรง detection limit ของนิโคตินในควันบุหรี่

ประวัติย่อผู้วิจัย

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ ชื่อสกุล	นางสาววันเพ็ญ บุญรักษา
วัน เดือน ปีเกิด	20 กุมภาพันธ์ 2513
สถานที่เกิด	อำเภовาริชภูมิ จังหวัดสกลนคร
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	301 หมู่ 3 ตำบลวาริชภูมิ อำเภовาริชภูมิ จังหวัดสกลนคร
ตำแหน่งหน้าที่การงาน	อาจารย์ 1 ระดับ 4
สถานที่ทำงาน	โรงเรียนบ้านม่วงพิทยาคม อำเภอบ้านม่วง จังหวัดสกลนคร
	โทร. 042794116
	แฟกซ์. 042794117

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2526	ประถมศึกษาปีที่ 6 โรงเรียนบ้านธาตุกุดพร้าว
พ.ศ. 2532	มัธยมศึกษาปีที่ 6 โรงเรียนมัธยมวาริชภูมิ
พ.ศ. 2536	กศ.บ. เคมี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางเขน
พ.ศ. 2545	กศ.ม. เคมี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ