

การวิเคราะห์เชิงปริมาณของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัครและหมากรังผสมนิโคติน
โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

บทคัดย่อ

ของ

สุนทร เลิศศรีสุขสันต์

๒-2 ก.พ. 2549

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีชีวภาพ

สิงหาคม 2548

11/11/14

สุนทร เลิศศรีสุขสันต์. (2545). การวิเคราะห์เชิงปริมาณของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัครและหมาก
ฝรั่งผสมนิโคตินโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง. ปริญญาโท
วท.ม. (เคมีชีวภาพ) กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.
คณะกรรมการควบคุม : รองศาสตราจารย์ ดร. ยงยุทธ ตันกุลเวช, รองศาสตราจารย์ ดร.
ประเสริฐ ศรีไพโรจน์

การวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อนำนิโคตินที่สกัดได้จากธรรมชาติมาผลิตหมากฝรั่งผสม
นิโคตินเพื่อใช้ในการบำบัดผู้ที่ติดบุหรี่ โดยหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่ผลิตขึ้นได้นำมาบำบัดอาสาสมัคร
และทำการเจาะโลหิตเพื่อศึกษาการดูดซึมปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร และติดตามปริมาณ
นิโคตินในหมากฝรั่ง ตลอดระยะเวลา 12 เดือน. การวิจัยนี้ใช้ reverse phase(C-18) และสารละลาย
เฟสเคลื่อนที่ โซเดียมอะซิเตตต่อเมทานอลต่อไดเอทิลเอมีน(88:12:0.5) pH 5.05 อัตราการไหล 0.9
มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดด้วยเครื่องตรวจวัดอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิล พบค่ารีเทนชันไทม์ของนิโคตินใน
หมากฝรั่งผสมนิโคตินและนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร เท่ากับ 5.0 นาที ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์
(Correlation coefficient, r) ระหว่าง 0.9958-0.9999 ค่าร้อยละประสิทธิภาพวิธี ระหว่าง 73.81 –
122.51 และความสามารถของวิธีที่สามารถวิเคราะห์ได้ที่มีความเข้มข้นต่ำสุด เท่ากับ 0.0321-0.0061
ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร. ผลการติดตามปริมาณของนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน สูตร 2 มิลลิกรัม/ 1
กรัม กัมเบส และสูตร 4 มิลลิกรัม/ 1 กรัม กัมเบส ตลอดระยะเวลา 12 เดือน มีค่าเฉลี่ย 1.395
มิลลิกรัม(ร้อยละ 85.95) และ 2.427 มิลลิกรัม(ร้อยละ 74.73) การศึกษาชีวสมมูล (Bioequivalent)
ของหมากฝรั่งผสมนิโคติน สูตร 4 มิลลิกรัม/ 1 กรัม กัมเบส ในอาสาสมัครที่มีสุขภาพแข็งแรง จำนวน 5
ราย อัตราการดูดซึมนิโคตินภายหลังการเสพ (rate of nicotine absorption, $\mu\text{g}/\text{min}$) มีค่าเท่ากับ
0, 0.846, 0.493 และ 0.3775 ที่ระยะเวลา 0 15 30 และ 40 นาที ตามลำดับ

QUANTITATIVE ANALYSIS OF NICOTINE IN BLOOD OF VOLUNTEERS AND NICOTINE
GUM USING HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY TECHNIQUE

AN ABSTRACT

BY

SUNTHAREE LEOSSRISUKSUN

Presented in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Master of Science degree in Biological Chemistry
at Srinakharinwirot University

September 2005

Suntharee Leossrisuksun. (2005). *Quantitative Analysis of Nicotine in Blood of Volunteers and Nicotine Gum Using High performance Liquid Chromatography Technique*. Master Thesis, M.Sc. (Biological Chemistry). Bangkok: Graduate School, Srinakharinwirot University. Advisor Committee: Assoc. Prof. Dr. Yongyut Tundulawessa, Assoc. Prof. Dr. Phrasert Sriphiro.

The purpose of this research was to produce the natural extracted nicotine gum for case in smoking cessation therapy. The product of nicotine gum were using to treat and monitoring the absorption rate of nicotine in blood of volunteers. This method using reverse phase (C-18) and sodium acetate : methanol: diethylamine (88:12:0.5) pH 5.05 as mobile phase, flow rate 0.9 mL/min, UV-visible detector found the retention time of nicotine in gum and volunteer blood 5.0 min. The correlation coefficient (r) between 0.9958-0.9999, range of percent recovery 73.81-122.51 and the detection limit 0.0321-0.0061 $\mu\text{g/mL}$. The monitoring of nicotine contents in our 2 type of nicotine gum among 12 months was 2mg/1g gum base and 4mg/1g gum base found 1.395 mg (85.95 percentages) and 2.633 mg (74.73 percentages). The bioequivalent about rate of nicotine absorption in 5 strong volunteers were treated with our nicotine gum type 4 mg/1 g gum base found 0, 0.846, 0.493 and 0.3775 at 0, 15, 30 and 40 minutes respectively.

การวิเคราะห์เชิงปริมาณของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัครและหมากรังผสมนิโคติน
โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

ปริญญาานิพนธ์
ของ
สุนทรี เลิศศรีสุขสันต์

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีชีวภาพ
สิงหาคม 2548
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

การวิเคราะห์เชิงปริมาณของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร และหากผลสัมฤทธิ์
โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

ของ

นางสาว สุนทรี เลิศศรีสุขสันต์

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีชีวภาพ

ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

..... คณะบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เพ็ญศิริ จีระเดชากุล)

วันที่..... เดือน..... พ.ศ. 2548

คณะกรรมการสอบปริญญานิพนธ์

..... ประธาน

(รองศาสตราจารย์ ดร. ยงยุทธ ตันกุลเวสส์)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. ประเสริฐ ศรีไพโรจน์)

..... กรรมการที่แต่งตั้งเพิ่มเติม

(รองศาสตราจารย์ ดร. พรพิมล ม่วงไทย)

..... กรรมการที่แต่งตั้งเพิ่มเติม

(อาจารย์ วราดุล ชัตรทอง)

..... กรรมการที่แต่งตั้งเพิ่มเติม

(อาจารย์ รท.หญิง เพ็ญทิภา นรินทรางกูร ณ อยุธยา)

ประกาศคุณูปการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยคำแนะนำ ความช่วยเหลือ และให้ความอนุเคราะห์
อย่างดีจากคณาจารย์หลายท่าน ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ยงยุทธ
ตันกุลเวสส ประธานควบคุมปริญญานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. ประเสริฐ ศรีไพโรจน์ และ
อาจารย์วรากล จัทรทอง ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในทุกชั้น
ตอนของการวิจัยและการเขียนปริญญานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.จินดา แต้มบรรจง อาจารย์ที่ปรึกษาและคณาจารย์ภาคเคมีและภาค
ชีววิทยาทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และให้ความเมตตาแก่ผู้วิจัยตลอดมา

ขอกราบขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ธนาคารเลือดโรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูธร จังหวัดสุพรรณบุรี
กรุณาบริจาคโลหิต และ รท.หญิง เพ็ญทิศา นรินทรางกูร ณ อยุธยา ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการ
เจาะโลหิตตลอดจนเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ได้ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือ และขอขอบคุณ อำนวยความ
สะดวกและให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยตลอดมา ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณา และขอกราบขอบพระคุณไว้
ณ โอกาสนี้

ท้ายสุดผู้วิจัยขอน้อมรำลึกพระคุณบิดา มารดา ที่ให้กำลังใจและให้การสนับสนุนในด้านการ
ศึกษาแก่ผู้วิจัยด้วยดีตลอดมา และขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีได้กล่าวนาม ณ ที่นี้ ที่ให้คำแนะนำ ช่วย
เหลือในด้านต่าง ๆ จนปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จเรียบร้อย

สุนทรี เลิศศรีสุขสันต์

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ.....	1
ภูมิหลัง.....	1
ความมุ่งหมายในการวิจัย.....	3
ความสำคัญของการวิจัย.....	3
ขอบเขตของการวิจัย.....	3
คำนิยามศัพท์เฉพาะ.....	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
องค์ประกอบทางเคมีของไบยาซูบ.....	5
สารปรุงแต่งในบุนหรี.....	10
สารพิษจากการเผาไหม้บุนหรี.....	10
ยาชนิดใหม่ที่ใช้ในการอดบุนหรี.....	10
การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี.....	12
การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง...	14
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	17
สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย.....	17
การสกัดนิโคตินจากไบยาซูบ.....	19
กระบวนการผลิตหมากฝรั่ง.....	19
การวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน.....	20
การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน.....	24
การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร.....	24
การศึกษาชีวสมมูล.....	25
สถิติที่ใช้ในงานวิจัย.....	25
4 ผลการวิจัย.....	27
การศึกษากัดนิโคตินจากไบยาซูบ.....	27

สารบัญ(ต่อ)

บทที่	หน้า
4(ต่อ)	
กระบวนการผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคติน	32
การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน	33
การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร.....	42
การศึกษาชีวสมมูล.....	46
 5 สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	49
ข้อเสนอแนะ.....	52
 บรรณานุกรม.....	53
 ภาคผนวก.....	56
ภาคผนวก ก.....	57
ภาคผนวก ข.....	62
ประวัติย่อผู้วิจัย.....	64

บัญชีตาราง

ตาราง		หน้า
1	สถานะของเครื่องร้อยละการกลับคืนและ limited of detection ของเทคนิคโครมาโทกราฟี ของเหลวแบบสมรรถนะสูง.....	18
2	ปริมาณนิโคตินที่สกัดได้จากใบยาสูบ	29
3	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าประสิทธิภาพแปรปรวน ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารละลายมาตรฐานนิโคติน ความเข้มข้น 2.0 , 5.0 , 10.0 , 15.0 และ 20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	38
4	ร้อยละประสิทธิภาพของวิธี ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน ของนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน (n = 5)	41
5	ร้อยละประสิทธิภาพของวิธี ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน ของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร ก่อนและหลังเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน (n=5)..	42
6	ปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส และ 4 มิลลิกรัม /1 กรัม กัมเบส	45
7	ปริมาณนิโคตินในโลหิตอาสาสมัคร	47

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ

หน้า

1	โครงสร้างของนิโคตินในรูปแบบต่างๆ	1
2	แสดงความเข้มข้นของนิโคตินในกระแสโลหิต ในช่วงระหว่างการสูบบุหรี่และ หลังการสูบบุหรี่ การพ่นทางปากและจุ่มก การเคี้ยวใบยาสูบ และการใช้ หมากฝรั่งผสมนิโคติน (2 มิลลิกรัม/ชิ้น จำนวน 2 ชิ้น)	8
3	แสดงการเปรียบเทียบอัตราการดูดซึมนิโคตินโดยหลังจากเสพนิกโคติน 4 วิธี คือ การสูบบุหรี่ การพ่นทางปากและจุ่มก การเคี้ยวใบยาสูบ และการใช้ หมากฝรั่งผสมนิโคติน (2 มิลลิกรัม/ชิ้น จำนวน 2 ชิ้น)	9
4	โครงสร้างโมเลกุลของนิโคติน และเมทาบอลไลท์	9
5	อินฟราเรดสเปกตรัมของสารละลายนิโคตินที่สกัดจากใบยาสูบ	30
6	H^1 – NMR ของสารละลายนิโคตินที่สกัดจากใบยาสูบ	31
7	การขยายสัญญาณ H^1 – NMR ของสารละลายนิโคตินที่สกัดจากใบยาสูบ	32
8	C^{13} – NMR ของสารละลายนิโคตินที่สกัดจากใบยาสูบ	33
9	โครมาโทแกรมของสารละลายเบสของไฮโดรคลอริก ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร	34
10	โครมาโทแกรมของสารละลายเบสของฟอสมา ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร...	34
11	โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร.....	36
12	โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร.....	36
13	โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ความเข้มข้น 15 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร.....	36
14	โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร.....	37
15	โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ความเข้มข้น 2.0 , 5.0, 10.0 , 15.0 และ 20.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร.....	39

บัญชีภาพประกอบ(ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
16 โครมาโทแกรมของนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/ 1 กรัม กัมเบล ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร	44
17 โครมาโทแกรมของนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัม/ 1 กรัม กัมเบล ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร	44
18 โครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร ตรวจวัดที่ ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร	48
19 โครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัครที่เวลา 0, 15, 30 และ 40 นาที	49
20 หมากฝรั่งผสมนิโคติน เครื่องหมายการค้า nicorette สูตร 2 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบล	58
21 หมากฝรั่งผสมนิโคตินสูตร 2 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบล	58
22 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานนิโคติน สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ นิโคตินในโลหิตของอาสาสมัครที่ความเข้มข้น 2.0 , 5.0, 10.0, 15.0 และ 20.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร	58
23 โครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร ก่อนเคี้ยวหมากฝรั่งผสม นิโคตินสูตร 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบล ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร.....	60
24 การขยายสัญญาณโครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร ก่อน เคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคตินสูตร 4 มิลลิกรัม /1 กรัม กัมเบล ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร	61
25 โครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร หลังเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน สูตร 4 มิลลิกรัม /1กรัม กัมเบล 15 นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร....	61
26 การขยายสัญญาณโครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร หลังเคี้ยวหมากฝรั่ง นิโคตินสูตร 4 มิลลิกรัม/1กรัม กัมเบล 15 นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร	61
27 โครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร หลังเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน สูตร 4 มิลลิกรัม / 1 กรัม กัมเบล 30 นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร ..	62

บัญชีภาพประกอบ(ต่อ)

ภาพประกอบ

หน้า

28	การขยายสัญญาณโครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร หลัง เคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคตินสูตร 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส 30 นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร	62
29	โครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร หลังเคี้ยวหมากฝรั่งผสม นิโคตินสูตร 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส 40 นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร.....	63
30	การขยายสัญญาณโครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร หลังเคี้ยว หมากฝรั่งผสมนิโคตินสูตร 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส 40 นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร	64

บทที่ 1

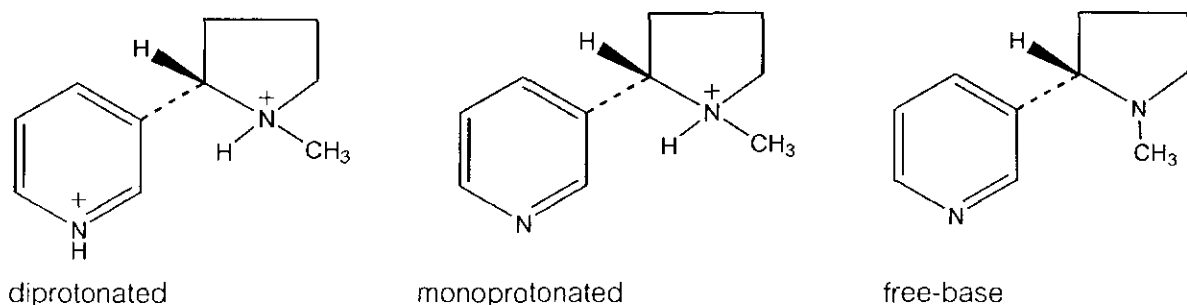
บทนำ

ภูมิหลัง

บุหรี่เป็นสารเสพติดชนิดหนึ่งผลิตจากใบยาสูบ ซึ่งมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Nicotiana tabacum* Linn. (เต็ม สมิตินันท์. 2523 : 241) เมื่อมีการสูบบุหรี่ สารนิโคตินในบุหรี่จะผ่านเข้าสู่ปอดโดยตรงและถูกดูดซึมอย่างรวดเร็วเข้ากระแสโลหิตไปยังหัวใจ หลังจากนั้นหัวใจจะสูบฉีดโลหิตไปยังสมองทันทีภายใน 7 - 10 วินาที หลังจากการสูบบุหรี่และมีความเข้มข้นในโลหิตสูงสุดภายใน 5 นาที (บุหรี่ 1 มวนมีสารนิโคตินอยู่ประมาณ 1 - 2 มิลลิกรัม) สารนิโคตินจะแพร่ผ่าน blood brain barrier โดยกระบวนการ 2 กระบวนการ (Jacob; & Fehr. 1987) คือ การแพร่แบบกระแสน้ำ และ การขนส่งกัมมันต์ เมื่อสารนิโคตินเข้าไปในสมองจะจับกับ nicotinic receptor บน ventral tegmental area (VTA) ใน mesolimbic pathway ทำให้ Na⁺ channel ปิด และกระตุ้นให้หลั่งสารสื่อประสาทต่างๆ ได้แก่ acetylcholine (Ach) norepinephrine (NE) dopamine serotonin glutamate และ B-endorphine

นิโคตินจัดเป็นสารกลุ่มอัลคาลอยด์ และสามารถสกัดได้จากพืชใน Genus *Nicotiana* หลาย species แต่ส่วนมาก species ที่พบนิโคตินมากที่สุดคือ *Nicotiana tabacum*. ซึ่งสารนิโคตินในบุหรือนั้นทำให้ผู้สูบบุหรี่รู้สึกเป็นสุขและต้องการที่จะได้รับสารนิโคตินเพิ่มมากขึ้น การสูบบุหรี่จะส่งผลกระทบต่อสุขภาพและทำให้เกิดโรคแทรกซ้อนต่าง ๆ มากมาย เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจตีบตัน โรคถุงลมโป่งพอง มะเร็งปอด โรคหลอดเลือดสมองตีบตัน และโรคหลอดเลือดแดงแข็งตัว (arteriosclerosis) เป็นต้น (Jacob; & Fehr.1987)

โครงสร้างโมเลกุลของนิโคตินมี 3 รูป คือ diprotonated monoprotonated free-base ซึ่งมีโครงสร้างดังภาพประกอบ 1



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

รายงานผลการวิจัยของมหาวิทยาลัยแพทย์ ในประเทศฮ่องกง พบว่า ทารกที่อยู่ในครอบครัวที่มีคนสูบบุหรี่ตั้งแต่ 2 คนขึ้นไป มีโอกาสจะต้องเข้ารับการรักษาอาการเจ็บป่วยในโรงพยาบาลมากกว่าเด็กที่เติบโตในที่ไม่มีผู้สูบบุหรี่ถึงร้อยละ 30 เนื่องจากเด็กเหล่านี้ได้รับสารพิษจากควันบุหรี่ตามไปด้วย และเด็กเหล่านี้ส่วนใหญ่มีปัญหาที่ระบบทางเดินหายใจ และงานวิจัยยังพบอีกว่า ทารกที่เกิดจากแม่ที่ได้รับควันบุหรี่เป็นประจำในระหว่างที่ตั้งครรภ์ เด็กที่เกิดมามีโอกาสเข้ารักษาตัวในโรงพยาบาลมากกว่าเด็กที่คุณแม่ไม่ได้รับควันบุหรี่เลยในระหว่างตั้งครรภ์ร้อยละ 18-26 (ทวิศิลป์ วิษณุโยธิน, 2547)

จากผลการสำรวจพฤติกรรมการสูบบุหรี่ของประชากรของสำนักงานสถิติแห่งชาติ ในเดือนเมษายน 2547 พบว่า มีประชากรที่มีอายุตั้งแต่ 15 ปีขึ้นไปทั่วประเทศ 49.4 ล้านคน เป็นผู้สูบบุหรี่จำนวน 11.3 ล้านคน (ร้อยละ 23.0) เป็นผู้สูบบุหรี่ประจำหรือทุกวัน ประมาณ 9.6 ล้านคน (ร้อยละ 20.0) และผู้ที่สูบบุหรี่นานๆครั้ง ประมาณ 1.4 ล้านคน (ร้อยละ 2.8) โดยจำนวนผู้ที่สูบบุหรี่เป็นประจำในปี 2547 เพิ่มขึ้นจาก ปี 2544 ประมาณ 0.4 ล้านคน และจากจำนวนผู้ที่สูบบุหรี่เป็นประจำที่อายุ 15 ปีขึ้นไป ประมาณ 9.6 ล้านคนนั้นเป็นผู้ชาย 9 ล้านคน และเป็นผู้หญิง 0.6 ล้านคน และยังพบอีกว่า ร้อยละ 88.1 ของผู้สูบบุหรี่เป็นประจำมีการสูบบุหรี่ขณะอยู่ในบ้านกับสมาชิกในครอบครัว (ทวิศิลป์ วิษณุโยธิน, 2548)

อายุเฉลี่ยการเริ่มสูบบุหรี่ที่พบในปี 2547 คือ 18.4 ปี โดยผู้ชายเริ่มสูบเมื่ออายุเฉลี่ย 18.2 ปี ผู้หญิงเริ่มสูบบุหรี่เมื่ออายุเฉลี่ย 21.7 ปี ส่วนอายุเฉลี่ยของผู้ที่เลิกสูบบุหรี่นั้น ในปี 2547 พบว่า อายุเฉลี่ยของผู้เลิกสูบบุหรี่คือ 41.8 ปี โดยผู้ชายเลิกสูบบุหรี่เมื่ออายุเฉลี่ย 41.4 ปี และผู้หญิงเลิกสูบบุหรี่เมื่ออายุเฉลี่ย 46.1 ปี ในขณะที่ปี 2542 อายุเฉลี่ยของผู้เลิกสูบบุหรี่ คือ 41.4 ปี โดยผู้ชายเลิกสูบบุหรี่เมื่ออายุเฉลี่ย 40.8 ปี และผู้หญิงเลิกสูบบุหรี่เมื่ออายุเฉลี่ย 46.8 ปี (ทวิศิลป์ วิษณุโยธิน, 2548)

ดังนั้นการเลิกสูบบุหรี่จึงเป็นการลดอัตราเสี่ยงในการเกิดโรคต่างๆ ทั้งยังช่วยลดความสูญเสียในด้านสุขภาพและค่าใช้จ่ายทางสาธารณสุข (health expenditure) ของผู้สูบบุหรี่และบุคคลที่อยู่รอบข้างอีกด้วย ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคตินสำหรับใช้ในการบำบัดสำหรับผู้ติดบุหรี่โดยศึกษาอายุความคงทนของหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่ผลิตขึ้น ซึ่งกระทำได้โดยการติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินและค่าชีวสมมูลในหมากฝรั่งผสมนิโคติน

ความมุ่งหมายของการวิจัย

1. เพื่อนำนิโคตินที่สกัดได้จากธรรมชาติมาผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคตินเพื่อใช้ในการบำบัดผู้ที่ติดบุหรี่
2. เพื่อศึกษาปริมาณนิโคตินในเลือด ก่อนและหลังจากการเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่เวลาต่างๆ กัน
3. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินตลอดระยะเวลา 1 ปี

ความสำคัญของการวิจัย

1. ทำให้ทราบข้อมูลพื้นฐานในการผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคติน
2. ทำให้ทราบการเปลี่ยนแปลงปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินตลอดระยะเวลา 1 ปี
3. ทำให้ทราบชีวสมมูล(bioequivalence) ของหมากฝรั่งผสมนิโคตินในอาสาสมัครที่มีสุขภาพแข็งแรง

ขอบเขตของการวิจัย

1. หมากฝรั่งผสมนิโคตินเป็นหมากฝรั่งที่ผู้วิจัยผลิตขึ้นเอง
2. ระยะเวลาที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงในช่วงเวลา 1 ปี
3. ติดตามปริมาณนิโคตินในเลือดของอาสาสมัคร ก่อนและหลังจากการเคี้ยวหมากฝรั่งนิโคตินด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง
4. ติดตามปริมาณการเปลี่ยนแปลงนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินตลอดระยะเวลา 1 ปีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

คำนิยามศัพท์เฉพาะ

1. กัมเบส(gum base) หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมซึ่งประกอบด้วย สไตรีน-บิวทาไดอีน รัับเบอร์ (food grade) waxes พาราฟิน เรซิน พลาสติกไฮเซอร(เลซิติน) สารต้านอนุมูลอิสระ (butylated hydroxyanisole)
2. ชีวสมมูล (bioequivalence) หมายถึง การติดตามความเข้มข้นของนิโคตินในพลาสมา ก่อนและหลังจากการเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน โดยเปรียบเทียบระหว่างผลิตภัณฑ์ที่องค์การเภสัชกรรมรับรองกับผลิตภัณฑ์จากการวิจัยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง
3. อาสาสมัคร หมายถึง ผู้ชายที่ติดบุหรี่ อายุระหว่าง 25-30 ปี มีดัชนีมวลกาย(body

mass index) อยู่ระหว่าง 18.50-22.90 ซึ่งดัชนีมวลกายสามารถหาได้จาก น้ำหนัก(กิโลกรัม)หารด้วย(ส่วนสูง)² (เมตร²)

4. Limit of detection (LOD) หมายถึง ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารตัวอย่างที่วิธีวิเคราะห์ได้ ซึ่งมีสัญญาณเป็นสามเท่าของสัญญาณรบกวน ($S/N = 3$)

5. Limit of quantitation (LOQ) หมายถึง ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของการวิเคราะห์ในสารตัวอย่างที่สามารถหาได้ ซึ่งมีสัญญาณเป็นสิบเท่าของสัญญาณรบกวน($S/N = 10$)

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในงานวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้อง โดยนำเสนอตามหัวข้อต่อไปนี้

1. องค์ประกอบทางเคมีของไบยาสูบ
2. ฤทธิ์ของยา
3. การดูดซึมและการขับถ่าย
4. สารปรุงแต่งในบุหรี่
5. สารพิษจากการเผาไหม้บุหรี่
6. ยานชนิดใหม่ที่ใช้ในการอดบุหรี่
7. การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี
8. การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

1. องค์ประกอบทางเคมีของไบยาสูบ

ในการเผาไบยาสูบทำให้เกิดสารประกอบประมาณ 4,000 ชนิด(สุวรรณี จรรยาพูน . 2546) ชนิดที่เกิดขึ้นสามารถแยกได้เป็น 2 ภูมิภาค ได้แก่ ภูมิภาคแก๊ส และภูมิภาคของอนุภาคมูลสาร องค์ประกอบจากการสูบบุหรี่ที่แท้จริง ไม่เพียงแต่ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของไบยาสูบเพียงอย่างเดียว แต่ยังขึ้นอยู่กับกระบวนการที่มีความหนาแน่นเพียงใด ความยาวคอลัมน์ของไบยาสูบ ลักษณะของตัวกรองและกระดาษ และอุณหภูมิที่ใช้เผาไหม้ไบยาสูบ

องค์ประกอบของภูมิภาคแก๊สจะให้ผลที่ไม่พึงประสงค์ ได้แก่ แอมโมเนีย คาร์บอนไดออกไซด์ คาร์บอนมอนอกไซด์ ไนโตรเจนไดออกไซด์ ไฮโดรเจนไซยาไนด์ ไอสารประกอบซัลเฟอร์ไนโตรส ไดไนโตรซามีน สารประกอบที่มีไนโตรเจน ไอไฮโดรคาร์บอน แอลกอฮอล์ คีโตนและอัลดีไฮด์

องค์ประกอบของอนุภาคมูลสาร(อรรณน หุ่นดี . 2542) ได้แก่ นิโคติน, น้ำ และน้ำมันดิน คือ สิ่งที่ยังคงเหลืออยู่จากการไล่ความชื้น และแยกนิโคตินออกแล้ว ประกอบด้วยพอลิอะโรมาติก ไฮโดรคาร์บอน(polycyclic aromatic hydrocarbons) ในบางส่วนมีรายงานว่า เป็นสารก่อมะเร็งเช่น ไนโตรซามีน (nitrosamines) และอะโรมาติกเอมีน (aromatic amines) อนุภาคของสารที่ไม่เป็นไอ เหล่านี้ เชื่อว่าเป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็งในกระเพาะปัสสาวะ และพอลิไซคลิกไฮโดรคาร์บอน (polycyclic hydrocarbons) เช่น เบนโซไพรีน(benzo[a]pyrene) เป็นสารก่อมะเร็งที่ร้ายแรงอย่างยิ่ง

น้ำมันดินยังประกอบด้วยสารประกอบอื่นอีกเป็นจำนวนมาก รวมถึงไอออนของโลหะและสารประกอบกัมมันตรังสี เช่นโพลonium 210 (polonium 210)

องค์ประกอบที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพเป็นอย่างมาก คือ คาร์บอนมอนอกไซด์, นิโคติน และน้ำมันดิน สารที่สนับสนุนให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพจากการสูบบุหรี่ คือ อะโครลีน กรดไฮโดรไชนานิก กรดไนตริก ไนโตรเจนไดออกไซด์ ครีซอล และแอมฟีนอล(โสภณ จุโลหก . 2546)

2. ฤทธิ์ของยา

นิโคตินจะออกฤทธิ์โดยกระตุ้นชั่วคราวในระยะแรกเมื่ออยู่ในร่างกาย ตามด้วยการกดประสาท sympathetic และ parasympathetic การออกฤทธิ์แสดงได้โดยกลไกอย่างง่าย ๆ กล่าวคือ depolarized ทำให้ action potentials ไม่สามารถเกิดได้เนื่องจากมันต้องการ polarized postsynaptic ที่ระยะเริ่มแรก ดังนั้นจึงเกิดการขัดขวางการถ่ายทอดประสาทซึ่งเป็นผลจากการคงอยู่ ผลจากการกระตุ้นและกด synapse ของนิโคติน ไม่สามารถแก้ไขได้โดย atropine (Jacob; & Fehr.1987)

ในระยะแรกของการสูบบุหรี่ นิโคตินเป็นเหตุให้เกิดอาการคลื่นเหียน อาเจียน โดยกระตุ้นศูนย์ควบคุมการอาเจียนในก้านสมอง และตัวรับความรู้สึกสั่งการในกระเพาะอาหาร นิโคตินยังกระตุ้นไฮโปทาลามัส(hypothalamus) ให้มีการหลั่งฮอร์โมนแอนติไดูเรติก (antidiuretic hormone) ทำให้เกิดการกักของเหลว ลดความสามารถของไฟเบอร์ประสาทที่นำไปสู่ศูนย์กลางของกล้ามเนื้อ นำไปสู่การลดความตึงของกล้ามเนื้อ อีกทั้งยังเป็นสาเหตุให้น้ำหนักตัวลดลง โดยความอยากอาหารจะลดน้อยลง(Jacob; & Fehr .1987)

ผู้ที่สูบบุหรี่เป็นระยะเวลานาน จะมีระดับนิโคตินคงที่ในช่วง 30-40 นาโนกรัมนิโคติน/มิลลิลิตรพลาสมา เนื่องจากครึ่งชีวิตของนิโคตินนั้นสั้นมาก(2 ชั่วโมง) โดยระดับของนิโคตินที่เหลือในโลหิตและสมองต่ำมากหลังจากหลับตลอดคืน ในตอนเช้าผู้สูบบุหรี่จะมีอาการอยากยาเป็นอย่างมาก บุหรี่มวนแรกของเช้านั้นจะมีผลเป็นอย่างมากในการบรรเทาอาการอยากยาได้ชั่วขณะหนึ่ง

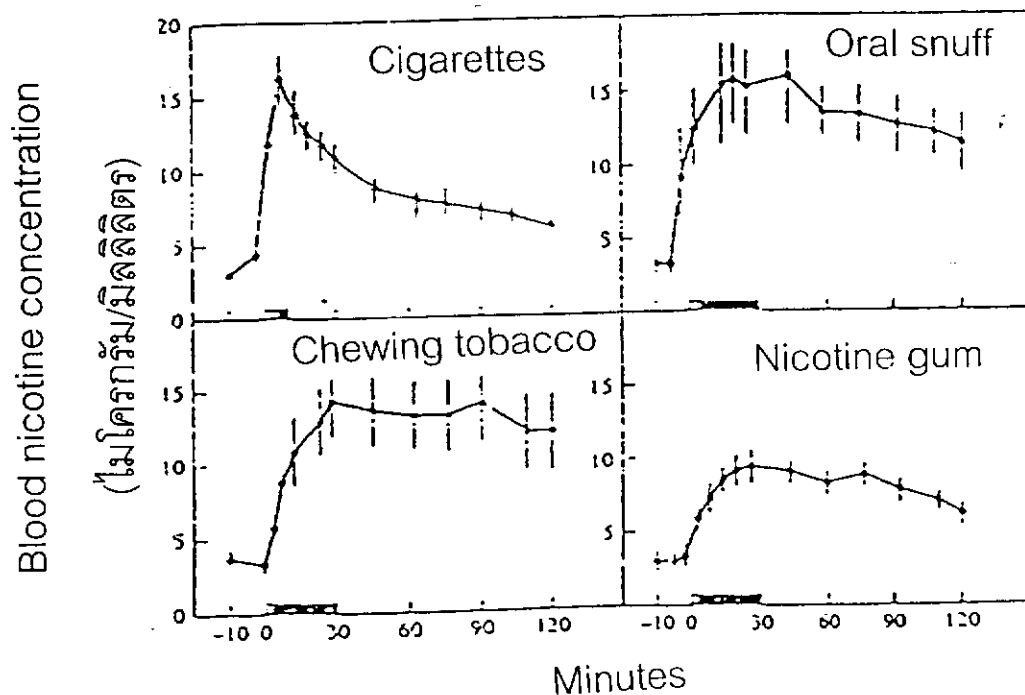
นอกจากนี้นิโคตินยังทำให้กล้ามเนื้อยึดโครงกระดูก ขา อ่อนเปลี้ยได้ และมีผลทำให้กล้ามเนื้อยึดโครงกระดูกหย่อน ซึ่งเป็นผลจากการหายใจเอาอัลคาลอยด์เข้าไป แต่อย่างไรก็ตามนิโคตินยังมีฤทธิ์ต่อปมประสาทมากกว่ากล้ามเนื้อยึดโครงกระดูก นอกไปจากฤทธิ์ข้างต้นนี้ เมื่อนิโคตินกระตุ้นยังมีผลทำให้ระบบประสาทส่วนกลางชา ด้วยขนาดยาเพียงเล็กน้อยสามารถเพิ่มอัตราการเต้นของหัวใจ ความดันโลหิต และการหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ(Jacob ; & Fehr .1987)

เมื่อนิโคตินเข้าสู่ร่างกายเป็นการเปลี่ยนแปลงที่ไม่สามารถคาดเดาได้ว่าจะเกิดอะไรขึ้นเนื่องจากนิโคตินไม่เพียงแต่เกิดอันตรกิริยากับ neuroeffector และ chemosensitive sites แต่

อัลคาลอยด์ยังเป็นตัวกระตุ้นและกดประสาท การตอบสนองท้ายสุดที่มีต่อระบบหนึ่งๆ แสดงถึงผลที่ให้ความแตกต่างกันและตรงข้ามกันของนิโคติน ตัวอย่างเช่น นิโคตินจะเพิ่มอัตราการเต้นของหัวใจ โดยการกระตุ้น sympathetic และยังสามารถชะลออัตราการเต้นของหัวใจ โดยการหยุดการทำงานของ sympathetic ผลของยาต่อตัวรับทางเคมีของ carotid และ aortic bodies และ modularly centers มีผลต่ออัตราการเต้นของหัวใจ

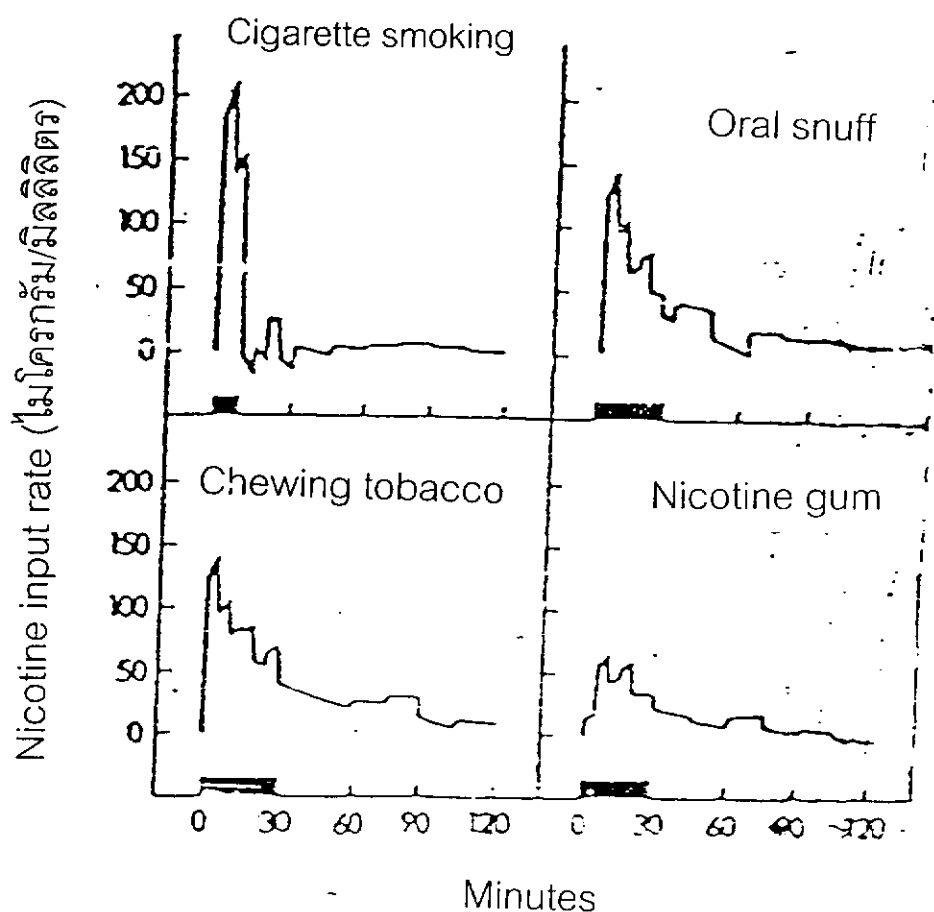
3.การดูดซึมและการขับถ่าย

นิโคตินในควันบุหรี่จะแขวนลอยกับอนุภาคของน้ำมันดินและดูดซึมได้อย่างรวดเร็วโดยทางปอด (Benowitz, et al. 1988: 23) นอกจากนี้ยังสามารถดูดซึมได้โดยผ่านทางท่อทางเดินอาหาร เยื่อบุแก้ม ท่อทางเดินหายใจ ผิวหนังและเนื้อเยื่อในกระเพาะอาหารจะมีการดูดซึมได้ดียิ่งขึ้นเมื่อน้ำย่อยภายในกระเพาะอาหารมีค่า pH สูงขึ้น แต่การดูดซึมทางลำไส้เล็กจะดีกว่า นิโคตินในควันบุหรี่ก่อนเข้าจะมีความเป็นกรดเมื่ออยู่ในปาก ทำให้การดูดซึมเป็นไปได้ไม่ดีนัก แต่ควันของไปป์ และซิการ์ ซึ่งมีความเป็นด่างมากกว่า (pH 8.5) แต่ความเข้มข้นของนิโคตินในกระแสโลหิตของผู้ที่ไม่ได้สูดเอาซิการ์เข้าไปจะมีค่าต่ำเมื่อเทียบกับผู้ที่สูดเอาควันบุหรี่เข้าไป พิจารณาความเข้มข้นของนิโคตินในกระแสโลหิตหลังจากการสูบบุหรี่โดยทั่วไปอยู่ที่ 25-50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และจากการทดสอบการใช้นิโคตินในอาสาสมัคร 10 คน พบว่าก่อนทำการทดสอบด้วยนิโคติน ความเข้มข้นของนิโคตินในกระแสโลหิตมีค่าเฉลี่ย 2.7 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนหลังจากการทำการทดสอบด้วยนิโคติน พบว่าความเข้มข้นของนิโคตินในกระแสโลหิตสูงสุดที่ตรวจวัดได้โดยมีค่าเฉลี่ย 14.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และความเข้มข้นของนิโคตินในกระแสโลหิตต่ำสุดพบในหลากหลายผลสมนิโคติน ซึ่งช่วงเวลาที่พบนิโคตินอยู่ในกระแสโลหิต หลังจากมีการใช้ หลากหลายผลสมนิโคติน และรูปแบบอื่นๆ ของใบยาสูบ แสดงดังภาพประกอบ 2



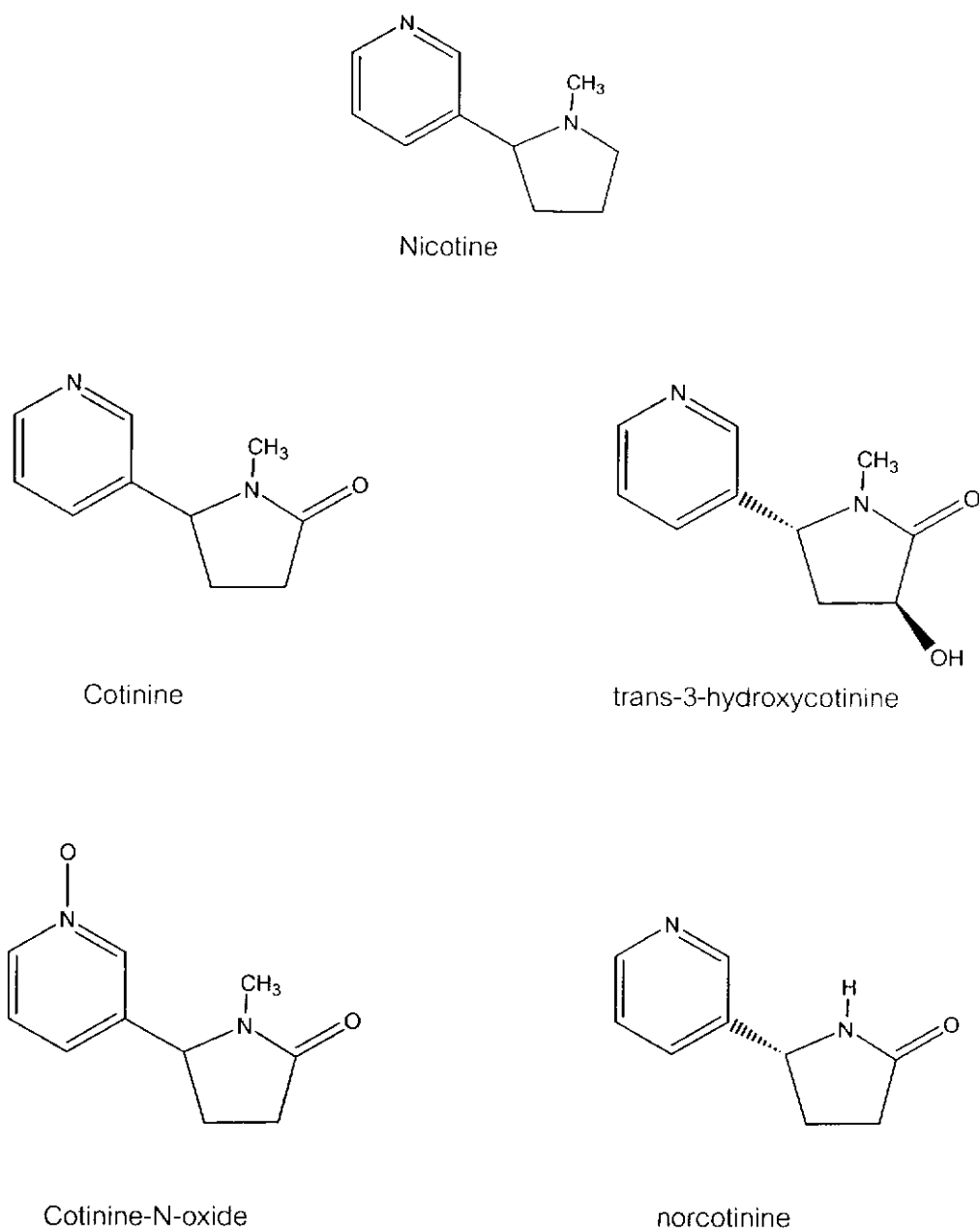
ภาพประกอบ 2 แสดงความเข้มข้นของนิโคตินในกระแสโลหิต ในช่วงระหว่างการสูบบุหรี่และหลังการสูบบุหรี่ การพ่นทางปากและจมูก การเคี้ยวใบยาสูบ และการใช้หมากฝรั่งผสมนิโคติน (2 มิลลิกรัม/ชิ้น จำนวน 2 ชิ้น) (Benowitz, et al. 1988: 24)

หลังจากการสูบบุหรี่ อัตราการดูดซึมสูงสุดเป็นไปอย่างรวดเร็วที่ 210 ไมโครกรัม/นาที่ และจะลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อเวลาผ่านไปเพิ่มขึ้น และจะไม่พบการดูดซึมของนิโคตินหลังจากเวลาผ่านไป 12 นาที่ ส่วนการดูดซึมของการพ่นทางปากและจมูก และการเคี้ยวใบยาสูบ จะคล้ายกันที่ 145 ไมโครกรัม/นาที่ ที่เวลา 5 นาที การดูดซึมจะมีความต่อเนื่องจนกระทั่งอัตราการดูดซึมเป็นศูนย์ เมื่อเวลาผ่านไปเกินกว่า 90 นาที สำหรับการดูดซึมของการใช้หมากฝรั่งผสมนิโคติน จะมีอัตราการเพิ่มระดับที่ช้ากว่าที่ 64 ไมโครกรัม/นาที่ ที่เวลา 10 นาที ด้วยการลดลงอย่างสมบูรณ์เกินกว่าเวลา 90 นาที แสดงดังภาพประกอบ 3



ภาพประกอบ 3 แสดงการเปรียบเทียบอัตราการดูดซึมนิโคตินโดยหลังจากเสพนิโคติน 4 วิธี
คือ การสูบบุหรี่ การพ่นทางปากและจุ่มก การเคี้ยวใบยาสูบ และการใช้หมากฝรั่งผสม
นิโคติน (2 มิลลิกรัม/ชิ้น จำนวน 2 ชิ้น)(Benowitz ,et al. 1988 : 24)

เมื่อเวลาผ่านไป 5-10 นาที(ครึ่งชีวิตของนิโคติน ประมาณ 2 ชั่วโมง) นิโคตินอาจจะถูก
ออกซิไดซ์ที่ตับเป็นสารเมทาบอลไลท์ ประมาณร้อยละ 80-90 นอกจากนี้ยังอาจเกิดที่ไตและปอดอีกด้วย
นิโคตินที่ได้จากการสูดเข้าไปทางลมหายใจจะถูกเมทาบอลไลท์ที่ปอดเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งโครงสร้าง
โมเลกุลของนิโคติน และเมทาบอลไลท์แสดงดังภาพประกอบ 4



ภาพประกอบ 4 โครงสร้างโมเลกุลของนิโคติน และเมทาบอลิท์

นิโคตินและเมทาบอลิท์ของนิโคตินนั้น ร่างกายสามารถขจัดออกได้อย่างรวดเร็วโดยไต อัตราการขจัดขึ้นอยู่ค่า pH ของปัสสาวะ ถ้า pH ของปัสสาวะมีความเป็นด่างจะสามารถขจัดได้น้อยลง

นิโคตินยังสามารถขับออกมาทางน้ำนมของหญิงที่สูบบุหรี่อีกด้วย ในรายที่มีการสูบบุหรี่อย่างหนัก อาจพบในปริมาณถึง 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร

4. สารปรุงแต่งในบุหรี่

สารปรุงแต่งที่พบในบุหรี่มีจำนวนมากกว่า 2,000 ชนิด บุหรี่แต่ละเครื่องหมายการค้าจะผสมสารปรุงแต่งประมาณไม่เกิน 100 ชนิดเท่านั้น ในจำนวนนี้พบว่ามีการบางชนิดเป็นสารอันตรายร้ายแรง ตัวอย่างสารปรุงแต่งที่พบว่ามีสารใส่ไปในบุหรี่และเป็นอันตรายต่อสุขภาพ ตัวอย่างเช่น แอมโมเนีย และสารประกอบของแอมโมเนีย โกลไก์ ถิ่นกวาง ไดเอทิล ไกลคอล (DEG) แอ๊ปเปิ้ล ฟร็อน-11 และ คีโมซอล (ทรงยศ ประมวลญาติ และคนอื่นๆ . 2546)

5. สารพิษจากการเผาไหม้บุหรี่

ในวันบุหรี่จะมีสารประกอบทางเคมีมากกว่า 4,000 ชนิด ในจำนวนนี้มีสารพิษและสารก่อมะเร็งไม่ต่ำกว่า 50 ชนิด นอกเหนือไปจากสารเสพติดและสารที่ก่อให้เกิดการระคายเคือง ตัวอย่างเช่น นิโคติน ทาร์(น้ำมันดิน) คาร์บอนมอนนอกไซด์ ไฮโดรเจนไซยาไนด์ ไนโตรเจนไดออกไซด์ แอมโมเนีย สารกัมมันตรังสี แร่ธาตุต่างๆ และโลหะหนักต่างๆ (คู่มือสำหรับทันตบุคลากร วิธีช่วยเหลือผู้ที่ต้องการเลิกบุหรี่. 2547)

6. ยาชนิดใหม่ที่ใช้ในการอดบุหรี่

นิโคติน เป็นสารในกลุ่มอัลคาลอยด์ที่ได้จากใบยาสูบที่มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Nicotiana tabacum* Linn. ซึ่งสารนิโคตินในบุหรือนั้นทำให้ผู้สูบบุหรี่รู้สึกเป็นสุขและต้องการได้รับสารนิโคตินเพิ่มมากขึ้น การสูบบุหรี่จะส่งผลกระทบต่อสุขภาพและทำให้เกิดโรคแทรกซ้อนต่าง ๆ มากมาย เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจตีบตัน โรคถุงลมโป่งพอง มะเร็งปอด โรคหลอดเลือดสมองตีบตัน โรคหลอดเลือดแดงแข็งตัว (arteriosclerosis) เป็นต้น ดังนั้นการอดบุหรี่จึงเป็นการลดอัตราเสี่ยงในการเกิดโรคเหล่านี้ ทั้งยังช่วยลดความสูญเสียในด้านสุขภาพ และ ค่าใช้จ่ายทางสาธารณสุข (health expenditure) อีกด้วย

เมื่อมีการสูบบุหรี่ สารนิโคตินในบุหรี่ยะผ่านเข้าสู่ปอดโดยตรงและถูกดูดซึมอย่างรวดเร็วเข้ากระแสโลหิตไปยังหัวใจ หลังจากนั้นหัวใจจะสูบฉีดโลหิตไปยังสมองทันทีภายใน 7 - 10 วินาทีหลังจากการสูบบุหรี่และมีความเข้มข้นในโลหิตสูงสุดภายใน 5 นาที (บุหรี่ 1 มวนมีสารนิโคตินอยู่ประมาณ 1 - 2 มิลลิกรัม) สารนิโคตินจะแพร่ผ่าน blood brain barrier โดยกระบวนการ 2 กระบวนการคือการแพร่แบบกระแสน้ำและการขนส่งกัมมันต์ เมื่อสารนิโคตินเข้าไปในสมองจะจับกับ nicotinic receptor บน ventral tegmental area (VTA) ใน mesolimbic pathway ทำให้ Na^+ channel ปิด และกระตุ้นให้

หลังสารสื่อประสาทต่างๆ ได้แก่ acetylcholine (Ach) norepinephrine (NE) dopamine serotonin ,glutamate และ B-endorphine (Jacob; & Fehr .1987)

Dopamine มีผลให้ผู้สูบบุหรี่มีความรู้สึกเป็นสุข (rewarding effect) จึงทำให้ผู้สูบบุหรี่มีความต้องการได้รับสารนิโคตินเพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ ดังนั้นผู้สูบบุหรี่ที่ไม่ได้รับสารนิโคตินจากการอดบุหรี่ จะทำให้ระดับของ dopamine ลดน้อยลงทำให้ผู้ที่ไม่ได้สูบบุหรี่มีความรู้สึกเป็นสุขน้อยลงจึงเกิดอาการอยากบุหรี่ที่เรียกว่า craving และต้องการสูบบุหรี่เพื่อจะรับความรู้สึกเป็นสุขต่อไป

Norepinephrine จะส่งผลให้เกิดการตื่นตัว ลดความอยากอาหาร และการกระตุ้นการสร้างพลังงาน ทำให้ผู้ที่สูบบุหรี่รู้สึกกระปรี้กระเปร่า มีความสามารถในการทำงานมากขึ้นและเมื่อมีสารสื่อ NE น้อยลงจากการอดบุหรี่จะทำให้เกิดอาการถอนยา ดังนั้นผู้สูบบุหรี่จึงต้องการสูบบุหรี่ต่อไปเพื่อลดอาการดังกล่าว ส่วนสาร B-endorphine มีฤทธิ์ลดอาการวิตกกังวล และ ความเครียดได้

การอดบุหรี่ทำให้เกิดอาการถอนยาซึ่งมีผลดังนี้

ก.ผลทางจิตใจ ได้แก่ อาการหงุดหงิด อุนเฉียว วิตกกังวล สมาธิสั้น อยากสูบบุหรี่ และ กระวนกระวายใจ

ข.ผลทางร่างกาย ได้แก่ ห้ามนึก หน้ามืด วิงเวียน ปวดศีรษะ และเหงื่อออก

ในระยะแรกหลังจากการอดบุหรี่จะทำให้ผู้อดบุหรี่เกิดอาการถอนยา ซึ่งเริ่มมีอาการหลังจากสูบบุหรี่วันสุดท้าย 2-3วัน และจะค่อย ๆ ดีขึ้นในหลายสัปดาห์ มีการเปลี่ยนแปลงอารมณ์โดยมักเกิดภาวะซึมเศร้าในผู้ที่อดบุหรี่และพบว่าผู้ป่วยที่อดบุหรี่จะมีน้ำหนักตัวเพิ่มมากขึ้น โดยเฉลี่ยประมาณ 3 - 4 กิโลกรัม ซึ่งปัญหาในการอดบุหรี่สามารถแก้ไขได้โดยการให้ nicotine ทดแทน (nicotine replacement therapy; NRT) และการปรับพฤติกรรมของผู้อดบุหรี่ (ทรงยศ ประมวลญาติ และคนอื่น ๆ. 2546)

การอดบุหรี่ (Smoking cessation)

1. การอดบุหรี่แบบไม่ใช้ยา เป็นการรักษาโดยให้ความรู้ทั่ว ๆ ไปเกี่ยวกับประโยชน์และโทษของการสูบบุหรี่ การให้กำลังใจ การเตรียมแผน การอดบุหรี่อย่างชัดเจน และช่วยประเมินสาเหตุของการล้มเหลวจากการอดบุหรี่ ให้ช่วงเวลาพักก่อนเริ่ม ทำการอดบุหรี่ใหม่

2. การอดบุหรี่โดยใช้ยา มียาที่ใช้ในการอดบุหรี่ 2 กลุ่ม คือ nicotine replacement therapy และยาอื่น ๆ

2.1. Nicotine replacement therapy (NRT) การใช้นิโคตินทดแทนจากการสูบบุหรี่จะช่วยลดอาการถอนยา ซึ่งจะช่วยให้ผู้ป่วยสามารถหยุดการติดยาทางจิตใจ (psychological dependence) ลดความพึงพอใจของการสูบบุหรี่ เช่น อารมณ์ ความตั้งใจ และความสามารถในการทนต่อ

ความเครียดนิโคตินทดแทนมีด้วยกันหลายรูปแบบ คือ nicotine polacrilex gum, nicotine transdermal skin patch, nicotine nasal spray และ nicotine oral inhaler จากการใช้น RT จะพบว่าผลของการรักษายังไม่เป็นที่น่าพอใจนัก จึงมีแนวคิดในการใช้ยาที่เกี่ยวข้องกับสารสื่อ dopa นาที่ และ NE ซึ่งเป็นสารสื่อที่ทำให้เกิด nicotine dependence (Anonymous. 1999: 52-54)

2.2. Bupropion Bupropion เป็นยาขนานแรกที่ไม่เป็นนิโคตินที่นำมาใช้ในการอดบุหรี่ (ทรงยศ ประมวลญาติ และคนอื่นๆ. 2546) โดยมีรูปแบบเป็นยาเม็ดออกฤทธิ์เนิ่นนาน (sustained release) เป็นยาในกลุ่มต้านอาการซึมเศร้าโดยได้รับอนุมัติจากองค์การอาหารและยาแห่งประเทศสหรัฐอเมริกา ให้จำหน่ายได้

7. การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

เฟเยอราเบนด์ เลวิตต์ และรัสเซลล์ (Feyerabend; Levitt; & Russell. 1975:434-436) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในพลาสมาของผู้สูบบุหรี่ และไม่สูบบุหรี่ สกัดตัวอย่างพลาสมาด้วย ไดเอทิลอีเทอร์ (diethyl ether) ใช้ควิโนลิน (quinoline) เป็นสารอ้างอิงมาตรฐานภายใน (internal standard) วิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี ผลการวิจัยพบปริมาณนิโคตินของผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ อยู่ในช่วง 2-5 นาโนกรัม/มิลลิลิตร และผู้ที่สูบบุหรี่อยู่ในช่วง 7-30 นาโนกรัม/มิลลิลิตร สูงกว่าผู้ไม่สูบบุหรี่อย่างชัดเจน นอกจากนี้ผลการวิจัยพบว่าค่าเวลาริเทนชันของควิโนลิน และนิโคติน มีค่าเท่ากับ 2.8 นาที และ 3.6 นาที ตามลำดับ ปริมาณนิโคตินต่ำสุดที่วัดได้ เท่ากับ 0.1 นาโนกรัม/มิลลิลิตร และร้อยละการกลับคืน เท่ากับ 75

นอกจากนี้ เฟเยอราเบนด์ เลวิตต์ และรัสเซลล์ ยังศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในพลาสมา ปัสสาวะ น้ำลาย และน้ำนมของผู้สูบบุหรี่ โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี การวิจัยครั้งนี้ใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี การวิจัยครั้งนี้ใช้ควิโนลินเป็นสารอ้างอิงมาตรฐานภายในเช่นเดียวกัน แต่เปลี่ยนชนิดตัวทำละลายในขั้นตอนการสกัดเป็นบิวทิลอะซิเตต (butyl acetate) ผลการวิจัยพบว่าปริมาณนิโคตินในพลาสมา ปัสสาวะ น้ำลาย และน้ำนมของผู้สูบบุหรี่ 26.9 21.0 34.0 และ 31.1 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ปริมาณนิโคตินต่ำสุดที่ตรวจวัดได้เท่ากับ 0.1 นาโนกรัม/มิลลิลิตร แต่ค่าเวลาริเทนชันของควิโนลิน และ นิโคติน มีค่าเท่ากับ 2.5 นาที และ 3.0 นาที ตามลำดับ

ออกเดน (Ogden 1989 : 1002-1006) ใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในอากาศที่มีการสูบบุหรี่ การเก็บตัวอย่างวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยใช้ปั๊มดูดอากาศบริเวณที่มีการสูบบุหรี่ ผ่านหลอดแก้วเก็บตัวอย่างที่เคลือบด้วยเรซิน XAD-4 โดยเก็บตัวอย่างอากาศนาน 2 ชั่วโมง ทุกจุดของรอยต่อปิดทับด้วย polyurethane นำเรซิน XAD-4 ชะด้วยเอทิลอะซิเตต : ไดเอทิลเอไมด์

(ethylacetate : triethylamide) (99.90:0.01) เดิมควิโนลินเป็นสารอ้างอิงมาตรฐานภายใน ใช้คอลัมน์ ชนิด DB-5 ตรวจวัดด้วย nitrogen phosphorus detector ผลการวิจัยพบค่าเวลารีเทนชันของ ควิโนลิน และ นิโคติน มีค่าเท่ากับ 1.9 นาที และ 2.6 นาที ตามลำดับ ปริมาณนิโคตินที่พบอยู่ในช่วง 4.31-5.86 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ปริมาณนิโคตินต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้เท่ากับ 0.1 นาโนกรัม/มิลลิลิตร กราฟมาตรฐานมีค่าประสิทธิภาพสหสัมพันธ์(r) เท่ากับ 0.990 และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน สัมพัทธ์ (RSD) อยู่ในช่วง 4.4-11.1 เปอร์เซ็นต์

ออกเดน และคนอื่นๆ (Ogden 1989: 1005-1008) ศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณนิโคติน ในอากาศที่มีการสูบบุหรี่ การเก็บตัวอย่างและการสกัดเหมือนกับการทดลองที่ผ่านมา (Ogden, 1989: 1002-1006) วิเคราะห์ปริมาณด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี โดยใช้คอลัมน์ DB-WAX หัววัดไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ค่าเวลารีเทนชันของควิโนลิน และ นิโคติน มีค่าเท่ากับ 1.9 นาที และ 2.6 นาที ตามลำดับ ปริมาณนิโคตินต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้เท่ากับ 0.10 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน สัมพัทธ์ (RSD) อยู่ในช่วง 0.8-3.2 และร้อยละการกลับคืนเท่ากับ 99.3 ± 2.7

อาเบด และคนอื่นๆ (Abad, et al. 1993:3227-3231) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินใน อากาศที่มีการสูบบุหรี่ โดยใช้เทคนิค ELISA เปรียบเทียบกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี โดยสังเคราะห์ จาก 3-(hydroxymethyl) nicotine ได้เป็น heptane เชื่อมต่อกับ bovine serum albumin ที่นำไปฉีด ให้หนู และนำไปสร้าง Mab จากนั้นนำ Mab ไปเชื่อมกับเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (peroxidase) เพื่อไว้ ตรวจสอบโดยใช้สับสเตรทของเอนไซม์ด้วย o-phenylenediamine ได้เป็นสารละลายที่มีสี วัดการ ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร ผลการวิจัยพบว่าเทคนิค ELISA มีความจำเพาะชัดเจน และเที่ยงตรง ปริมาณนิโคตินต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ เท่ากับ 70 นาโนกรัม/มิลลิลิตร กราฟมาตรฐานมีค่า สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.997 ส่วนเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี กราฟมาตรฐานมีค่า สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.886

เบอร์โทนี และคนอื่นๆ (Bertoni, et al. 1996:296-300) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน และ 3-ethylpyridine โดยใช้หลอดทดลองที่บรรจุแกรไฟต์ ใช้ปั๊มดูดอากาศบริเวณบ้านที่มีการสูบบุหรี่ โดยการทำให้ซอร์ฟชัน สกัดด้วยน้ำ วิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี ใช้คอลัมน์ C-18 หัววัดไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ผลการวิจัยพบว่าปริมาณนิโคตินที่ตรวจพบอยู่ในช่วง 5-20 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ปริมาณ นิโคตินต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้เท่ากับ 2.5 นาโนกรัม/มิลลิลิตร กราฟมาตรฐานมีค่าสัมประสิทธิ์ สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.980 และร้อยละของประสิทธิภาพวิธี เท่ากับ 85

ฮาเกอร์ และเนสเซนเนอร์ (Hager; & Nissener. 1997:163-174) ศึกษาการวิเคราะห์หา ปริมาณนิโคตินและการกระจายตัวของนิโคตินในวัฏภาคแก๊สและวัฏภาคอนุภาค โดยเก็บตัวอย่าง อากาศในบริเวณที่มีการสูบบุหรี่ เข้าใน filter holder ภายในบรรจุ filter ต่อกับ filter holder ที่เคลือบ

ด้วยกรดเบนซีนซัลโฟนิค(benzenesulfonic acid) วิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในวัฏภาคอนุภาค โดยนำ filter มาสกัดด้วยน้ำ ปรับ pH ของสารละลายตัวอย่างให้เป็นเบสด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน นำชั้นไดคลอโรมีเทนไประเหย และเติม n-hexadecane เป็นสารมาตรฐานอ้างอิง วิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในวัฏภาคแก๊ส โดยนำ filter holder ชะด้วยน้ำ ปรับ pH ของสารละลายให้เป็นเบสด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน นำชั้นไดคลอโรมีเทนไประเหย และเติม n-hexadecane เป็นสารมาตรฐานอ้างอิง นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี หัววัดด้วย flame ionization detector ผลการวิจัยพบว่า ปริมาณนิโคตินต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ เท่ากับ 5 นาโนกรัม/มิลลิลิตร และร้อยละของประสิทธิภาพวิธี เท่ากับ 101.6 ± 36

เพนคอฟ และคนอื่นๆ (pankow, et al. 1997:2428-2433) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในอากาศบริเวณที่มีการสูบบุหรี่โดยผ่านแก๊สแอมโมเนีย เก็บตัวอย่างโดยใช้ปั๊มดูดอากาศบริเวณ ที่มีการสูบบุหรี่เข้าไปใน filter holder ภายในบรรจุ filter ต่อกับ denuder ที่เคลือบด้วยสารละลาย กรดออกซาลิก เก็บตัวอย่าง 3 ชั่วโมง 35 นาที นำส่วนนิโคตินในวัฏภาคอนุภาคมามาเติมสารละลายมาตรฐานนิโคติน ปรับ pH ให้เป็นกรด สกัดด้วยน้ำ แล้วปรับ pH ให้เป็นเบส สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน นำชั้นไดคลอโรมีเทนไประเหยให้เหลือปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เติมแนฟทาซีนเป็นสารมาตรฐานอ้างอิง นำสารละลายที่ได้วิเคราะห์ปริมาณด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี ส่วนนิโคตินในวัฏภาคแก๊ส นำ denuder เติมสารละลายมาตรฐานนิโคตินเพื่อหาค่าร้อยละการกลับคืน สกัดด้วยน้ำ นำสารละลายที่ได้ไประเหยให้เหลือปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เติมแนฟทาซีน นำสารละลายที่ได้วิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี

การทำดีซอร์ฟชัน นำ filter ETS บรรจุใน filter holder ต่อกับ filter holder อีกอันหนึ่ง ซึ่งภายในบรรจุ filter อันใหม่ ให้ปั๊มเป่าสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ นำ filter เติมสารละลายมาตรฐานนิโคติน ปรับ pH ให้เป็นเบสด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี ผลการวิจัยพบว่าการทำดีซอร์ฟชัน ค่าคงที่ของการกระตัวของนิโคตินในวัฏภาคอนุภาคต่อวัฏภาคแก๊ส (K_p) ลดลง 100 เท่า

8. การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบ

สมรรถนะสูง

พาเวียนเนน และ บาร์โลว์ (Parvianen; & Barlow. 1988:216-221) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน conicotine และ 3-pyridylcabinol ในปัสสาวะของคนที่อยู่ในบริเวณที่มีการสูบบุหรี่ ผู้วิจัยได้นำตัวอย่างปัสสาวะเติม sodium acetate buffer สารละลายโปแตสเซียมโซดาไนต์

(potassium cyanide) และ สารละลายคลอไรด์ที่ ปรับ pH ให้เป็นกรด เติมน้ำเค็มซัลเฟตใน บิวทานอล(butanol) นำสารละลายชั้นบนวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะ สูง โดยใช้คอลัมน์ C-18 เฟสเคลื่อนที่ คือ น้ำ:เมทานอล:กรดเพนเทนซัลโฟนิค (3.5:5.5:1.0) อัตราการ ไหลของเฟสเคลื่อนที่ คือ 1.0 มิลลิลิตร/นาที ผลการวิจัยพบว่าเวลารีเทนชันของนิโคติน เท่ากับ 4.5 นาที ปริมาณนิโคตินที่ตรวจวัดได้อยู่ในช่วง 7.0-15 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ปริมาณนิโคตินต่ำสุดที่ สามารถตรวจวัดได้ เท่ากับ 1.0 นาโนกรัม/มิลลิลิตร กราฟมาตรฐานมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่า กับ 0.995

รอป และคนอื่นๆ (Rop, et al. 1993:302-309) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินและ อนุพันธ์ของนิโคตินในปัสสาวะของผู้สูบบุหรี่ ผู้วิจัยเก็บตัวอย่างปัสสาวะของผู้สูบบุหรี่ให้หลอด เซนติฟิวจ์ ปรับ pH ให้เป็นเบส นำสารละลายสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม : เมทานอล (95:5) นำชั้นสาร ละลายอินทรีย์ปรับ pH ให้เป็นกรด นำไประเหยและละลายด้วยกรดฟอสฟอริก นำสารละลายที่ได้ล้าง ด้วยอีเทอร์ นำสารละลายชั้นกรดฟอสฟอริกวิเคราะห์ พบว่าค่าปริมาณนิโคติน conicotine 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 และวอง (Dash ;& Wong. 1996: 81-85) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินใน หมากฝรั่งผสมนิโคติน โดยผู้วิจัยนำ หมากฝรั่งผสมนิโคติน แช่ในเฮกเซน แล้วสกัดด้วย methanol citrate phosphate buffer (15:85 v/v) นำสารละลายมาวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินด้วยเครื่องโครมาโท- กราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง โดยใช้คอลัมน์ C-18 ตรวจวัดด้วยอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิล ที่ ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร ใช้เฟสเคลื่อนที่ชนิดเดียวกับ สารละลายที่ใช้ในการสกัด อัตราการ ไหลของเฟสเคลื่อนที่ เท่ากับ 0.7 มิลลิลิตร/นาที เวลารีเทนชันของนิโคติน เท่ากับ 4.4 นาที กราฟมาตร ฐานที่ใช้งานอยู่ในช่วง 1.3-4.4 และกราฟมาตรฐานมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.999 ปริมาณ ต่ำสุดที่วัดได้ เท่ากับ 0.06 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

สวอบ และคนอื่นๆ (Svob Troje Z.,et al. 1997 : 101-107)ศึกษาวิธีการสกัดและวิเคราะห์ หาปริมาณนิโคติน โดยจะสกัดด้วยกรดแอสติก : เมทานอล (1:4) แล้วนำไป ultrasonic นาน 10 นาที กรองด้วยบุชเนอร์ นำสารละลายที่กรองได้ไปผ่าน C-18 ซะด้วยเอทานอล นำสารละลายที่ได้ไปเติม โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 40% ให้ pH ประมาณ 12 นำไปกรองผ่านactivated sorbent นำไประเหย จนแห้ง ละลายด้วยเมทานอล นำสารละลายมาวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของ เหลวแบบสมรรถนะสูง โดยใช้คอลัมน์ C-18 หัววัดอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 254 นาโน

เมตร โดย 2 นาทีแรกจะใช้เฟสเคลื่อนที่คือ diethylaminophosphate buffer pH 7.56 หลังจากนั้นเติม เมทานอล-อะซีโตรไนไตรล์ (1:1) 40 % ปล่อยให้สารละลายเฟสเคลื่อนที่อีก 4 นาที จากนั้นเพิ่ม เมทานอล-อะซีโตรไนไตรล์ (1:1) ร้อยละ 70 อีก 9 นาที ด้วยอัตราการไหล 0.7 มิลลิลิตร/นาที เวลาที่ เหน้นของนิโคติน เท่ากับ 15.2 นาที ตรวจพบนิโคตินที่สกัดได้ร้อยละ 95 ± 3 กราฟมาตรฐานมีค่า สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9988

การวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ได้สรุป ดังตาราง 1

ตาราง 1 สภาวะของเครื่อง, ร้อยละการกลับคืน และ limited of detection ของเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

ชื่อผู้วิจัย	ตัวอย่าง	สภาวะเครื่อง	ร้อยละการกลับคืน	LOD
พาเวียนเนน และ บารโลว์ (1988)	ปัสสาวะผู้สูบบุหรี่	-คอลัมน์ C-18 -วิเคราะห์แบบไอโซครีติก -เฟสเคลื่อนที่ น้ำ:เมทานอล: กรดเพนแทนซัลโฟนิก (3.5:5.5:1.0) -อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตร/นาที	-	1.0ng/mL
รอฟและคนอื่นๆ (1993)	ปัสสาวะผู้สูบบุหรี่	-คอลัมน์ C-18 -เครื่องตรวจวัด UV-VIS -ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร	55-70%	-
ดาสและวอง (1996)	หมากฝรั่งผสมนิโคติน	-คอลัมน์ C-18 -เฟสเคลื่อนที่ methanol-citrate phosphate buffer (15:85) -เครื่องตรวจวัด UV-VIS -ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร -อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 0.7 มิลลิลิตร/นาที	-	0.06 μ g/mL
สวอบและคนอื่นๆ (1997)	นิโคตินในใบยาสูบ	-คอลัมน์ C-18 -วิเคราะห์แบบเกรเดียนต์ -เฟสเคลื่อนที่ เมื่อ A คือ diethylaminophosphate buffer (pH 7.56) และ B คือ A ผสมกับ methanol-acetonitrile (1:1) 40% -เครื่องตรวจวัด UV-VIS -ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร -อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 0.7 มิลลิลิตร/นาที	95 $\pm$ 3%	-

บทที่ 3

การทดลอง

วิธีดำเนินการวิจัยประกอบด้วย 6 ขั้นตอน ดังนี้

1. การสกัดนิโคตินจากใบยาสูบ
2. กระบวนการผลิตหมักฝรั่งผสมนิโคติน
3. การศึกษาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินมาตรฐาน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง
4. การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในหมักฝรั่งผสมนิโคติน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง
5. การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร ก่อนและหลังการเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง
6. การศึกษาชีวสมมูล
7. สถิติเพื่อการวิจัย

สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

สารเคมี และวัสดุที่ใช้

- | | |
|--|------------------------|
| 1. อะซิโตนไตรัล | HPLC grade (LAB SCAND) |
| 2. เมทานอล | HPLC grade (LAB SCAND) |
| 3. คลอโรฟอร์ม | AR grade (LAB SCAND) |
| 4. โซเดียมไฮดรอกไซด์ | AR grade |
| 5. โซเดียมคลอไรด์ | AR grade |
| 6. โซเดียมคาร์บอเนต | AR grade |
| 7. โซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส | AR grade |
| 8. กรดเปอร์คลอริก | |
| 9. 4-คลอโรเมทริกซ์ควิโนลีน | |
| 10. ไดเอทิลอะซีเตท | |
| 11. เฮกเซน | |
| 12. โมโนเบสิก โซเดียมฟอสเฟต | |
| 13. กรดซิตริก แอนไฮดรัส | |
| 14. ใบยาสูบหั่นฝอย จากร้าน ป.เวชภัณฑ์ อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี | |

15. หมากฝรั่งผสมนิโคติน

16. buffer pH 5.05 (sodium acetate:methanol:triethylamine (88:12:0.5) ปรับ pH 5.05 ด้วย glacial acetic acid)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องวัด pH (Metrohm. 713)
2. เครื่องชั่งตวงวัด 4 ตำแหน่ง (Precisa)
3. กรวยบูชเนอร์
4. ชุดกรองลดความดัน (Satorius)
5. เครื่องกลั่นภายใต้ความดัน (Buchi Rotavapor R-114)
6. เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (Hewlett Packard)
 - หัววัด : UV-Vis photodiode array (Agilent 1100 Series)
 - คอลัมน์ : อนุภาคที่บรรจุ Hypersil ODS (C-18) ขนาดอนุภาค 5 ไมโครเมตร คอลัมน์ขนาด 4.0 × 125 มิลลิเมตร (Agilent)
7. เครื่องอินฟราเรดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
8. เครื่องนิวเคลียร์แมกนีติกเรโซแนนซ์
9. แผ่นกระจก
10. Nylon syringe filter pore size 0.20 μm 13 mm (Alltech)
11. Nylon filter pore size 0.45 μm 47 mm (Alltech)
12. Syringe ขนาด 500 ไมโครลิตร (Hamilton)
13. autopipett ขนาด 1,000 ไมโครลิตร

1. การสกัดนิโคตินจากใบยาสูบ

1.1 ชั่งใบยาสูบหนัก 50 กรัมใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เติมน้ำจนท่วมใบยาสูบ นำไปต้มนาน 20 นาที เติมนิโคตินคาร์บอเนต 10 กรัมต้มต่ออีก 10 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำไปกรอง

1.2 เติมนิโคตินคาร์บอเนตหนัก 10 กรัมลงใน ข้อ 1 แล้วต้มต่ออีก 10 นาที เสร็จแล้วยกลง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น กรองแยกเอากากยาสูบออก

1.3 นำสารละลายยาสูบที่ได้ไปปรับ pH เป็น 12 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ แล้วนำไปใส่ลงกรวยแยก สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม 2 ครั้งๆ ละ 100 มิลลิลิตร ถ้าเกิดอิมัลชันให้เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์อิ่มตัว

1.4 แยกเอาชั้นคลอโรฟอร์มออก เติมนิโคตินซัลเฟตแอนไฮดรัส แล้วนำไปกรองด้วยกรวยบุชเนอร์

1.5 นำสารละลายที่ได้ไประเหยให้แห้งที่ 60 องศาเซลเซียส ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

1.6 นำสารที่สกัดได้ไปตรวจสอบด้วย แผ่น โครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง โดยใช้เฟสเคลื่อนที่ คือ คลอโรฟอร์ม: เฮกเซนในอัตราส่วน 1:2 แล้วนำสารที่แยกได้มาละลายในคลอโรฟอร์ม กรอง แล้วนำไประเหยให้แห้ง ซึ่งหาปริมาณของสารที่แยกได้แต่ละชนิด

1.7 นำสารที่แยกได้จากแผ่น โครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง มาพิสูจน์โครงสร้าง โดยใช้ เครื่องอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี และ เครื่องนิวเคลียร์แมกนีติกเรโซแนนซ์ นำสเปกตรัมที่ได้เทียบกับสเปกตรัมของสารมาตรฐานนิโคติน

2. กระบวนการผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคติน (ดัดแปลงมาจาก Phillips, G.O, Wedlock, D.J& Williams, P.A. (1985))

2.1 ส่วนผสมหมากฝรั่งผสมนิโคติน (2 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส)

1. น้ำตาลไอซิ่ง	77	กรัม
2. กลูโคสไซรัป	20	กรัม
3. กัมเบส	100	กรัม
4. เนยเทียม	0.3	กรัม
5. เมนทอล	0.5	กรัม
6. สารแต่งกลิ่น	1.8	กรัม
7. นิโคติน	0.4	กรัม

2.2 ส่วนผสมหมากฝรั่งผสมนิโคติน (4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส)

1. น้ำตาลไอซิ่ง	77	กรัม
2. กลูโคสไซรัป	20	กรัม
3. กัมเบส	100	กรัม
4. เนยเทียม	0.3	กรัม
5. เมนทอล	0.5	กรัม
6. สสารแต่งกลิ่น	1.8	กรัม
7. นิโคติน	0.8	กรัม

วิธีการผลิต

1. ชั่ง น้ำตาลไอซิ่ง กลูโคสไซรัป เนยเทียม และ เมนทอล ให้ได้น้ำหนักตามข้างต้น
2. ชั่งกัมเบสให้มีน้ำหนัก ดังข้างต้น แล้วนำไปให้ความร้อนโดยใส่หม้อหนึ่ง จนนิ่ม
หลังจากนั้น นำส่วนผสมที่ชั่งทั้งหมดในข้อ 1 ใส่รวมกันแล้วนวดจนกระทั่งเป็นเนื้อเดียวกัน
3. ชั่งสารแต่งกลิ่น และนิโคติน ตามน้ำหนักข้างต้น แล้วผสมกับกัมเบสที่นวดเสร็จแล้ว
นวดต่อให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกันหมด แล้วนำไปขึ้นรูป หมากฝรั่งที่ได้จะมีความเข้มข้นของ
นิโคติน 2 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส
4. ทำซ้ำเช่นเดิมแต่เปลี่ยนปริมาณนิโคตินเป็น 0.8 กรัม จะได้หมากฝรั่งที่ได้จะมีความ
เข้มข้นของนิโคติน 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส

3. การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคติน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบ สมรรถนะสูง

3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานนิโคตินสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณนิโคติน ในหมากฝรั่งผสมนิโคติน

3.1.1 ปิเปตสารละลายนิโคตินปริมาตรเล็กน้อย (บันทึกน้ำหนัก) ใส่ลงในขวดวัด
ปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น (คำนวณให้อยู่ในหน่วยไมโครกรัมต่อ
มิลลิลิตร)

3.1.2 นำสารละลายในข้อ 3.1.1 มาเจือจางความเข้มข้น ให้ได้สารละลายนิโคตินเข้มข้น
1.0, 5.0, 10.0, 15.0 และ 20.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

3.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานนิโคตินสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัครมากฝรั่งผสมนิโคติน ก่อนและหลังการเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

3.2.1 ปิเปตสารละลายนิโคตินปริมาตรเล็กน้อย (บันทึกน้ำหนัก) ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น: กรดเปอร์คลอริก เข้มข้น 35 เปอร์เซ็นต์ (95: 5) (คำนวณให้อยู่ในหน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

3.2.2 นำสารละลายในข้อ 3.2.2 มาเจือจางความเข้มข้น ให้ได้สารละลายนิโคตินเข้มข้น 1.0, 5.0, 10.0, 15.0 และ 20.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

3.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐานนิโคตินสำหรับการหาลอยละการกลับคืนเพื่อวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

3.3.1 ปิเปตสารละลายนิโคตินปริมาตรเล็กน้อย (บันทึกน้ำหนัก) ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น: กรดเปอร์คลอริก เข้มข้น 35 เปอร์เซ็นต์ (95: 5) (คำนวณให้อยู่ในหน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

3.3.2 นำสารละลายในข้อ 3.2.2 มาเจือจางความเข้มข้น ให้ได้สารละลายนิโคตินเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

3.4 สภาวะของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ในการวิเคราะห์นิโคติน

3.4.1 วิเคราะห์แบบไอโซเครติก โดยใช้สารละลายเฟสเคลื่อนที่ คือ sodium acetate:methanol:triethylamine(88:12:0.5) ปรับ pH 5.05 ด้วย glacial acetic acid

3.4.2 อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 0.9 มิลลิลิตร/นาที

3.4.3 ตรวจวัดด้วยหัววัดอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

3.5 การหาช่วงที่เป็นเส้นตรง

3.5.1 เตรียมสารละลายนิโคติน เข้มข้น 1.0, 5.0, 10.0, 15.0 และ 20.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

3.5.2 นำสารละลายมาตรฐานนิโคตินที่ได้ กรองด้วย Nylon syringe filter ที่มีขนาดรูพรุน 0.20 ไมโครเมตร 1 ครั้ง

3.5.3 นำสารละลายที่ได้ฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ความเข้มข้นละ 100 ไมโครลิตร แล้วตรวจวัดด้วยหัววัดอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

3.5.4 นำพื้นที่พีคที่ตรวจวัดได้ กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานนิโคตินไปสร้างกราฟมาตรฐาน ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปหาค่าทางสถิติ (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าความแปรปรวน) และสมการเส้นตรงของการถดถอยของกราฟมาตรฐาน เพื่อคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์

3.6 วิธีการหาค่าร้อยละการกลับคืน (percent recovery) เพื่อวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (อัจฉรา บัวชื่น .2545)

3.6.1. ปิเปตสารละลายนิโคตินเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จำนวน 5 มิลลิลิตร เติมลงในสารละลายส่วนใสที่แยกจากหมากฝรั่งที่ไม่ผสมนิโคตินในกรวยแยก แล้วทำการสกัดตามขั้นตอนที่ 1

3.6.2 นำสารละลายที่สกัดได้แล้ว ไปกรองด้วย Nylon syringe filter ที่มีขนาดรูพรุน 0.20 ไมโครเมตร แล้วฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ตรวจวัดด้วยหัววัดอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

3.6.3 นำพื้นที่พีคที่ได้ไปอ่านค่าความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน แล้วนำไปคำนวณหาร้อยละการกลับคืน

3.6.4. ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง เพื่อหาค่าทางสถิติ

$$\text{ร้อยละการกลับคืน} = \frac{\text{Amount found} \times 100}{\text{Amount taken}}$$

Amount found คือ ปริมาณของสารที่ตรวจพบทั้งหมด(ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

Amount taken คือ ปริมาณสารที่เติมลงไป(ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

3.7 วิธีการหาละการกลับคืนเพื่อวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

3.7.1. เตรียมสารละลายนิโคตินความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยเปิดนิโคตินเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จำนวน 200 ไมโครลิตร เติมลงในพลาสมา แล้วทำตามขั้นตอนที่ 6

3.7.2. นำสารละลายส่วนใส (supernatant) ที่ได้ ไปกรองด้วย Nylon syringe filter ที่มีขนาดรูพรุน 0.20 ไมโครเมตร แล้วฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ตรวจวัดด้วยหัววัดอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

3.7.3. นำพื้นที่พีคที่ได้ไปอ่านค่าความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน แล้วนำไปคำนวณหาละการกลับคืน

3.7.4. ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง เพื่อหาค่าทางสถิติ

3.8 การหาความสามารถของวิธีที่สามารถวิเคราะห์ได้ที่มีความเข้มข้นต่ำสุด

3.8.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานนิโคตินที่มีความเข้มข้นต่างๆ จำนวน 6 ระดับ ความเข้มข้นดังนี้ 2,5,10,15,20 และ 25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร กรองด้วย nylon filter ที่มีรูพรุนขนาด 0.20 ไมโครเมตร นำไปฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง นำพีคที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน

3.8.2 เปิดสารละลายมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 2,5,10,15,20 และ 25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จำนวนความเข้มข้นละ 1.00 มิลลิลิตร ใส่ขวดสีชา แล้วเติมตัวอย่างนิโคตินลงในแต่ละขวดปริมาตร 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปกรองด้วย nylon filter ที่มีรูพรุนขนาด 0.20 ไมโครเมตร 2 ครั้งเก็บใส่ขวดสีชา

3.8.3 นำสารละลายที่กรองแล้วไปฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ครั้งละ 100 ไมโครลิตร นำพื้นที่พีคที่ได้ไปอ่านค่าความเข้มข้นของนิโคตินจากกราฟมาตรฐาน

3.8.4 ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง คำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้นและความสูงของพีค

3.8.5 นำค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้น และความสูงของพีค สร้างเป็นกราฟเส้นตรงโดยแกนตั้ง คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความสูงของพีค และแกนนอน คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้น

3.8.6 ลากกราฟเส้นตรงที่ได้ให้ตัดแกนตั้ง จะได้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความสูงของพีค ที่ความเข้มข้นนิโคตินเป็นศูนย์และคูณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความสูงของพีค ที่ได้คูณด้วย 3 เพื่อนำค่าที่ได้ไปหาความสามารถของวิธีที่สามารถวิเคราะห์ได้ที่มีความเข้มข้นต่ำสุด

3.8.7 สร้างกราฟเส้นตรงระหว่างความสูงของพีค และความเข้มข้นโดยให้แกนตั้ง คือ ความสูงของพีค แกนนอน คือ ความเข้มข้น

3.8.8 เมื่อสร้างกราฟเส้นตรงระหว่างความสูงของพีค และความเข้มข้นเรียบร้อยแล้ว อ่านความเข้มข้นจากกราฟเส้นตรงนี้ด้วยค่า 3 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ ความสูงของพีค ในข้อ 6 จะได้ค่าความสามารถของวิธีที่สามารถวิเคราะห์ได้ที่มีความเข้มข้นต่ำสุดของนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน

4. การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

วิธีการทดลอง

1. สุ่มหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่มีอายุการเก็บตั้งแต่เดือน 1-12 (เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง) ภายหลังจากการผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคติน จำนวน 5-10 เม็ด

2. ชั่งหมากฝรั่งผสมนิโคติน ที่สุ่มได้ตามข้อ 1หนัก 1.0 กรัม ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ลงในกรวยแยก ละลายด้วยเฮกเซนกับกรดไฮโดรคลอริก 0.1 M (1:1) 50 มิลลิลิตร เขย่าจนหมากฝรั่งละลายหมด ตั้งทิ้งไว้ให้สารละลายแยกชั้น แล้วไขชั้นกรดไฮโดรคลอริกเก็บไว้

3. นำสารละลายที่ได้ไปเซนตริฟิวส์ นาน 20 นาที เพื่อแยกอิมัลชัน

4. แยกสารละลายส่วนใส (supernatant) กรองผ่าน nylon syringe filter ที่มีขนาดรูพรุน 0.2 ไมโครเมตร แล้วฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ตรวจวัดด้วยหัววัดอัลตราไวโอเล็ต-วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

5. การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในโลหิต ก่อนและหลังการเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

5.1 เติมกรดเปอร์คลอริกเข้มข้นร้อยละ 35 จำนวน 200 ไมโครลิตร ลงในโลหิตของอาสาสมัคร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ประมาณ 30 วินาที นำไปเซนตริฟิวส์ ที่ 4,000 rpm นาน 4 นาที เพื่อตกตะกอนโปรตีน

5.2 นำสารละลายส่วนใส (supernatant) ที่ได้ไปกรองผ่าน nylon syringe filter ที่มีขนาดรูพรุน 0.2 μm จัดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ตรวจวัดด้วยหัววัดอัลตราไวโอเล็ต-วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 259 nm

6. การศึกษาชีวสมมูล

นำหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่ผลิตตามข้อ 2.2 ให้อาสาสมัครชายที่สูบบุหรี่ และมีสุขภาพแข็งแรง จำนวน 5 คน โดยให้เคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่มีความเข้มข้น 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส การเจาะเลือดเจาะก่อนให้ยา และหลังให้ยา 10, 20 และ 30 นาที นำเลือดที่เจาะได้ไปตรวจหาปริมาณนิโคตินด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

7. สถิติที่ใช้ในการวิจัย

สถิติพื้นฐานที่ใช้ในงานวิจัยมีดังนี้ (McClave, et al. 2001: 54-69)

7.1 ค่าเฉลี่ย (Mean, $\bar{X}$) คำนวณได้จากสูตร

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

เมื่อ $\bar{X}$ คือ ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง

X_i คือ ค่าที่ได้จากการทดลองในแต่ละครั้ง

N คือ จำนวนครั้งที่ทำการทดลอง

7.2 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation, SD) คำนวณได้จากสูตร

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

เมื่อ SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
 X_i คือ ค่าที่ได้จากการทดลองในแต่ละครั้ง
 $\bar{X}$ คือ ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง
 N คือ จำนวนครั้งที่ทำการทดลอง

7.3 ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (Coefficient of variation, CV)

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

7.4 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) คำนวณได้จากสูตร

$$r = \frac{\sum (X - \bar{X})(Y - \bar{Y})}{\sqrt{\sum (X - \bar{X})^2 \sum (Y - \bar{Y})^2}}$$

เมื่อ X คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน
 $\bar{X}$ คือ ค่าเฉลี่ยของตัวแปร X
 Y คือ พื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน
 $\bar{Y}$ คือ ค่าเฉลี่ยของตัวแปร Y

บทที่ 4

ผลการวิจัย

การศึกษาวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยเสนอผลการวิจัยตามลำดับ ดังนี้

- 1.การศึกษาการสกัดนิโคตินจากใบยาสูบ
- 2.กระบวนการผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคติน
- 3.การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง
- 4.การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร ก่อนและหลังการเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

1.การศึกษาการสกัดนิโคตินจากใบยาสูบ

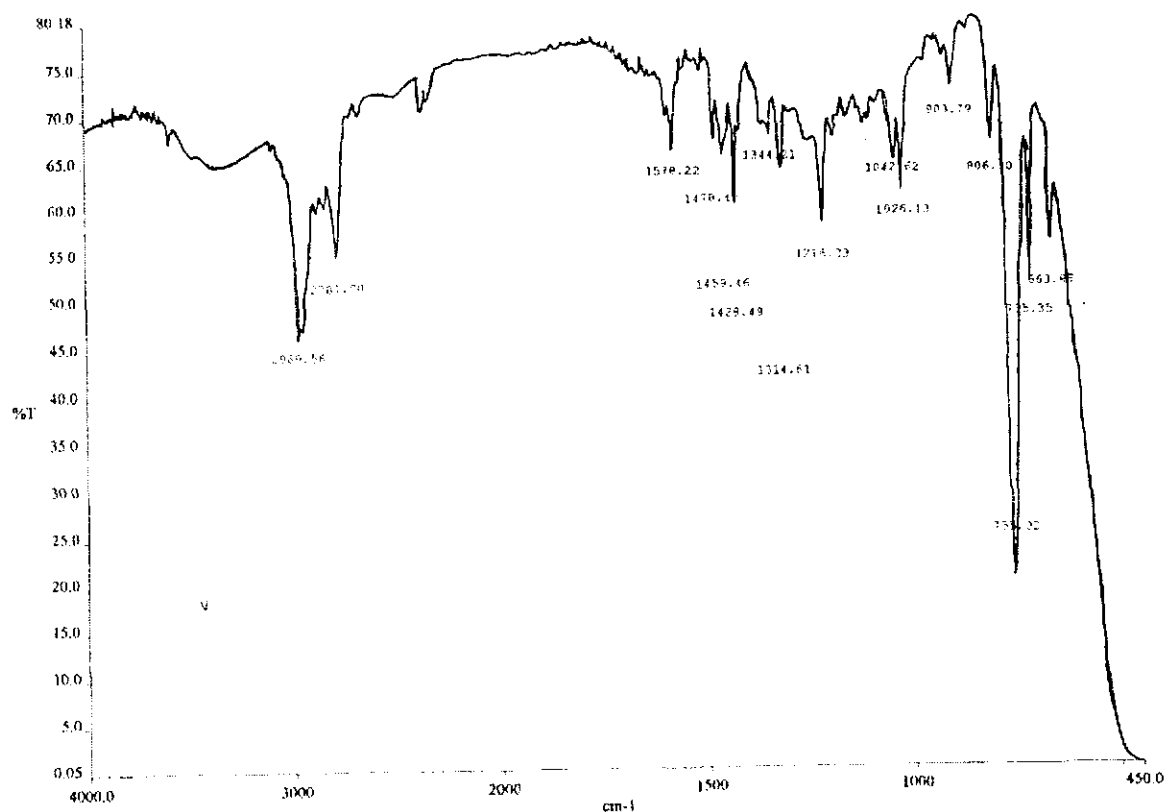
จากการสกัดนิโคตินจากใบยาสูบ โดยการต้มรวมกับสารประกอบโซเดียมคาร์บอเนต ภายหลังจากกรองเอากากออกแล้ว ปรับ pH ให้เป็น 12 สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม โดยใช้น้ำหนักยาสูบครั้งละ 50 กรัม ภายหลังจากการระเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำ พบปริมาณนิโคตินปรากฏผลดังตาราง 2

ตาราง 2 ปริมาณนิโคตินที่สกัดได้จากใบยาสูบ

ครั้งที่	ปริมาณนิโคตินที่สกัดได้(กรัม)	%นิโคติน
1	2.0920	4.180
2	2.0920	4.185
3	2.0900	4.184
4	2.0910	4.179
5	2.0910	4.182
$\bar{X}$	2.0910	4.185
SD	0.0010	0.0040
%CV	0.0478	0.0956

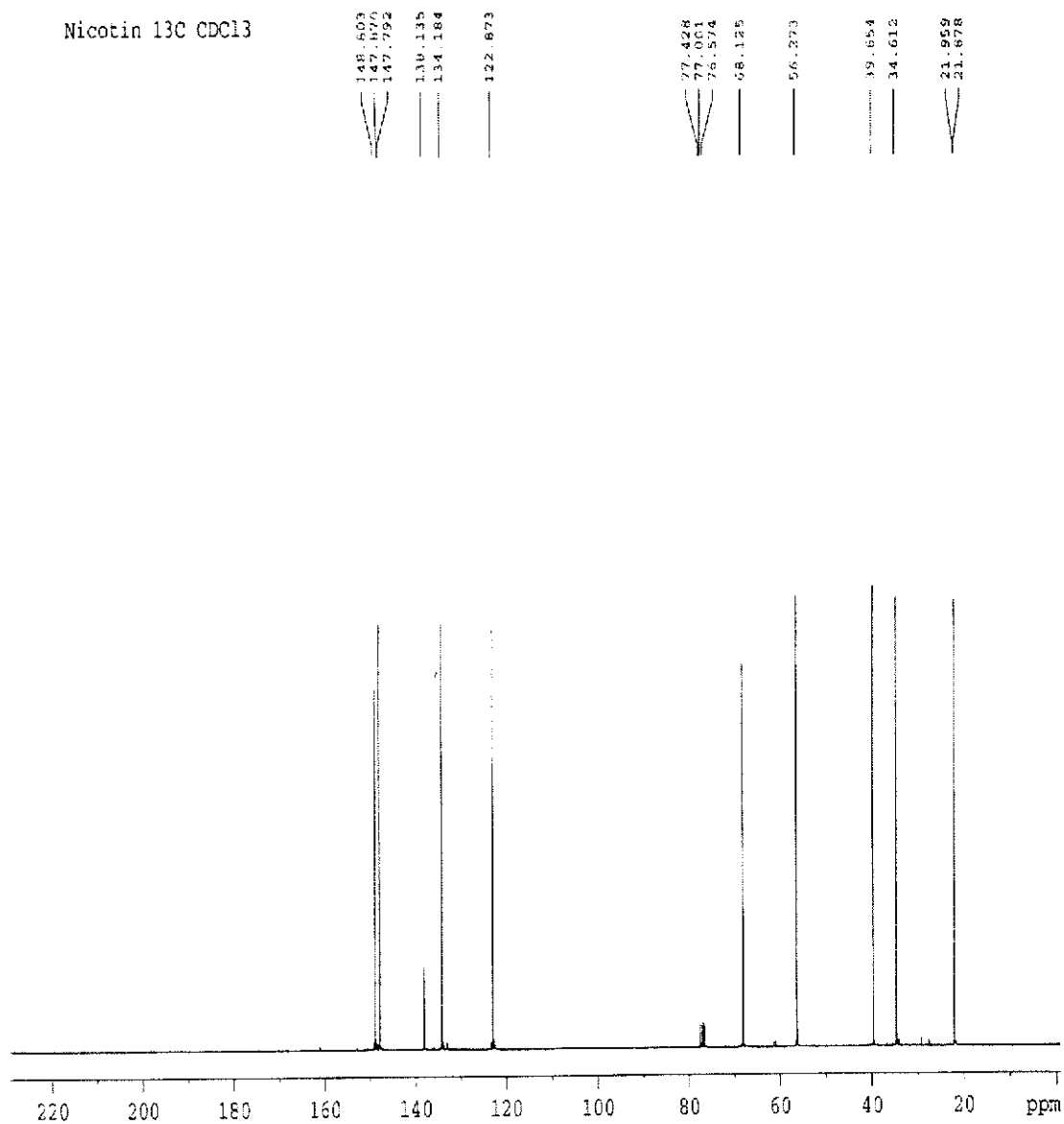
0.0010 และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 0.1802 เปอร์เซ็นต์ นิโคตินที่ได้มีลักษณะเป็นสีเหลืองอ่อน

การพิสูจน์โครงสร้างด้วยเทคนิคทางอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี(IR-spectrum ; neat) และ NMR พบว่าสารนิโคตินที่ได้มีความบริสุทธิ์ใกล้เคียงกับสารมาตรฐานนิโคตินมาก ดังภาพประกอบ 5, 6, 7 และ 8



ภาพประกอบ 5 สเปกตรัม IR ของสารละลายนิโคตินที่สกัดจากใบยาสูบ

จากภาพประกอบ 5 พบว่า IR-spectrum ของนิโคติน (neat) พบว่า $\bar{\nu}$ เท่ากับ 3500 - 3300 cm^{-1} (broad), 1578, 1344, 1216 cm^{-1}



ภาพประกอบ 8 ^{13}C -NMR ของสารละลายนิโคตินที่สกัดจากใบยาสูบ

ค่า ^{13}C -NMR (200 MHz, CDCl_3) ดังภาพประกอบ 8 พบค่า δ เท่ากับ 22.6, 65.2, 40.3, 57.0, 68.9, 123.6, 134.9, 138.9, 148.5, 149.5

2.การผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคติน(ดัดแปลงมาจาก Phillips, G.O, Wedlock D.J &William, P.A, 1985)

ผลจากการดำเนินการนำส่วนผสมต่างๆผสมเมื่อนำไปขึ้นรูปได้หมากฝรั่งนิโคติน 2 สูตร คือ

2.1 หมากฝรั่งผสมนิโคติน สูตร 2 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส ที่มีลักษณะสีเหลืองอ่อน (ภาคผนวก - ภาพประกอบ 21)

เมื่อทำการสู่มหมากฝรั่งผสมนิโคตินจำนวน 10 เม็ด ซึ่งน้ำหนักโดยเฉลี่ยที่ละเม็ดและคำนวณค่าเฉลี่ย 1.01 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.012 ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเท่ากับ 1.188

2.2 หมากฝรั่งผสมนิโคติน สูตร 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส ที่มีลักษณะสีเหลืองอ่อน

เมื่อทำการสู่มหมากฝรั่งผสมนิโคตินจำนวน 10 เม็ด ซึ่งน้ำหนักโดยเฉลี่ยที่ละเม็ดและคำนวณค่าเฉลี่ย 0.9932 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.014 ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเท่ากับ 1.409

3.การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

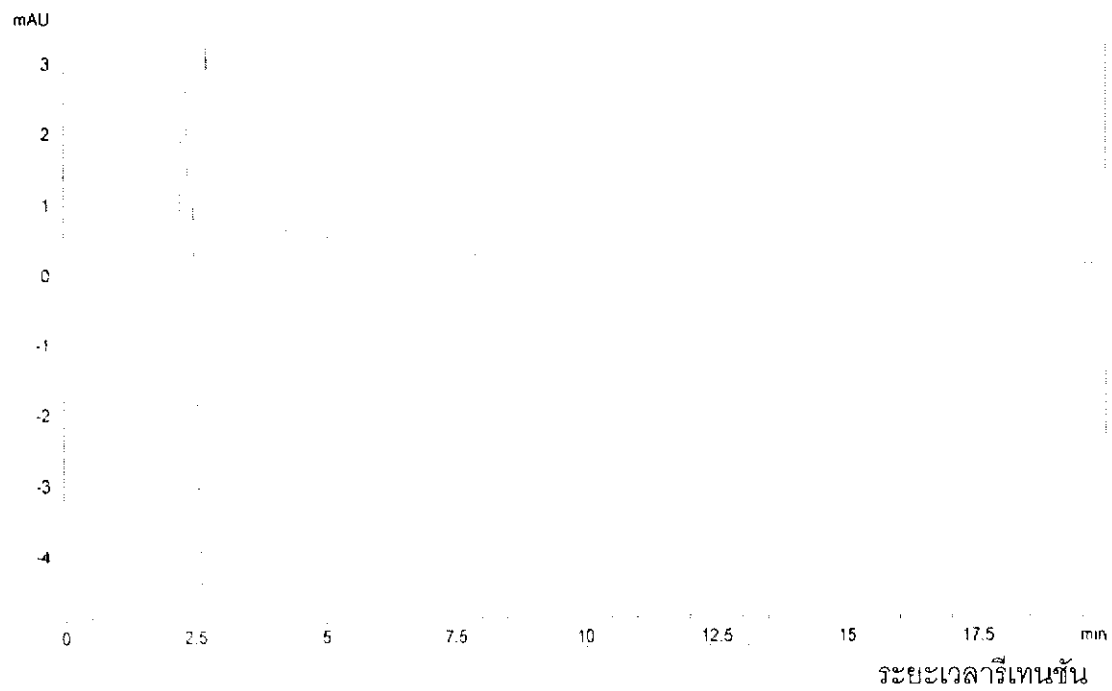
3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานนิโคตินสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน

จากการเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ความเข้มข้นละ 100 ไมโครลิตร ตรวจวัดด้วยหัววัดอัลตราไวโอเล็ต-วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 259 nm

3.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร ก่อนและหลังการเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

จากการเตรียมสารละลายมาตรฐาน และการทดลองเชิงสำรวจขั้นต้นของสารละลายแบบคัสไฮโดรคลอริกและสารละลายแบบคัสฟลาสมาด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ได้โครมาโทแกรมปรากฏดังภาพประกอบ 9-10

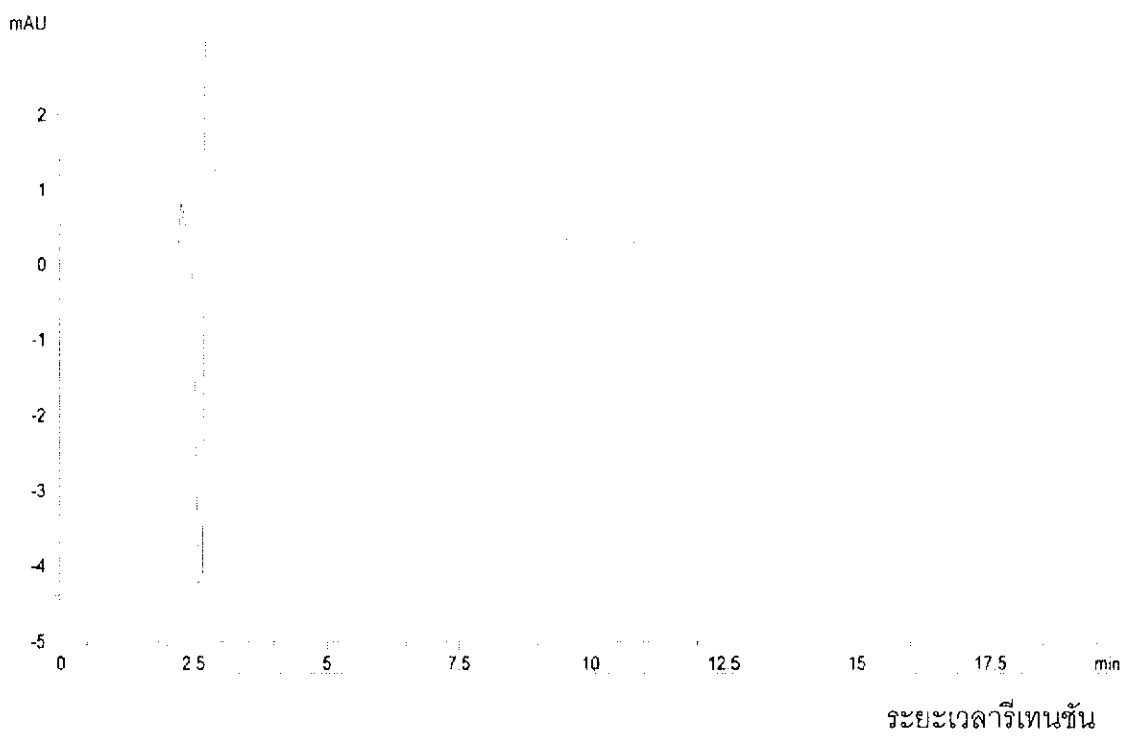
การดูดกลืนแสง



ภาพประกอบ 9 โครมาโทแกรมของสารละลายแบลงค์ไฮโดรคลอริก

ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

การดูดกลืนแสง



ภาพประกอบ 10 โครมาโทแกรมของสารละลายแบลงค์ฟอสมา

ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

3.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐานสำหรับการหาค่าร้อยละการกลับคืน (percent recovery) เพื่อวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินไลนิตของอาสาสมัคร ก่อนและหลังการเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคตินโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

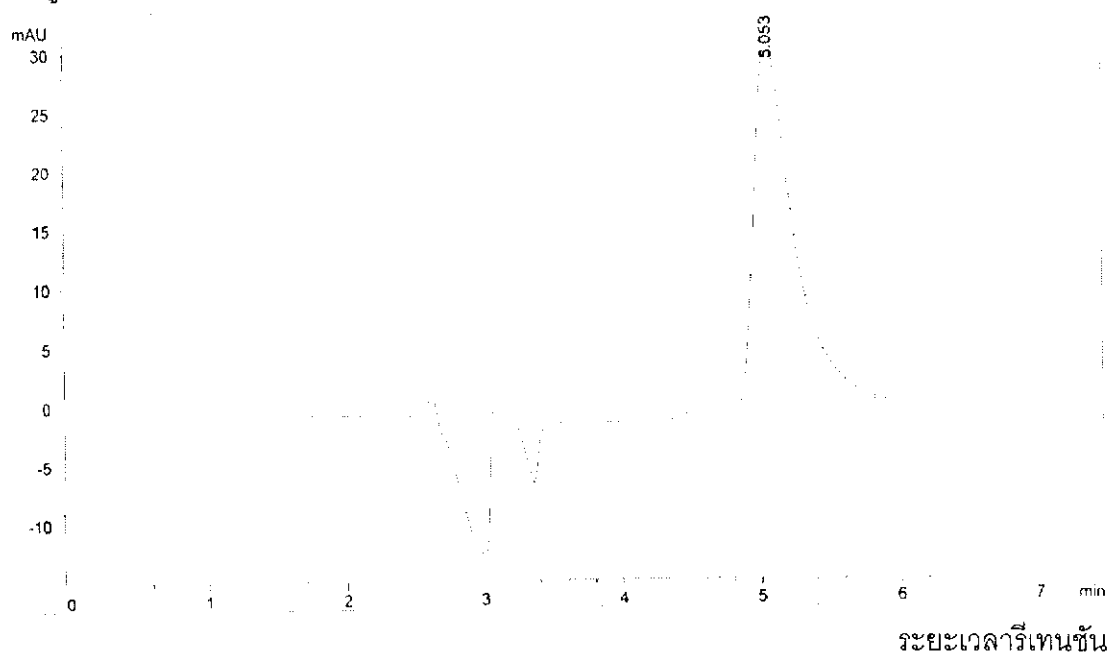
ผลจากการเตรียมสารละลายมาตรฐานและการทดลองเชิงสำรวจขั้นต้น ดังภาพประกอบ 9-10

3.4 สภาพของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ที่ใช้ในการวิเคราะห์นิโคติน

สภาพของเครื่อง โครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ที่ใช้ในการวิเคราะห์นิโคตินสำหรับ ผู้วิจัยดำเนินการวิจัยโดยใช้คอลัมน์ Hypersil ODS (C-18)(Agilent) ขนาด 4.0 X 125 มิลลิเมตรอนุภาคที่บรรจุภายในมีขนาด 5 ไมโครเมตร มีสารละลายเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) คือ sodium acetate : methanol: triethylamine(88:12:0.5) ปรับ pH 5.05 ด้วย glacial acetic acid ใช้โปรแกรมแบบ isocratic อัตราการไหล (flow rate) เท่ากับ 0.9 มิลลิลิตร/นาที เมื่อใช้หัววัดอัตราไวโอเลต-วิสิเบิล ค่าการดูดกลืนแสงที่ 259 นาโนเมตร พบว่าสามารถพบนิโคติน มีค่าเวลา

รีเทนชัน ประมาณ 5.0 นาทีดังภาพประกอบ 11-14

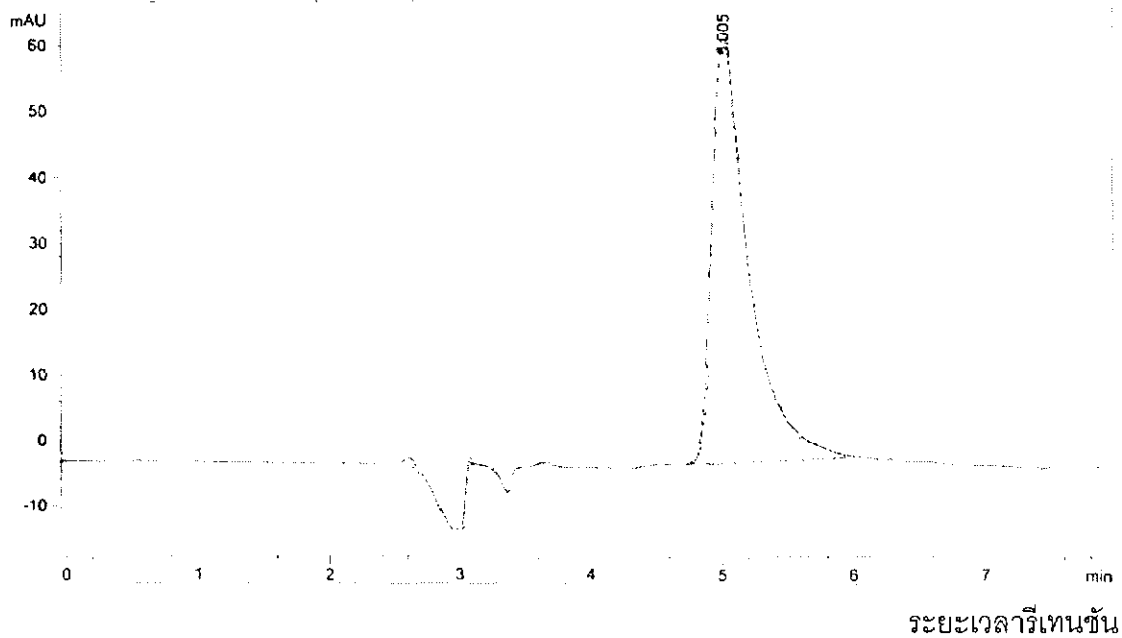
การดูดกลืนแสง



ภาพประกอบ 11 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานนิโคติน

ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัม /มิลลิลิตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

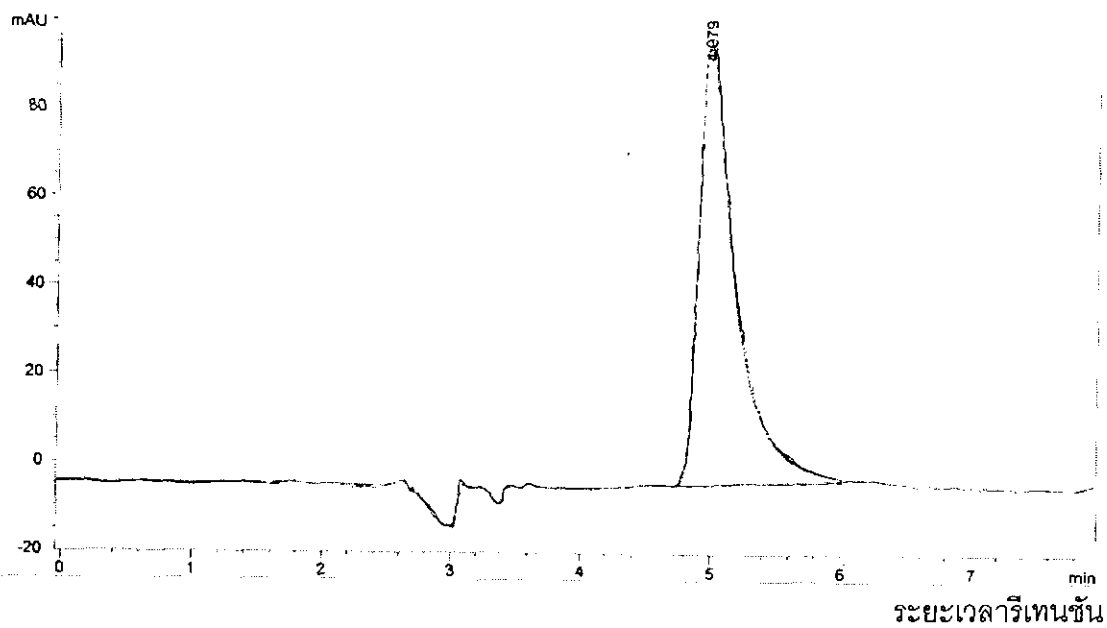
การดูดกลืนแสง



ภาพประกอบ 12 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานนิโคติน

ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

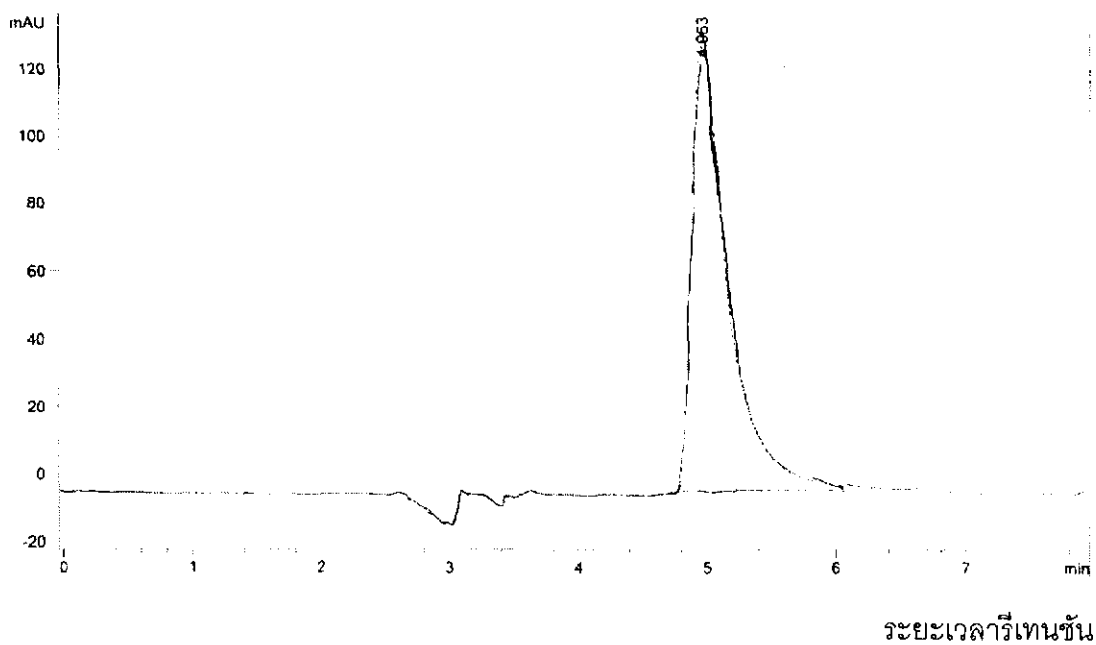
การดูดกลืนแสง



ภาพประกอบ 13 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานนิโคติน

ความเข้มข้น 15 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

การดูดกลืนแสง



ภาพประกอบ 14 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ความเข้มข้น
20 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

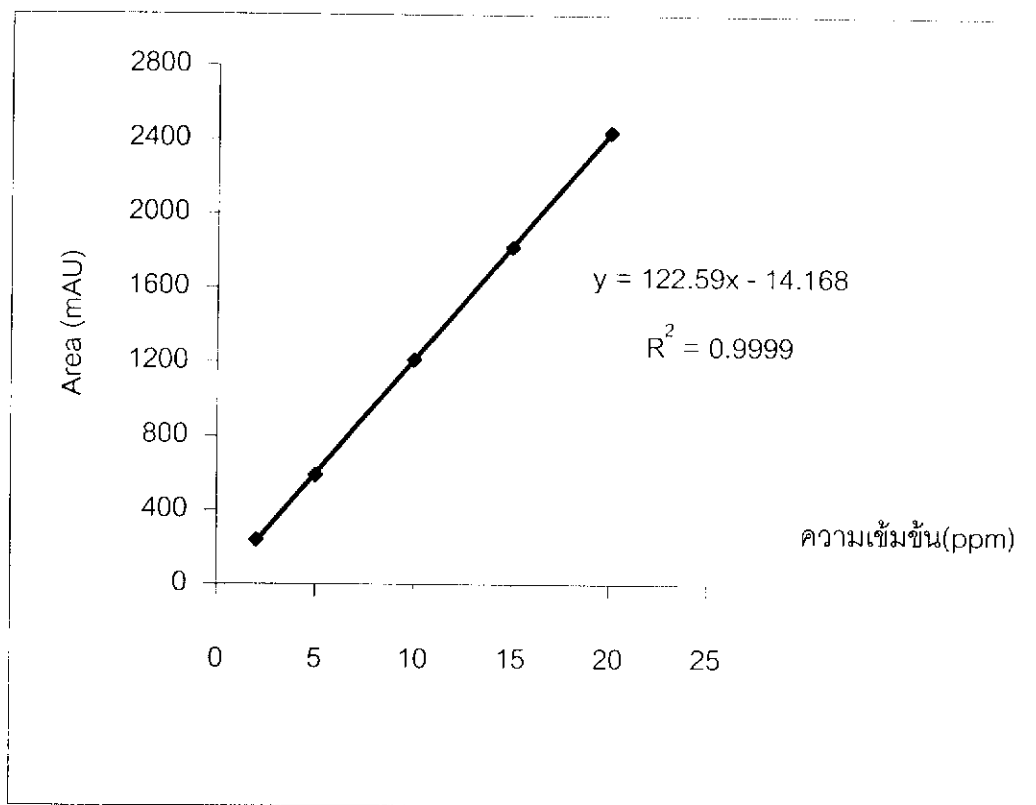
3.5 การหาช่วงที่เป็นเส้นตรง

จากกราฟมาตรฐานสามารถนำมาคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient) แสดงในตาราง 3

ตาราง 3 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน
ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารละลายมาตรฐานนิโคติน ความเข้มข้น 2.0, 5.0, 10.0, 15.0 และ
20.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ครั้งที่	สมการเส้นตรง	(r)
1	$Y = 122.59X - 14.168$	0.9999
2	$Y = 122.49X - 13.892$	0.9997
3	$Y = 104.2X - 41.786$	0.9958
4	$Y = 117.59X - 1.063$	0.9998
5	$Y = 122.39X - 12.762$	0.9999
$\bar{X}$		0.9990
SD		0.0018
% CV		0.1802

จากตาราง 3 เมื่อนำสารละลายมาตรฐานนิโคตินความเข้มข้น 2.0, 5.0, 10.0, 15.0 และ 20.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จัดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 nm แล้วนำความเข้มข้นที่วัดได้กับพื้นที่พีค นำมาสร้างกราฟมาตรฐาน นำมาคำนวณหาช่วงที่เป็นเส้นตรง พบว่าค่า (r) อยู่ในช่วง 0.9958-0.9999 เฉลี่ย 0.9990 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0018 สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนร้อยละ 0.1802 และกราฟมาตรฐาน แสดงดังภาพประกอบ 15



ภาพประกอบ 15 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ที่ความเข้มข้น 2.0, 5.0, 10.0, 15.0 และ 20.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

3.6 การหาค่าร้อยละการกลับคืน

3.6.1 การหาค่าร้อยละประสิทธิภาพวิธีของการหาปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน

การหาค่าร้อยละประสิทธิภาพวิธีของการหาปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน หาได้จากการนำสารละลายมาตรฐานนิโคตินที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เติมลงในสารละลายตัวอย่าง ทำการทดลองเหมือนสารตัวอย่างทุกประการ การหาค่าร้อยละการกลับคืนที่ใช้ในการวิจัย ปรากฏดังตาราง 4

ตาราง 4 ร้อยละการกลับคืน ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน
ของนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน (n=5)

ครั้งที่	ค่าความเข้มข้นทั้งหมด (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าเฉลี่ยที่ตรวจพบ (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ร้อยละการกลับคืน (%)
1	20	16.38	81.90
2	20	14.76	73.81
3	20	17.21	86.05
4	20	16.47	82.33
5	20	16.38	81.90
$\bar{X}$		16.24	81.1980
SD		0.8976	4.4830
%CV		5.5277	5.5210

จากตาราง 4 แสดงร้อยละการกลับคืนที่ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 16.24 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.8976 สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนร้อยละ 5.5277 และร้อยละการกลับคืนเท่ากับ 81.1980

3.6.2 การหาค่าร้อยละประสิทธิภาพวิธีของการหาปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร ก่อนและหลังเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน

การหาค่าร้อยละประสิทธิภาพวิธีของการหาปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร ก่อนและหลังเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน หาได้จากการนำสารละลายมาตรฐานนิโคตินที่ความเข้มข้น 0.909 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เติมนลงในสารละลายตัวอย่าง ทำการทดสอบเหมือนสารตัวอย่างทุกประการ การหาร้อยละการกลับคืนที่ใช้ในการวิจัย ปรากฏดังตาราง

ตาราง 5 ร้อยละการกลับคืน ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน
ของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร ก่อนและหลังเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน (n=5)

ครั้งที่	ค่าเฉลี่ยที่ตรวจพบ (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ร้อยละการกลับคืน (%)
1	0.0184	92.01
2	0.0196	98.01
3	0.0212	106.01
4	0.0205	102.51
5	0.0210	105.01
$\bar{X}$	0.0201	100.71
SD	0.0012	5.76
%CV	5.9701	5.72

จากตาราง 5 แสดงร้อยละการกลับคืนที่ความเข้มข้น 0.019998 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
ได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.0201 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0012 สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนร้อยละ
5.9701 และร้อยละการกลับคืนเท่ากับ 100.71

3.7 การหาความสามารถของวิธีที่สามารถวิเคราะห์ได้ที่มีความเข้มข้นต่ำสุด

การหาความสามารถของวิธีที่สามารถวิเคราะห์ได้ที่มีความเข้มข้นต่ำสุด พบว่าสารละลายมาตรฐานนิโคตินมีความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ เมื่อ $S/N = 3$ ที่ได้จากกราฟเส้นตรง โดยกำหนดให้แกนตั้ง คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ ความสูงของพีค และแกนนอนคือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้น ดังข้อ 3.8.5-3.8.6 ในบทที่ 3 จะได้สมการเส้นตรง

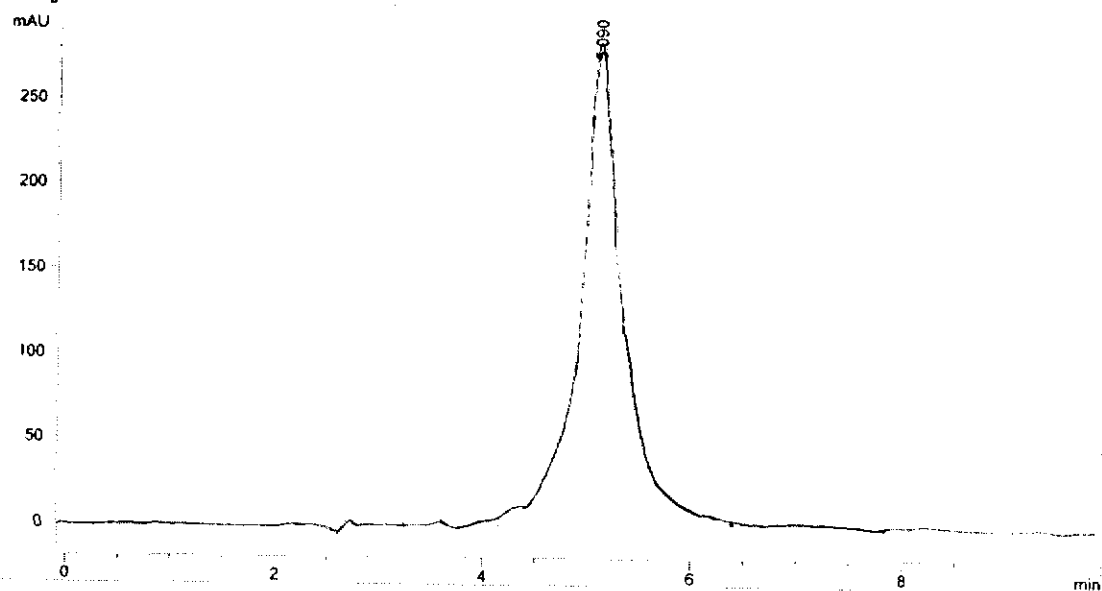
$y = 18.288x + 0.0107$ เมื่อให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้น (x) เท่ากับศูนย์ พบว่า ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ ความสูงของพีค (y) มีค่าเท่ากับ 0.0107 หลังจากนั้น นำ factor 3 คูณกับค่า y จะมีค่าเท่ากับ 0.0321

เมื่อสร้างกราฟเส้นตรงโดยกำหนดให้แกนตั้งคือ ความสูงของพีค มีหน่วยเป็น mAU และแกนนอนคือความเข้มข้นมีหน่วยเป็น ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ดังข้อ 3.8.7-3.8.8 ในบทที่ 3 จะได้สมการเส้นตรง $y = 5.2469x$ เมื่อแทน y ด้วย 0.0321 พบว่าความเข้มข้น (x) ค่าเท่ากับ 0.0061 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร นั่นคือ นิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินมีความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ เท่ากับ 0.0061 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

3.8 การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน

เมื่อนำหมากฝรั่งผสมนิโคติน สูตร 2 มิลลิกรัม 1 กรัม กัมเบสและ 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส ไปละลายด้วยสารละลายผสมระหว่างเฮกเซนกับสารละลายกรดไฮโดรคลอริก(1:1) ที่งัวไข้มดิน เขย่าจนหมากฝรั่งละลายหมด ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น นำชั้นสารละลายชั้นกรดไฮโดรคลอริกที่ได้ไปกรอง แล้วฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ตรวจวัดด้วยหัววัดอัตราไวโอเลต-วิสิเบิล ค่าการดูดกลืนแสงที่ 259 นาโนเมตร พบว่าค่าเวลารีเทนชันประมาณ 5.0 นาที ดังภาพประกอบ 16-17

การดูดกลืนแสง

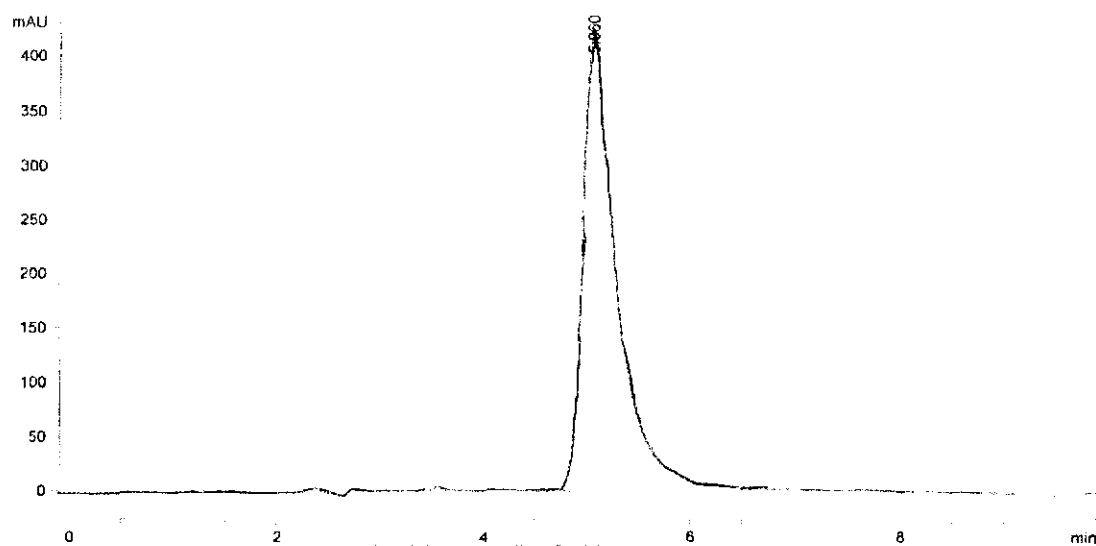


ระยะเวลารีเทนชัน

ภาพประกอบ 16 โครมาโทแกรมของนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน ความเข้มข้น

2 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

การดูดกลืนแสง



ระยะเวลารีเทนชัน

ภาพประกอบ 17 โครมาโทแกรมของนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน 4 มิลลิกรัม/1 กรัม

กัมเบส ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

จากการตรวจวัดปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส และ 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส ด้วยเครื่องตรวจวัดอัตราไวโอเลต-วิสิเบิล ค่าการดูดกลืนแสงที่ 259 นาโนเมตร เป็นระยะเวลา 12 เดือน แสดงผลข้อมูล ดังตาราง 6

ตาราง 6 ปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม และ 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส

เดือน	ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของนิโคตินที่พบในหมากฝรั่งผสมนิโคติน							
	2 มิลลิกรัม /1 กรัม กัมเบส				4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส			
	X	$\bar{X}$	SD	%CV	X	$\bar{X}$	SD	%CV
1	1.8503	1.8525	0.0031	0.1673	3.5849	3.568	0.0233	0.6530
	1.8547				3.5519			
2	1.6561	1.6593	0.0045	0.2712	3.1158	3.1378	0.0466	1.4851
	1.6625				3.1063			
3	1.5450	1.5584	0.0272	1.7453	2.9036	2.8828	0.0159	0.5155
	1.5407				2.8723			
4	1.5279	1.5357	0.0055	0.3581	2.7049	2.7600	0.0564	2.0434
	1.5386				2.8178			
5	1.5659	1.4952	0.0424	2.8357	2.7289	2.6779	0.0579	2.1621
	1.4897				2.6889			
6	1.4022	1.4131	0.0104	0.7360	2.5331	2.5547	0.0187	0.7320
	1.4143				2.5666			
7	1.3474	1.3170	0.0267	2.0273	2.4756	2.4910	0.0150	0.6022
	1.2966				2.5057			
	1.3072				2.4910			

ตาราง 6 (ต่อ)

เดือน	ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของนิโคตินที่พบในหมากฝรั่งผสมนิโคติน							
	2 มิลลิกรัม /1 g gumbase				4มิลลิกรัม/1 g gumbase			
	X	$\bar{X}$	SD	%CV	X	$\bar{X}$	SD	%CV
8	1.2628	1.2703	0.0073	0.5747	2.3663	2.4209	0.0569	2.3503
	1.2775				2.4167			
	1.2703				2.4799			
9	1.2770	1.2878	0.0147	1.1414	2.3335	2.4264	0.1314	5.4154
	1.3046				2.5193			
	1.2820							
10	1.2436	1.2156	0.0254	2.0895	2.3973	2.4225	0.0072	0.2972
	1.1939				2.3884			
	1.2095				2.4027			
11	1.1187	1.1001	0.0200	1.8180	2.2318	2.2359	0.0285	1.2746
	1.1027				2.2663			
	1.0789				2.2096			
12	1.0544	1.0390	0.0077	0.7411	2.1565	2.1343	0.0269	1.2603
	1.0463				2.1422			
	1.0390				2.1043			
$\bar{X}$	-	1.3953	-	-	-	2.6427	-	-
SD	-	0.2365	-	-	-	0.0415	-	-
%CV	-	16.9777	-	-	-	1.5704	-	-

จากตาราง 6 การตรวจวัดปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม /1 กรัม กัมเบส และ 4มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส ด้วยเครื่องตรวจวัดอัตราไวโอเลต-วิสิเบิล ค่าการดูดกลืนแสงที่ 259 นาโนเมตร เป็นระยะเวลา 12 เดือน พบว่าสามารถพบนิโคตินอยู่ในช่วงเฉลี่ย 1.0390-1.97427 และ 2.1343-3.2684 มิลลิกรัม ตามลำดับ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

0.0055 -0.3507 และ 0.0072 - 0.2786 ตามลำดับ ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนร้อยละ 0.3581-21.3958 และ 0.2972- 10.8064 ตามลำดับ

5. การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในโลหิต ก่อนและหลังการเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

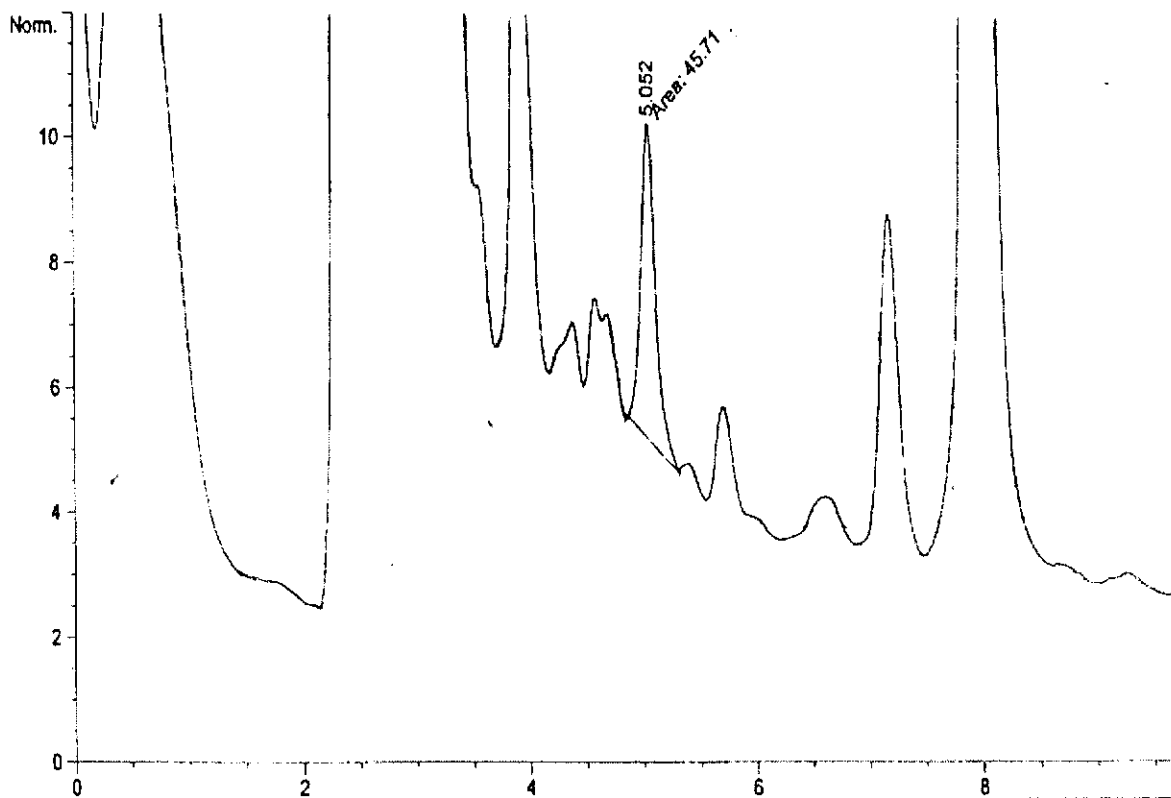
เมื่อนำโลหิต 2 มิลลิลิตร ที่ได้จากอาสาสมัคร จำนวน 5 รายที่ถูกเจาะโลหิตก่อนให้ยา และหลังให้ยา 15, 30 และ 40 นาที มาเติมกรดเปอร์คลอริกเข้มข้นร้อยละ 35 จำนวน 200 ไมโครลิตร เพื่อตกตะกอนโปรตีน จากนั้นนำสารละลายส่วนใส (supernatant) ที่ได้ไปกรองผ่าน nylon syringe filter ที่มีขนาดรูพรุน 0.2 ไมโครเมตร ฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง แสดงผลข้อมูล ดังตาราง 7

ตาราง 7 ปริมาณนิโคตินในโลหิตอาสาสมัคร

อาสาสมัครคนที่	0 นาที		15 นาที		30 นาที		40 นาที	
	X	$\bar{X}$	X	$\bar{X}$	X	$\bar{X}$	X	$\bar{X}$
1	0.00196 0.00136	0.00166	0.00123 0.00123	0.00123	0.00148 0.00150	0.00149	0.00151 0.00154	0.00153
2	0.00155 0.00152	0.00153	0.00148 0.00109	0.00129	0.00130 0.00136	0.00133	0.00143 0.00139	0.00141
3	0.00159 0.00156	0.00158	0.00105 0.00103	0.00104	0.00149 0.00132	0.00141	0.00147 0.00154	0.00151
4	0.00129 0.00126	0.00128	0.00103 0.00100	0.00102	0.00133 0.00131	0.00132	0.00127 0.00160	0.00143
5	0.00186 0.00189 0.00189	0.00188	0.00191 0.00171	0.00181	0.00197 0.00146	0.00172	0.00192 0.00135	0.00163
$\bar{X}$	0.00159		0.00127		0.00145		0.00153	
SD	0.0002		0.0004		0.0002		0.0001	
%CV	12.5786		31.4961		7.2500		6.5359	

0.0002 และ 0.0001 ตามลำดับ ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนร้อยละ 12.5000, 31.4961, 7.2500, 6.5359 มีค่าเวลารีเทนชัน เท่ากับ 5.0 นาที ดังภาพประกอบ 18

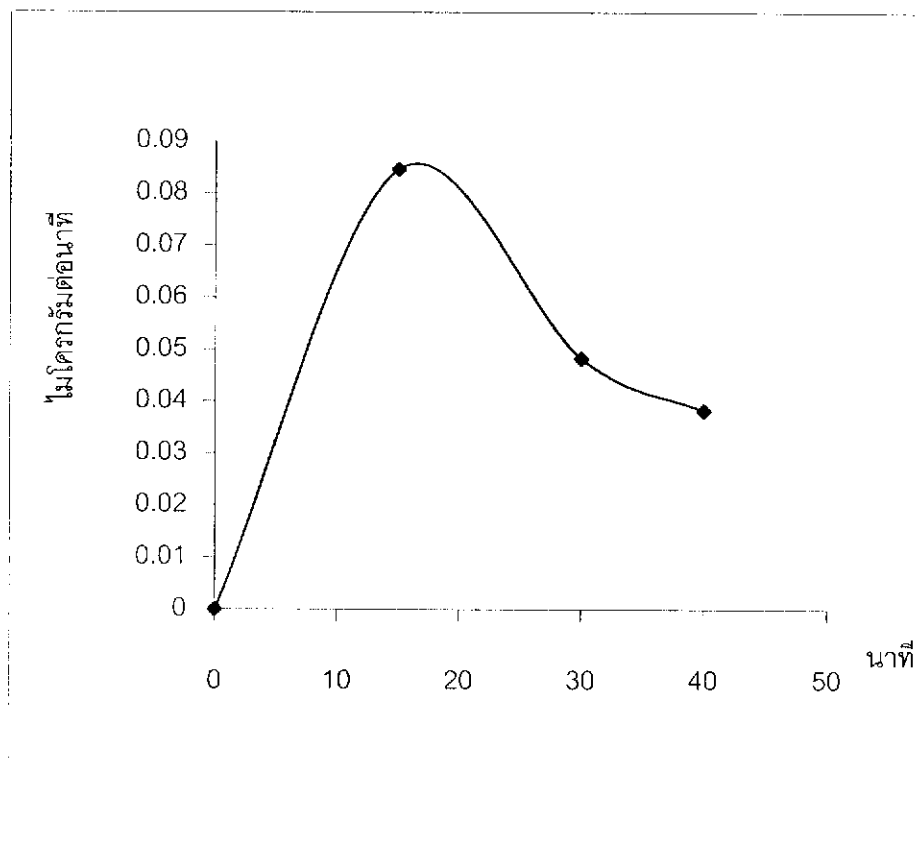
การดูดกลืนแสง



ระยะเวลารีเทนชัน

ภาพประกอบ 18 โครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร ตรวจวัดที่
ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

จากตาราง 8 สามารถหาค่าอัตราการดูดซึมนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัครที่เวลา 0 ,15 ,30 และ 40 นาที(ตามกรรมวิธีของ Benowitz ,et al. 1988 : 24) ดังภาพประกอบ 19



ภาพประกอบ 19 กราฟอัตราการดูดซึมนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัครที่เวลา 0 ,15 ,30 และ 40 นาที (ตามกรรมวิธีของ Benowitz ,et al. 1988 : 24)

การหาอัตราการดูดซึมนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัครที่เวลา 0, 15,30 และ 40 นาที ดังภาพประกอบ 19 ซึ่งสามารถหาได้โดยนำค่าเฉลี่ยของอัตราการดูดซึมนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัครที่เวลา 0, 15,30 และ 40 นาที หาค่าด้วยเวลาที่เวลา 0, 15,30 และ 40 นาทีตามลำดับ พบค่าอัตราการดูดซึมนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัครภายหลังการเสพ มีค่าเท่ากับ 0,0.846,0.493 และ 0.3775 ไมโครกรัม/นาที ตามลำดับ

บทที่ 5

สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ทำการวิเคราะห์เชิงปริมาณของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร และหมากฝรั่งผสมนิโคตินโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ซึ่งศึกษาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินและในโลหิตของอาสาสมัคร ก่อนและหลังเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน ทั้งสูตร 2 มิลลิกรัม/ 1 กรัม กัมเบส และ 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส การวิจัยในครั้งนี้ทำให้ทราบกระบวนการผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคติน และ อายุการเก็บของหมากฝรั่งผสมนิโคตินภายในระยะเวลา 1 ปี ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานในการประยุกต์ สำหรับการผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคตินต่อไป เพื่อใช้ในการบำบัดผู้ที่ติดยาสูบ ทำให้ลดปัญหาต่อโรคที่เกิดจากการสูบบุหรี่ อีกทั้งลดค่าใช้จ่ายในการบำบัดผู้ที่ติดยาสูบ อันเนื่องมาจาก หมากฝรั่งผสมนิโคตินที่วางจำหน่ายมีราคาสูง และ นำเข้าจากต่างประเทศ

สรุปผลและอภิปรายผล

จากการศึกษาวิจัย สรุปผลได้ดังนี้

จากการสกัดนิโคตินจากใบยาสูบได้น้ำหนักของนิโคติน ค่าเฉลี่ย 2.0910 ± 0.0010 กรัม เมื่อนำมาคำนวณเป็นร้อยละมีค่าประมาณร้อยละ 4.185 นิโคตินที่สกัดได้เป็นของเหลวมีสีเหลืองอ่อน จากการศึกษาค่าทางสเปกโทรสโคปี ทั้ง อินฟราเรดสเปกโทรสโคปีและ $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3), $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) ได้นิโคตินที่ค่อนข้างบริสุทธิ์

การนำนิโคตินที่สกัดได้จากใบยาสูบ เตรียมเป็นหมากฝรั่งผสมนิโคติน สูตร 2 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส เมื่อทำการสูดมหมากฝรั่งจำนวน 10 เม็ด ซึ่งน้ำหนักโดยละเอียดทีละเม็ดและคำนวณค่าเฉลี่ยได้ 1.01 กรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.012 ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน เท่ากับ 1.188 และสูตร 4 มิลลิกรัม/1กรัม กัมเบส ได้หมากฝรั่งลักษณะสีเหลืองอ่อนเช่นเดียวกัน

การหาน้ำหนักเฉลี่ยในลักษณะเดียวกัน คือ สูดมจำนวน 10 เม็ด ซึ่งน้ำหนักโดยละเอียดพบว่าค่าเฉลี่ย 0.9932 กรัม ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.014 ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน เท่ากับ 1.409 ทั้งสองสูตร มีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของน้ำหนัก (%CV) ไม่เกินร้อยละ 6 จึงเป็นน้ำหนักยาเม็ดโดยเฉลี่ย ตาม(BP 1993 น้ำหนักเม็ดยา ควรมีความเบี่ยงเบนในช่วงร้อยละ ± 5)

การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง การวิจัยครั้งนี้ใช้คอลัมน์ Hypersil ODS(C-18, Agilent) ขนาด 4.0x 125 mm อนุภาคบรรจุอยู่ภายในขนาด 5 ไมโครเมตร สารละลายเฟสเคลื่อนที่ คือ sodium acetate : methanol : triethylamine

(88 : 12 : 0.5) ปรับ pH 5.05 ด้วย glacial acetic acid ใช้โปรแกรมแบบไอโซเครติก อัตราการไหล 0.90 มิลลิลิตร/นาที ตรวจวัดด้วยหัววัดอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร พบค่าเวลารีเทนชันของนิโคติน 5.0 นาที สอดคล้องกับการวิจัยของดาสและวอง (Dash ;&Wong. 1996 : 81-85) ที่ใช้คอลัมน์ชนิด reversed phase C-18 ขนาด 4.6x 150 มิลลิเมตร อนุภาคบรรจุภายในขนาด 5 ไมโครเมตร โปรแกรมแบบไอโซเครติก เช่นเดียวกัน แต่สารละลายเฟสเคลื่อนที่แตกต่างกัน คือ ใช้ methanol : citrate phosphate buffer(15 : 85) อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 0.70 มิลลิลิตร/นาที ซึ่งดาสและวอง(Dash ;&Wong. 1996 : 81-85) พบว่าเวลารีเทนชันของนิโคตินเท่ากับ 4.4 นาที เร็วกว่าค่าเวลารีเทนชันของการวิจัยนี้ 0.6 นาที ทั้งนี้เป็นเพราะการใช้ชนิดของเฟสเคลื่อนที่แตกต่างกัน

การหาช่วงที่เป็นเส้นตรงและค่าร้อยละประสิทธิภาพวิธี จากการวิจัยเมื่อนำกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานนิโคติน ใช้คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) พบว่าการตอบสนองของสัญญาณการตรวจวิเคราะห์ต่อนิโคตินในช่วงความเข้มข้น 2.0 - 20.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่าง 0.9958-0.9999 ค่าเฉลี่ย 0.9990 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0018 และค่าสัมประสิทธิ์แปรปรวน 0.1802 เปอร์เซ็นต์ จากข้อมูลพบว่าค่าตอบสนองการตรวจวัดเป็นเส้นตรง มีค่าเข้าใกล้ 1 แสดงให้เห็นว่ามีความแม่นยำในการวิเคราะห์ พบว่าการวิเคราะห์หานิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน มีค่าร้อยละการกลับคืนเฉลี่ย 16.24 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (81.1980 เปอร์เซ็นต์) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.8976 และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 5.5227 เปอร์เซ็นต์ ส่วนว่าการวิเคราะห์หานิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร มีค่าร้อยละการกลับคืนเฉลี่ย 0.0226 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (113.14 เปอร์เซ็นต์) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0028 และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 12.5773 เปอร์เซ็นต์

ผลการวิจัยในการหาค่าร้อยละการกลับคืนของการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน ผู้วิจัยทำการสกัดตัวอย่างในหมากฝรั่งผสมนิโคตินคล้ายกับ ธเนศ พงศ์จรรยากุล (Thaned .2000) ซึ่งสกัดด้วย sodium acetate: methanol: triethylamine (88:12:05) พบว่ามีประสิทธิภาพของวิธีอยู่ในช่วงเดียวกัน การหาค่าร้อยละการกลับคืนมีค่าค่อนข้างต่ำ อาจเป็นเพราะปริมาณนิโคตินสูญหายไประหว่างการสกัด และองค์ประกอบของหมากฝรั่งผสมนิโคตินมีกลูโคส และน้ำตาลไอซิ่งเป็นส่วนผสม ซึ่งอาจส่งผลทำให้นิโคตินเกิดอันตรกิริยากับกลูโคสและน้ำตาลไอซิ่ง ทำให้นิโคตินที่สกัดได้มีปริมาณน้อยลง

ผลการวิจัยในการหาค่าร้อยละการกลับคืนของการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในโลหิต ผู้วิจัยทำการหาปริมาณนิโคตินในโลหิตจากอาสาสมัคร ซึ่งกระบวนการในการวิเคราะห์ ผู้วิจัยได้ทำการพัฒนาร้อยละประสิทธิภาพวิธีให้มีค่าที่มากขึ้น ดังจะเห็นจาก การเปรียบเทียบกับ

งานวิจัยของเฟเยอราเบนด์ เลวิตต์ และรัสเซลล์ (Feyerabend; Levitt; & Russell.1975:434-436) ซึ่งวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในพลาสมาของผู้สูบบุหรี่ และไม่สูบบุหรี่ โดยสกัดตัวอย่างพลาสมาด้วยไดเอทิลอีเทอร์(diethyl ether) ใช้ควิโนลิน(quinoline) เป็นสารอ้างอิงมาตรฐานภายใน(internal standard) วิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี ผลการวิจัยพบร้อยละการกลับคืนเท่ากับ 75เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าร้อยละประสิทธิภาพการหาวิธีต่ำกว่างานวิจัยครั้งนี้มาก

การหาความสามารถของวิธีที่สามารถวิเคราะห์ได้ที่มีความเข้มข้นต่ำสุด การหาความสามารถของวิธีที่สามารถวิเคราะห์ได้ที่มีความเข้มข้นต่ำสุด เมื่อ S/N= 3 พบว่านิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินมีความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ มีค่าน้อยมากคือ 0.0061 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แสดงให้เห็นว่าวิธีการของวิจัยครั้งนี้มีความไวในการวิเคราะห์นิโคติน มีแนวโน้มที่สอดคล้องที่สอดคล้องกับดาส และวอง(Dash;&Wong. 1996 : 81-85)โดยใช้คอลัมน์ C-18 ตรวจวัดด้วยหัววัดอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร พบว่าปริมาณต่ำสุดที่วัดได้มีค่าเท่ากัน คือ 0.06 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

จากการวิจัยการตรวจวัดปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส ด้วยหัววัดตรวจวัดอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิล ค่าการดูดกลืนแสงที่ 259 นาโนเมตร เป็นระยะเวลา 12 เดือน พบว่าสามารถพบนิโคตรินอยู่ในช่วงเฉลี่ย 1.0390-1.97427 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0055-0.3507 รับได้ยกเว้นเดือนที่ 1 และ 2 มีค่าเกินร้อยละ 5 ทั้งนี้อาจเป็นเพราะและมีปริมาณนิโคตินลดลงตามอายุของการเก็บ

ส่วนปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่สูตรความเข้มข้น 4 มิลลิกรัม/1กรัม กัมเบส จะพบปริมาณนิโคตินระยะเวลา 12 เดือน มีค่าเฉลี่ยปริมาณนิโคตินเฉลี่ย 1.0390-1.9742 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0072-0.2786 ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนโดยทั่วไปต่ำกว่าร้อยละ 5 ยกเว้นเดือนที่ 10

การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัครจำนวน 5 ราย พบว่าปริมาณนิโคตินในช่วงเวลาก่อนเคี้ยว(0 นาที), ภายหลังการเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน ที่เวลา 15, 30 และ 40 นาที พบว่าปริมาณนิโคตินเฉลี่ย 15.9,12.7,14.8 และ 15.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อนำมาหาอัตราการดูดซึมนิโคตินต่อเวลา(นาที) คัดแปลงตามกรรมวิธีการของ Benowitz ,et al. 1988 :24) พบว่า อัตราการดูดซึมนิโคตินภายหลังการเสพ(rate of nicotine absorption) มีค่าเท่ากับ 0 (ก่อนเสพ) , 0.846 ไมโครกรัม/นาที ,0.493 ไมโครกรัม/นาที ,0.3775 ไมโครกรัม/นาที สอดคล้องกับการวิจัยของเบนโนวิทซ์และคณะ (Benowitz ,et al. 1988 :24) คือ พบว่าความเข้มข้นของนิโคตินในกระแสโลหิตในระยะเวลา 40นาที คือ มีค่าเฉลี่ย 14.625 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ขณะที่เบนโนวิชและคณะ ตรวจพบ 14.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และความเข้มข้นของนิโคติน อัตราการดูดซึมของการใช้หมากฝรั่งผสมนิโคตินจะค่อยๆ ลดต่ำลงเมื่อร่างกายมีความอยากบุหรี่ (0 นาฬิกา) และภายหลังการเคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคติน อัตราการดูดซึมจะค่อยๆ สูงขึ้นและมีค่าสูงสุด เมื่อเวลา 15 นาที พบปริมาณนิโคตินกระแสโลหิต 0.846 ไมโครกรัม/นาฬิกา และ 0.3775 ไมโครกรัม/นาฬิกา ตามลำดับ สอดคล้องกับผลการสัมภาษณ์อาสาสมัคร พบว่าความอยากบุหรี่ยะลดลงเมื่อเวลาผ่านไป 15 นาที

ข้อเสนอแนะ

1. การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินจากหมากฝรั่งผสมนิโคตินและ โลหิตของอาสาสมัคร ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร ควรใช้สารละลายเฟสเคลื่อนที่ (บัฟเฟอร์) ที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น เนื่องจากขั้นตอนการสกัดสารนิโคติน จะถูกสกัดด้วยกรด ทำให้โครมาโทแกรมที่ได้ปรากฏเป็นพีคซ้อนทับ เนื่องจากนิโคตินสามารถถูกโปรตอนเนตด้วยกรด

2. ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ได้คำร้องขอการกลับคืนค่าน้ำล้างต่ำ เนื่องจากสกัดสารตัวอย่างด้วยกรดไฮโดรคลอริก และสกัดเพียงครั้งเดียว ในงานวิจัยครั้งต่อไปควรทำการสกัดตัวอย่างด้วยตัวทำละลายชนิดอื่นๆ ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน อีกทั้งรูปแบบการบรรจุผลิตภัณฑ์และกระบวนการเก็บรักษาหมากฝรั่งผสมนิโคตินก็มีผลต่อการศึกษาในงานวิจัยนี้ด้วย ดังนั้นในงานวิจัยครั้งต่อไปควรทำการศึกษารูปแบบการบรรจุผลิตภัณฑ์และกระบวนการเก็บรักษาหมากฝรั่งผสมนิโคตินเพิ่มเติม

3. สามารถประยุกต์ใช้วิธีการวิจัยนี้กับสารประกอบอัลคาลอยด์ชนิดอื่นๆ

4. คำพาราเมเตอร์ควรทำการเก็บข้อมูลทุกครั้งที่ทำกรวิจัยด้วยเครื่องมือ

5. ในการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคตินของงานวิจัยครั้งนี้ พบว่าได้ปริมาณนิโคตินค่อนข้างต่ำ เนื่องจากหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่ผลิตขึ้นมีส่วนประกอบของน้ำตาล ไอซิ่งและกลูโคส ซึ่งนิโคตินในรูปธรรมชาติ (เบส) สามารถเกิดอันตรกิริยากับน้ำตาลได้ ดังนั้นการสกัดปริมาณนิโคตินจากหมากฝรั่งผสมนิโคติน อาจไม่สามารถตัดพันธะระหว่างนิโคติน (เบส) กับน้ำตาลได้หมด จึงมีนิโคตินบางส่วนถูกดึงไว้โดยน้ำตาล ดังนั้น การทดลองการหาปริมาณนิโคตินในหมากฝรั่งผสมนิโคติน จึงควรผลิตหมากฝรั่งผสมนิโคตินที่ไม่มีส่วนประกอบของน้ำตาล

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

- 'ทารกอยู่ในครรภ์สูบบุหรี่เสี่ยงเข้าโรงพยาบาลมากขึ้น 30%', (2545, 12 มีนาคม). แนวหน้า 15
- "คนไทยสูบบุหรี่ 12ล.คน-เกือบครึ่งซิดของนอก", (2545, 15 มกราคม). มติชน 18
- เต็ม สมิตินันท์.(2523). *ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย(ชื่อพฤกษศาสตร์และชื่อพื้นเมือง)*. กรุงเทพฯ :
พืชนี้พิบลีซิง.
- ทรงยศ ประมวลญาติ ธวสินี แสนเสนา และจิราภรณ์ นพเดช. (2546). *การเลิกสูบบุหรี่ แนวทาง
การประยุกต์ใช้ในภาคสาธารณสุข*.(Online). <http://www.pha.nu.ac.th/practice/commu/smoking.ppt>
- อัจฉรา บัวชื่น.(2545). *การหาปริมาณ Resveratrol ในไวน์และผลองุ่น โดยเทคนิคโครมาโทกราฟี
ของเหลวแบบสมรรถนะสูง*.ปริญญาานิพนธ์ กศ.ม.(เคมี). กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัย ศรีนครินทรวิโรฒ. อุดลำนเา.
- 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-Ethylenylpyridine
Indoor", *Chromatographic*. 43: 296-300.
- Benowitz N.L., Porchet H.&Skeiner L.(1988). "Nicotine Absorption and Cardiovascular
Effects Smokeless Tobacco Use: Comparison with Cigarettes and Nicotine Gum",
Clinical Pharmacology and Therapeutics. 44: 24.
- Dash,A.W. & Wong,S.T.(1996, April). "Liquid Chromatographic Method for the Determination
of Nicotine in Pharmaceutical Formulation", *Journal of Chromatography A*. 749: 81-
85.
- Feyerabend, Levitt & Russell. (1975,December). "A Rapid Gas Liquid Chromatographic
Estimation of Nicotine in Biological Fluid",*Journal Pharmacy and Pharmacology*.27:
434-436.
- Feyerabend, Levitt & Russell.(1979,July). "Improved Gas Chromatographic and Micro-
extraction in Biological Fluid",*Journal Pharmacy and Pharmacology*.31: 73-76.

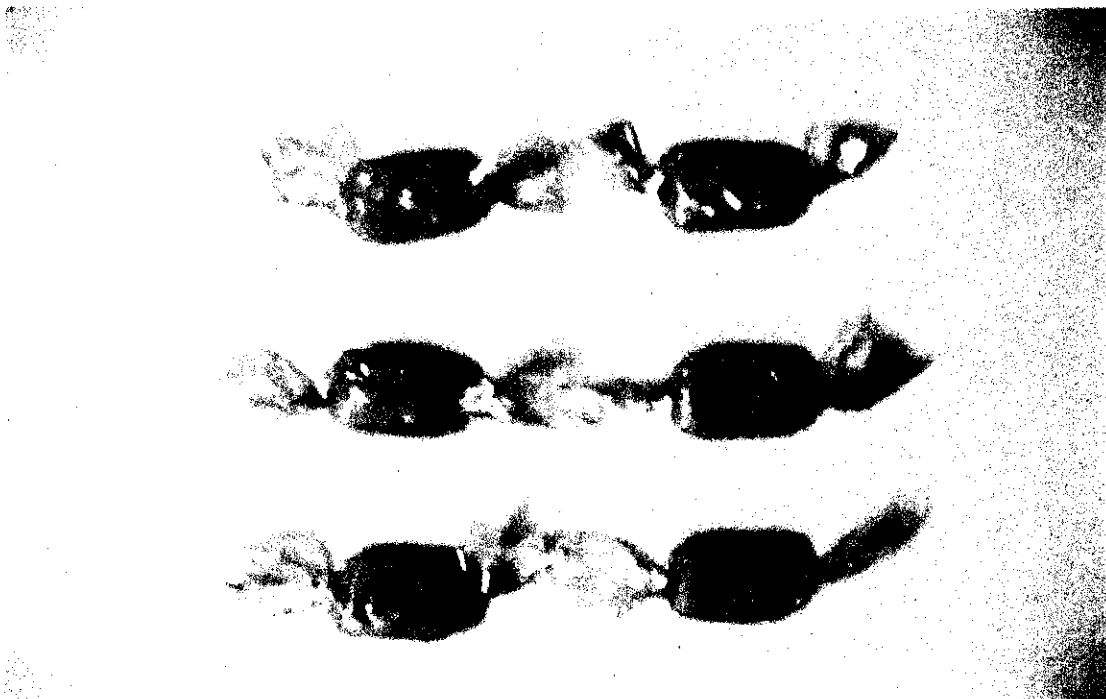
- Hager, B. & Niessner, R. (1997,February). "On the Distribution of Nicotine Between the Gas and Particle Phase and Its Measurement", *Aerosol Science And Technology*.26 : 163-164.
- McClave, J.T.,et al.(2001).Statistics for Business and Economics.Prentice-Hall,Inc. New Jersey. pp: 54-69.
- Pankow, J.F.,et al.(1997,August). "Convoersion of Nicotine in Tobacco Smoke to Its Volatile and Available Free Base from throught 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. 612(2) : 302-309.
- Svob Troje Z.,Frobe Z.& Perovic D.(1997,March). "Analysis of Selectd Alkaliods and Sugars in Tobacco Extract", *Journal of Chromatography A*. 775: 101-107.
- Thaned Pongjanyakul.(2000). *Development of Acrylic Adhesive Type Nicotine Transdermal Patches*.Dissertation Thesis,Ph.D.(Pharmaceutics).Bangkok : Graduate,Pharmacology. Mahidol University.Photocopied.

ภาคผนวก

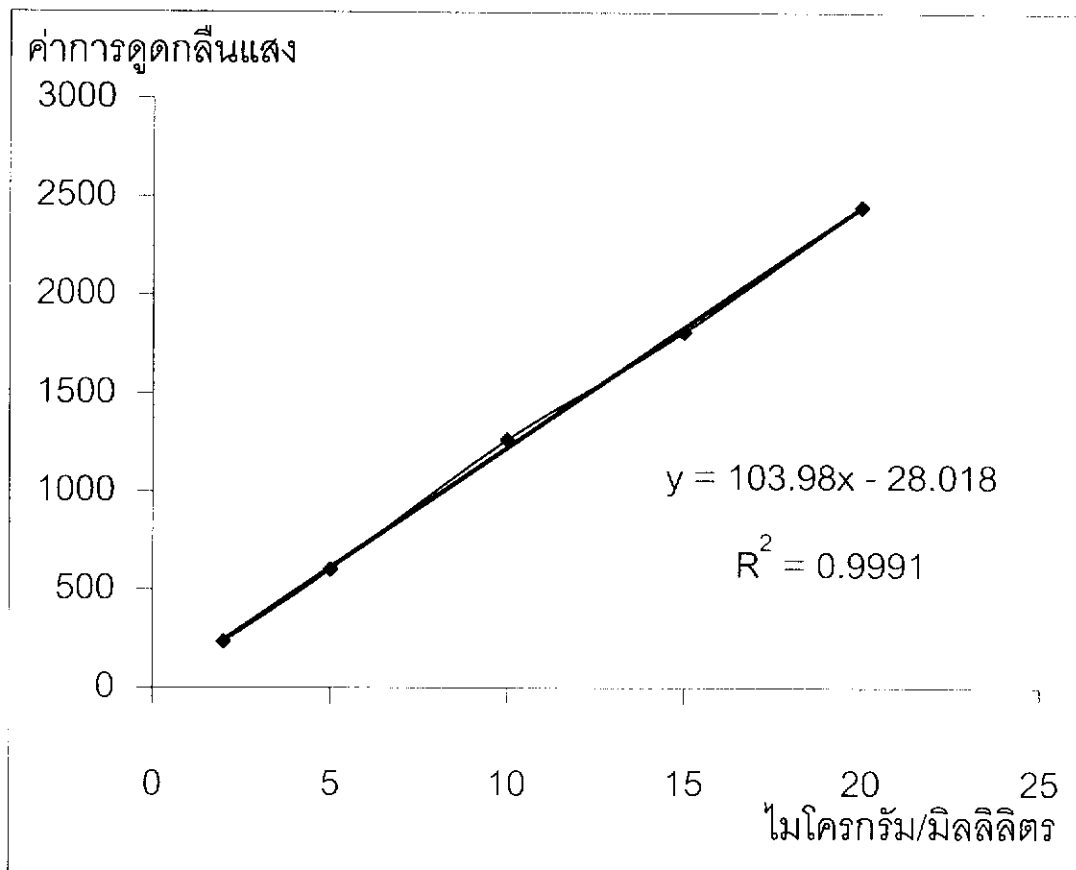
ภาคผนวก ก



ภาพประกอบ 20 หมากฝรั่งผสมนิโคติน เครื่องหมายการค้า nicorette
สูตร 2 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส



ภาพประกอบ 21 หมากฝรั่งผสมนิโคติน สูตร 2 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส

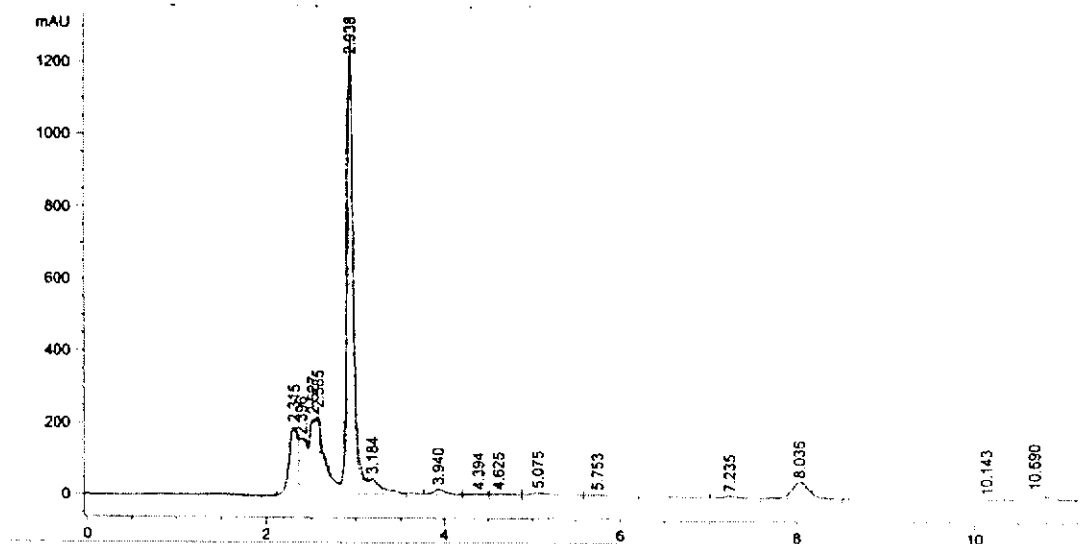


ภาพประกอบ 22 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานนิโคติน สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ

นิโคตินในโลหิตของอาสาสมัครที่ความเข้มข้น 2.0, 5.0, 10.0, 15.0 และ 20.0

ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

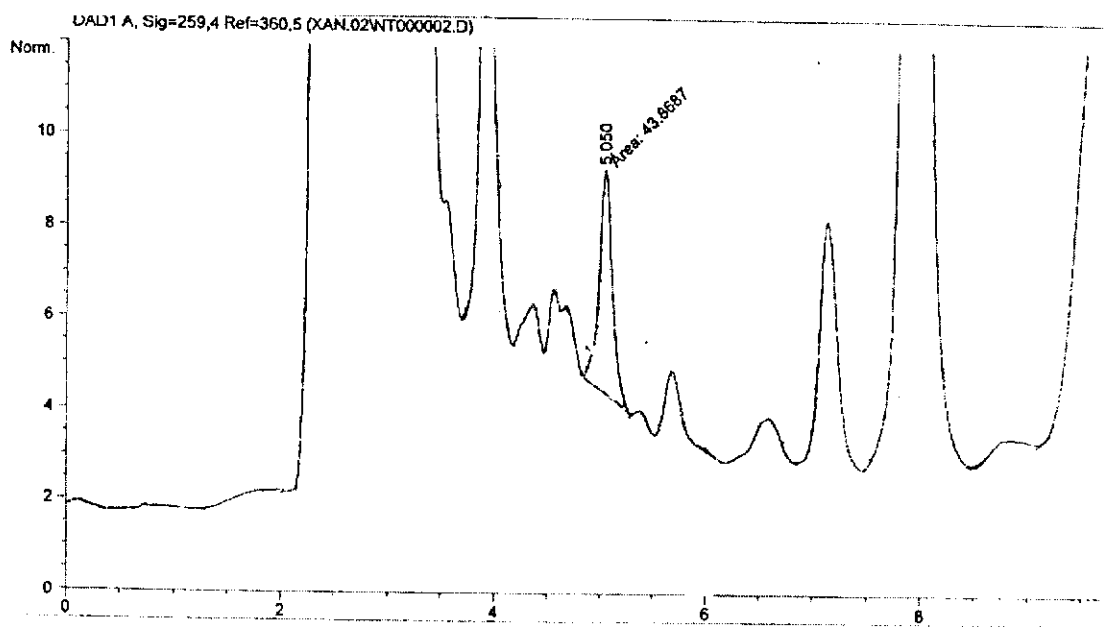
ค่าการดูดกลืนแสง



ระยะเวลารีเทนชัน

ภาพประกอบ 23 โครมาโทแกรมของนิโคตินในไลหิตของอาสาสมัคร ก่อนเคี้ยวหมากฝรั่งผสม
นิโคตินสูตร 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

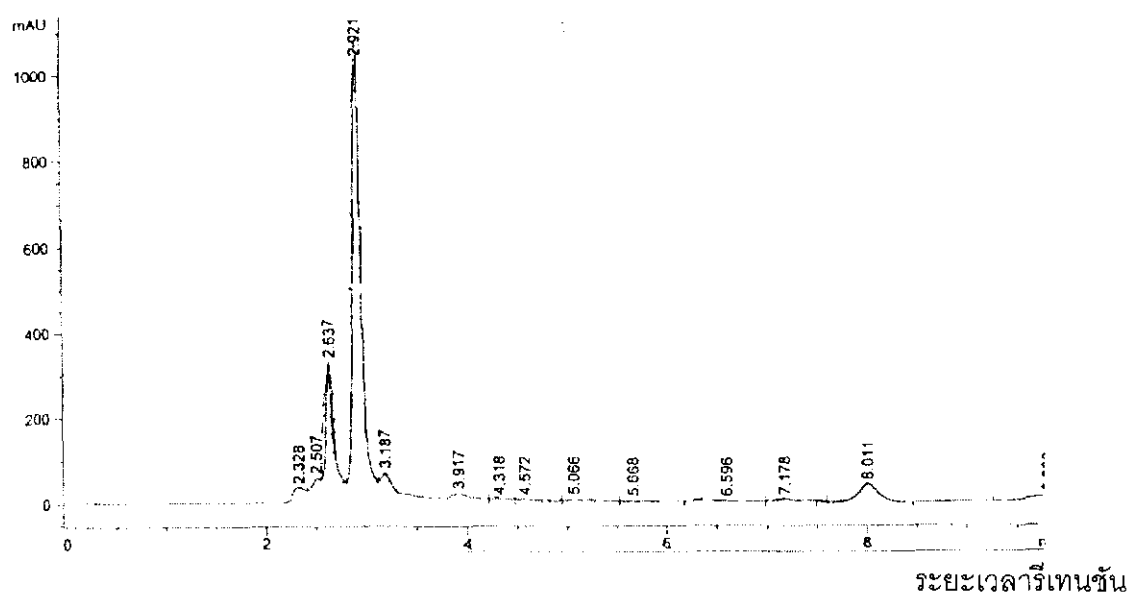
ค่าการดูดกลืนแสง



ระยะเวลารีเทนชัน

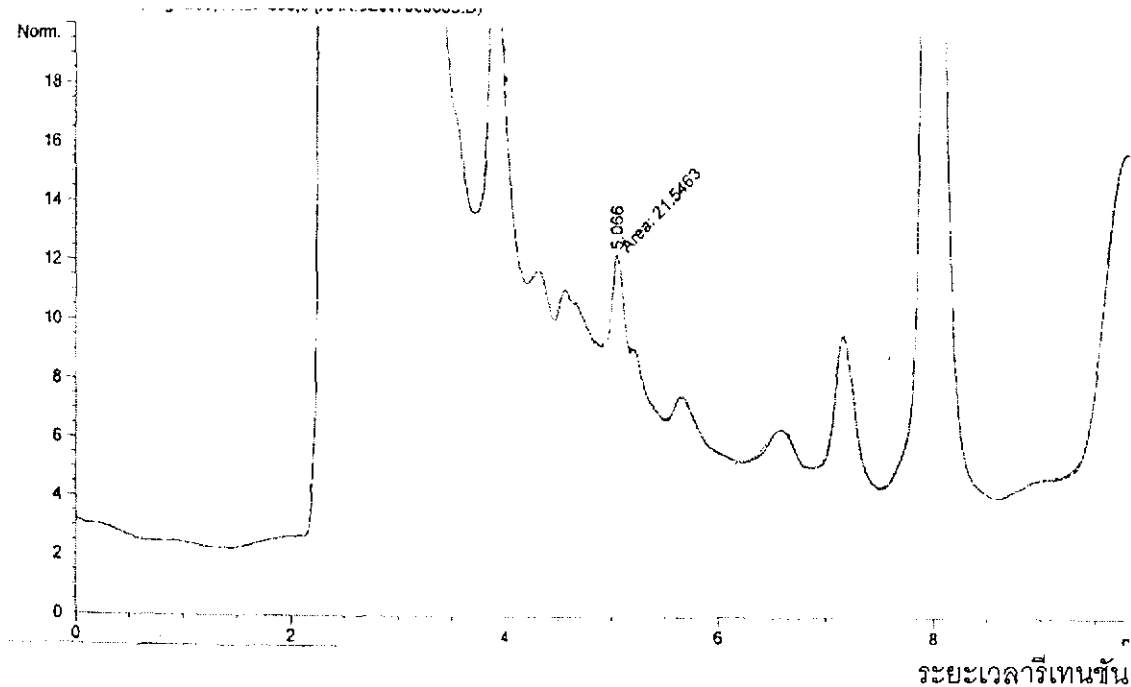
ภาพประกอบ 24 การขยายสัญญาณโครมาโทแกรมของนิโคตินในไลหิตของอาสาสมัคร ก่อน
เคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคตินสูตร 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259
นาโนเมตร

ค่าการดูดกลืนแสง



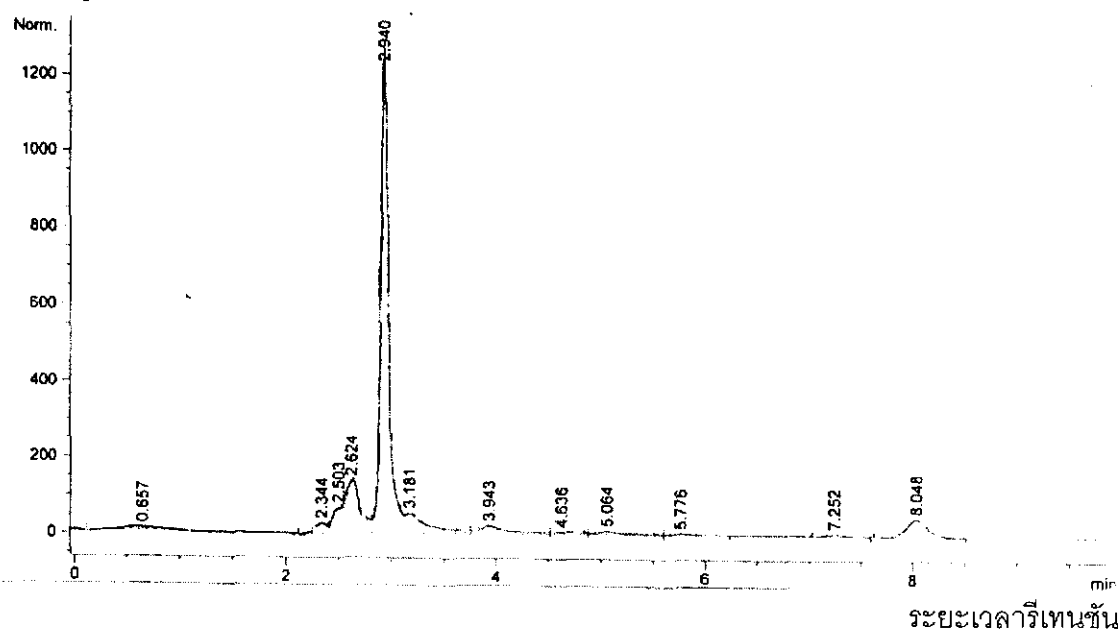
ภาพประกอบ 25 โครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร หลังเคี้ยวหมากฝรั่งผสม
นิโคตินสูตร 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส 15 นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

ค่าการดูดกลืนแสง



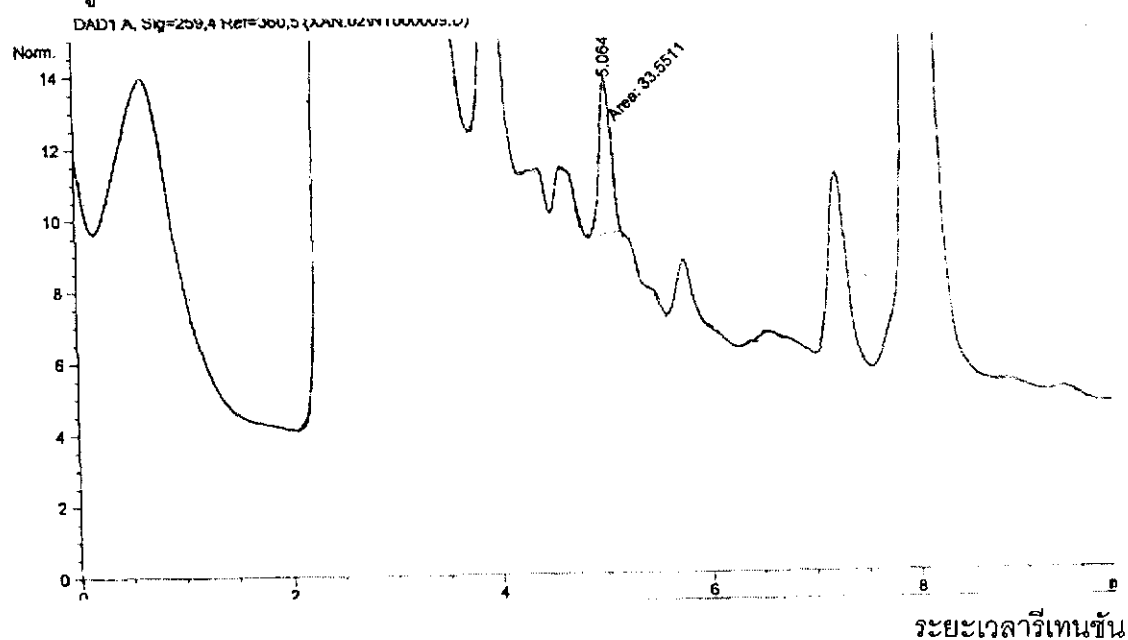
ภาพประกอบ 26 การขยายสัญญาณโครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร หลัง
เคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคตินสูตร 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส 15 นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น
259 นาโนเมตร

ค่าการดูดกลืนแสง



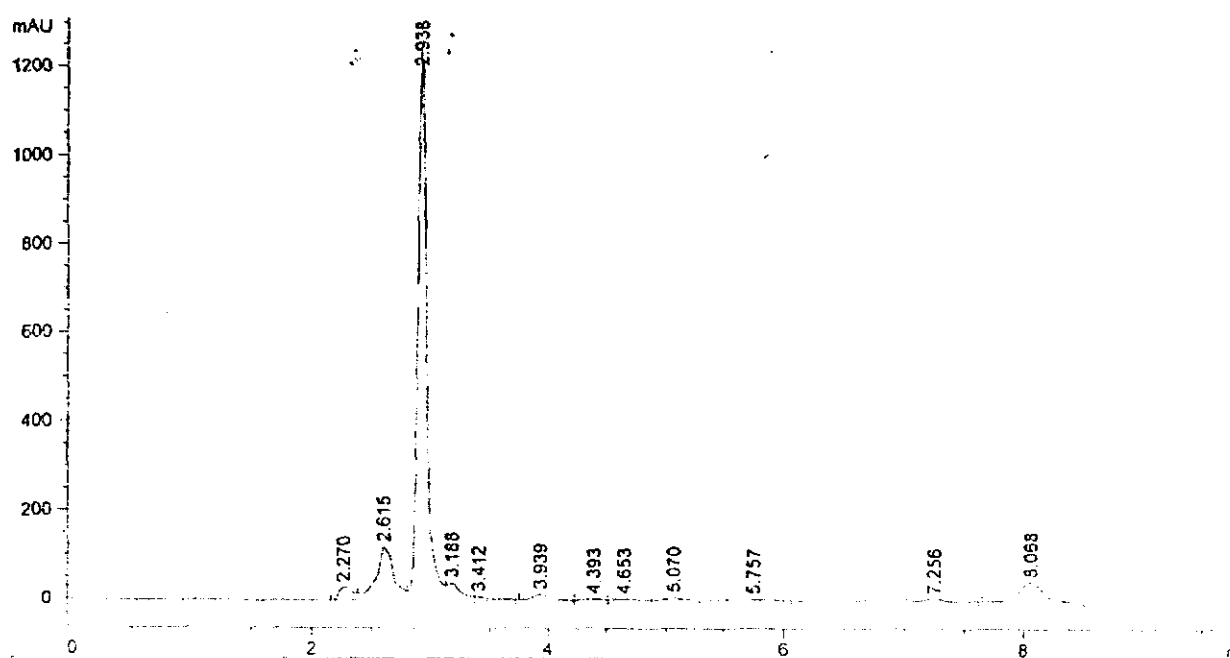
ภาพประกอบ 27 โครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร หลังเคี้ยวหมากฝรั่งผสม
นิโคตินสูตร 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส 30 นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

ค่าการดูดกลืนแสง



ภาพประกอบ 28 การขยายสัญญาณโครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร หลัง
เคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคตินสูตร 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส 30 นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น
259 นาโนเมตร

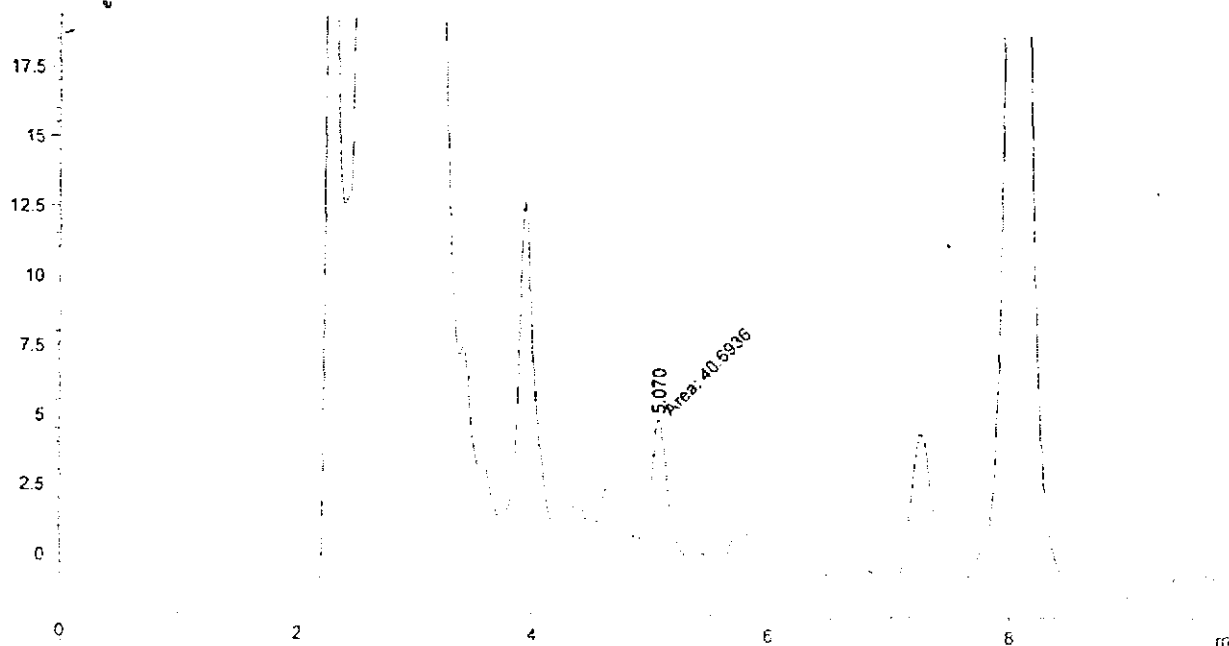
ค่าการดูดกลืนแสง



ระยะเวลารีเทนชัน

ภาพประกอบ 29 โครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร หลังเคี้ยวหมากฝรั่งผสม
นิโคตินสูตร 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส 40 นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 259 นาโนเมตร

ค่าการดูดกลืนแสง



ระยะเวลารีเทนชัน

ภาพประกอบ 30 การขยายสัญญาณโครมาโทแกรมของนิโคตินในโลหิตของอาสาสมัคร หลัง
เคี้ยวหมากฝรั่งผสมนิโคตินสูตร 4 มิลลิกรัม/1 กรัม กัมเบส 40 นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น
259 นาโนเมตร

ภาคผนวก ข
แบบสอบถามอาสาสมัคร

ประวัติย่ออาสาสมัคร

1.ข้อมูลรายบุคคล

ชื่อ
ที่อยู่ บ้านเลขที่ หมู่ ตำบล
อำเภอ จังหวัด รหัสไปรษณีย์
โทรศัพท์
วันเดือนปีเกิด อายุ ปี เดือน
สัญชาติ ศาสนา สถานภาพ
เพศ น้ำหนัก กิโลกรัม ส่วนสูง เซนติเมตร

2.ประวัติการติดบุหรี่

เริ่มสูบบุหรี่เมื่ออายุ ปี รวมระยะเวลาที่สูบบุหรี่ ปี
อัตราการการบริโภคบุหรี่ มวน/วัน
ญาติ คน หญิง คน ชาย คน
ญาติที่ติดบุหรี่ คน หญิง คน ชาย คน

3.ความรู้สึกอยากสูบบุหรี่

3.1 มวนแรกของวันเริ่มสูบเมื่อเวลาใด

A.ตื่นนอน B.หลังอาบน้ำ C.หลังรับประทานอาหารเช้า... D. อื่นๆ.....

3.2 ท่านรู้สึกอยากสูบบุหรี่เมื่ออยู่ในภาวะใด(ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

A.เครียด B.อารมณ์ดี C.อยากอาหาร D.เมื่อดื่มเครื่องดื่มที่มีส่วนผสมคาเฟอีน E. อื่นๆ.....

3.3 ความรู้สึกอยากสูบบุหรี่หลังทานหมากฝรั่งผสมนิโคติน สูตร 4 mg/1 กรัม กัมเบต

เมื่อเวลาผ่านไป 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 และ 40 นาที [(อยาก (/), ไม่อยาก (X), เฉยๆ (-)]

นาที	0	5	10	15	20	25	30	35	40
ความรู้สึก									

4. ข้อความรับทราบ่วาวิธีในการเจาะเลือดอาสาสมัครมีความสะอาดและปลอดภัยโรคและเชื้อ HIV

ข้าพเจ้าได้รับทราบแล้วว่าวิธีการเจาะเลือดซึ่งเป็นขั้นตอนหนึ่งที่มีอยู่ใน
 วิทยานิพนธ์เรื่องการวิเคราะห์เชิงปริมาณในโลหิตของอาสาสมัคร และหมากฝรั่งผสมนิโคตินโดยใช้เทคนิคโครมา-
 โทกราฟี โดยการเจาะเลือดของข้าพเจ้านั้นได้รับความอนุเคราะห์โดยนางพยาบาลประจำห้องพยาบาล
 มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ รวมทั้งอุปกรณ์ที่ใช้ในการเจาะเลือดมีความสะอาด โดยเฉพาะเข็มฉีดยาที่ใช้ใน
 การเจาะเลือดมีสภาพก่อนการใช้งานบรรจุอยู่ในซองพลาสติก และไม่เคยผ่านการใช้งานมาก่อน

ข้าพเจ้าขอรับทราบไว้ ณ ที่นี้

.....

ประวัติย่อผู้วิจัย

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ ชื่อสกุล	นางสาวสุนทรี เลิศศรีสุขสันต์
วันเดือนปีเกิด	7 ธันวาคม 2523
สถานที่เกิด	อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	28/2 หมู่ 1 ตำบลดอนก่ายาน อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2536	ประถมศึกษาปีที่ 6 โรงเรียนอนุบาลสุพรรณบุรี
พ.ศ. 2541	มัธยมศึกษาปีที่ 6 โรงเรียนศูนย์การศึกษานอกโรงเรียนจังหวัดสุพรรณบุรี
พ.ศ. 2545	วท.บ. เคมี มหาวิทยาลัยทักษิณ
พ.ศ. 2548	วท.ม. เคมีชีวภาพ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ