การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่นสำหรับการตรวจวัดสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก

Solid Phase Extraction with Gas Chromatography–Flame Ionization Technique for Determination of Pharmacologically Active Adulterants in Slimming Products

วริยา เกตุแก้ว

Wariya Ketkaew

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขานิติวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Forensic Science
Prince of Songkla University

2566

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่นสำหรับการตรวจวัดสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก

Solid Phase Extraction with Gas Chromatography–Flame Ionization Technique for Determination of Pharmacologically Active Adulterants in Slimming Products

วริยา เกตุแก้ว
Wariya Ketkaew

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขานิติวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Forensic Science
Prince of Songkla University
2566

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่นสำหรับการตรวจวัดสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก

ผู้เขียน นางสาววริยา เกตุแก้ว

สาขาวิชา นิติวิทยาศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อภิชัย พลชัย)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....

(รองศาตราจารย์ ดร. เบญจมาศ จันทร์ฉวี)

.....

(ผู้ช่วยศาตราจารย์ ดร. สถาพร พฤฒิพรรลาย)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ

(ดร. ณิชนันทน์ สิรสุนทร)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อภิชัย พลชัย)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. เบญจมาศ จันทร์ฉวี)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สถาพร พฤฒิพรรลาย)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วงศ์กฎ ภู่ภูมิรัตน์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์ สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เถกิง วงศ์ศิริโชติ)

รักษาการแทนคณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อภิชัย พลชัย)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ .....
(รองศาสตราจารย์ ดร. เบญจมาศ จันทร์ฉวี)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

ลงชื่อ .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สถาพร พฤฒิพรรลาย)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

ลงชื่อ .....
(นางสาววริยา เกตุแก้ว)
นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ .....
(นางสาววริยา เกตุแก้ว)
นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่นสำหรับการตรวจวัดสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก
ผู้เขียน นางสาววริยา เกตุแก้ว
สาขาวิชา นิติวิทยาศาสตร์
ปีการศึกษา 2565

บทคัดย่อ

วิทยานิพนธ์นี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น สำหรับตรวจวัดสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาประกอบด้วยเมทแอมเฟตามีน คาเฟอีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอลในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักต้องสงสัย ศึกษาโดยใช้การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งชนิดไฮโดรฟิลิก-ลิโพฟิลิก บาลานซ์ หรือ เอช แอล บี ในการสกัดและกำจัดตัวรบกวนในตัวอย่าง ขั้นตอนการสกัดทำได้โดยสารละลายตัวอย่างปริมาตร 1.00 mL ถูกปรับให้เป็นสารละลายที่มีสภาวะเป็นเบส pH เท่ากับ 12 และเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 15% (w/v) จากนั้นทำการปรับสภาพของตัวดูดซับของแข็งด้วยเมทานอลปริมาตร 1.00 mL และน้ำปริมาตร 1.00 mL ตามลำดับ โหลดสารละลายตัวอย่างปริมาตร 1.00 mL ลงในตัวดูดซับของแข็ง กำจัดตัวรบกวนด้วยตัวทำละลาย 20% เมทานอลในน้ำปริมาตร 1.00 mL และตัวอย่างถูกชะด้วยตัวทำละลาย 70% เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% กรดอะซิติกปริมาตร 1.00 mL ร่วมกับการใช้อะซิโตไนไตร์ปริมาตร 1.00 mL ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งและการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางแก๊สโครมาโทกราฟี วิธีที่พัฒนาขึ้นให้ค่าร้อยละประสิทธิในการสกัดสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา 5 ชนิดอยู่ในช่วง 81–113% และสามารถตรวจวัดสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาได้พร้อมกันภายในเวลา 13.9 นาที มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.5–100 mg L^{-1} (ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์อยู่ในช่วง 0.9987–0.9997) มีค่าขีดจำกัดการตรวจพบในช่วง 0.05–0.09 mg L^{-1} และมีค่าขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณในช่วง 0.15–0.30 mg L^{-1} ค่าความเที่ยงของการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกันและระหว่างวันให้ค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพันธ์อยู่ในช่วง 0.39–9.24% และ 0.63–10.88% ตามลำดับ ค่าความแม่นของวิธีภายในวันเดียวกันและระหว่างวันให้ค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 85.36–112.62% และ 85.61–106.14% ตามลำดับ วิธีที่พัฒนาขึ้นได้นำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจหาสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักในพื้นที่จังหวัดสงขลา จำนวน 4 ชนิดตัวอย่าง ได้แก่ ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสมุนไพรลดน้ำหนัก ผลิตภัณฑ์กาแฟลดน้ำหนัก และผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักชนิดชงดื่ม สามารถตรวจพบสารไซบูทรามีนปลอมปนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักจำนวน 3 ตัวอย่าง มีความเข้มข้นในช่วง 1.9–248.1 mg L^{-1} และยังตรวจพบสารคาเฟอีนและฟลูออกซิทีนในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักจำนวน 1 ตัวอย่าง จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับการตรวจวิเคราะห์สาร

ปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น เป็นวิธีที่มีความถูกต้องและแม่นยำสูง เชื่อถือได้ สามารถกำจัดตัวรบกวนก่อนการวิเคราะห์ได้ดี ให้ประสิทธิภาพในการสกัดที่ดี และเหมาะสำหรับตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักต้องสงสัยในห้องปฏิบัติการในหน่วยงานด้านการคุ้มครองผู้บริโภคและนิติวิทยาศาสตร์

Thesis Title Solid phase extraction with gas chromatography– flame ionization technique for determination of pharmacologically active adulterants in slimming products
Author Miss Wariya Ketkaew
Major Program Forensic Science
Academic Year 2022

Abstract

The aim of this thesis is to develop a solid phase extraction method with gas chromatography–flame ionization technique for determination of pharmacologically active adulterants, including methamphetamine (MA), caffeine (CAF), sibutramine (SIB), fluoxetine (FLU), and tramadol (TAM) in suspected slimming products. Hydrophilic–lipophilic balance or HLB sorbent material was used for extraction and purification of sample. For Oasis HLB® extraction, a 1.00 mL aliquot of sample was alkalinized to pH 12 and was added with an 15% w/v sodium chloride prior to undergoing solid phase extraction. The sample solution was loaded onto the cartridge which was preconditioned with 1.00 mL methanol and 1.00 mL deionized water. The cartridge was washed with 1.00 mL of 20% (v/v) methanol: water mixture. The target analytes were eluted with 1.00 mL 70% (v/v) methanol: water mixture containing 2% acetic acid and 1.00 mL acetonitrile. Under optimum conditions with gas chromatographic technique, the proposed method provides the extraction efficiency of five pharmacologically active adulterants in the range of 81– 113%. All analytes were well separated within 13.9 min. The proposed method provided the linearity at a concentration of 0.5–100 mg L^{-1} (r^2 > 0.9987–0.9997) for five pharmacologically active adulterants. Limits of detection and quantification were 0.05–0.09 mg L^{-1} and 0.15–0.30 mg L^{-1}, respectively. The intra-day and inter-day precisions were 0.39–9.24% RSD and 0.63–10.88% RSD, respectively. The intra–and inter–day accuracies were 85.36–112.62% and 85.61–106.14%, respectively. The proposed method was then applied for the determination of pharmacologically active adulterants in four different types of slimming products, viz. dietary supplement, herbal slimming product, slimming coffee powder and slimming drink powder. Three slimming products were found to contain SIB in the range of 1.9–248.1 mg L^{-1}. CAF and FLU were detected in one slimming product. These findings indicate that solid phase extraction method with gas chromatography–flame ionization technique for determination of pharmacologically active adulterants is precise, accurate, and reliable. The sample preparation can clean

up sample and provides good extraction efficiency. It would be a useful method to apply in laboratories of the Office of the Consumer Protection and Scientific Crime Detection Center.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาจากบุคคลหลายท่าน หลายฝ่าย และหลายหน่วยงาน จึงขออนุญาต ขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาตราจารย์ ดร. อภิชัย พลชัย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และรองศาตราจารย์ ดร. เบญจมาศ จันทร์ฉวี และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สถาพร พฤฒิพรรลาย อาจารย์ที่ปรึษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้มอบโอกาสในการทำงานวิจัยในครั้งนี้ รวมถึงให้ความรู้ให้คำปรึกษา แนะนำแนวทางในการทำวิจัยตลอดจนชี้แนะแนวทางการแก้ปัญหาที่เป็นประโยชน์ต่อการศึกษาและทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ดร. ณิชนันทน์ สิรสุนทร ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วงศ์กฎ ภู่ภูมิรัตน์ รองศาตราจารย์ ดร. เบญจมาศ จันทร์ฉวี ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สถาพร พฤฒิพรรลาย และ ผู้ช่วยศาตราจารย์ ดร. อภิชัย พลชัย กรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาสละเวลามาเป็นประธานและกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ อีกทั้งกรุณาให้ความรู้ คำปรึกษา ชี้แนะแนวทางอันเป็นประโยชน์ต่อการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่บัณฑิตวิทยาลัย เจ้าหน้าที่ฝ่ายทะเบียนการศึกษาของคณะวิทยาศาสตร์ที่คอยช่วยเหลือตัวผู้เขียนต่อการทำวิจัยครั้งนี้ทั้งด้านการประสานงาน และอำนวยความสะดวกจนทำให้การทำเล่มวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้เป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่และบุคลากรหลักสูตรนิติวิทยาศาสตร์สาขาวิทยาศาสตร์สุขภาพและวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านสถานที่ในการทำวิจัย วัสดุอุปกรณ์และสารเคมีสำหรับการทำวิจัย รวมไปถึงที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือด้านเอกสารต่าง ๆ

ขอขอบพระคุณสมาชิกห้องปฏิบัติการนิติเคมีทุกคน รวมไปถึงเพื่อนๆร่วมหลักสูตรนิติวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่คอยให้คำปรึกษา ให้ความช่วยเหลือด้านต่าง ๆ ในการทำวิทยานิพนธ์และการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณคนสำคัญของใจ บุคคลซึ่งเป็นผู้ที่เฝ้าอ่านหนังสือและทำปฏิบัติการ คอยเป็นทั้งหวานใจและกำลังใจให้ตลอดทั้งการเรียนปริญญาโท เป็นที่ปลอบโยนเมื่อรู้สึกท้อแท้ทำให้สามารถใช้ชีวิตที่มีความสุขทำให้สุขภาพจิตดีอยู่เสมอ

ขอขอบคุณเพื่อนของข้าพเจ้า นางสาววงศ์ชนก ภู่ทอง นางสาวอนัญญา เกลี้ยงสุวรรณ และนางสาวอัฐภิญญา สุขศรีเพ็ง รวมถึงเพื่อนคนอื่น ๆ ที่คอยให้ความช่วยเหลือข้าพเจ้า เป็นผู้ซึ่งให้กำลังใจเวลาเครียด ให้คำปรึกษาในสิ่งที่ข้าพเจ้าไม่สามารถตัดสินใจได้ด้วยตัวเอง ผู้ซึ่งคอยปลอบเวลาร้องไห้ ทำให้ข้าพเจ้ายิ้มได้อยู่เสมอ และผ่านพ้นมาได้ทุกเหตุการณ์จนทำวิจัยเสร็จสิ้น

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอขอบคุณครอบครัวของข้าพเจ้า แม่ผู้อยู่เบื้องหลังความสำเร็จของข้าพเจ้า ผู้ซึ่งให้ความรัก ความดูแลเอาใจใส่ ผู้ซึ่งเป็นห่วงข้าพเจ้าอยู่เสมอทั้งเรื่องสุขภาพและจิตใจ เป็นผู้ให้คำปรึกษาในทุก ๆ เรื่อง เป็นกำลังใจที่ดีของข้าพเจ้าเสมอศึกษาจนสำเร็จการศึกษา

วริยา เกตุแก้ว

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	(5)–(6)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	(7)–(8)
กิตติกรรมประกาศ	(9)
สารบัญ	(10)–(11)
รายการตาราง	(12)–(13)
รายการภาพประกอบ	(14)–(15)
รายการคำย่อ	16
1. บทนำ	
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1-3
1.2 ทบทวนเอกสาร	
1.2.1 ผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักที่มีสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา	3-9
1.2.2 คุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพ	10–14
1.2.3 เภสัชวิทยาของสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา	15–17
1.2.4 เทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก	18–22
1.2.5 เทคนิคการเตรียมตัวอย่าง	22–25
1.3 วัตถุประสงค์	25
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	26
2. วิธีการดำเนินวิจัย	
2.1 สารเคมี	27
2.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์	27
2.3 วัสดุอุปกรณ์	28
2.4 สภาวะที่เหมาะสมของแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น	28–29
2.5 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน	29–30
2.6 การชักตัวอย่าง	30
2.7 การเตรียมผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก	31
2.8 การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง	32
2.9 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของวิธีการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง	33–38
2.10 การศึกษาการพิสูจน์การใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์	38–42
3. ผลการทดลองและอภิปรายผล	43–46
3.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งสำหรับตรวจหาสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น	
3.1.1 การศึกษา pH ที่เหมาะสมของตัวอย่าง	47–49

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.1.2 การศึกษาอัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำที่ใช้ในการกำจัดตัวรบกวน	49–50
3.1.3 การศึกษาปริมาตรที่ใช้ในการกำจัดตัวรบกวน	51–52
3.1.4 การศึกษาอัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำที่ใช้ในการชะตัวอย่าง	52–54
3.1.5 การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการชะแบบที่ 1 และ 2	54–56
3.1.6 การศึกษาปริมาตรของตัวทำละลาย 70% v/v เมทานอลในน้ำ ผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติกใช้ในการชะตัวอย่างขั้นตอนที่ 1	56–57
3.1.7 การศึกษาปริมาตรของตัวทำละลายอะซิโตไนไตล์ใช้ในการชะตัวอย่าง ขั้นตอนที่ 2	58
3.1.8 การศึกษาความแรงของไอออน	59–60
3.2 การศึกษาการพิสูจน์การใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์	
3.2.1 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงและช่วงความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ (linearity and range)	61
3.2.2 ขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection: LOD)	61–62
3.2.3 ขีดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (limit of quantification: LOQ)	62
3.2.4 ความเที่ยงของวิธี (precision of method)	63–65
3.2.5 ความแม่นของวิธี (accuracy of method)	58–60
3.2.6 ความจำเพาะ (selectivity)	65–68
3.3 การวิเคราะห์สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก	69–73
4. บทสรุปและข้อเสนอแนะ	
4.1 บทสรุป	74–75
4.2 ข้อเสนอแนะ	76
บรรณานุกรม	77–86
ภาคผนวก	87–117
ประวัติผู้เขียน	118

รายการตาราง

หน้า

ตารางที่ 1.1 แสดงตัวอย่างที่มีการปลอมปนสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก 7–9
ตารางที่ 1.2 แสดงคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของสารไซบูทรามีน 10
ตารางที่ 1.3 แสดงคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของสารฟลูออกซิทีน 11
ตารางที่ 1.4 แสดงคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของสารเมทแอมเฟตามีน 12
ตารางที่ 1.5 แสดงคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของสารคาเฟอีน 13
ตารางที่ 1.6 แสดงคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของสารทรามาดอล 14
ตารางที่ 2.1 แสดงสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทาง เภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก 28–29
ตารางที่ 2.2 แสดงอัตราส่วนของปริมาตรสารมาตรฐานผสมกับเมทานอลสำหรับ การเตรียมสารมาตรฐานผสมที่ความเข้มข้น 0 ถึง 100 mg L^{-1} และสารมาตรฐานภายในที่ความเข้มข้น 25 mg L^{-1} 30
ตารางที่ 3.1 แสดงประสิทธิภาพการแยกสารมาตรฐานเมทแอมเฟตามีน สารมาตรฐานภายใน (ไดฟีนิลลามีน) คาเฟอีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอล 45
ตารางที่ 3.2 ผลของการคำนวณค่าร้อยละการไม่แตกตัวเป็นไอออนของสารเมทแอมเฟตามีน คาเฟอีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอล ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก ที่ pH 6-14 49
ตารางที่ 3.3 ผลของการศึกษาการใช้ได้ของวิธีสำหรับตรวจหาสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักด้วยการสกัดด้วยตัว ดูดซับของแข็งร่วมกับแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น 61
ตารางที่ 3.4 ผลของการคำนวณค่าขีดจำกัดการตรวจพบสำหรับตรวจหาสารปลอมปนที่มี ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักด้วยการสกัดด้วยตัว ดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น 62
ตารางที่ 3.5 ผลของการคำนวณค่าขีดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณสำหรับตรวจสารหา ปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักด้วยการสกัด ด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น 62
ตารางที่ 3.6 ผลของความเที่ยงของวิธีภายในวันเดียวกันสำหรับการตรวจหาสารปลอมปนที่มี ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก (เมทเอมเฟตามีน คาแฟอีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอล) 64
ตารางที่ 3.7 ผลของความเที่ยงของวิธีระหว่างวันสำหรับการตรวจหาสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทาง เภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักที่มีการเติมสารมาตรฐาน (เมทเอมเฟตามีน คาแฟอีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอล) 65

รายการตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 3.8 ผลของความแม่นของวิธีภายในวันเดียวกันสำหรับการตรวจหาสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก (เมทเอมเฟตามีน คาแฟอีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน และ ทรามาดอล) 66

ตารางที่ 3.9 ผลของความเที่ยงของวิธีระหว่างวันสำหรับการตรวจหาสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักที่มีการเติมสารมาตรฐาน (เมทเอมเฟตามีน คาแฟอีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอล) 67

ตารางที่ 3.10 แสดงผลการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักจำนวน 5 ตัวอย่าง 70

ตารางที่ 3.11 แสดงองค์ประกอบของตัวอย่าง แหล่งผลิต และแหล่งที่มาของการซื้อผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักจำนวน 5 ตัวอย่าง 71

ตารางที่ 3.12 แสดงผลการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีการเติมสารมาตรฐานที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและทำการวิเคราะห์ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม 72–73

รายการภาพประกอบ

หน้า

ภาพที่ 2.1 แสดงกระบวนการเตรียมผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักเพื่อนำไปใช้ในการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี– เฟลมไอออไนเซชั่น 31

ภาพที่ 2.2 แสดงกระบวนการสกัดสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับ การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น 32

ภาพที่ 3.1 แสดงโครมาโทแกรมของการแยกสารมาตรฐานผสมที่ความเข้มข้น 25 mg L^{-1} และสารมาตรฐานภายในที่ความเข้มข้น 25 mg L^{-1} ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น 44

ภาพที่ 3.2 แสดงโครงสร้างของโพลีสไตรีน-ไดไวนิลเบนซีน-เอ็น-ไวนิล ไพโรลิโดน โคพอลิเมอร์ 46

ภาพที่ 3.3 แสดงผลของการศึกษา pH ของตัวอย่างที่เหมาะสมสำหรับสกัดสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น 48

ภาพที่ 3.4 แสดงผลของการศึกษาอัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำที่ใช้ในการกำจัดตัวรบกวนที่เหมาะสมสำหรับสกัดสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น 50

ภาพที่ 3.5 แสดงผลของการศึกษาปริมาตรตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการกำจัดตัวรบกวนที่เหมาะสมสำหรับสกัดสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น 52

ภาพที่ 3.6 แสดงผลของการศึกษาอัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำปราศจากไอออนที่ใช้ในการชะตัวอย่างที่เหมาะสมสำหรับสกัดสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น 54

ภาพที่ 3.7 แสดงผลของการศึกษาเปรียบเทียบการชะตัวอย่างแบบที่ 1 และ 2 ที่เหมาะสมสำหรับสกัดสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น 56

ภาพที่ 3.8 แสดงผลของการศึกษาปริมาตรของตัวทำละลาย 70% v/v เมทานอลในน้ำปราศจากไอออนผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติก ที่เหมาะสมในการนำมาใช้ในการชะตัวอย่างขั้นตอนที่ 1 สำหรับสกัดสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น 57

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 3.9 แสดงผลของการศึกษาปริมาตรของตัวทำละลายอะซิโตไนไตล์ที่เหมาะสมในการนำมาใช้ในการชะตัวอย่างขั้นตอนที่ 2 สำหรับสกัดสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น 58

ภาพที่ 3.10 แสดงผลของการศึกษาความแรงของไอออนโดยการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ในตัวอย่างที่เหมาะสมสำหรับสกัดสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น 60

ภาพที่ 3.11 แสดงผลโครมาโทแกรมของสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก (a) ตัวอย่างสารละลายแบลงค์ที่ผ่านการสกัด (b) ตัวอย่างที่มีการเติมสารมาตรฐานที่ผ่านการสกัด (c) ตัวอย่างที่ไม่ผ่านการสกัดที่ตรวจวัดด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น 68

ภาพที่ 3.12 แสดงผลโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานผสมและผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก (a) สารมาตรฐานผสมที่ความเข้มข้น 25 mg L^{-1} (b) ตัวอย่างชนิด A (c) ตัวอย่างชนิด B (d) ตัวอย่างชนิด C (e) ตัวอย่างชนิด D และ (f) ตัวอย่างชนิด E 70

รายการตัวย่อ

AOAC	Association of Analytical Communities
MA	Methamphetamine
CAF	Caffeine
SIB	Sibutramine
FLU	Fluoxetine
TAM	Tramadol
IS	Internal standard
NaCl	Sodium chloride
KOH	Potassium hydroxide
MeOH	Methanol
D.I. water	Deionized water
SPE	Solid phase extraction
HLB	Hydophilic-lipophilic balance
PS-DVB-VP	Polystyrene-divinylbenzene-*N*-vinylpyrrolidone copolymer
GC–FID	Gas chromatography–flame ionization detection
FDA	Food and Drug Administration
UNODC	United Nations Office on Drugs and Crime

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก (slimming products) เป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการลดน้ำหนักสำหรับบุคคลที่มีปัญหาเกี่ยวกับน้ำหนักหรือรูปร่างที่ไม่พึงพอใจ ซึ่งผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักอาจเป็นตัวช่วยที่สะดวกในการลดน้ำหนักที่ต้องการ ผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักมีหลายชนิดสามารถหาซื้อได้ง่ายในร้านค้าทั่วไปหรือในตลาดออนไลน์ลดน้ำหนัก เนื่องจากประหยัดเวลาสำหรับผู้ที่ไม่มีเวลาออกกำลังกายหรือผู้ที่ไม่นิยมการออกกำลังกาย อย่างไรก็ตามในปัจจุบันได้มีข่าวผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักที่มีขายตามท้องตลาดมักพบการโฆษณาอวดอ้างสรรพคุณบนฉลากเกินจริงและโฆษณาที่เป็นเท็จ หลอกลวงผู้บริโภค และมักมีสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก เช่น สารไซบูทรามีน (sibutramine) ฟลูออกซิทีน (fluoxetine) นิโคทินาไมด์ (nicotinamide) เมทแอมเฟตามีน (methamphemine) ทรามาดอล (tramadol) คาเฟอีน (caffeine) เฟนเทอมีน (phentermine) และโพรพราโนลอล (propranolol) เป็นต้น (Muschietti et al., 2020) สารปลอมปนที่พบเหล่านี้ส่งผลให้ผู้บริโภคเกิดอาการข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์และอาจรุนแรงจนทำให้เสียชีวิตได้ (Chaisiwamongkhol et al., 2020) ดังนั้น การตรวจพิสูจน์สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักต้องสงสัยจึงมีความสำคัญทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ เนื่องจากสามารถใช้ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์มาใช้ในการคุ้มครองผู้บริโภคและเป็นประโยชน์ในทางกฎหมายสำหรับลงโทษผู้ผลิตที่กระทำความผิดที่ใส่สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักหรือขายผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักที่ผิดกฎหมาย

สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก ได้แก่ ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน เมทแอมเฟตามีน ทรามาดอล และคาเฟอีน สามารถตรวจวิเคราะห์ได้หลายเทคนิคด้วยกัน เช่น เทคนิคเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) (Maluf et al., 2007) เทคนิคเอทีอาร์-เอฟทีไอ อาร์สเปกโทรสโกปี (attenuated total reflection-fourier transform infrared spectroscopy: ATR- FTIR) (Cebi et al., 2017) เทคนิคการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงสีด้วยสมาร์ทโฟน (smartphone-based colorimetric detection) (Chaisiwamongkhol et al., 2020) เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (thin layer chromatography: TLC) (Hayun et al., 2016) เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography: HPLC) (Csupor et al., 2013) เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography: GC) (Khazan et al., 2014)

และเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า (electrochemistry) (Saichanapan et al., 2020) ถึงแม้ว่าเทคนิควิเคราะห์ที่กล่าวมาข้างต้นจะเป็นวิธีวิเคราะห์ที่มีความน่าเชื่อถือ มีความถูกต้องและแม่นยำ ได้การยอมรับจากหน่วยงานระดับสากล แต่อย่างไรก็ตาม ยังคงมีข้อจำกัดบางอย่างรวมทั้งองค์ประกอบของเมทริกซ์ (matrix) ของตัวอย่างที่ซับซ้อนอาจส่งผลรบกวนต่อการตรวจวิเคราะห์ เนื่องจากในตัวอย่างอาจพบว่ามีสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่มีปริมาณน้อย ดังนั้น วิธีการเตรียมตัวอย่างหรือวิธีการสกัดสารที่สนใจในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักที่เหมาะสมก่อนตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือในห้องปฏิบัติการจึงมีความจำเป็นต่อกระบวนการตรวจวิเคราะห์

วิธีการเตรียมตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่อาจพบในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก มีหลายวิธี ได้แก่ การสกัดของเหลวด้วยตัวทำละลาย (liquid–liquid extraction; LLE) (Pascali et al., 2018) การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง (solid phase extraction; SPE) (Phonchai et al., 2012) การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งปริมาณน้อย (solid–phase microextraction; SPME) (Mariotti et al., 2014) วิธีการสกัดดังกล่าวเป็นวิธีที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการ แต่อย่างไรก็ตาม การสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในปริมาณมากและมีโอกาสเกิดกระบวนการอิมัลชั่น (emulsion) การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งปริมาณน้อยเป็นวิธีการสกัดที่มีราคาแพงและไม่สามารถนำมาใช้งานซ้ำได้

การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง เป็นวิธีที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างที่สามารถพบได้ในทุกห้องปฏิบัติการ หลักการในการสกัดอาศัยสมบัติการดูดซับของตัวดูดซับของแข็งกับสารละลายของสารที่ต้องตรวจวิเคราะห์ (adsorption) หรือการแบ่งการละลาย (partition) ของสารที่สนใจระหว่างเฟส 2 เฟส คือ เฟสของตัวเคลื่อนที่และเฟสของตัวอยู่นิ่ง ถ้าสารที่ต้องการตรวจวิเคราะห์ถูกดูดซับหรือมีการกระจายตัวบนผิวของตัวอยู่นิ่งได้ดี สามารถเพิ่มความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์ได้ในขั้นตอนเดียว (pre–concentration step) กระบวนการสกัดอาศัยการดูดซับของตัวอย่างที่สนใจจะวิเคราะห์กับตัวดูดซับ ตัวดูดซับของแข็งในปัจจุบันได้มีการพัฒนาขึ้นมาหลายชนิด ดังนั้นการเลือกชนิดของตัวดูดซับของแข็งให้เหมาะสมกับสารที่สนใจจะวิเคราะห์จึงเป็นเรื่องสำคัญ เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพการสกัดที่ดีที่สุด และมีความจำเพาะกับสารที่สนใจจะวิเคราะห์ (Simpson, 2000)

ตัวดูดซับของแข็งชนิดไฮโดรฟิลิก-ลิโพฟิลิก บาลานซ์ หรือชื่อที่รู้จักโดยทั่วไป HLB (hydrophilic–liophilic balance) เป็นวัสดุ เรซินที่สังเคราะห์ขึ้นจากโพลีสไตรีน ไดไวนิลเบนซีน ไวนิลไพโรลิโดน โคพอลิเมอร์ (polystyrene–divinylbenzene–*N*–vinylpyrrolidone copolymer: PS–DVB–VP) มีคุณสมบัติเป็นมิกซ์โหมดประกอบด้วยส่วนที่มีขั้ว (polar) และไม่มีขั้ว (non–polar) เหมาะสำหรับใช้ในการดูดซับสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเนื่องจากสารที่สนใจจะวิเคราะห์

มีหลายชนิดและมีสภาพขั้วที่แตกต่างกัน โดยตัวดูดซับของแข็ง HLB มีโครงสร้างทางเคมีที่ประกอบด้วยหมู่วงแหวนเบนซีนและส่วนวงแหวนไพโรลมีทั้งส่วนที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ สามารถเกิดอันตรกิริยาแวน เดอร์ วาลส์ และ ไดโพล-ไดโพล นอกจากนี้โครงสร้างส่วนที่มีขั้วสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนได้กับสารที่สนใจวิเคราะห์บางตัว และโครงสร้างส่วนที่ไม่มีขั้วสามารถเกิดอันตรกิริยาแบบพันธะพาย (π – π interaction) ได้อีกด้วย (Dias and Poole, 2002) ทำให้เพิ่มประสิทธิภาพของการสกัดและกำจัดตัวรบกวนได้ดี

ดังนั้น ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการใช้ตัวดูดซับของแข็งชนิด HLB มาใช้สำหรับสกัดสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน เมทแอมเฟตามีน ทรามาดอล และคาเฟอีน) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักและตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโครกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น ซึ่งมีขั้นตอนการสกัดที่ไม่ยุ่งยาก ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ปริมาณน้อย เหมาะกับการวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักที่ผิดกฎหมายในห้องปฏิบัติการ

1.2 การตรวจสอบเอกสาร

1.2.1 ผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก (slimming products)

โรคอ้วนเป็นหนึ่งในปัญหาสุขภาพที่พบมากในปัจจุบันอาจสืบเนื่องมาจากพันธุกรรมหรือพฤติกรรมการบริโภคที่มากผิดปกติทำให้ส่งผลเสียต่อสุขภาพและอาจเป็นอุปสรรคในการดำเนินชีวิตของแต่ละบุคคล ด้วยเหตุนี้จึงได้มีผู้คนจำนวนมากที่มีปัญหาเรื่องความอ้วนหันมาลดน้ำหนัก ด้วยการควบคุมอาหารหรือการออกกำลังกายเพื่อควบคุมน้ำหนัก รวมถึงการรับประทานผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก ซึ่งผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักเป็นสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ลดหรือควบคุมน้ำหนักโดยทำให้อยากอาหารน้อยลงและทำให้การดูดซึมภายในร่างกายที่ผิดปกติไปจากเดิม (Chandrasekaran et al., 2012) ผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักมีหลายประเภทด้วยกัน เช่น ผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักชนิดเม็ด ผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักชนิดแคปซูล ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มชาลดน้ำหนัก ผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักแบบสมุนไพร ผลิตภัณฑ์กาแฟลดน้ำหนัก เป็นต้น ผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักที่มีขายตามท้องตลาดมักพบการโฆษณาอวดอ้างสรรพคุณบนฉลากและโฆษณาที่เป็นเท็จ หลอกลวงผู้บริโภค และมีการแสดงฉลากที่ไม่ถูกต้อง มีการปลอมปนสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก **ดังแสดงในตารางที่ 1.1**

สารไซบูทรามีน ฟลูอ็อกซิทีน นิโคทินาไมด์ เมทแอมเฟตามีน ทรามาดอล คาเฟอีน เฟนเทอมีน (phentermine) และโพรพราโนลอล (propranolol) เป็นต้น (Muschietti et al., 2020) ส่งผลให้ผู้บริโภคได้รับผลข้างเคียงที่อาจรุนแรงและทำให้เสียชีวิตจากการได้รับผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักที่มีสารปลอมปนเหล่านี้อย่างไม่เหมาะสม

จากรายงานของศูนย์วิชาการเฝ้าระวังและพัฒนาระบบยา (กพย.) ในปี พ.ศ. 2562 พบว่าสถานการณ์การปลอมปนสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักของประเทศไทยยังมีการพบการกระทำความผิดอย่างต่อเนื่องในช่วงปี พ.ศ. 2557–2561 ตรวจพบสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักจำนวน 145 ตัวอย่าง โดยในปี พ.ศ. 2560 พบมากที่สุด คือ 80 ตัวอย่าง และในปี พ.ศ. 2561 พบ 37 ตัวอย่าง โดยตรวจพบสารไซบูทรามีนอย่างเดียวจำนวน 125 ตัวอย่าง อีก 20 ตัวอย่าง พบว่ามีการผสมสารไซบูทรามีนกับสารฟลูออกซิทีนจำนวน 10 ตัวอย่าง, ผสมสารไซบูทรามีนกับสารบิสแซโคดิล (bisacodyl) จำนวน 3 ตัวอย่าง ผสมสารไซบูทรามีนกับสารฟีนอล์ฟทาลีน (phenolphthalein) จำนวน 2 ตัวอย่าง, ผสมสารไซบูทรามีนกับสารออริสแตท (orlistat) จำนวน 2 ตัวอย่าง, ผสมสารไซบูทรามีนกับคาเฟอีน จำนวน 2 ตัวอย่าง และผสมสารไซบูทรามีนกับซิลเดนาฟิล (sildenafil) จำนวน 1 ตัวอย่าง นอกจากนี้ จากการสุ่มตรวจกาแฟสำเร็จรูป (จำนวน 344 ตัวอย่าง) และผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (จำนวน 849 ตัวอย่าง) ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ปี พ.ศ. 2556–2559 จำนวนตัวอย่างในการสุ่มตรวจทั้งหมด 1,193 ตัวอย่าง สามารถตรวจพบสารไซบูทรามีนในกาแฟสำเร็จรูปและผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจำนวน 210 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 17.60 ของตัวอย่างทั้งหมด และพบว่าสารไซบูทรามีนเป็นหนึ่งในสารปลอมปนที่พบมากที่สุดในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (Hachem et al., 2016) สอดคล้องกับข้อมูลในงานวิจัยของ Phattanawasin และคณะ วิเคราะห์สารปลอมปนในผลิตภัณฑ์สมุนไพรลดน้ำหนักจำนวน 20 ตัวอย่าง ที่พบในประเทศไทย พบว่ามีการปลอมปนสารไซบูทรามีนในผลิตภัณฑ์จำนวน 6 ตัวอย่าง (Phattanawasin et al., 2012) ในปี ค.ศ. 2020 Chaisiwamongkhol และคณะ ได้รายงานการตรวจพบสารไซบูทรามีนปลอมปนอยู่ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและสมุนไพรลดน้ำหนักจำนวน 6 ตัวอย่าง มีความเข้มข้นในช่วง 3.20–14.25 mg capsule^{-1} สถานการณ์การปลอมปนสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักในต่างประเทศ มีรายงานการตรวจพบสารไซบูทรามีนและสารควบคุมชนิดอื่นๆ ในผลิตภัณฑ์สุขภาพ (Chaisiwamongkhol et al., 2020) ในปี ค.ศ. 2007 Koehler และคณะ วิเคราะห์สารปลอมปนในผลิตภัณฑ์ชาและแคปซูลลดน้ำหนักสมุนไพรจีน พบว่ามีการปลอมปนสารไซบูทรามีนในผลิตภัณฑ์ชามีความเข้มข้นเท่ากับ 1.8 mg tea serving^{-1} และพบสารไซบูทรามีนในแคปซูลลดน้ำหนักสมุนไพรจีนมีความเข้มข้นเท่ากับ 34 mg capsule^{-1} (Koehler et al., 2007) และในปี ค.ศ. 2011 Shi และคณะ ได้วิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก 12 ตัวอย่าง ประกอบด้วยชนิดผงชา 4 ตัวอย่าง ชนิดแคปซูล 4 ตัวอย่าง ชนิดเม็ด 3 ตัวอย่าง และชนิดแคปซูลนิ่ม 1 ตัวอย่าง จากผลการศึกษาพบว่าในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักมีการปลอมปนสารไซบูทรามีนในช่วงความเข้มข้น 6.1 ถึง 1.3 $\times 10^3$ mg kg^{-1} และยังตรวจพบสารเฟนฟูรามีน (fenfluramine) ในช่วงความเข้มข้น 1.9 ถึง 9.7 $\times 10^3$ mg kg^{-1} (Shi et al., 2011) ต่อมาในปี ค.ศ. 2012 Rebiere และคณะ วิเคราะห์สารปลอมปนในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักชนิดเม็ด แคปซูล และชนิดผง โดยทำการศึกษาตัวอย่างทั้งหมด 20 ตัวอย่าง พบว่าในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักที่ทำการวิเคราะห์มีการปลอมปนสารประกอบอื่น จำนวน 34 ชนิด โดยพบว่ามีสารไซบูทรามีนมีปริมาณสูงสุดคือ 33 mg

unit^{-1} พบสารคาเฟอีนปริมาณสูงสุดคือ 327 mg unit^{-1} และยังพบสารนิโคทินาไมด์ปริมาณสูงสุดคือ 28 mg unit^{-1} (Rebiere et al., 2012) และในปีเดียวกัน Li และคณะ วิเคราะห์สารปลอมปนในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักชนิดเม็ด แคปซูล ผงสมุนไพร และของเหลว จำนวนทั้งหมด 6 ตัวอย่าง พบว่ามีการปลอมปนของสารไซบูทรามีนในช่วงความเข้มข้น 10.3–8.55 × 10^5 μg kg^{-1} (Li et al., 2012) ต่อมาในปี ค.ศ. 2014 Deconinck และคณะ วิเคราะห์สารปลอมปนในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักชนิดแคปซูล และชนิดผง จำนวนทั้งหมด 125 ตัวอย่าง พบว่าในผลิตภัณฑ์มีการปลอมปนของสารไซบูทรามีนปริมาณ 3–20 mg (Deconinck et al., 2014) และในปี ค.ศ. 2014 Kim และคณะ วิเคราะห์สารปลอมปนในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักที่หาซื้อได้ในประเทศเกาหลีใต้ จำนวนทั้งหมด 188 ตัวอย่าง ทำการเก็บตัวอย่างในช่วงปี ค.ศ. 2009–2012 พบว่ามีผลิตภัณฑ์มีการปลอมปนสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาจำนวน 62 ตัวอย่าง ประกอบด้วย สารไซบูทรามีน บิสแซโคดิล อีเฟดรีน ซูโดอีเฟดรีน ฟลูอ็อกซิทีน เซนโนไซด์ เอ (sennoside A) เซนโนไซด์ บี (sennoside B) ตามลำดับ จากการศึกษาพบว่า พบสารไซบูทรามีนปลอมปนในตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 25.7% พบสารเซนโนไซด์ เอ คิดเป็นร้อยละ 22.9% พบสารเซนโนไซด์ บี คิดเป็นร้อยละ 20.0% พบสารฟลูออกซิทีน คิดเป็นร้อยละ 8.6% และสารบิสแซโคดิล อีเฟดรีน ซูโดอีเฟดรีน คิดเป็นร้อยละ 4.3% ของตัวอย่างทั้งหมด ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าพบสารไซบูทรามีนปลอมปนอยู่ในตัวอย่างมากที่สุดโดยมีปริมาณอยู่ในช่วง 0.03–132.40 mg g^{-1} (ปี ค.ศ. 2010), 0.88–76.2 mg g^{-1} (ปี ค.ศ. 2011) และ 0.07–0.24 mg g^{-1} (ปี ค.ศ. 2012) ตามลำดับ (Kim et al., 2014) ต่อมาในปี ค.ศ. 2016 Hachem และคณะ วิเคราะห์สารปลอมปนในตัวอย่างเสริมอาหารสมุนไพรสำหรับลดน้ำหนักทั้งหมด 160 ตัวอย่าง พบว่ามีการปลอมปนของสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในตัวอย่างที่ทำการตรวจพิสูจน์ ประกอบด้วยสารไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน ฟีนอฟทาลีน ออริสเตท ลอร์คาซีริน และซิลเดนนาฟิล และพบว่ามีการปลอมปนสารไซบูทรามีนเพียงอย่างเดียวจำนวน 43 ตัวอย่าง (คิดเป็นร้อยละ 26%) พบการปลอมปนของสารฟีนอฟทาลีนเพียงอย่างเดียวจำนวน 9 ตัวอย่าง (คิดเป็นร้อยละ 6%) ตามลำดับ พบการปลอมปนในรูปแบบสารผสมระหว่างสารไซบูทรามีนและสารฟีนอฟทาลีนจำนวน 23 ตัวอย่าง (คิดเป็นร้อยละ 14%) นอกจากนี้ยังพบการปลอมปนสารซิลเดนนาฟิลเพียงอย่างเดียวจำนวน 4 ตัวอย่าง และพบการปลอมปนของสารซิลเดนนาฟิลในรูปแบบสารผสมระหว่างสารไซบูทรามีนและออริสเตท (Hachem et al., 2016) ในปี ค.ศ. 2017 Cheng และคณะ วิเคราะห์สารปลอมปนลดน้ำหนักที่ผิดกฎหมายในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากพืชจำนวน 120 ตัวอย่าง พบสารไซบูทรามีนและฟลูออกซิทีน มีการปลอมปนมากกว่า 100 mg g^{-1} นอกจากนี้ยังพบสารปลอมปนอื่น ๆ อีก เช่น เมทแอมเฟตามีน อีฟิดรีน เฟนฟูรามีน เป็นต้น (Cheng et al., 2017) ต่อมาในปี ค.ศ. 2018 Dastjerdi และคณะ วิเคราะห์สารปลอมปนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักสมุนไพรจำนวน 61 ตัวอย่าง ผลการศึกษาพบว่าในตัวอย่างมีสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักในตัวอย่างถึง 77% ได้แก่ ทรามาดอล (คิดเป็นร้อยละ 21.3%) คาเฟอีน (คิดเป็นร้อยละ21.3%) ฟลูออกซิทีน (คิดเป็นร้อยละ 8.2%) นอกจากนี้ยังพบสารปลอมปนชนิดอื่นๆ เช่น ไรซาทริปเทน (rizatriptan) เวนลาฟาซีน

(venlafaxine) เมททาโดน (methadone) และไรโทดริน (ritodrin) เป็นต้น (Dastjerdi et al., 2018) ต่อมาในปี ค.ศ. 2020 Ivanova และคณะ รายงานการตรวจพบสารคาเฟอีนความเข้มข้นสูงในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก โดยพบว่ามีการปลอมปนของคาเฟอีนที่มีความเข้มข้นสูงสุดถึง 198.9 mg (Ivanova et al., 2020)

จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักมักมีสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายชนิด เมื่อผู้บริโภครับประทานเข้าสู่ร่างกายจะทำให้เกิดผลข้างเคียงที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพหรือหากรับประทานเข้าไปในปริมาณมากอาจทำให้เสียชีวิตได้ ซึ่งอาการข้างเคียงที่สามารถพบได้ คือ ปากแห้ง ปวดศีรษะ มึนงง เคลิบเคลิ้ม หงุดหงิด วิตกกังวล คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสีย เหงื่อออกมากผิดปกติ นอนไม่หลับ ความดันโลหิตสูงหรือต่ำผิดปกติ กล้ามเนื้อกระตุก ใจสั่นหรือหัวใจเต้นเร็ว เกิดอาการชัก และเป็นสาเหตุของการเสียชีวิต (James et al., 2000) สารปลอมปนที่พบอยู่ในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักที่ตรวจพบในประเทศไทยมักเป็นสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น สารไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน นิโคทินาไมด์ เมทแอมเฟตามีน ทรามาดอล ซิเดนาฟิล และคาเฟอีน เป็นต้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารไซบูทรามีนพบการปลอมปนในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักมากที่สุด ทำให้สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) ได้จัดให้สารไซบูทรามีนอยู่ในกลุ่มวัตถุออกฤทธิ์ในประเภท 1 ตามพระราชบัญญัติวัตถุที่ออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาท พ.ศ. 2559 ผู้ใด ผลิต นำเข้า หรือส่งออกผลิตภัณฑ์ที่มีไซบูทรามีนเป็นส่วนผสมจะมีโทษจำคุกสูงสุดถึง 20 ปี และ ปรับถึง 2 ล้านบาท (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข, 2562) สารฟลูออกซิทีน จัดอยู่ในกลุ่มยาอันตรายต้องจำหน่ายโดยเภสัชกรชั้นหนึ่งในร้านขายยาแผนปัจจุบันเท่านั้น (กองบรรณาธิการ, 2561) สารคาเฟอีนเป็นสารควบคุมให้บริโภคไม่เกิน 400 มิลลิกรัมต่อวัน จึงจะไม่เกิดอันตรายต่อสุขภาพโดยองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (U.S.FDA) สารนิโคทินาไมด์เป็นสารควบคุมที่จะต้องเป็นไปตามคำสั่งของแพทย์ ซึ่งกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 293) พ.ศ. 2548 กำหนดให้บริโภคไม่เกิน 20 mg ต่อวัน (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2548) สารเมทแอมเฟตามีนจัดเป็นยาเสพติดให้โทษประเภทที่ 1 ตามพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ. 2522 หากผลิตนำเข้าหรือส่งออกโดยไม่ได้รับอนุญาต มีโทษจำคุก 10 ปี – จำคุกตลอดชีวิต และปรับตั้งแต่ 1,000,000–5,000,000 บาท และสารทรามาดอลเป็นยาที่ต้องทำการจ่ายด้วยเภสัชกรหรือตามคำสั่งแพทย์เท่านั้น ในปัจจุบันทรามาดอลจัดเป็นยาอันตรายตามพระราชบัญญัติยา พ.ศ. 2510

ตารางที่ 1.1 แสดงตัวอย่างที่มีการปลอมปนสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก

ตัวอย่าง	สารปลอมปนที่ตรวจพบ	จำนวนตัวอย่างที่วิเคราะห์ทั้งหมด (ตัวอย่าง)	จำนวนที่ตรวจพบ (ตัวอย่าง)	ปริมาณความเข้มข้นที่ตรวจพบ	อ้างอิง
ผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก	ไซบูทรามีน ไซบูทรามีน+ฟลูออกซิทีน ไซบูทรามีน+บิสแซโคดิล ไซบูทรามีน+ฟีนอฟทาลีน ไซบูทรามีน+ออริสเตท ไซบูทรามีน+ซิลเดนาฟิล	145	125 10 3 2 2 1	ไม่ระบุ	(กพย.) พ.ศ. 2557–2561
ผลิตภัณฑ์กาแฟสำเร็จรูปและผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร	ไซบูทรามีน	1193	210	ไม่ระบุ	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พ.ศ. 2556–2559
ผลิตภัณฑ์สมุนไพรลดน้ำหนัก	ไซบูทรามีน	20	6	ไม่ระบุ	Phattanawasin et al., 2012
ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและสมุนไพรลดน้ำหนัก	ไซบูทรามีน	ไม่ระบุ	6	3.2–14.25 mg capsule^{-1}	Chaisiwamongkhol et al., 2020
ผลิตภัณฑ์ชาและแคปซูลลดน้ำหนักสมุนไพรจีน	ไซบูทรามีน	ไม่ระบุ	ไม่ระบุ	1.8 mg tea serving^{-1} 3.2–14.25 mg capsule^{-1}	Koehler et al., 2007

ตารางที่ 1.1 แสดงตัวอย่างที่มีการปลอมปนสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก (ต่อ)

ตัวอย่าง	สารปลอมปนที่ตรวจพบ	จำนวนตัวอย่างที่วิเคราะห์ทั้งหมด (ตัวอย่าง)	จำนวนที่ตรวจพบ (ตัวอย่าง)	ปริมาณความเข้มข้นที่ตรวจพบ	อ้างอิง
ผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก	ไซบูทรามีน เฟนฟูรามีน	12	ไม่ระบุ	6.1–1.3 x 10^3 mg kg^{-1} 1.9–9.7 x 10^3 mg kg^{-1}	Shi et al., 2011
ผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก	ไซบูทรามีน คาเฟอีน นิโคทินาไมด์	20	ไม่ระบุ	33 mg $unit^{-1}$ 327 mg $unit^{-1}$ 28 mg $unit^{-1}$	Rebiere et al., 2012
ผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก	ไซบูทรามีน	6	6	6.1–1.3 x 10^3 µg kg^{-1}	Li et al., 2012
ผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก	ไซบูทรามีน	125	–	3–20 mg	Deconinck et al., 2014
ผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก	ไซบูทรามีน	188	62	0.03–132.40 mg g^{-1}	Kim et al., 2014
ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสมุนไพร	ไซบูทรามีน ฟีนอฟทาลีน ไซบูทรามีน+ฟีนอฟทาลีน ซิลเดนาฟิล	160	43 9 23 4	ไม่ระบุ	Hachem et al., 2016
ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากพืช	ไซบูทรามีน เมทแอมเฟตามีน อีเฟรดรีน เฟนฟูรามีน	120	ไม่ระบุ	100 mg g^{-1}	Cheng et al., 2017

ตารางที่ 1.1 แสดงตัวอย่างที่มีการปลอมปนสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก (ต่อ)

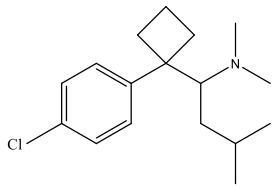
ตัวอย่าง	สารปลอมปนที่ตรวจพบ	จำนวนตัวอย่างที่วิเคราะห์ทั้งหมด (ตัวอย่าง)	จำนวนที่ตรวจพบ (ตัวอย่าง)	ปริมาณความเข้มข้นที่ตรวจพบ	อ้างอิง
ผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักสมุนไพร	ทรามาดอล คาเฟอีน ไรซาทริปเทน ฟลูออกซิทีน เวนลาฟาซีน เมทาโดน ไรโทดริน	61	21.3% 21.3% 11.5% 8.2% 6.6% 1.6% 1.6%	ไม่ระบุ	Dastjerdi et al., 2018
ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก	คาเฟอีน	ไม่ระบุ	ไม่ระบุ	198.9 mg	Ivanova et al., 2020

1.2.2 สมบัติทางเคมีและทางกายภาพ

1.2.2.1 ไซบูทรามีน (sibutramine)

ไซบูทรามีนเป็นอนุพันธ์ของฟีนิลเอทิลลามีน (phenylethylamine) ซึ่งมีลักษณะเฉพาะของโครงสร้างและกลไกลของการทำปฏิกิริยา (Stock, 1997) โครงสร้างของสารไซบูทรามีนมีลักษณะคล้ายกับสารแอมเฟตามีนซึ่งเป็นสารที่พบเจอในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักเช่นเดียวกัน โดยคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพแสดง **ดังตารางที่ 1.2** ได้ระบุถึงชื่อ สูตรโมเลกุล มวลโมเลกุล สถานะ ความสามารถในการละลาย เป็นต้น ซึ่งไซบูทรามีนถูกจัดจำหน่ายภายใต้ชื่อทางการค้าที่หลากหลาย เช่น รีดักทิล (Reductil®) เมอริเดีย (Meridia®) ซิรีเดีย (Siredia®) ไซบูเทรก (Sibutrex®) และรีดิวซ์ (Reduce®) ต่อมาในปี ค.ศ. 2010 ไซบูทรามีนถูกสั่งห้ามจำหน่ายในสหภาพยุโรปและสหัฐ อเมริกา แต่ยังคงมีจำหน่ายในหลายประเทศในแถบเอเชียและอเมริกาใต้ (Caterson et al., 2012)

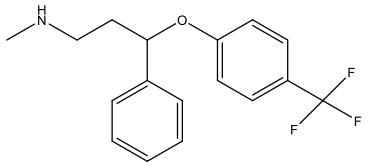
ตารางที่ 1.2 แสดงสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของสารไซบูทรามีน

สมบัติทางเคมีและทางกายภาพของสารไซบูทรามีน	
โครงสร้าง	
ชื่อสามัญ	ไซบูทรามีน ไฮโดรคลอไรด์ โมโนไฮเดรท (sibutramine hydrochloride monohydrate)
ชื่อ IUPAC	(N-(1-(1-(4-chlorophyenyl) cyclobutyl)-3-methylbutyl)-N,N-dimethylamine hydrochloride monohydrate)
สถานะ	ของแข็ง
สี	ขาวหรือครีม
สูตรโมเลกุล	$C_{17}H_{26}ClN{\cdot}HCl$
มวลโมเลกุล	334.33 g mol^{-1}
จุดหลอมเหลว	131–192 °C
จุดเดือด	342.6 °C
pK_a	9.77
ความสามารถในการละลาย	ละลายได้ดีในเมทานอลและน้ำ
ช่องทางการใช้ยา	รับประทาน
ขนาดการใช้ยา	10 mg day^{-1}

1.2.2.2 ฟลูออกซิทีน (fluoxetine)

ฟลูออกซิทีนเป็นยาที่ถูกนำมาใช้ในด้านการแพทย์สำหรับรักษาโรคซึมเศร้าประเภทหนึ่งที่รู้จักในชื่อ selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) (Rossi et al., 2004) ถูกจัดจำหน่ายภายใต้ชื่อการค้าหลายชนิด เช่น โพรเซค (Prozac®) โพรเซค วีคลี่ (Prozac weekly®) ราพีฟลักซ์ (Rapiflux®) ซาราเฟ็ม (Sarafam®) และเซลเฟ็มร่า (Selfemra®) เป็นต้น ภายหลังฟลูออกซิทีนถูกนำมาใช้ในการปลอมปนในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนัก (Mustafa, 2020) ซึ่งฟลูออกซิทีนมีสมบัติทางเคมีและทางกายภาพ **ดังตารางที่ 1.3**

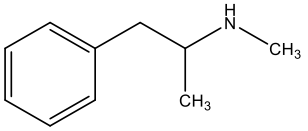
ตารางที่ 1.3 แสดงสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของสารฟลูออกซิทีน

สมบัติทางเคมีและทางกายภาพของสารฟลูออกซิทีน	
โครงสร้าง	
ชื่อสามัญ	ฟลูออกซิทีน ไฮโดรคลอไรด์ (fluoxetine hydrochloride)
ชื่อ IUPAC	N-methyl-3-phenyl-3-[4- (trifluoromethyl)phenoxy] propan-1-amine
สถานะ	ของแข็ง
สี	ขาว
สูตรโมเลกุล	$C_{17}H_{18}F_3NO$
มวลโมเลกุล	309.33 g mol^{-1}
จุดหลอมเหลว	179–122 °C
จุดเดือด	395 °C
pK_a	9.8
ความสามารถในการละลาย	อะซิโตไนไตร์ลและคลอโรฟอร์ม
ช่องทางการใช้ยา	รับประทาน
ขนาดการใช้ยา	20 mg day^{-1}

1.2.2.4 เมทแอมเฟตามีน (methamphetamine)

เมทแอมเฟตามีนเป็นอนุพันธ์ที่ถูกสังเคราะห์จากแอมเฟตามีน โดยเมทแอมเฟตามีนเป็นสารประกอบไครัลที่ประกอบด้วย 2 อีแนนทิโอเมอร์ คือ เด็กซ์โทรเมทแอมเฟตามีน (dextromethamphetamine) และเลโวเมทแอมเฟตามีน (levomethamphetamine) สารเมทแอมเฟตามีนถูกนำมาใช้ในการรักษาในทางการแพทย์ในการรักษาโรคสมาธิสั้นและโรคอ้วนซึ่งต้องใช้ตามแพทย์สั่ง (Yasaei and Saadabadi, 2023) แต่ในปัจจุบันสารเมทแอมเฟตามีนจัดเป็นสารเสพติดที่ผิดกฎหมาย มักมีการลักลอบใช้และนำไปปลอมปนในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนัก ซึ่งเมทแอมเฟตามีนสมบัติทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพ **ดังตารางที่ 1.4**

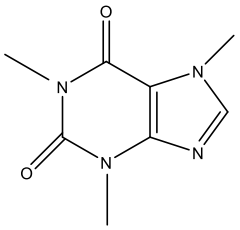
ตารางที่ 1.4 แสดงสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของสารเมทแอมเฟตามีน

สมบัติทางเคมีและทางกายภาพของสารเมทแอมเฟตามีน	
โครงสร้าง	
ชื่อสามัญ	เมทแอมเฟตามีน ไฮโดรคลอไรด์ (methamphetamine Hydrochloride)
ชื่อ IUPAC	N-methyl-1-phenylpropan-2-amine
สถานะ	ของแข็งผลึก
สี	ใสไม่มีสี
สูตรโมเลกุล	$C_{10}H_{15}N$
มวลโมเลกุล	149.23 g mol^{-1}
จุดหลอมเหลว	170 °C
จุดเดือด	212 °C
pK_a	9.87
ความสามารถในการละลาย	คลอโรฟอร์ม น้ำ และเมทานอล
ช่องทางการใช้ยา	รับประทาน สูบ หรือฉีด
ขนาดการใช้ยา	5–60 mg
ขนาดยาที่ทำให้เสียชีวิต	200 mg

1.2.2.4 คาเฟอีน (caffeine)

คาเฟอีนสามารถพบได้ในพืชตามธรรมชาติหลายชนิด เช่น เมล็ดกาแฟ โกโก้ หรือใบชา เป็นต้น (Ashihara and Crozier, 2001) คาเฟอีนได้ถูกนำมาใช้ในทางการแพทย์ในการรักษาโรคภาวะหลอดลมและปอดผิดปกติในทารกที่คลอดก่อนกำหนด (Schmidt, 2005) และนำมาใช้ในการรักษาด้านความล่าช้าในการรับรู้ (Schmidt et al., 2012) โดยในปัจจุบันได้มีการนำคาเฟอีนมาใช้ในการลดน้ำหนัก (Tabrizi et al., 2019) คาเฟอีนเป็นสารประกอบจำพวกอัลคาลอยด์ มีโครงสร้างโมเลกุลที่ซับซ้อน มีอะตอมของไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบในวงแหวนเฮทเทอโรไซคลิก มีสมบัติทางเคมีและทางกายภาพแสดง **ดังตารางที่ 1.5**

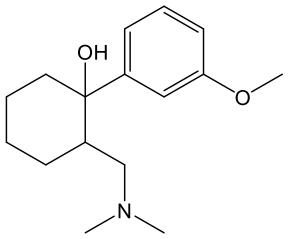
ตารางที่ 1.5 แสดงสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของสารคาเฟอีน

สมบัติทางเคมีและทางกายภาพของสารคาเฟอีน	
โครงสร้าง	
ชื่อสามัญ	คาเฟอีน (caffeine)
ชื่อ IUPAC	1,3,7-Trimethylpurine-2,6-dione
สถานะ	ของแข็ง
สี	ขาว
สูตรโมเลกุล	$C_8H_{10}N_4O_2$
มวลโมเลกุล	194.19 g mol^{-1}
จุดหลอมเหลว	235–238 °C
จุดเดือด	212 °C
pK_a	14
ความสามารถในการละลาย	น้ำ และเอทานอล
ช่องทางการใช้ยา	รับประทาน
ขนาดการใช้ยา	ไม่เกิน 400 mg day^{-1}

1.2.2.5 ทรามาดอล (tramadol)

ทรามาดอลเป็นยากลุ่มโอปิออยด์ถูกนำมาใช้ในทางการแพทย์เพื่อระงับอาการปวด ปัจจุบันได้มีการใช้สารทรามาดอลในทางที่ผิดโดยการนำไปผสมกับเครื่องดื่มหรือมีการปลอมปนในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนัก โครงสร้างสารทรามาดอลประกอบด้วย R และ S สเตอริโอไอโซเมอร์ โดยไอโซเมอร์ทั้งสองช่วยเสริมกันในด้านการออกฤทธิ์ (Smyj et al., 2013) คุณสมบัติทางเคมีและสมบัติทางกายภาพแสดง **ดังตารางที่ 1.6** ทรามาดอลถูกจัดจำหน่ายในรูปแบบแคปซูลสีเขียวเหลือหรือชนิดเม็ด ในประเทศไทยภายใต้ชื่อทางการค้าที่หลากหลาย เช่น คริสมอล (Crismal®) อแมนด้า (Amanda®) ทรามาแคป (Tramacap®) ทราซีน (Tracine®) และทรามาดอล (Tramadol®) เป็นต้น

ตารางที่ 1.6 แสดงสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของสารทรามาดอล

สมบัติทางเคมีและทางกายภาพของสารทรามาดอล	
โครงสร้าง	
ชื่อสามัญ	ทรามาดอล ไฮโดรคลอไรด์ (tramadol hydrochloride)
ชื่อ IUPAC	2-[(Dimethylamino)methyl]-1-(3-methoxyphenyl) cyclohexanol
สถานะ	ของแข็ง
สี	ขาว
สูตรโมเลกุล	$C_{16}H_{25}NO_2$
มวลโมเลกุล	263.381 g mol^{-1}
จุดหลอมเหลว	180–181 °C
จุดเดือด	406.6 °C
pK_a	9.41
ความสามารถในการละลาย	น้ำ และเมทานอล
ช่องทางการใช้ยา	รับประทาน ฉีด
ขนาดการใช้ยา	ไม่เกิน 400 mg day^{-1}

1.2.3 เภสัชวิทยาของสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก

1.2.3.1 เภสัชพลศาสตร์และเภสัชจลศาสตร์ของสารไซบูทรามีน

เภสัชพลศาสตร์ไซบูทรามีน โดยไซบูทรามีนเป็นตัวยับยั้งการดูดกลับของสารสื่อประสาทซีโรโทนินและและนอร์เอพิเนฟริน (serotonin–norepinephrine reuptake inhibitor: SNRI) ทำให้ลดการดูดกลับของซีโรโทนินประมาณ 54% นอร์เอพิเนฟรินประมาณ 73% นอกจากนี้ยังลดการดูดกลับของโดปามีนประมาณ 16% ทำให้ปริมาณสารสื่อประสาทเหล่านี้ในช่องการซินแนปส์ติกมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้มีความอิ่มเพิ่มมากขึ้นมีการอยากอาหารลดลง โดยสารไซบูทรามีนประกอบด้วย 2 เมทาบอไลต์ที่ส่งผลต่อการออกฤทธิ์ ได้แก่ เมตาบอไลต์เอมีนปฐมภูมิ (M2: BTS 54 505) เป็นเมทาบอไลต์หลัก และเมทาบอไลต์เอมีนทุติยภูมิ (M1: BTS 54 354) (McNeely and Goa, 1998) โดย M2 เป็นตัวยับยั้งหลักสำหรับซีโรโทนินและนอร์เอพิเนฟริน

เภสัชจลนศาสตร์ของสารไซบูทรามีน หลังจากรับประทานไซบูทรามีนจะถูกดูดซึมอย่างรวดเร็วจากทางเดินอาหารมีระดับสูงสุดในเลือด (Tmax) 1.2 ชั่วโมง การรับประทานไซบูทรามีนครั้งเดียวสามารถดูดซึมได้อย่างน้อย 77% การแพร่กระจายตัวซึ่งทำการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่ามีการแพร่กระจายอย่างรวดเร็วในเนื้อเยื่อตรวจเจอความเข้มข้นมากที่สุดในตับและไต การศึกษาในหลอดทดลองโดยตรวจโปรตีนในเลือดพบไซบูทรามีน M1 และ M2 ถูกตรวจพบ 97% และ 94% ตามลำดับ จากนั้นไซบูทรามีนจะเกิดการเมตาบอลิซึมที่ตับโดยส่วนใหญ่ โดยเอนไซม์ไซโตโครม P450 เอนไซม์ CYP3A4 ไปเป็นโมโนและไดเดสเมทิลเมทาบอไลต์ M1 และ M2 และเกิดกระบวนการไฮดรอกซิลเลชั่นและคอนจูเกชั่นได้เป็น M5 และ M6 ซึ่งเป็นสารที่ไม่ออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาจากนั้น M1 และ M2 จะถูกขับออกที่ตับ และเมทาบอไลต์ตัวอื่นจะถูกขับออกทางไต ประมาณ 77% จะถูกขับออกทางปัสสาวะ (McNeely and Goa, 1998) มีค่าครึ่งชีวิตประมาณ 1.1 ชั่วโมง ขนาดเบื้องต้นการรับประทานที่แนะนำ 10 mg day^{-1} (Klein et al., 2011)

1.2.3.2 เภสัชพลศาสตร์และเภสัชจลศาสตร์ของสารฟลูออกซิทีน

เภสัชพลศาสตร์ โดยฟลูออกซิทีนใช้ในการรักษาอาการซึมเศร้าออกฤทธิ์ต้านอาการซึมเศร้าฟลูออกซิทีนเป็นตัวยับยั้งการดูดกลับเฉพาะสารสื่อประสาทซีโรโทนิน (selective serotonin reuptake inhibitor: SSRI) ที่ส่วนปลายของพรีซินแนปติก ส่งผลให้ระดับ 5–ไฮดรอกซีทริปตามีน (5–HT) ในสมองไม่คงที่ อย่างไรก็ตามฟลูออกซิทีนจะจับกับตัวรับ 5–HT ในระดับหนึ่ง กลไกนี้สามารถเพิ่มปริมาณโดปามีนและนอร์เอพิเนฟรินในคอร์เท็กซ์ส่วนหน้าได้ และนอกจากนี้ฟลูออกซิทีนยังจับกับตัวรับโดปามีน, แอดรีเนอร์จิก, โคลีเนอร์จิค, มัสคารินิก และตัวรับฮิตามีน ฟลูออกซิทีนจึงเป็นยาที่ออกฤทธิ์ได้ดีและเป็นที่ต้องการมากกว่าเมื่อเทียบกับยาต้านซึมเศร้าประเภทไตรไซลิก (Bymaster et al., 2002)

เภสัชจลนศาสตร์ หลังจากรับประทานฟลูออกซิทีนครั้งเดียวพบว่ามีการดูดซึมได้ดีถึง 90% และมีความเข้มข้นในเลือดสูงสุด ที่เวลา 6 ถึง 8 ชั่วโมง การแพร่กระจายของฟลูออกซิทีนและเมทาบอไลต์ 20 ถึง 42 L Kg^{-1} (Lee-Kelland et al., 2018) กระบวนการเมทาบอลิซึมของฟลูออกซิทีนเกิดที่ตับ โดยอาศัยเอนไซม์ไซโทโครม P450 (CYP2D) จะเปลี่ยนฟลูออกซิทีนเป็นเมทาบอไลต์คือนอร์ฟลูออกซิทีน (Mandrioli et al., 2006) นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์ CYP 2C19 และ CYP 3A4 เป็นตัวกลางที่ช่วยให้ O–dealkylation ของฟลูออกซิทีนและนอร์ฟลูออกซิทีนผลิต พารา-ไตรฟลูออโรเมทิลฟีนอลซึ่งต่อมาจะถูกเผาพลาญเป็นกรดฮิปพิวริก (Liu et al., 2002) ทั้งฟลูออกซิทีนและนอร์ฟลูออกซิทีนถูกกำจัดช้า การขับออกของฟลูออกซิทีนถูกตรวจพบในปัสสาวะประมาณ 60% มาก จึงทำให้แตกต่างจากยาแก้ซึมเศร้าชนิดอื่น เมื่อได้รับฟลูออกซิทีนต่อเนื่องระยะหนึ่งจะยับยั้งเมทาบอลิซึมของตนเอง ค่าครึ่งชีวิตของฟลูออกซิทีนแบบเฉียบพลันอยู่ที่ 1-3 วัน และแบบเรื้อรังอยู่ที่ 4-6 วัน (Benfield et al., 1986)

1.2.3.3 เภสัชพลศาสตร์และเภสัชจลศาสตร์ของสารเมทแอมเฟตามีน

เภสัชพลศาสตร์ เมทแอมเฟตามีนเป็นสารกระตุ้นระบบประสาทส่วนกลาง ซึ่งส่งผลต่อกลไกทางเคมีในระบบประสาทที่มีหน้าที่ควบคุมอัตราการเต้นของหัวใจ อุณหภูมิร่างกาย ความดันโลหิต ความอยากอาหาร ความสนใจ อารมณ์ และการตอบสนองที่เกี่ยวข้องกับสภาวะตื่นตัว เมื่อเมทแอมเฟตามีนเข้าสู่สมองและกระตุ้นกลุ่มสารนอร์เอพิเนฟริน โดปามีน และซีโรโทนิน เมทแอมเฟตามีนในระดับความเข้มข้นต่ำ ๆ จะทำหน้าที่ยับยั้งการดูดซึมโดปามีนและอะดรีเนอร์จิก และในระดับความเข้มข้นสูงจะเป็นตัวยับยั้งโมโนเอมีน ออกซิเดส (Rodvelt and Miller, 2010)

เภสัชจลศาสตร์ เมทแอมเฟตามีนเมื่อได้รับประทานถูกดูดซึมได้ 79% (Cruickshank and Dyer, 2009) โดยเมทแอมเฟตามีนมีความเข้มในเลือดสูงสุดที่เวลา 3.13–6.3 ชั่วโมง ยิ่งไปกว่านั้นเมทแอมเฟตามีนยังสามารถดูดซึมได้รวมเร็วเมื่อฉีดหรือสูดดม และกระจายไปยังส่วนต่าง ๆ ของร่างกายได้อย่างรวดเร็ว เนื่องจากเมแอมเฟตามีนมีลิโปฟิลิกซิตี้สูง กระบวนการเมตาบอลิซึมเกิดขึ้นที่ตับ ซึ่งกระบวนการเมทาบอลิซึมแรกจะเกิดโดยอะโรมาติกไฮดรอกซิเลชั่น, เอ็น-ดีเอลคิเลชั่น และอาศัยเอนไซม์ CYP2D6 เปลี่ยนเมทแอมเฟตามีนเป็นแอมเฟตามีนและไฮดรอกซีเมทแอมเฟตามีน นอกจากนี้ยังมีเมตาบอไลต์ตัวอื่น ๆ อีก ได้แก่ 4-ไฮดรอกซีแอมเฟตามีน นอร์เฟดริน และ 4–ไฮดรอกซีนอร์เฟดรีน ขบวนการขับออกของเมทแอมเฟตามีนจะถูกขับออกทางปัสสาวะ ทั้งนี้ขึ้นกับค่า pH ในปัสสาวะ เมื่อรับสารเมทแอมเฟตามีนผ่านทางการรับประทาน เมทแอมเฟตามีนจะถูกขับออกมาในรูปเมทแอมเฟตามีน 30–54% และจะถูกขับออกมาในรูปแอมเฟตามีนอีก 10–23% เมทแอมเฟตามีนมีค่าครึ่งชีวิตระหว่าง 4–5 ชั่วโมง (Freye and Freye, 2010)

1.2.3.4 เภสัชพลศาสตร์และเภสัชจลศาสตร์ของสารคาเฟอีน

เภสัชพลศาสตร์ คาเฟอีนเป็นตัวปิดกั้นการทำงานของตัวรับอะดีโนซีน ปกติเมื่อร่างกายตื่นตัวอะดีโนซีนจะสะสมในไซแนปส์ของเซลล์ประสาทมากขึ้น ทำให้รู้สึกง่วงมากขึ้น ในทางกลับกันเมื่อร่างกายกำลังพักหรือหลับ อะดีโนซีนจะถูกปล่อยออกมาหากได้รับคาเฟอีนเข้าสู่ร่างกาย คาเฟอีนจะไปจับตัวรับอะดีโนซีนที่อยู่ในเซลล์ประสาทของระบบประสาทส่วนกลางบางชนิด โดยตัวรับอะดีโนซีนประกอบด้วย 4 ชนิด ได้แก่ A1, A2A, A2B และ A3 จะทำให้อะดีโนซีนถูกยับยั้ง คาเฟอีนจึงช่วยบรรเทาอาการง่วงได้ชั่วคราว (Aranda and Beharry, 2020)

เภสัชจลศาสตร์ คาเฟอีนถูกดูดซึมอย่างรวดเร็วหลังจากรับประทานมีความเข้มข้นในเลือดสูงสุดภายใน 30 นาทีถึง 2 ชั่วโมง การกระจายตัวของคาเฟอีนผ่านเลือดและสมองเป็นไปอย่างรวดเร็ว คาเฟอีนสามารถละลายน้ำและไขมันไปยังส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย (Liguori et al., 1997) กระบวนการเมทาบอลิซึมที่ตับ โดยระบบไซโทโครม P450 (CYP1A2) คาเฟอีนถูกเปลี่ยนรูปให้กลายเป็นไดเมทิลแซนทีน 3 ชนิด คือ พาราแซนทีน (84%) ทีโอโบรมีน (12%) และทีโอฟิลลีน (4%) (Welsh et al., 2010) นอกจากนี้ยังมีเมทาบอไลต์ตัวอื่นอีกเช่น 1,3,7–ไตรเมทิลยูริก และ 7–เมททิลแซนทีน เมทาบอไลต์เหล่านี้จะถูกขับออกทางปัสสาวะ คาเฟอีนมีค่าครึ่งชีวิประมาณ 5 ชั่วโมง (Singh et al., 2022)

1.2.3.5 เภสัชพลศาสตร์และเภสัชจลศาสตร์ของสารทรามาดอล

เภสัชพลศาสตร์ เป็นยาระงับปวดกลุ่ม synthetic opioid ออกฤทธิ์ที่ระบบส่วนกลาง ทมาดอลมีโครงสร้างคล้ายโคเคนและมอร์ฟีน ประกอบด้วยอีแนนทิโอเมอร์ 2 ชนิด ได้แก่ (+)-ทรามาดอล และ (+)-โอ-เดสเมทิล-ทรามาดอล (M1) ทรามาดอลจะจับและกระตุ้นตัวรับ มิว-โอปิออยด์ (+)-ทรามาดอล ยับยั้งการดูดกลับของสารสื่อประสาทซีโรโทนินและ (-)-ทรามาดอลจะยับยั้งการดูดกลับของนอร์เอพิเนฟริน ซึ่งอีแนนทิโอเมอร์จะทำงานเสริมกันช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการลดปวด (Grond and Sablotzki, 2004)

เภสัชจลศาสตร์ หลังจากรับประทานทรามาดอลจะถูกดูดซึมอย่างรวดเร็ว 87–95% สารจะออกฤทธิ์ในเวลา 12 ชั่วโมง สารจะมีความเข้มข้นสูงสุดในเลือดหลังจาก 4.9 ชั่วโมง ทรามาดอลแพร่กระจายตัวอย่างรวดเร็วในร่างกาย ทรามาดอลมีเมทาบอไลต์ 2 ชนิด ได้แก่ โอ-ดีเมทิลเลชั่น (M1) และ เอ็น-ดีเมทิลเลชั่น (M2) ในกระบวนการเมทาบอลิซึมอาศัยไซโทโครม P450 (CYP2D6) ในการเร่งการเกิดปฏิกิริยาของโอ–ดีเมทิลเลชั่น (M1) และใช้เอนไซม์ CYP2B6 และ CYP3A4 ในการเร่งปฏิกิริยา เอ็น-ดีเมทิลเลชั่น (M2) โดยเมทาบอไลต์ทั้งสองชนิดนี้ถูกกำจัดออกทางไต ค่าครึ่งชีวิตของเมทานอลอยู่ประมาณ 5-6 ชั่วโมง และเมทาบอไลต์ M1 มีค่าคร่งชีวิตอย่ที่ประมาณ 8 ชั่วโมง (Grond and Sablotzki, 2004)

1.2.4 เทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก

การวิเคราะห์สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (Vishal, 2008) เทคนิคโครมาโทกราฟีแผ่นบาง (Hayun et al., 2016) เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี (Khazan et al., 2014) และเทคนิคแคปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส (Wang et al., 2015) เป็นต้น

ในปี ค.ศ. 2012 Phattanawasin และคณะ ได้ศึกษาการวิเคราะห์สารไซบูทรามีนที่ปลอมปนในผลิตภัณฑ์สมุนไพรความอ้วนด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแผ่นบางร่วมกับการวิเคราะห์ภาพดิจิตอล (thin layer chromatographic (TLC) – image analysis) ใช้เฟสอยู่กับที่คือซิลิก้าเจล 60 F_{254} เฟสเคลื่อนที่คือ โทลูอีน (toluene) : เฮกเซน (*n*-hexane) : ไดเอทิลเอมีน (diethylamine) อัตราส่วน (9:1:0.3, v/v/v) และน้ำยาเคมีใช้ดราเจนดรอฟ (dragendorff reagent) ซึ่งทำการวิเคราะห์ภายใต้แสงยูวีที่ความยาวคลื่น 254 nm จากนั้นนำแผ่น TLC มาวิเคราะห์ค่าความเข้มสีจากภาพถ่ายดิจิตอล ซึ่งมีค่าขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณของไซบูทรามีน 190 and 634 ng $spot^{-1}$ มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 1–6 mg $spot^{-1}$ และมีค่าร้อยละการได้กลับคืนในช่วง 99.71 ถึง 106.57% (Phattanawasin et al., 2012)

ในปี 2016 Hayun และคณะ ได้ศึกษาการวิเคราะห์สารไซบูทรามีนที่มีการปลอมปนในผลิตภัณฑ์สมุนไพรลดน้ำหนัก ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแผ่นบางร่วมกับเทคนิคเดนสิโตมิทริค (thin layer chromatographic (TLC) – densitometric) ใช้เฟสอยู่กับที่คือซิลิก้าเจล 60 F_{254} เฟสเคลื่อนที่คือ โทลูอีน (toluene) : ไดเอทิลเอมีน (diethylamine) อัตราส่วน (10 : 0.3 v/v) ทำการวิเคราะห์ภายใต้ความยาวคลื่น 227 nm มีค่าขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณของไซบูทรามีนเท่ากับ 724.9 ng $spot^{-1}$ มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.50–5.00 ng $spot^{-1}$ และมีค่าร้อยละการได้กลับคืนในช่วง 99.20 ถึง 100.32% (Hayun et al., 2016)

ในปี ค.ศ. 2014 Mathon และคณะ ทำการวิเคราะห์สารไซบูทรามีนที่ถูกปลอมปนในผลิตภัณฑ์สมุนไพรลดน้ำหนัก โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีแผ่นบางสมรรถนะสูงร่วมกับตัวตรวจวัดชนิดแสงอัลตราไวโอเลตและวัดความหนาแน่น (HPTLC-UV densitometric) โดนตัวอย่างจะถูกดรอปบนแผ่น HPTLC เพลทถูกปรับสภาพความชื้นเป็นเวลา 10 นาทีด้วยสารละลายอิ่มตัวเม็กนีเซียมคลอไรด์ เฟสเคลื่อนที่ใช้โทลูอีนและเมทานอล (v/v) อัตราส่วน 9:1 เมื่อตัวทำละลายเคลื่อนที่ถึงขอบบนซึ่งใช้เวลา 15 min จากนั้นเพลทถูกทำให้แห้งโดยใช้เวลา 5 min จากนั้นทำการวัดความหนาแน่นที่ความยาวคลื่น 225 nm ด้วย TLC scanner 3 ในโหมดดูกลืนแสง ซึ่งใช้ความเร็วในการสแกนเท่ากับ 20 mm s^{-1} จากผลการศึกษาพบว่าตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ทั้งหมด 52 รายการ ตรวจพบสารไซบูทรามีนกึ่งหนึ่งของตัวอย่างทั้งหมด พบปริมาณสารไซบูทรามีนปริมาณสูงถึง 35 mg ต่อแคปซูล (Mathon et al., 2014)

ในปี ค.ศ. 2008 Cianchino และคณะ ศึกษาการวิเคราะห์คาเฟอีนและสารปลอมปนอื่น ๆ ในผลิตภัณฑ์สมุนไพรลดน้ำหนัก โดยใช้เทคนิคแคปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิสร่วมกับตัวตรวจวัดชนิดยูวี ใช้โซเดียมเตตระบอเรตบัฟเฟอร์เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่ pH 9.2 ตรวจวิเคราะห์ภายใต้การให้แรงดันไฟฟ้า 30 kV ที่อุณหภูมิ 25 °C จากผลการศึกษาพบว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมีค่าขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณของคาเฟอีนเท่ากับ 0.22 μg mL^{-1} มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.48–1000 μg mL^{-1} มีค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 98.50–101.90% วิธีที่พัฒนาขึ้นนำไปวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพรลดน้ำหนัก พบว่าตรวจพบสาร อิฟิดรีน0.45 mg g^{-1} นอร์อิฟิดรีน 0.33 mg g^{-1} คาเฟอีน 1.09 mg g^{-1} และฟูโรซีไมด์ (furosemide) 0.80 mg g^{-1} (Cianchino et al., 2008)

ในปี ค.ศ. 2012 Carvalho และคณะ ศึกษาการวิเคราะห์หาสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสมุนไพรลดน้ำหนัก โดยใช้เทคนิคแคปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส สารละลายอิเล็กโทรไลต์ถูกเตรียมโดย 0.05 mol L^{-1} ของฟอสเฟตบัฟเฟอร์ใน 50% (v/v) ของอะซิโตไนไตร์ล ใช้ 0.1 mol L^{-1} กรดฟอสฟอริกในการใช้ปรับ pH ทำการวิเคราะห์ที่อุณหภูมิ 25 °C ภายใต้แรงดันไฟฟ้า 15 kV จากผลการศึกษาผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสมุนไพรลดน้ำหนักจำนวน 106 รายการ จากร้านขายยา 73 แห่งใน 9 รัฐ ประเทศบลาซิล ตรวจพบ 4 รายการคิดเป็น 3.8% มีการปลอมปนของสารเฟนโพรโพเร็กซ์และสารไซบูทรามีน โดยความเข้มข้นของสารไซบูทรามีนที่ถูกตรวจพบมีความเข้มข้น 3563.47 mg kg^{-1} (Carvalho et al., 2012)

ในปี ค.ศ. 2016 Wang และคณะ ศึกษาการวิเคราะห์ไซบูทรามีนและฟีนอฟทาลีนพร้อมกันในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก โดยใช้เทคนิคแคปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิสร่วมกับตัวตรวจวัดชนิดยูวี ใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์และโซเดียมโดเดซิลเป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์ และทำการวัดที่ความยาวคลื่น 223 nm ภายใต้แรงดันไฟฟ้า 25 kV ที่อุณหภูมิ 20 °C จากผลการศึกษาพบว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมีขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณของสารไซบูทรามีนและฟีนอฟทาลีนเท่ากับ 0.03 และ 0.18 μg mL^{-1} ตามลำดับ มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ระหว่าง 0.1–50 μg mL^{-1} มีค่าร้อยละการได้กลับคืนของสารไซบูทรามีนและฟีนอฟทาลีนเท่ากับ 95.3% และ 103.4% ตามลำดับ วิธีที่พัฒนาขึ้นตรวจพบสารไซบูทรามีนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาลดน้ำหนักเท่ากับ 0.94 mg g^{-1} (Wang et al., 2015)

เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงที่มีตัวตรวจวัดชนิดยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ เป็นเทคนิคที่ได้รับความนิยมในการตรวจวิเคราะห์สารไซบูทรามีน ในปี ค.ศ. 2006 Jung และคณะ ทำการศึกษาการวิเคราะห์ไซบูทรามีนในยาสมุนไพรจีนลดน้ำหนัก โดยเทคนิคของเหลวสมรรถนะสูงร่วมกับตัวตรวจวัดชนิดตรวจวัดค่าดูดกลืนแสง (high–performance liquid chromatography with Diode–Array: HPLC-DAD) ในการวิเคราะห์ตัวอย่างยาชนิดแคปซูลใช้คอลัมน์ชนิด LiChrospher 100 A° RP8 จากการศึกษาพบว่ามีการตรวจพบสารไซบูทรามีน 27.4 mg (Jung et al., 2006)

ในปี ค.ศ. 2008 Huang และคณะ ศึกษาการตรวจวิเคราะห์สารไซบูทรามีนและ เอ็น-ได-เดสเมททิลไซบูทรามีนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก ด้วยเทคนิคโครมาโท กราฟีของเหลวต่อคู่กับการวิเคราะห์ชนิดมวลโมเลกุลของสาร (liquid chromatography electrospray-ionization mass spectrometry) วิธีที่พัฒนาขึ้นมีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.025–1.0 μg mL^{-1} มีความเที่ยง (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ 6.86-13.1 %RSD) และแม่นยำ (ค่าการได้กลับคืน 93.6-106.7%) ที่ดี และสามารถตรวจพบสารไซบูทรามีนและสารเอ็น-ได-เดสเมททิล ไซบูทรามีนในตัวอย่างผลิตภัณเสริมอาหารเท่ากับ 2.17 mg g^{-1} และ 1.73 mg g^{-1} ตามลำดับ (Huang et al., 2008) ในปีเดียวกัน Vishal และคณะ ได้ศึกษาการวิเคราะห์สารไซบูทรามีนไฮโดรคลอไรด์และสารปลอมปนอื่นๆ ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงร่วมกับตรวจตรวจวัดชนิดยูวี ซึ่งใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตและอะซีโตนไนไตล์ และใช้เฟสอยู่กับที่เป็นคอลัมน์ชนิด Lichrosphere C 8 ขนาด 5 μm, ยาว 25 cm และ ID 4.6 mm โดยใช้อัตราการไหลเท่ากับ 1.0 mL sec^{-1} และตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 230 nm วิธีที่พัฒนาขึ้นให้ค่าขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณเท่ากับ 2 ng L^{-1} และมีค่าร้อยละการได้กลับคืนในช่วง 99.3–100% (Vishal, 2008)

ในปี ค.ศ. 2011 Chorilli และคณะ พัฒนาเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงสำหรับตรวจวิเคราะห์สารไซบูทรามีนในตัวอย่างยาลดน้ำหนัก วิธีที่พัฒนาขึ้นใช้เวลาในการตรวจวิเคราะห์ 6 นาทีต่อการวิเคราะห์ 1 ตัวอย่าง มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 4.5–19.5 mg L^{-1} มีค่าขีดจำกัดของการตรวจวัดและขีดจำกัดของการหาปริมาณเท่ากับ 0.666 mg L^{-1} และ 2.018 mg L^{-1} ตามลำดับ ผู้วิจัยประยุกต์ใช้วิธีที่พัฒนาขึ้นในการตรวจวิเคราะห์สารไซบูทรามีนในตัวอย่างยาลดน้ำหนักชนิดแคปซูลจำนวน 1 ตัวอย่าง พบว่า สามารถตรวจวัดสารไซบูทรามีนมีค่าใกล้เคียงกับค่าที่ระบุบนฉลากข้างขวด (Chorilli et al., 2011) ต่อมาในปีเดียวกัน ค.ศ. 2011 shi และคณะ ทำการวิเคราะห์หาสาร 8 ชนิดพร้อมกัน ได้แก่ อีเฟดรีน นอร์ปซูโดอีเฟดรีน เฟนฟลูรามีน ไซบูทรามีน โคลพาไมด์ อีโมดิน ไรน์ และไครโซพานอล ทำการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง-อิเล็กตรอนสเปรย์ไอออไนเซชั่นร่วมกับตัวตรวจวัดชนิดแมสสเปกโตรเมทรีคู่ ตัวอย่างถูกสกัดด้วยวิธีอัลตร้าโซนิค และนำไปแยกโดยใช้คอลัมน์ชนิด hypersil gold column (2.1 mm × 150 mm, 5 μm) เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ 0.02% (v/v) ของกรดฟอร์มิก-แอมโมเนียม ที่ pH 3.5 และใช้เมทานอลสำหรับอัตราการไหล 250 μL min^{-1} สภาวะที่เหมาะสมของอัตราการไหลกับเวลา 10% เวลา 0–3 min 10–30% เวลา 3–6 min 30–90% เวลา 16–24 min จากนั้นกลับไปที่ 10% เพื่อปรับสภาพคอลัมน์ใหม่เป็นเวลา 6 min อัตราการไหล 250 μL min^{-1} ที่อุณหภูมิ 25 °C จากนั้นนำเข้าแมสสเปกโตรมิเตอร์โดยใช้โหมด SRM โดยใช้แรงดันสเปรย์ 3500(+)/3000(–)V จากการศึกษาพบว่ามีค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 80.2–94.5% มีขีดจำกัดการตรวจพบอยู่ในช่วง 0.03–0.66 mg kg^{-1} มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 50–5000 mg L^{-1} สำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักพบการปลอมปนของไซบูทรามีนตั้งแต่ 6.1–1.3 $x10^3$ mg kg^{-1} (Shi et al., 2011)

ในปี ค.ศ. 2021 Hieu และคณะ ได้ทำการศึกษาการตรวจวิเคราะห์สารฟีนอฟทาลีนและสารไซบูทรามีนในกลุ่มผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก วิเคราะห์ด้วยเทคนิคของโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงพิเศษร่วมกับตัวตรวจวัดแมสสเปกโตรเมทรีคู่ (ultra-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry: UPLC-MS/MS) วิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ชนิด C18 (10×2.1mm, 2.6 μm) ใช้เฟสเคลื่อนที่ 2 ชนิด ชนิดที่ 1 ใช้ 0.1% กรดฟอร์มิกผสมกับ 5 mM แอมโมเนียมฟอสเฟตในเมทานอล ชนิดที่ 2 ใช้ 0.1% กรดฟอร์มิกผสมกับ 5 mM แอมโมเนียมฟอสเฟตในน้ำ เริ่มกระบวนการที่ 10% เป็นเวลา 0.15 min และเพิ่มขึ้นเป็น 100% เป็นเวลา 3 min คงที่ไว้ 1.2 min และกลับสู่ 10% เป็นเวลา 0.5 min และคงไว้ 2 min อัตราการไหล 0.4 mL min^{-1} ตลอดการทดลองเก็บตัวอย่างและสารมาตรฐานที่อุณหภูมิ 10 °C จากผลการศึกษาพบว่าฟีนอฟทาลีนและไซบูทรามีนมีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.2–10 ng mL^{-1} มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ 0.9991 และ 0.9992 ตามลำดับ มีค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 98.5–102.5% มีค่าขีดต่ำสุดการตรวจพบ 0.12 และ 0.09 ng mL^{-1} ตามลำดับ และมีค่าขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ 0.36 และ 0.28 ng mL^{-1} ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ตัวอย่างทั้งหมด 19 ตัวอย่าง ตรวจพบสารฟีนอฟทาลีนจำนวน 5 ตัวอย่าง และตรวจพบสารไซบูทรามีนจำนวน 6 ตัวอย่าง (Hieu et al., 2021)

ในปี ค.ศ. 2021 Romos และคณะ ได้ศึกษาการวิเคราะห์สารฟลูออกซิทีนที่ปลอมปนในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก โดยใช้วิเคราะห์อย่างง่ายและรวดเร็วของเทคนิคโวลต์เท็มเมทริค (simple and rapid voltammetric) ซึ่งใช้เป็นระบบสเควเวฟโวเท็มเมทริค ขั้วอิเล็กโทรดทำงานได้ใช้โบรอนที่เจือปนด้วยไดมอน (boron-doped diamond) เป็นขั้วอิเล็กโทรดที่สามารถตรวจวิเคราะห์สารฟลูออกซิทีนได้ อย่างรวดเร็ว โดยใช้ 0.1 mol L^{-1} ของกรดซัลฟิวริกเป็นสารอิเล็กโทรไลต์ จากผลการศึกษาพบว่ามีค่าขีดจำกัดของการตรวจพบเท่ากับ 0.1 mg L^{-1} มีช่วงความเป็นเส้นตรง 1–50 mg L^{-1} ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ 0.993 และมีค่าร้อยละการได้กลับคืนเท่ากับ 104 ± 6% (Ramos et al., 2021)

ในปี ค.ศ. 2014 Khazan และคณะ ได้ศึกษาการวิเคราะห์สารไซบู ทรามีน ฟีนอฟทาลีน และฟีนิลโทอิน โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีร่วมกับตัวตรวจวัดชนิดแมสสเปกโตรเมททรี ใช้แคปปิลารี่คอลัมน์ชนิด HP-5 (30 m. X 0.25 mm x 0.25 μm) ใช้แก๊สฮีเลียมซึ่งมีอัตราการไหลเท่ากับ 1 mL min^{-1} ปริมาตรในการฉีดเท่ากับ 1 μL อุณหภูมิหัวฉีดเท่ากับ 250 °C และอุณหภูมิตัวตรวจวัดแมส สเปกโตรเมทรีเท่ากับ 300 °C สภาวะที่เหมาะสมของตัวตรวจวัดใช้พลังงานไอออไนเซชันเท่ากับ 70 eV มีค่าแมสอยู่ในช่วง 25–1000 amu และใช้ Wiley 275 และ NIST libraries เป็นฐานข้อมูลในการระบุชนิดของสารที่ต้องการตรวจพบ จากผลการศึกษาพบว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 1–500 μg mL^{-1} มีค่าขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณเท่ากับ 5 ng mL^{-1} มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 6.7% และมีค่าการได้กลับคืนเท่ากับ 95.6 % วิธีที่พัฒนาขึ้นนำไปวิเคราะห์ตัวอย่างสมุนไพรลดน้ำหนักในประเทศอิหร่านจำนวน 8 ตัวอย่าง พบว่าตรวจพบสารไซบูทรามีน (6–78 mg $capsule^{-1}$) ฟีนอฟทาลีน (233.8– 1167 mg $capsule^{-1}$) บูมีทาไนด์

(bumetanide) (0.82–3.8 mg capsule^{-1}) เฟนิโทอิน (phenytoin) (0.1– 0.86 mg capsule^{-1}) (Khazan et al., 2014)

ถึงแม้ว่าวิธีวิเคราะห์ที่กล่าวมาข้างต้นจะเป็นวิธีวิเคราะห์ที่มีความน่าเชื่อถือ มีความถูกต้องและแม่นยำ ได้การยอมรับจากหน่วยงานระดับสากล แต่อย่างไรก็ตาม ยังคงมีข้อจำกัดในการตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักต้องสงสัยประกอบด้วย ตัวอย่างมีองค์ประกอบของเมทริกซ์ที่ซับซ้อนส่งผลรบกวนต่อวิธีตรวจวิเคราะห์ได้ และมักพบสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาปริมาณน้อยในตัวอย่าง ดังนั้น วิธีการเตรียมตัวอย่างหรือวิธีการสกัดสารเคมีสำคัญในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักที่เหมาะสมก่อนตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือในห้องปฏิบัติการจึงมีความจำเป็นต่อกระบวนการตรวจวิเคราะห์

1.2.5 เทคนิคการเตรียมตัวอย่าง

การวิเคราะห์สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักจำเป็นจะต้องมีการเตรียมตัวอย่างเพื่อกำจัดตัวรบกวนในตัวอย่าง ซึ่งวิธีการเตรียมตัวอย่างที่นิยมนำมาใช้สกัดสารเคมีสำคัญก่อนการวิเคราะห์ เช่น วิธีการสกัดของเหลวด้วยตัวทำละลาย (Nirogi et al., 2007) การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง (Yilmaz and Erdem., 2015) และการสกัดด้วยตัวดูดซับแท่งแม่เหล็ก (Goto et al., 2011) เป็นต้น

เทคนิคการสกัดของเหลวด้วยตัวทำละลายหรือเทคนิค liquid-liquid extraction (LLE) อาศัยหลักการของการกระจายตัวของสารที่สนใจจะวิเคราะห์กระจายตัวอยู่ในเฟสสองเฟสได้แตกต่างกัน คือกระจายตัวอยู่ในเฟสตัวอย่าง (aqueous phase) และกระจายตัวอยู่ในเฟสของตัวทำละลายอินทรีย์ (organic phase) ทั้งนี้ในการสกัดสารตัวอย่างจำเป็นต้องมีการเลือกตัวทำละลายให้เหมาะสมกับตัวอย่างที่จะวิเคราะห์เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพของการสกัดที่ดี ในปี ค.ศ. 2008 Wang และคณะ ได้ศึกษาวิธีการสกัดสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในตัวอย่างผลิตภัณฑ์สมุนไพรลดน้ำหนัก เตรียมตัวอย่างโดยการนำตัวอย่างหนัก 0.5 g สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์เมทานอลปริมาตร 20 mL เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 20 min จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 rpm เวลา 10 min นำส่วนสารละลายที่ได้จากการสกัดเจือจางด้วยเมทานอลก่อนวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี–แมสสเปกโตรเมทรี ผลการศึกษาพบว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมีค่าร้อยละการได้กลับคืนของการวิเคราะห์สารไซบูทรามีนอยู่ในช่วง 98.3–106.6% (Wang et al., 2008) ต่อมาในปี ค.ศ. 2009 Diefenbach และคณะ ได้เลือกใช้วิธีการสกัดของเหลวด้วยตัวทำละลายสำหรับสกัดสารไซบูทรามีนในตัวอย่างแคปซูลยาลดน้ำหนัก เตรียมตัวอย่างโดยการนำตัวอย่างหนัก 20 mg ละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอลปริมาตร 50 mL และเขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 30 min จากนั้นนำมาสกัดด้วยคลื่นความถี่สูงเป็นเวลา 20 min นำส่วนสารละลายที่ได้จากการสกัดเจือจางด้วยเมทานอล และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3300 rpm เวลา 5 min ก่อนวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงที่มีตัว

ตรวจวัดชนิดยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ผลการศึกษาพบว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมีค่าร้อยละการได้กลับคืนของการวิเคราะห์สารไซบูทรามีนอยู่ในช่วง 99.64–100.66% (Diefenbach et al., 2009) ต่อมาในปี ค.ศ. 2018 Pascali และคณะ ได้ทำการสกัดสารปลอมปนจากผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักสมุนไพรด้วยวิธีการสกัดของเหลวด้วยตัวทำละลาย เตรียมตัวอย่างโดยการนำตัวอย่างหนัก 400 mg ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 16 mL จากนั้นนำตัวอย่างปริมาตร 1 mL ปรับ pH ให้มีค่าประมาณ 9–10 ด้วย 10% สารละลายโซเดียม ไฮดรอกไซด์ สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ไดเอทิลอีเทอร์ และให้ความร้อนเพื่อกำจัดตัวทำละลายอินทรีย์ จากนั้นเติมน้ำปราศจากไอออนเพื่อละลายสารที่ได้จากการสกัดก่อนวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวร่วมกับตัวตรวจวัดแมส สเปกโตรเมทรี (Pascali et al., 2018) แม้ว่าการสกัดสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักด้วยวิธีการสกัดของเหลวด้วยตัวทำละลายจะเป็นวิธีที่ง่าย สะดวกและไม่ต้องใช้อุปกรณ์ที่ซับซ้อน แต่อย่างไรก็ตาม เทคนิคนี้ต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในปริมาณมาก ใช้เวลาในการสกัดนาน และมีโอกาสเกิดกระบวนการอิมัลชั่น (emulsion) ในระหว่างขั้นตอนการสกัดได้

เทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับแท่งแม่เหล็กหรือเทคนิค stir bar sortive extraction (SBSE) เป็นเทคนิคที่อาศัยคุณสมบัติของแม่เหล็กมาช่วยในการสกัด โดยตัวแท่งแม่เหล็กจะมีการเคลือบสารพอลิเมอร์หรือใช้แท่งแม่เหล็กร่วมกับตัวดูดซับที่ทำหน้าที่ดูดซับสารที่สนใจจะวิเคราะห์และมีการใช้ร่วมกับเครื่องกวนสาร ทำให้เกิดการหมุนและเกิดการดูดซับที่ดีขึ้น ทำให้ได้ประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ที่สูงขึ้น ในปี ค.ศ. 2001 Popp และคณะ ได้พัฒนาวิธีสกัดด้วยแท่งแม่เหล็กดูดซับจากการนำสารพอลิเมอร์โพลีไดเมททิลไซลอกเซน (polydimethylsiloxane: PDMS) เคลือบลงบนแท่งเหล็กเพื่อสกัดสารจำพวกพอลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในตัวอย่างน้ำ การเคลือบสารพอลิเมอร์โพลีไดเมททิลไซลอกเซนบนแท่งแม่เหล็กเป็นการเพิ่มรูพรุนและเพิ่มพื้นที่ผิวทำให้สารที่สนใจวิเคราะห์ถูกดูดซับบนตัวดูดซับได้มากขึ้น ทำให้วิธีการสกัดด้วยตัวดูดซับแท่งแม่เหล็กเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพการสกัดที่ดี (Popp et al., 2001) ต่อมาในปี ค.ศ. 2010 Lan และคณะ ได้พัฒนาวิธีการสกัดสารแอมเฟตามีน, เมทแอมเฟตามีน, 3,4 เมทิลลีนไดออกซีแอมเฟตามีน, 3,4 เมทิลลีนไดออกซีเมทแอมเฟตามีน และเคตามีน ในตัวอย่างปัสสาวะ ด้วยเทคนิคตัวดูดซับแท่งแม่เหล็กที่เคลือบสารไททาเนียไฮดรอกซีซิลิโคนออยด์ (titania–hydroxy–terminated silicone oil; titania–OH–TSO) ด้วยกระบวนการโซล-เจล ผู้วิจัยเตรียมตัวอย่างโดยการนำตัวอย่างปริมาตร 3 mL ใส่ลงในขวดแก้วใส่ตัวอย่าง นำอุปกรณ์ตัวดูดซับแท่งแม่เหล็กที่ผ่านการเตรียมแล้วมาใส่ลงในขวดใส่ตัวอย่าง จากนั้นสกัดด้วยเครื่องกวนสารหมุนด้วยความเร็ว 700 rpm เป็นเวลา 20 min จากนั้นนำตัวดูดซับออกมาซับให้แห้งและทำการชะสารออกจากตัวดูดซับของแข็งโดยการนำไปใส่ลงในขวดที่มีตัวทำละลายเมทานอลผสมกับฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 1.5) ด้วยคลื่นความถี่สูงเป็นเวลา 20 นาที นำตัวอย่างที่ได้จากการสกัดตรวจวัดด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงร่วมกับตัวตรวจวัดชนิดอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิล ผลการศึกษาพบว่าการสกัดด้วยวิธีตัวดูดซับแท่งแม่เหล็กมีค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 90.8–114.2% และมีค่าขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณอยู่ในช่วง 2.3–9.1 $\mu g\ L^{-1}$ (Lan et al.,

2010) ต่อมาในปี ค.ศ. 2021 Nualdee และคณะ ได้พัฒนาวิธีการสกัดด้วยแท่งแม่เหล็กดูดซับแบบดัมเบล สำหรับสกัดยาที่มีการใช้ในทางที่ผิด (ทรามาดอล โปรเมทาซีน คลอเฟนิรามีน ไดเฟนไฮดรามีนและเดกซ์โทรเมทอร์เฟน) ในตัวอย่างเครื่องดื่มต้องสงสัย ผู้วิจัยได้เลือกใช้ตัวดูดซับชนิด XAD–2 บรรจุลงในแม่เหล็กดูดซับแบบดัมเบล ขั้นตอนการสกัดเริ่มจากใช้ตัวอย่างเครื่องดื่มต้องสงสัยปริมาตร 2 mL สกัดด้วยการใช้แท่งแม่เหล็กดูดซับแบบดัมเบล (XAD–2) หมุนในสารละลายตัวอย่างที่ความเร็วรอบ 750 rpm เป็นเวลา 30 นาที และในขั้นตอนการคายการดูดซับ นำแท่งแม่เหล็กดูดซับแบบดัมเบล (XAD–2) หมุนในตัวทำละลายอะซิโตไนไตรล์ (ปริมาตร 2 mL) ที่ความเร็วรอบ 750 rpm เป็นเวลา 5 นาที พบว่าวิธีนี้ให้ประสิทธิภาพของการสกัดยาที่ใช้ในทางที่ผิดในตัวอย่างเครื่องดื่มสูตรผสมเท่ากับ 85.0–97.8% (Nualdee et al., 2021) วิธีการสกัดด้วยแท่งแม่เหล็กดูดซับเป็นวิธีที่เพิ่มประสิทธิ์ของการสกัดได้ดี มีความไววิเคราะห์ นำตัวสกัดมาใช้ซ้ำได้หลายครั้ง แต่อย่างไรก็ตามเทคนิคนี้ใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน

เทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งหรือเทคนิค solid phase extraction (SPE) เป็นกระบวนการเตรียมตัวอย่างโดยที่สารประกอบที่ละลายหรือแขวนลอยในส่วนผสมที่เป็นของเหลวจะถูกแยกออกจากสารประกอบอื่นๆ โดยอาศัยหลักการแบ่งส่วนการละลาย (partition) ของสารที่สนใจจะวิเคราะห์บนตัวอยู่นิ่งกับตัวทำละลาย โดยเทคนิคนี้ใช้เวลาไม่นาน มีประสิทธิภาพการสกัดสูง และเทคนิคนี้ยังสามารถเพิ่มความเข้มข้นของสารที่สนใจจะวิเคราะห์ได้ โดยมีขั้นตอนในการสกัด 4 ขั้นตอน คือ การปรับสภาวะของตัวดูดซับ (conditioning) การใส่ตัวอย่างสกัด (sample addition/loading) การล้างตัวอย่าง (washing) และการชะสารที่สนใจจะวิเคราะห์ (eluting) (Kyle, 2017) ตัวดูดซับของแข็งมีหลายชนิดชนิดทั้งนี้ต้องเลือกให้เหมาะสมกับการนำมาวิเคราะห์กับสารที่สนใจจะวิเคราะห์ การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งนิยมนำมาใช้ในการสกัดสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในตัวอย่างชีววัตถุ เช่น ปัสสาวะ เลือดและน้ำลาย เป็นต้น

ในปี ค.ศ. 2010 Aç×kkol และคณะได้ทำการสกัดสารฟลูออกซิทีนและเมททาบอไลต์นอร์ฟลูออกซิทีนในตัวอย่างปัสสาวะมนุษย์ ผู้วิจัยได้เลือกใช้ตัวดูดซับชนิด C_{18} ปรับสภาวะตัวดูดซับเริ่มแรกด้วยเมทานอลผสมน้ำในอัตราส่วน (30:70 v/v) ปริมาตร 5 mL ตามด้วย 10 mM ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7 จากนั้นใช้ตัวอย่างปัสสาวะปริมาตร 5 mL ใส่ลงบนตัวดูดซับของแข็ง กำจัดตัวรบกวนการวิเคราะห์ด้วยเฮกเซนปริมาตร 3 mL กรดอะซิติกปริมาตร 1 mL และเอทิลอะซิเตทปริมาตร 3 mL และชะสารที่ต้องการตรวจวัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนปริมาตร 7.8 mL ไอโซโพรพิวแอลกอฮอล์ปริมาตร 2 mL และแอมโมเนียปริมาตร 0.2 mL โดยใช้อัตราการไหล 0.5 mL min^{-1} และนำไประเหยแห้งด้วยแก๊สไนโตรเจน ก่อนวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีร่วมกับตัวตรวจวัดชนิดแมส สเปกโตรเมททรี จากผลการศึกษาพบว่าวิธีนี้มีค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 87.0–109.0% (Ac1kkol and Salkim, 2010) ต่อมาในปี ค.ศ. 2017 Jin และคณะ พัฒนาวิธีการสกัดโดยใช้กราฟีนเป็นตัวดูดซับซึ่งบรรจุอยู่ภายในปิเปตทิป (Graphene tip) สำหรับสกัดสารเฟนฟลูรามีน ฟีนอฟทาลีน บูมีทาไนด์และไซบูทรามีนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักที่หาซื้อได้

จากท้องตลาด เตรียมตัวอย่างโดยการนำตัวอย่างหนัก 0.1 g ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ 70% (v/v) เมทานอล จากนั้นนำมาสกัดด้วยคลื่นความถี่สูงเป็นเวลา 15 min และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 rpm เวลา 5 min นำตัวอย่างไประเหยแห้งด้วยแก๊สไนโตรเจนเพื่อกำจัดตัวทำละลายอินทรีย์ และใช้น้ำปราศจากไอออน 200 µL ละลายส่วนที่หลงเหลือจากการระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ ก่อนโหลดตัวอย่างลงในตัวดูดซับกราฟีนซึ่งบรรจุอยู่ภายในปิเปตทิป จากนั้นกำจัดตัวรบกวนการวิเคราะห์ด้วย 5% สารละลายอะซิโตไนไตรล์ และชะด้วย 0.5% กรดอะซิติกที่ละลายอยู่ในอะซิโตไนไตรล์ก่อนตรวจวัดด้วยเทคนิคอัลตร้าโครมาโทกราฟีของเหลวแรงดันสูง-แมส สเปกโตรเมทรี ผลการศึกษาพบว่าวิธีเตรียมตัวอย่างที่พัฒนาขึ้นมีค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 82.9–95.2% และมีค่าขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณเท่ากับ 1.8 ng mL^{-1} วิธีการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งจะเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการสกัดที่ดี สามารถทำความสะอาดตัวอย่างและเพิ่มความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์ได้ มีความจำเพาะ ถูกต้องและแม่นยำ สามารถนำไปในการวิเคราะห์สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาได้ โดยเลือกตัวดูดซับที่เหมาะสมกับสารที่สนใจจะวิเคราะห์ เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพการสกัดและการกำจักตัวรบกวนที่ดีที่สุด (Jin et al., 2017)

ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกใช้ตัวดูดซับของแข็งชนิดเอช แอล บี มาใช้ในการตรวจวัดสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น โดยตัวดูดซับของแข็งชนิดเอช แอล บี จะเกิดอันตรกิริยากับสารที่สนใจจะวิเคราะห์ด้วยแรงแวน เดอร์ วาวล์ และไดโพล–ไดโพล นอกจากนี้ส่วนที่มีขั้ว N–vinylpyrolidone สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับสารที่สนใจวิเคราะห์บางตัว และส่วนที่ไม่มีขั้ว divinylbenzene สามารถเกิดอันตรกิริยาแบบพันธะพายได้กับโมเลกุลที่มี พาย-ซิสเท็ม (Dias and Poole, 2002) ทำให้มีประสิทธิภาพในการสกัดที่ดี มีความถูกต้องและแม่นยำ มีความจำเพาะ สามารถนำไปใช้วิเคราะห์สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักได้จริง

1.3 วัตถุประสงค์

1.3.1 เพื่อพัฒนาวิธีการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งสำหรับสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก

1.3.2 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งสำหรับสกัดสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักเมื่อใช้ร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-เฟลมไอออไนเซชั่น

1.3.3 เพื่อพิสูจน์การใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้นและนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจพิสูจน์สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ผลงานวิจัยครั้งนี้ทำให้ได้วิธีการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งที่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์น้ำหนัก วิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถกำจัดตัวรบกวนการวิเคราะห์และเพิ่มความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์ได้ในขั้นตอนเดียว มีราคาถูก สามารถเตรียมได้ง่าย มีขั้นตอนการสกัดที่ไม่ยุ่งยาก ช่วยลดต้นทุนค่าใช้จ่ายต่อตัวอย่างและใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ปริมาณน้อย วิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถนำไปใช้เป็นวิธีตรวจพิสูจน์ในห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ในหน่วยงานต่าง ๆ ได้ เช่น ศูนย์พิสูจน์หลักฐานตำรวจ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ สถาบันนิติวิทยาศาสตร์ และห้องปฏิบัติการด้านพิษวิทยา เป็นต้น ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาจะเป็นประโยชน์แก่เจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องสามารถนำไปใช้เป็นพยานหลักฐานช่วยเหลือกระบวนการคุ้มครองผู้บริโภคและใช้ยืนยันการกระทำความผิดของผู้ประกอบการที่มีสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์น้ำหนัก

บทที่ 2

วิธีการดำเนินวิจัย

2.1 สารเคมี

2.1.1 ไซบูทรามีน ไฮโดรคลอไรด์ ($C_{17}H_{26}ClN \cdot HCl$ บริษัท Toronto Research Chemicals Inc. ประเทศแคนาดา)

2.1.2 ฟลูออกซิทีน ไฮโดรคลอไรด์ ($C_{17}H_{18}F_3NO \cdot HCl$ บริษัท Tokyo Chemical Industry Co., Ltd. ประเทศญี่ปุ่น)

2.1.3 คาเฟอีน ($C_8H_{10}N_4O_2$ บริษัท Supelco Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา)

2.1.4 ทรามาดอล ($C_{16}H_{25}NO$ บริษัท Sigma–Aldrich Inc. ประเทศสวิสเซอร์แลนด์)

2.1.5 แมทแอมเฟตามีน ($C_{10}H_{15}N$ บริษัท Sigma–Aldrich Inc. ประเทศสวิสเซอร์แลนด์)

2.1.6 ไดฟีนิลเอมีน ($C_{12}H_{11}N$ บริษัท Loba Chemie Pvt. Ltd. ประเทศอินเดีย)

2.1.7 เมทานอล analytical grade (CH_3OH บริษัท Sigma-Aldrich Inc. ประเทศสวิสเซอร์แลนด์)

2.1.8 อะซีโตไนไตร์ล analytical grade (CH_3CN บริษัท RCI Labscan Ltd. ประเทศไอร์แลนด์)

2.1.9 ผลิตภัณฑ์ยาลดน้ำหนัก ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก กาแฟลดน้ำหนักและสมุนไพรลดน้ำหนักได้จากการซื้อผ่านอินเตอร์เน็ตและตลาดนัดในพื้นที่อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

2.1.10 ตัวดูดซับของแข็งชนิด HLB SPE Oasis® (บริษัท Waters Corporation ประเทศสหรัฐอเมริกา)

2.1.11 น้ำปราศจากไอออน (deionized water)

2.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟชนิดตัวตรวจวัดเฟลมไอออไนเซชั่น รุ่น 7890A (บริษัท Agilent Technologie ประเทศสหรัฐอเมริกา)

2.3 วัสดุอุปกรณ์

2.3.1 ไมโครปิเปต ขนาด 200 และ 1000 ไมโครลิตร (บริษัท Socorex ประเทศสวิสเซอร์แลนด์)

2.3.2 เครื่องชั่งสาร 4 ตำแหน่ง Sartorius Model TE214S (บริษัท Sartorius Thailand Co., Ltd. ประเทศไทย)

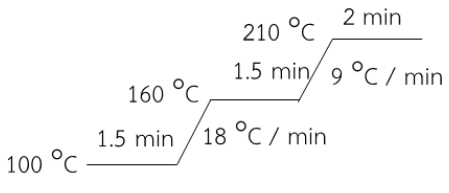
2.3.3 ไซริงค์ 1 มิลลิลิตร (บริษัท Nipro Co., Ltd. ประเทศไทย)

2.3.4 ไซริงค์กรองสารขนาดรูพรุน 0.45 μm Whatman (บริษัท Sigma–Aldrich ประเทศอังกฤษ)

3.2.5 นาฬิกาจับเวลา รุ่น CT–40 (บริษัท Canon Inc. ประเทศญี่ปุ่น)

2.4 สภาวะที่เหมาะสมของแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น

ตารางที่ 2.1 แสดงสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์เสริมลดน้ำหนัก

พารามิเตอร์	สภาวะที่เหมาะสม
• **เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี**	
ชนิดคอลัมน์	HP–5 capillary column (30 m x 250 μm i.d. x 0.25 μm film thickness)
อุณหภูมิหัวฉีด	290 °C
สัดส่วนสารเข้าคอลัมน์ (Split ratio)	10:1
อัตราการไหลของแก๊สพา (ฮีเลียม)	2.0 mL min^{-1}
อุณหภูมิของคอลัมน์	

• **ตัวตรวจวัดชนิดเฟลมไอออไนเซชั่น**	
อุณหภูมิของตัวตรวจวัด	300 °C
อัตราการไหลของแก๊สไนโตรเจน	25 mL min^{-1}
อัตราการไหลของแก๊สไฮโดรเจน	30 mL min^{-1}
อัตราการไหลของแก๊สออกซิเจน	300 mL min^{-1}
ปริมาณของสารในการฉีดแต่ละครั้ง	1 µL
เวลาทั้งหมดในการวิเคราะห์	13.9 min

2.5 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

2.5.1 การเตรียมสารมาตรฐานตั้งต้น

เตรียมสารมาตรฐานไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน คาเฟอีน ทรามาดอล และเมทแอมเฟตามีน ที่ความเข้มข้น 5000 mg L^{-1} ปริมาตร 1.00 mL เพื่อใช้เป็นสารมาตรฐานตั้งต้น เตรียมโดยทำการชั่งสารมาตรฐานแต่ละชนิดน้ำหนัก 0.0050 g ละลายในตัวทำละลายเมทานอลปริมาตร 1.00 mL และเตรียมสารมาตรฐานภายในไดฟีนิลลามีนที่ความเข้มข้น 1000 mg L^{-1} ปริมาตร 2.00 mL เตรียมโดยทำการชั่งสารมาตรฐานแต่ละตัว 0.0020 g ละลายในตัวทำละลายเมทานอลปริมาตร 2.00 mL จากนั้นเก็บสารมาตรฐานตั้งต้นไว้ในขวดไวแอลขนาด 5.00 mL ณ อุณหภูมิ 4 °C

2.5.2 การเตรียมสารมาตรฐานผสม

การเตรียมสารมาตรฐานผสมไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน คาเฟอีน ทรามาดอล และเมทแอมเฟตามีน ที่ความเข้มข้น 500 mg L^{-1} และ 100 mg L^{-1} ปริมาตร 1.00 mL เพื่อใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐาน เตรียมโดยการปิเปตสารมาตรฐานตั้งต้นของสารแต่ละชนิดปริมาตร 200 µL และเติมตัวทำละลายเมทานอลได้ให้ปริมาตรรวม 1000 µL จากนั้นทำการเจือจางสารมาตรฐานผสมให้ได้ความเข้มข้น 0–100 mg L^{-1} และสารมาตรฐานภายในที่ความเข้มข้น 25 mg L^{-1} **ดังตารางที่ 2.2**

ตารางที่ 2.2 แสดงอัตราส่วนของปริมาตรสารมาตรฐานผสมกับเมทานอลสำหรับการเตรียมสารมาตรฐานผสมที่ความเข้มข้น 0 ถึง 100 mg L^{-1} และสารมาตรฐานภายในที่ความเข้มข้น 25 mg L^{-1}

ความเข้มข้นสารมาตรฐานผสม (mg L^{-1})	ปริมาตรสารมาตรฐานผสมความเข้มข้น 100 mg L^{-1} ที่ใช้ (µL)	ปริมาตรสารมาตรฐานผสมความเข้มข้น 500 mg L^{-1} ที่ใช้ (µL)	ปริมาตรสารมาตรฐานภายในไดฟีนิลลามีนความเข้มข้น 1000 mg L^{-1} ที่ใช้ (µL)	ปริมาตรตัวทำละลายเมทานอลที่ใช้ (µL)
0	-	-	25	975
0.5	5	-	25	970
1	10	-	25	965
1.5	15	-	25	960
2	20	-	25	955
2.5	25	-	25	950
5	50	-	25	925
10	100	-	25	875
25	-	50	25	925
50	-	100	25	875
100	-	200	25	775

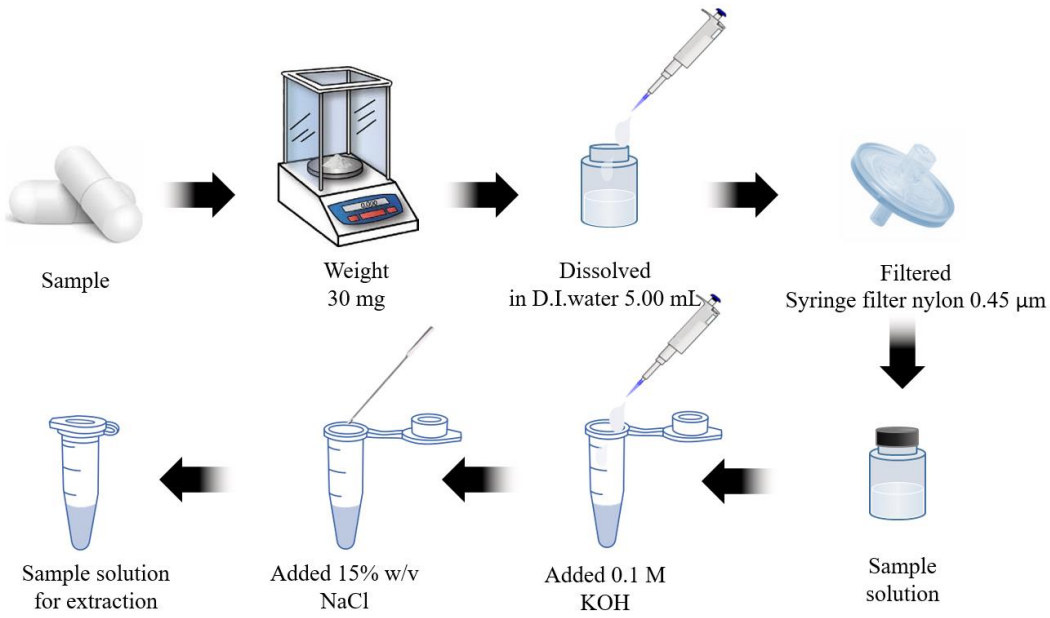
2.6 การชักตัวอย่าง

การชักตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักชนิดผงและแคปซูล โดยมีหลักการชักตัวอย่างอ้างอิงจากคู่มือปฏิบัติงานด้านการตรวจพิสูจน์หลักฐานของสำนักงานพิสูจน์หลักฐานตำรวจ ฉบับร่าง พ.ศ.2547 ซึ่งได้กล่าวถึงตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ ซึ่งเป็นตัวอย่างเป็นแท่ง ก้อน หรือผง และตัวอย่างเป็นเม็ดยา หรือแคปซูล โดยตัวอย่างที่เป็นแท่ง ก้อน หรือผง หากน้อยกว่า 10 หน่วย ให้ชักตัวอย่างมาตรวจพิสูจน์ทั้งหมด ตัวอย่างตั้งแต่ 10 ถึง 100 หน่วย ให้สุ่ม 10 หน่วย มาตรวจพิสูจน์ และหากมีตัวอย่างมากกว่า 100 หน่วย ให้สุ่มมาตรวจพิสูจน์ตามจำนวนเท่ากับรากที่ 2 ของตัวอย่างทั้งหมด และตัวอย่างที่เป็นเม็ดยา หรือแคปซูล หากตัวอย่างน้อยกว่า 10 หน่วย ให้ชักตัวอย่างทั้งหมดมาตรวจวิเคราะห์ ตัวอย่างตั้งแต่ 10 ถึง 27 หน่วย ให้สุ่มหยิบมา 3 ใน 4 ส่วน ตัวอย่างตั้งแต่ 28 ถึง 200 หน่วย ให้สุ่ม 1 ใน 2 ไม่เกิน 50 หน่วย และมากกว่า 200 หน่วย ให้สุ่มไม่เกินร้อยละ 10 ของจำนวนหน่วย ในงานวิจัยนี้ได้ทำการชักตัวอย่างจากผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักชนิดแคปซูลและผง จำนวน 1 หน่วย (แคปซูลหรือซอง) ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักชนิดแคปซูล นำตัวอย่างจำนวน 1 แคปซูล มาชั่งหาน้ำหนักสุทธิ จากนั้นนำตัวอย่างผงตัวอย่างมาชั่งน้ำหนัก 30 mg และละลายด้วยตัวทำละลาย

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักชนิดผง นำตัวอย่างจำนวน 1 ซอง มาชั่งน้ำหนักสุทธิจากนั้นนำผงตัวอย่างมาชั่งน้ำหนัก 30 mg และละลายด้วยตัวทำละลาย

2.7 การเตรียมผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก

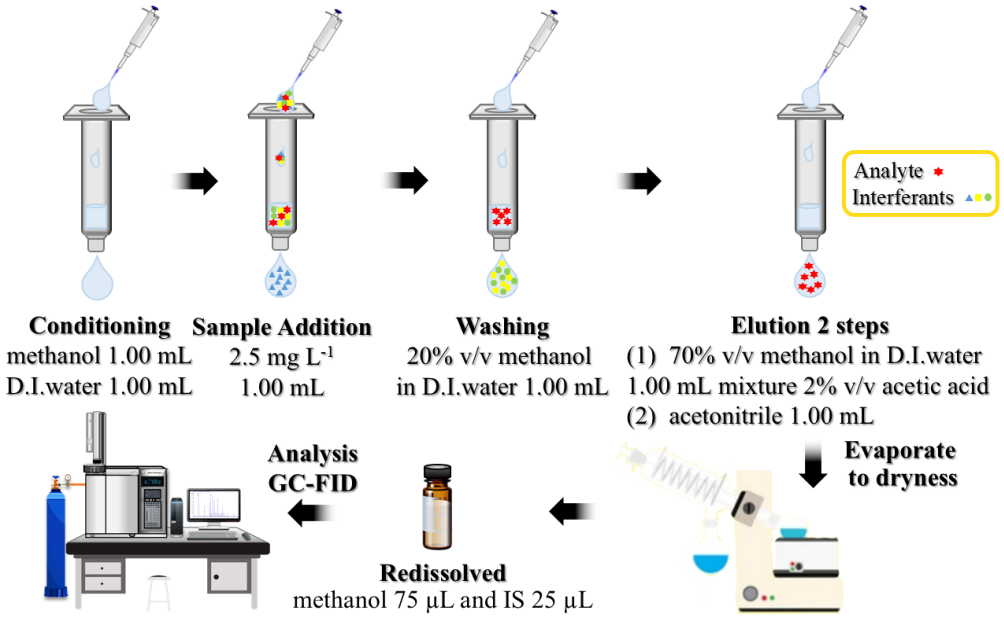
นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักที่ทำการซื้อจากอินเตอร์เน็ตและตลาดนัดในพื้นที่อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา มาทำการชักตัวอย่าง จากนั้นทำการชั่งตัวอย่างละ 30 mg ละลายด้วยน้ำปริมาตร 5.00 mL สารสกัดมากรองด้วยไซริงค์ฟิลเตอร์ (ขนาด 0.45 µm) ปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาตร 1.00 mL ใส่ในหลอดไมโครเซนติฟิวก์ เติม 0.1 M ของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เพื่อใช้ในการปรับ pH และเติม 15% (w/v) โซเดียมคลอไรด์ เพื่อช่วยในการละลายและช่วยให้สารที่สนใจวิเคราะห์จับกับตัวดูดซับได้ดีขึ้น จากนั้นจะได้สารละลายตัวอย่างไปใช้ในการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งและตรวจวิเคราะห์ **ดังภาพที่ 2.1**



ภาพที่ 2.1 แสดงกระบวนการเตรียมผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักเพื่อนำไปใช้ในการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น

2.8 การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง

การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง ทำได้โดยใช้ตัวดูดซับของแข็งเป็นชนิด HLB 1 cc (30 mg) เริ่มจากการปรับสภาพตัวดูดซับของแข็งให้พร้อมสำหรับการใช้งาน (conditioning) โดยใช้เมทานอล ปริมาตร 1.00 mL และน้ำปริมาตร 1.00 mL เพื่อปรับสภาพรูพรุนของตัวดูดซับให้พร้อมสำหรับการเกิดอันตรกิริยา ต่อมาทำการโหลดสารมาตรฐานผสม (sample addition) ที่ผ่านการปรับให้มี pH 12 เพื่อให้สารไม่เกิดการแตกตัวเป็นไอออนสามารถจับกับตัวดูดซับได้ดี และเติมเกลือที่ความเข้มข้น 15% w/v ของโซเดียมคลอไรด์ในน้ำปริมาตร 1.00 mL เพื่อเพิ่มความมีขั้วให้กับสารที่สนใจวิเคราะห์ จากนั้นทำการกำจัดตัวรบกวน (washing) โดยใช้ 20% (v/v) เมทานอลในน้ำปริมาตร 1.00 mL เพื่อกำจัดสารไม่สนใจวิเคราะห์ที่ผสมกับตัวอย่างออกจากตัวดูดซับ และทำการชะตัวอย่างออกจากตัวดูดซับ (eluting) โดยใช้ 70% v/v เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติกปริมาตร 1.00 mL และอะซิโตไนไตร์ล ปริมาตร 1.00 mL เพื่อชะสารที่สนใจวิเคราะห์ออกจากตัวดูดซับให้ได้มากที่สุด จากนั้นทำการระเหยตัวทำละลายโดยการใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศเป็นเวลา 3 นาที เมื่อตัวทำละลายระเหยจนหมดเติมเมทานอลปริมาตร 75 µL และเติมสารมาตรฐานภายในไดฟีนิลลามีน ปริมาตร 25 µL จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น (n=3) **ดังภาพที่ 2.2**



ภาพที่ 2.2 แสดงกระบวนการสกัดสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น

2.9 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของวิธีการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของวิธีการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งสำหรับสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก จำเป็นต้องศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดก่อนจะทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพที่ดีของการสกัด ซึ่งจะส่งผลให้ได้ค่าสัญญาณที่ดีสามารถยอมรับได้ พิจารณาจากค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีค นำมาคำนวณหาค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) **ดังแสดงดังสมการ**

ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) = $(C_sV_s/C_AV_A) \times 100$

เมื่อ C_s คือ ความเข้มข้นของสารมาตรฐานผสมในตัวอย่างหลังการสกัด

C_A คือ ความเข้มข้นของสารมาตรฐานผสมที่เติมในตัวอย่างก่อนการสกัด

V_S คือ ปริมาตรของตัวทำละลายที่ใช้ในการละลายตัวอย่างหลังการสกัด

V_A คือ ปริมาตรของตัวอย่างก่อนการสกัด

โดยการศึกษาในครั้งนี้จะทำการเปลี่ยนแปลงสภาวะที่ศึกษาและคงสภาวะอื่น ๆ ไว้ เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมที่สุดจากค่าสัญญาณที่วัดได้จะใช้สภาวะที่ได้นำไปศึกษาสภาวะอื่นในลำดับถัดไป ซึ่งสภาวะที่ศึกษามีดังนี้

2.9.1 การศึกษา pH ที่เหมาะสมของตัวอย่าง

ศึกษาค่า pH ที่เหมาะสมของตัวอย่างที่ใช้ในทดสอบวิธีการสกัดสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยตัวดูดซับของแข็ง โดยศึกษาที่ค่า pH ของตัวอย่างตั้งแต่ 6, 8, 10, 12 และ 14 (n=3) การเลือกศึกษาช่วงเบสอย่างเดียวเนื่องจาก สารที่สนใจวิเคราะห์มีค่า pKa สูง ซึ่งจะมีค่าร้อยละการไม่แตกตัวเป็นไอออนสูง การไม่แตกตัวเป็นไอออนของสารจะจับกับตัวดูดซับได้ดีเมื่อตัวอย่างมีสภาวะที่เป็นเบสและเกิดได้สมบูรณ์เมื่อปรับ pH ให้สูงกว่าค่า pK_a ของสารที่สนใจวิเคราะห์ จึงเลือกว่งเบสมาใช้ในการทำการศึกษา โดยเลือกใช้สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ในการปรับ pH โดยใช้ปริมาตร 3.5, 6, 12, 25 และ 40 µL ตามลำดับ ทำการตรวจสอบ pH ด้วยกระดาษพีเอช อินดิเคเตอร์ และทดสอบด้วยสารมาตรฐานผสมไดฟีนิลลามีน เมทแอมเฟตามีน ไซบูทรามีน คาเฟอีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอลที่ความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} เริ่มการทดสอบด้วยการปรับสภาพตัวดูดซับของแข็งให้พร้อมสำหรับการใช้งาน (conditioning) โดยใช้เมทานอลปริมาตร 1.00 mL และน้ำปริมาตร 1.00 mL ต่อมาทำการโหลดสารละลายสารมาตรฐานผสมความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} (sample addition) ปริมาตร 1.00 mL จากนั้นทำการกำจัดตัวรบกวน (washing) โดยใช้ 30% v/v เมทานอลในน้ำ ปริมาตร 1.00 mL และทำการชะตัวอย่างออกจากตัวดูดซับ (eluting) โดยใช้ 80% v/v เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติก ปริมาตร 1.00 mL และ อะซิโตไนไตร์ลปริมาตร 1.00 mL ตามลำดับ จากนั้นทำการระเหยตัวทำละลายโดยการใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศเป็นเวลา 3 นาที

เมื่อตัวทำละลายระเหยจนหมดเติมเมทานอลปริมาตร 75 µL และเติมสารมาตรฐานภายในไดฟีนิลลามีนปริมาตร 25 µL จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น เกณฑ์การพิจารณาสภาวะที่เหมาะสมของการศึกษา pH ของตัวอย่าง คือ พิจารณาค่า pH ของตัวอย่างที่ให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) สูงที่สุด

2.9.2 การศึกษาอัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำที่ใช้ในการกำจัดตัวรบกวน

ศึกษาอัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำที่เหมาะสมในขั้นตอนการกำจัดตัวรบกวน (washing step) ของวิธีการสกัดสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยตัวดูดซับของแข็ง โดยศึกษาอัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำตั้งแต่ 0, 10, 20, 40, 60, 80 และ 100% (v/v) (n=3) ใช้เป็นตัวทำละลายในการกำจัดตัวรบกวน ทดสอบด้วยสารมาตรฐานผสมไดฟีนิลลามีน เมทแอมเฟตามีน ไซบูทรามีน คาเฟอีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอลที่ความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} เริ่มการทดสอบด้วยการปรับสภาพตัวดูดซับของแข็งให้พร้อมสำหรับการใช้งาน (conditioning) โดยใช้เมทานอลปริมาตร 1.00 mL และน้ำปริมาตร 1.00 mL ต่อมาทำการโหลดสารละลายสารมาตรฐานผสมความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} (sample addition) ปริมาตร 1.00 mL จากนั้นทำการกำจัดตัวรบกวน (washing) โดยใช้เมทานอลผสมน้ำที่ความเข้มข้น 0, 10, 20, 40, 60, 80 และ 100% (v/v) ปริมาตร 1.00 mL จากนั้นทำการระเหยตัวทำละลายโดยการใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศเป็นเวลา 3 นาที เมื่อตัวทำละลายระเหยจนหมดเติมเมทานอลปริมาตร 75 µL และเติมสารมาตรฐานภายในไดฟีนิลลามีนปริมาตร 25 µL จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น เกณฑ์การพิจารณาสภาวะที่เหมาะสมของการศึกษาอัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำที่ใช้ในการกำจัดตัวรบกวน คือ พิจารณาอัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) น้อยที่สุด เพื่อแสดงให้เห็นว่าไม่มีการหลุดออกของสารที่สนใจจะวิเคราะห์ในกระบวนการกำจัดตัวรบกวน

2.9.3 การศึกษาปริมาตรของตัวทำละลายที่ใช้ในการกำจัดตัวรบกวน

ศึกษาปริมาตรของเมทานอลในน้ำที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการกำจัดตัวรบกวน โดยศึกษาที่ปริมาตร 1.00, 2.00 และ 3.00 mL (n=3) ทดสอบด้วยสารมาตรฐานผสมไดฟีนิลลามีน เมทแอมเฟตามีน ไซบูทรามีน คาเฟอีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอลที่ความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} เริ่มการทดสอบด้วยการปรับสภาพตัวดูดซับของแข็งให้พร้อมสำหรับการใช้งาน (conditioning) โดยใช้เมทานอลปริมาตร 1.00 mL และน้ำปริมาตร 1.00 mL ต่อมาทำการโหลดสารละลายสารมาตรฐานผสมความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} (sample addition) ปริมาตร 1.00 mL จากนั้นทำการกำจัดตัวรบกวน (washing) โดยใช้ 20% (v/v) เมทานอลในน้ำปริมาตร 1.00, 2.00 และ 3.00 mL และทำการชะ

ตัวอย่างออกจากตัวดูดซับ (eluting) โดยใช้ 80% v/v เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติก ปริมาตร 1.00 mL และ อะซิโตไนไตร์ลปริมาตร 1.00 mL จากนั้นทำการระเหยตัวทำละลายโดยการใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศเป็นเวลา 3 นาที เมื่อตัวทำละลายระเหยจนหมดเติมเมทานอลปริมาตร 75 µL และเติมสารมาตรฐานภายในไดฟีนิลลามีนปริมาตร 25 µL จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น เกณฑ์การพิจารณาสภาวะที่เหมาะสมของการศึกษา ปริมาตรของการกำจัดตัวรบกวน คือ พิจารณาปริมาตรที่ให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) สูงที่สุด

2.9.4 การศึกษาอัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำที่ใช้ในการชะตัวอย่าง

ศึกษาการการชะตัวอย่างที่ใช้ในทดสอบวิธีการสกัดสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยตัวดูดซับของแข็ง โดยศึกษาอัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำ ตั้งแต่ 60, 70, 80, 90 และ 100% (v/v) (n=3) ใช้เป็นตัวทำละลายในการชะสารที่ต้องการตรวจวิเคราะห์ ทดสอบด้วยสารมาตรฐานผสมไดฟีนิลลามีน เมทแอมเฟตามีน ไซบูทรามีน คาเฟอีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอลที่ความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} เริ่มการทดสอบด้วยการปรับสภาพตัวดูดซับของแข็งให้พร้อมสำหรับการใช้งาน (conditioning) โดยใช้เมทานอลปริมาตร 1.00 mL และน้ำปริมาตร 1.00 mL ต่อมาทำการโหลดสารละลายสารมาตรฐานผสมความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} (sample addition) ปริมาตร 1.00 mL จากนั้นทำการกำจัดตัวรบกวน (washing) โดยใช้ 20% (v/v) เมทานอลในน้ำปริมาตร 1.00 mL และทำการชะตัวอย่างออกจากตัวดูดซับ (eluting) โดยใช้เมทานอลผสมที่ความเข้มข้น 60, 70, 80, 90 และ 100% v/v ผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติก ปริมาตร 1.00 mL และ อะซิโตไนไตร์ลปริมาตร 1.00 mL จากนั้นทำการระเหยตัวทำละลายโดยการใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศเป็นเวลา 3 นาที เมื่อตัวทำละลายระเหยจนหมดเติมเมทานอลปริมาตร 75 µL และเติมสารมาตรฐานภายในไดฟีนิลลามีนปริมาตร 25 µL จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น เกณฑ์การพิจารณาสภาวะที่เหมาะสมของการศึกษา อัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำที่ใช้ในการชะตัวอย่าง คือ พิจารณาอัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) สูงที่สุด

2.9.5 การศึกษาเปรียบเทียบจำนวนการชะแบบที่ 1 และ 2

ศึกษาเปรียบเทียบการชะตัวอย่างออกจากตัวดูดซับแบบที่ 1 และ 2 โดยแบบที่ 1 ทำการชะด้วย 70% v/v เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติก และแบบที่ 2 ทำการชะด้วย 70% v/v เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติก ร่วมกับการใช้ตัวทำละลายอะซิโตไนไตร์ล ตามลำดับ (n=3) ทดสอบด้วยสารมาตรฐานผสมไดฟีนิลลามีน เมทแอมเฟตามีน ไซบูทรามีน คาเฟอีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอลที่ความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} เริ่มการทดสอบด้วยการปรับสภาพตัวดูดซับของแข็ง

ให้พร้อมสำหรับการใช้งาน (conditioning) โดยใช้เมทานอลปริมาตร 1.00 mL และน้ำปริมาตร 1.00 mL ต่อมาทำการโหลดสารละลายสารมาตรฐานผสมความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} (sample addition) ปริมาตร 1.00 mL จากนั้นทำการกำจัดตัวรบกวน (washing) โดยใช้ 20% (v/v) เมทานอลในน้ำ ปริมาตร 1.00 mL และทำการชะตัวอย่างออกจากตัวดูดซับ (eluting) โดยแบบที่ 1 ใช้ 70% v/v เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติก ปริมาตร 1.00 mL จากนั้นทำการระเหยตัวทำละลายโดยการใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศเป็นเวลา 3 นาที เมื่อตัวทำละลายระเหยจนหมดเติมเมทานอล ปริมาตร 75 µL และเติมสารมาตรฐานภายในไดฟีนิลลามีนปริมาตร 25 µL จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น และแบบที่ 2 ใช้ 70% v/v เมทานอลในผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติก ปริมาตร 1.00 mL และอะซิโตไนไตร์ลปริมาตร 1.00 mL จากนั้นทำการระเหยตัวทำละลายโดยการใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศเป็นเวลา 3 นาที เมื่อตัวทำละลายระเหยจนหมด เติม เมทานอลปริมาตร 75 µL และเติมสารมาตรฐานภายในไดฟีนิลลามีนปริมาตร 25 µL จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น จากนั้นทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพจำนวนการชะแบบที่ 1 และ 2 โดยพิจารณาจำนวนครั้งที่ให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) สูงที่สุด

2.9.6 การศึกษาปริมาตรของตัวทำละลาย 70% v/v เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติกใช้ในการชะตัวอย่างขั้นตอนที่ 1

ศึกษาปริมาตรของตัวทำละลายที่ใช้ในการชะตัวอย่างขั้นตอนที่ 1 ที่เหมาะสมในการนำมาใช้ในการชะตัวอย่าง โดยศึกษาที่ปริมาตรของ 70% v/v เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติกที่ปริมาตร 1.00, 2.00 และ 3.00 mL (n=3) ทดสอบด้วยสารมาตรฐานผสมไดฟีนิลลามีน เมทแอมเฟตามีน ไซบูทรามีน คาเฟอีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอลที่ความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} เริ่มการทดสอบด้วยการปรับสภาพตัวดูดซับของแข็งให้พร้อมสำหรับการใช้งาน (conditioning) โดยใช้ เมทานอล ปริมาตร 1.00 mL และน้ำปริมาตร 1.00 mL ต่อมาทำการโหลดสารละลายสารมาตรฐานผสมความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} (sample addition) ปริมาตร 1.00 mL จากนั้นทำการกำจัดตัวรบกวน (washing) โดยใช้ 20% (v/v) เมทานอลในน้ำปริมาตร 1.00 mL และทำการชะตัวอย่างออกจากตัวดูดซับ (eluting) โดยใช้ 70% v/v เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติก ปริมาตร 1.00, 2.00 และ 3.00 mL และ อะซิโตไนไตร์ลปริมาตร 1.00 mL จากนั้นทำการระเหยตัวทำละลายโดยการใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศเป็นเวลา 3 นาที เมื่อตัวทำละลายระเหยจนหมดเติมเมทานอลปริมาตร 75 µL และเติมสารมาตรฐานภายในไดฟีนิลลามีนปริมาตร 25 µL จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น เกณฑ์การพิจารณาสภาวะที่เหมาะสมของการศึกษาปริมาตรของ 70% v/v เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติกที่ใช้ในการชะขั้นตอนที่ 1 คือ พิจารณาปริมาตรที่ให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) สูงที่สุด

2.9.7 การศึกษาปริมาตรของตัวทำละลายอะซิโตไนไตล์ใช้ในการชะตัวอย่างขั้นตอนที่ 2

ศึกษาปริมาตรของตัวทำละลายที่ใช้ในการชะตัวอย่างขั้นตอนที่ 2 ที่เหมาะสมในการนำมาใช้ในการชะตัวอย่าง โดยศึกษาปริมาตรของอะซิโตไนไตร์ลที่ปริมาตร 1.00, 2.00 และ 3.00 mL (n=3) ทดสอบด้วยสารมาตรฐานผสมไดฟีนิลลามีน เมทแอมเฟตามีน ไซบูทรามีน คาเฟอีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอลที่ความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} เริ่มการทดสอบด้วยการปรับสภาพตัวดูดซับของแข็งให้พร้อมสำหรับการใช้งาน (conditioning) โดยใช้เมทานอลปริมาตร 1.00 mL และน้ำปริมาตร 1.00 mL ต่อมาทำการโหลดสารละลายสารมาตรฐานผสมความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} (sample addition) ปริมาตร 1.00 mL จากนั้นทำการกำจัดตัวรบกวน (washing) โดยใช้ 20% (v/v) เมทานอลในน้ำ ปริมาตร 1.00 mL และทำการชะตัวอย่างออกจากตัวดูดซับ (eluting) โดยใช้ 70% v/v เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติกปริมาตร 1.00 mL และ อะซิโตไนไตร์ล ปริมาตรที่ปริมาตร 1.00, 2.00 และ 3.00 mL จากนั้นทำการระเหยตัวทำละลายโดยการใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศเป็นเวลา 3 นาที เมื่อตัวทำละลายระเหยจนหมดเติมเมทานอลปริมาตร 75 µL และเติมสารมาตรฐานภายในไดฟีนิลลามีนปริมาตร 25 µL จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น เกณฑ์การพิจารณาสภาวะที่เหมาะสมของการศึกษาปริมาตรอะซิโตไนไตร์ลที่ใช้ในการชะขั้นตอนที่ 2 คือ พิจารณาปริมาตรที่ให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) สูงที่สุด

2.9.8 การศึกษาความแรงของไอออน

ศึกษาความแรงของไอออนโดยการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ในตัวอย่างที่เหมาะสม ซึ่งความแรงของไอออนในตัวอย่างสารละลายในรูปแบบน้ำส่งผลต่อการดูดซับสารที่สนใจจะวิเคราะห์โดยการเพิ่มหรือลดความสามารถในการละลาย ศึกษาความเข้มข้นของเกลือที่ 0, 5, 10, 15 และ 20% w/v ของโซเดียมคลอไรด์ในน้ำปราศจากไอออน (n=3) ทดสอบด้วยสารมาตรฐานผสมไดฟีนิลลามีน เมทแอมเฟตามีน ไซบูทรามีน คาเฟอีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอลที่ความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} เริ่มการทดสอบด้วยการปรับสภาพตัวดูดซับของแข็งให้พร้อมสำหรับการใช้งาน (conditioning) โดยใช้เมทานอลปริมาตร 1.00 mL และน้ำปริมาตร 1.00 mL ต่อมาทำการโหลดสารมาตรฐานผสมที่ความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} ปริมาตร 1.00 mL ที่มีการเติมเกลือที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 15 และ 20% w/v ของโซเดียมคลอไรด์ในน้ำ (sample addition) จากนั้นทำการกำจัดตัวรบกวน (washing) โดยใช้ 20% (v/v) เมทานอลในน้ำปริมาตร 1.00 mL และทำการชะตัวอย่างออกจากตัวดูดซับ (eluting) โดยใช้ 70% v/v เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติกปริมาตร 1.00 mL และ อะซิโตไนไตร์ล ปริมาตรที่ปริมาตร 1.00 mL จากนั้นทำการระเหยตัวทำละลายโดยการใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศเป็นเวลา 3 นาที เมื่อตัวทำละลายระเหยจนหมดเติมเมทานอลปริมาตร 75 µL และเติมสารมาตรฐานภายในไดฟีนิลลามีนปริมาตร 25 µL จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโท

กราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น เกณฑ์การพิจารณาสภาวะที่เหมาะสมของการศึกษาการเติมเกลือ คือ พิจารณาความเข้มข้นของเกลือที่ให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) สูงที่สุด

2.10 การศึกษาการพิสูจน์การใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

การศึกษาการพิสูจน์การใช้ได้ของการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น สำหรับตรวจวัดสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนัก เป็นการศึกษาเพื่อพิสูจน์สมรรถนะของวิธีวิเคราะห์ แสดงให้เห็นว่าวิธีข้างต้นมีประสิทธิภาพในการสกัดที่ดี สามารถใช้ตรวจวัดสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาได้ทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ ผลการทดสอบมีความถูกต้องและแม่นยำ มีความจำเพาะ สามารถนำไปวิเคราะห์ในตัวอย่างจริงได้ ดังนั้น การศึกษาการพิสูจน์การใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นจึงเป็นเรื่องจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษา โดยทำการศึกษาในปัจจัยต่าง ๆ ดังนี้ ศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นและช่วงความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ (linearity and range) ศึกษาค่าขีดต่ำสุดของการตรวจพบ (limit of detection: LOD) ค่าขีดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (limit of quantification: LOQ) ความเที่ยงของวิธี (precision of method) ความแม่นยำของวิธี (accuracy of method) ความจำเพาะของวิธี (Selectivity) (AOAC, 2019)

2.10.1 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงและช่วงความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ (linearity and range)

ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง หมายถึง ความสามารถของวิธีวิเคราะห์ที่ทำให้การวิเคราะห์ได้ผลที่เป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์ในช่วงความเข้มข้นที่กำหนด ส่วนช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (range) คือ ช่วงความเข้มข้นของสารที่จะวิเคราะห์ตั้งแต่ความเข้มข้นต่ำสุดถึงความเข้มข้นสูงสุดที่วัดแล้วมีความแม่น ความเที่ยง อยู่ในระดับที่มีความถูกต้องยอมรับได้ตามข้อกำหนด (Bruce et al., 1998) หากคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient; r^2) ต้องมากกว่า 0.995-1.000 ถือว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

ศึกษาโดยการเตรียมตัวอย่างสารละลายมาตรฐานผสมไดฟีนิลลามีน เมทแอมเฟตามีน ไซบูทรามีน คาเฟอีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอลความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 5, 10, 25, 50 และ 100 mg L^{-1} (n=7) จากนั้นนำมาสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งภายใต้สภาวะที่เหมาะสม เริ่มจากการปรับสภาพตัวดูดซับของแข็งให้พร้อมสำหรับการใช้งาน (conditioning) โดยใช้เมทานอลปริมาตร 1.00 mL และน้ำปริมาตร 1.00 mL ต่อมาทำการโหลดสารมาตรฐานผสม (sample addition) ที่ผ่านการปรับ pH 12 และเติมเกลือที่ความเข้มข้น 15% w/v ของโซเดียมคลอไรด์ในน้ำปริมาตร 1.00

mL จากนั้นทำการกำจัดตัวรบกวน (washing) โดยใช้ 20% (v/v) เมทานอลในน้ำปริมาตร 1.00 mL และทำการชะตัวอย่างออกจากตัวดูดซับ (eluting) โดยใช้ 70% v/v เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติกปริมาตร 1.00 mL และ อะซิโตไนไตร์ล ปริมาตร 1.00 mL จากนั้นทำการระเหยตัวทำละลายโดยการใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศเป็นเวลา 3 นาที เมื่อตัวทำละลายระเหยจนหมดเติมเมทานอลปริมาตร 75 µL และเติมสารมาตรฐานภายในไดฟีนิลลามีนปริมาตร 25 µL จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น นำค่าพื้นที่ใต้พีคที่ได้จากสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับค่าสัญญาณ แสดงค่าสมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (coefficient of correlation: r^2)

2.10.2 ขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection: LOD)

การทดสอบค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ในตัวอย่างแต่ไม่สามารถรายงานเป็นปริมาณที่แน่นอนได้ โดยการพิจารณาค่าขีดจำกัดของการตรวจพบสามารถทำการวิเคราะห์ได้หลากหลายรูปแบบตามความเหมาะสม ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้การพิจารณาจากอัตราส่วนสามเท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารละลายแบลงค์ต่อค่าความชันของกราฟมาตรฐาน (Taverniers et al., 2004) ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสูตร

$$LOD = 3\boldsymbol{\sigma}/b$$

โดยที่ $\boldsymbol{\sigma}$ คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารละลายแบลงค์
b คือ ค่าความชันของกราฟมาตรฐาน

2.10.3 ขีดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (limit of quantification: LOQ)

ค่าขีดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ คือ ความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สามารถตรวจพบได้ในตัวอย่าง และสามารถระบุปริมาณหรือความเข้มข้นของสารชนิดนั้นได้อย่างถูกต้องแม่นยำ โดยหลักการพิจารณาที่ได้เลือกใช้ในงานวิจัยนี้คือพิจารณาจากอัตราส่วนระหว่างสิบเท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารละลายแบลงค์ต่อค่าความชันของกราฟมาตรฐาน (Taverniers et al., 2004) ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสูตร

$$LOQ = 10\sigma/b$$

โดยที่ σ คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารละลายแบลงค์
b คือ ค่าความชันของกราฟมาตรฐาน

2.10.4 ความเที่ยงของวิธี (precision of method)

ความเที่ยงของวิธี หมายถึง ความแม่นยำที่เกิดจากการวิเคราะห์ซ้ำ ๆ ในสภาวะเดียวกันโดยใช้วิธีเดียวกัน ในห้องปฏิบัติการเดียวกัน เครื่องมือชุดเดียวกัน และผู้วิเคราะห์คนเดียวกัน โดยจะรายงานเป็นค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ที่จำนวนครั้งใดๆ ความเที่ยงในการตรวจวัดสามารถวิเคราะห์ได้จากค่าร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation; %RSD) สามารถคำนวณได้จากสูตร

$$\%RSD = \frac{\boldsymbol{SD}}{\bar{\boldsymbol{x}}} \times 100$$

เมื่อ %RSD = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์
SD = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
$\overline{X}$ = ค่าเฉลี่ยของข้อมูลทั้งหมด

ศึกษาโดยการสกัดและตรวจวัดตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน ทำได้โดยเติมสารมาตรฐานผสมเมทแอมเฟตามีน ไซบูทรามีน คาเฟอีน ฟลูอ็อกซิทีน และทรามาดอลที่ระดับความเข้มข้น ต่ำ กลาง และสูง ลงในตัวอย่าง (spike sample) โดยสารเมทแอมเฟตามีนและทรามาดอลทดสอบที่ความเข้มข้น 0, 1 และ 2.5 mg L^{-1} สารคาเฟอีน ไซบูทรามีน และฟลูออกซิทีนทดสอบที่ความเข้มข้น 0.5, 5 และ 25 mg L^{-1} ซึ่งทำการทดลองภายในวันเดียวกันและระหว่างวันภายใต้สภาวะที่เหมาะสม (5 วัน) คำนวณร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation: RSD) โดยให้เกณฑ์การยอมรับ %RSD ต้องไม่เกิน ± 11% (AOAC, 2019)

2.10.4 ความแม่นของวิธี (accuracy of method)

เป็นค่าแสดงถึงความใกล้เคียงกันของค่าที่วิเคราะห์ได้กับค่าจริงมากที่สุด ซึ่งสามารถบอกได้ว่าการวิเคราะห์นั้นให้ความถูกต้องสูง (high accuracy) หากค่าที่วัดได้ห่างจากค่าจริงบ่งบอกว่าวิธีวิเคราะห์นั้นมีความถูกต้องน้อย (low accuracy) ทำได้โดยการเติมสารที่ต้องการวิเคราะห์ซึ่งเป็นสารมาตรฐานที่รู้ความเข้มข้นที่แน่นอนลงในตัวอย่าง (spike sample) เมื่อวิเคราะห์จะแสดงอยู่ในรูปค่าร้อยละการคืนกลับ (%recovery) ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสูตร

$$\%\text{Recovery} = \frac{(\text{ค่าจากตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน} - \text{ค่าจากตัวอย่างที่ไม่เติมสารมาตรฐาน}) \times 100}{\text{ค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติม}}$$

ศึกษาโดยการสกัดและตรวจวัดตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน ทำได้โดยเติมสารมาตรฐานผสมเมทแอมเฟตามีน ไซบูทรามีน คาเฟอีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอล ที่ระดับความเข้มข้นขีดจำกัดของการตรวจวัด ต่ำ กลางและสูง ลงในตัวอย่าง (spike sample) ทำการทดลองภายในวันเดียวกันและระหว่างวันภายใต้สภาวะที่เหมาะสม (5 วัน) โดยให้เกณฑ์การยอมรับร้อยละการคืนกลับ (%recovery) อยู่ในช่วง 80–115% (AOAC, 2019)

2.10.5 ความจำเพาะ (selectivity)

การศึกษาความจำเพาะของวิธีวิเคราะห์ เป็นการวิเคราะห์สารที่เราสนใจจะวิเคราะห์โดยมีสารอื่นที่เป็นตัวรบกวนรวมอยู่ด้วยซึ่งอาจจะเป็นสารที่มีสูตรโครงสร้างคล้ายกัน หรืออาจเป็นสารที่สามารถพบได้ในตัวอย่างจริงที่ต้องการจะนำมาวิเคราะห์ เมื่อทำการวิเคราะห์แล้ววิธีวิเคราะห์สามารถให้ผลการทดลองได้อย่างถูกต้อง มีความแม่นและความเที่ยง และความไม่แน่นอนอยู่ในเกณฑ์ที่สามารถยอมรับได้

การศึกษาจะแบ่งเป็น 3 กระบวนการ (1) เตรียมตัวอย่างแบลงค์ (blank sample) โดยใช้ตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักที่ไม่มีสารที่สนใจจะวิเคราะห์มาเติมสารมาตรฐานภายในความเข้มข้น 25 mg L^{-1} นำไปสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งภายใต้สภาวะที่เหมาะสมและนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น (2) เตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักมาเติมสารมาตรฐานผสมที่สนใจจะวิเคราะห์ ได้แก่ สารเมทแอมเฟตามีน ไซบูทรามีน คาเฟอีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอล ที่ความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} และเติมสารมาตรฐานภายในที่ความเข้มข้น 25 mg L^{-1} และนำไปสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งภายใต้สภาวะที่เหมาะสมและนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น (3) เตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักมาเติมสารมาตรฐานผสมที่สนใจจะวิเคราะห์ ได้แก่ สารเมทแอมเฟตามีน ไซบูทรามีน

คาเฟอีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอล ที่ความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} และเติมสารมาตรฐานภายในที่ความเข้มข้น 25 mg L^{-1} จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น (ไม่ผ่านการสกัด) พิจารณาจากโครมาโทแกรมของการวิเคราะห์ตัวอย่างจะต้องไม่มีพีคเกิดขึ้นตรงกับค่า Retention time ของสารมาตรฐานผสมที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (UNODC, 2009)

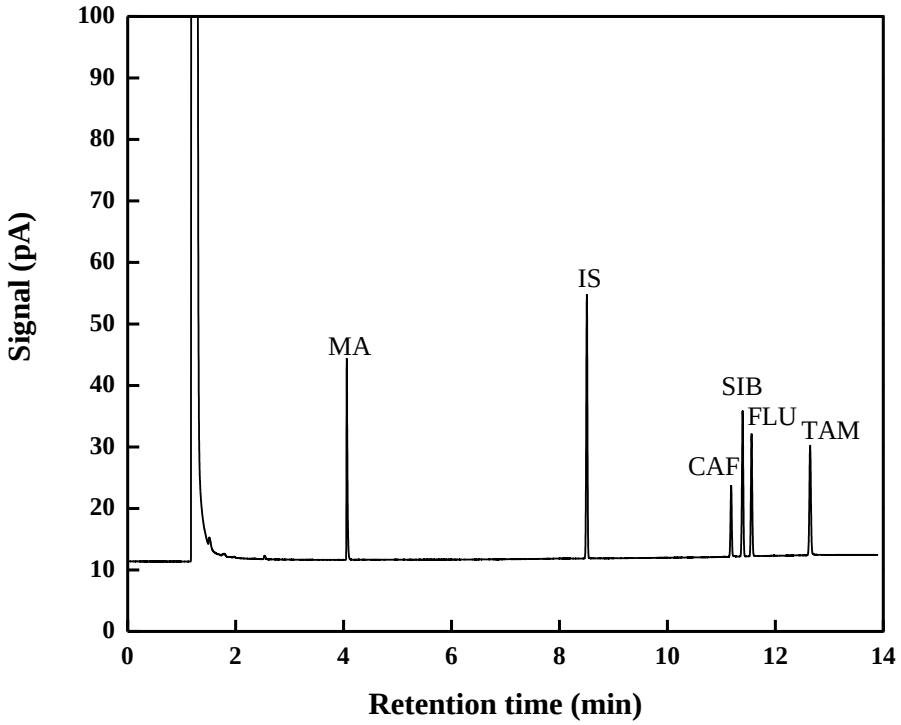
2.11 การวิเคราะห์สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนัก

การศึกษาการวิเคราะห์สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักด้วยการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น โดยทำการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักจำนวน 5 ตัวอย่าง ได้แก่ ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนัก (A และ B) ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักสมุนไพรลดน้ำหนัก (C) ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักกาแฟ (D) ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักชนิดชงดื่ม (E) ทำการศึกษาโดยการสุ่มตัวอย่างและนำมาชั่ง 30 mg ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 5 mL นำมากรองด้วยไซริงค์ฟิลเตอร์ (ขนาด 0.45 um) จากนั้นเติม 0.1 M ของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์และเติม 15% (w/v) โซเดียมคลอไรด์ จะได้สารละลายตัวอย่างนำไปใช้ในการสกัดภายในสภาวะที่เหมาะสม คือ ทำการปรับสภาพตัวดูดซับของแข็งให้พร้อมสำหรับการใช้งาน (conditioning) โดยใช้เมทานอลปริมาตร 1.00 mL และน้ำปริมาตร 1.00 mL ต่อมาทำการโหลดสารละลายตัวอย่าง (sample addition) ปริมาตร 1.00 mL จากนั้นทำการกำจัดตัวรบกวน (washing) โดยใช้ 20% v/v เมทานอลในน้ำปริมาตร 1.00 mL และทำการชะตัวอย่างออกจากตัวดูดซับ (eluting) โดยใช้ 70% v/v เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติก ปริมาตร 1.00 mL และอะซิโตไนไตร์ลปริมาตร 1.00 mL จากนั้นทำการระเหยตัวทำละลายโดยการใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศเป็นเวลา 3 นาที เมื่อตัวทำละลายระเหยจนหมดเติมเมทานอลปริมาตร 75 µL และเติมสารมาตรฐานภายในไดฟีนิลลามีนปริมาตร 25 µL จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น ทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

บทที่ 3

ผลการทดลองและอภิปรายผล

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาตรวจหาสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักโดยใช้การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น ผลการวิเคราะห์สารไซบูทรามีน ฟลูออกซิที คาเฟอีน ทรามาดอล และเมทแอมเฟตามีนด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่นมีสภาวะที่เหมาะสมประกอบด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีชนิดตัวตรวจวัดเฟลมไอออไนเซชั่น รุ่น 7890A (Agilent Technologie, USA) คอลัมน์สำหรับตรวจวัด HP-5 capillary column (30 m x 250 μm i.d. x 0.25 μm film thickness) อุณหภูมิหัวฉีดและอุณหภูมิของตัวตรวจวัดเท่ากับ 290 °C และ 300 °C ตามลำดับ อัตราการไหลของแก๊สพาเท่ากับ 2.0 mL min^{-1} (สัดส่วนสารเข้าคอลัมน์ 10:1) อัตราการไหลของแก๊สไนโตรเจน ไฮโดรเจน และออกซิเจนเท่ากับ 25, 30 และ 300 mL min^{-1} ตามลำดับ ปริมาตรสารในการฉีดเข้าคอลัมน์เท่ากับ 1 μL และตั้งอุณหภูมิของคอลัมน์เริ่มต้นที่ 100 °C เป็นเวลา 1.5 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 18 °C min^{-1} สูงขึ้นเท่ากับ 160 °C เป็นเวลา 1.5 นาที และเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 9 °C min^{-1} สูงขึ้นเท่ากับ 210 °C เป็นเวลา 2 นาที วิธีนี้ใช้เวลาในการวิเคราะห์เท่ากับ 13.9 นาที ผลการวิเคราะห์สารปลอมปนวัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาทในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักแสดงผลในรูปโครมาโทแกรม ซึ่งแกน y แสดงค่าสัญญาณ (signal) มีหน่วยเป็นพิโคแอมแปร์ (*p*A) และแกน x แสดงเวลาที่สารถูกหน่วงในคอลัมน์ (retention time) มีหน่วยเป็นนาที (min) ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมพบว่าสารที่สนใจจะวิเคราะห์ถูกหน่วงในคอลัมน์เวลาต่างกัน เมื่อทำการฉีดสารมาตรฐานผสมที่ความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} และสารมาตรฐานภายในที่ความเข้มข้น 25 mg L^{-1} เนื่องจากความมีขั้วของสารและจุดเดือดของสารที่แตกต่างกัน **ดังภาพที่ 3.1**



ภาพที่ 3.1 แสดงโครมาโทแกรมของการแยกสารมาตรฐานผสมที่ความเข้มข้น 25 mg L^{-1} และสารมาตรฐานภายในที่ความเข้มข้น 25 mg L^{-1} ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น

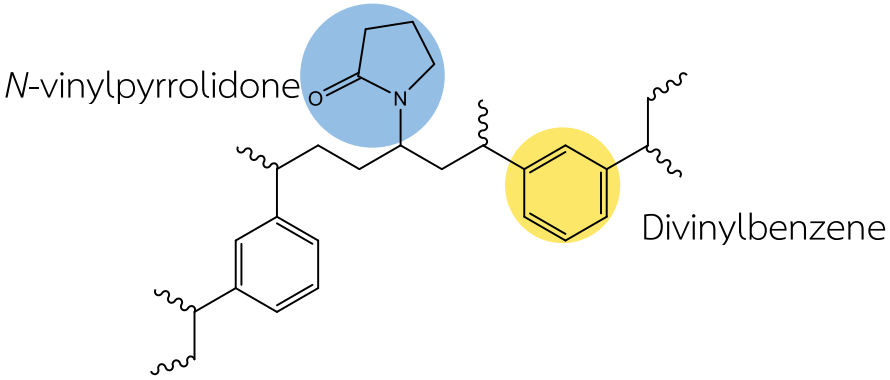
จะเห็นได้ว่าเมื่อฉีดสารมาตรฐานผสมโดยใช้สภาวะที่เหมาะสมของเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่นสำหรับตรวจหาสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ใช้เวลาในการวิเคราะห์ทั้งหมด 12.642 min พบพีคที่เกิดขึ้นจำนวน 7 พีค ดังนี้ (1) พีคของตัวทำละลายเมทานอล เวลา 1.132 min (2) เมทแอมเฟตามีน (MA) เวลา 4.507 min (3) สารมาตรฐานภายใน (IS) เวลา 8.504 min (4) คาเฟอีน (CAF) เวลา 11.179 min (5) ไซบูทรามีน (SIB) เวลา 11.391 min (6) ฟลูออกซิทีน (FLU) เวลา 11.556 min และ (7) ทรามาดอล (TAM) เวลา 12.642 min จะเห็นได้ว่าสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาทั้ง 5 ชนิด พบพีคของสารที่เวลาต่างกัน แสดงให้เห็นว่าสารถูกหน่วงอยู่ในคอลัมน์เวลาต่างกัน ซึ่งสารที่ออกมาก่อนจะมีคุณสมบัติที่มีจุดเดือดต่ำ ขนาดของโมเลกุลเล็ก และเกี่ยวข้องกับความมีขั้วของสารแต่ละชนิด ซึ่งในการแยกในสภาวะเมทแอมเฟตามีนถูกตรวจพบก่อนเนื่องจากมีจุดเดือดต่ำกว่าสารชนิดอื่น ๆ ซึ่งเรียงจากจุดเดือดต่ำไปสูง และพบพีคของทรามาดอลเป็นพีคสุดท้ายเป็นผลมาจากทรามาดอลมีความมีขั้วมากกว่าฟลูออกซิทีนที่มีจุดเดือดมากกว่าซึ่งเป็นไปตามทฤษฎี การทดสอบความเหมาะสมของเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่นสำหรับแยกและตรวจวัดสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาแสดง **ดังตารางที่ 3.1** ค่าประสิทธิภาพการแยก (resolution) แสดงถึงสัญญาณของพีคที่แยกออกจากกันได้อย่างชัดเจนเมื่อมีค่ามากกว่า 1.5 หรือ

มีค่าการซ้อนทับกันของพีคน้อยกว่า 0.15 % ซึ่งจากผลการวิเคราะห์พบว่าสารมาตรฐานผสมทุกชนิดมีค่ามากกว่า 1.5 มีค่าความจำเพาะ (selectivity) อยู่ในช่วง 1.02 ถึง 7.72 ค่าความสมมาตรของพีค (symmetry) อยู่ในช่วง 0.60 ถึง 1.05 และค่าคาพาซิตี้แฟคเตอร์ (capacity factor) อยู่ในช่วง 2.58 ถึง 10.16 ตามลำดับ

ตารางที่ 3.1 แสดงประสิทธิภาพการแยกสารมาตรฐานเมทแอมเฟตามีน สารมาตรฐานภายใน (ไดฟีนิลลามีน) คาเฟอีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอล (n=5)

สารที่สนใจวิเคราะห์	รีเทนชันไทม์ (min)	ประสิทธิภาพของการแยก			
		ค่าประสิทธิภาพการแยก	ค่าความจำเพาะ	ค่าความสมมาตร	ค่าคาพาซิตี้แฟคเตอร์
เมทแอมเฟตามีน	4.057	53.17	7.72	0.60	2.58
ไดฟีนิลลามีน	8.504	7.38	2.52	1.01	6.51
คาเฟอีน	11.179	62.17	1.36	1.05	8.87
ไซบูทรามีน	11.391	4.69	1.02	1.01	9.05
ฟลูออกซิทีน	11.556	3.58	1.02	0.91	9.20
ทรามาดอล	12.642	21.55	1.10	0.98	10.16

การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง (solid phase extraction) เป็นหนึ่งในวิธีการเตรียมตัวอย่างให้เหมาะสมก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น เพื่อกำจัดตรวจรบกวนการวิเคราะห์และสามารถเพิ่มความไววิเคราะห์ได้ ซึ่งตัวดูดซับของแข็งมีหลายชนิดด้วยกัน โดยแต่ละชนิดก็จะมีคุณสมบัติที่แตกต่างกัน ดังนั้น การเลือกชนิดของตัวดูดซับของแข็งจำเป็นต้องเลือกให้เหมาะสมกับสารที่สนใจจะวิเคราะห์ ในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้ตัวดูดซับของแข็งชนิด HLB หรือเรียกว่า ไฮโดรฟิลิก–ลิโพฟิลิก บาลานซ์ ตัวดูดซับชนิดนี้มีคุณสมบัติเป็นมิกซ์โหมดคือมีทั้งส่วนที่มีขั้วและไม่มีขั้ว ทำมาจาก โพลีสไตรีน–ไดไวนิลเบนซีน–เอ็น–ไวนิล ไพโรลิโดน โคพอลิเมอร์ (polystyrene–divinylbenzene–N–vinylpyrrolidone copolymer: PS–DVB–VP) **ดังภาพที่ 3.2** มีความสามารถจับกับสารที่สนใจจะวิเคราะห์ด้วยแรง แวน เดอร์ วาลส์ และแรง ไดโพล-ไดโพล



polystyrene-divinylbenzene-*N*-vinylpyrrolidone copolymer (PS-DVB-VP)

ภาพที่ 3.2 แสดงโครงสร้างของโพลีสไตรีน–ไดไวนิลเบนซีน–เอ็น–ไวนิล ไพโรลิโดน โคพอลิเมอร์

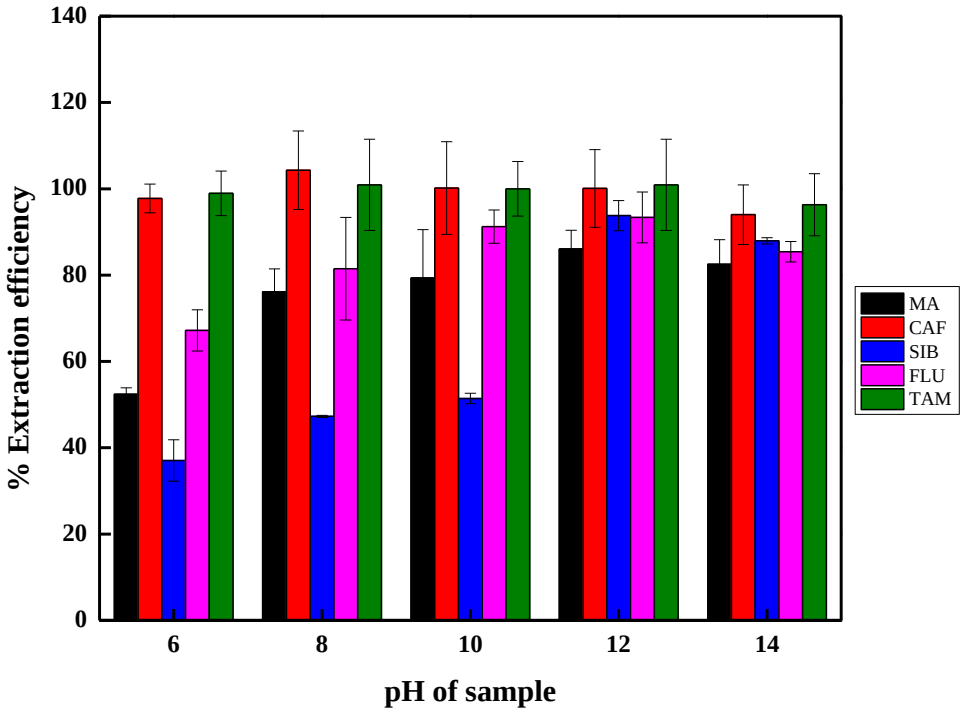
นอกจากนี้ส่วนของ N-vinylpyrrolidone เป็นส่วนที่มีขั้วสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนได้กับสารที่สนใจวิเคราะห์บางชนิด เช่น สารเมทแอมเฟตามีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอล เป็นต้น สารเหล่านี้อยู่ในกลุ่มเอมีนซึ่งมี NH เป็นส่วนประกอบ โมเลกุลของไฮโดรเจนเป็น Doner และส่วนของ N–vinylpyrrolidone มีออกซิเจนเป็น Acceptor และส่วนไดไวนิลเบนซีนเป็นส่วนที่ไม่มีขั้วสามารถเกิดพันธะพายได้กับโมเลกุลของสารที่สนใจจะวิเคราะห์ที่มีพายซิสเท็มด้วยคุณสมบัติของสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาทั้ง 5 ชนิด ประกอบด้วยส่วนที่มีไม่มีขั้วและมีขั้วน้อย ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่เหมาะสมสำหรับการเลือกใช้ตัวดูดซับของแข็งชนิด HLB สำหรับนำมาใช้ในการสกัดสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก อย่างไรก็ตามการเตรียมตัวอย่างด้วยตัวดูดซับของแข็งชนิด HLB จำเป็นต้องมีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสม เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพการสกัดที่ดีที่สุด สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักที่ขายตามท้องตลาดได้จริง

3.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของวิธีการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง

ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งสำหรับตรวจหาสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนัก มีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่สุด พิจารณาจากค่าสัญญาณพื้นที่ใต้พีค นำมาคำนวณหาค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) โดยเลือกพิจารณาเปอร์เซ็นต์ที่สูงที่สุดและอยู่ในเกณฑ์การยอมรับคือช่วง 80–115% (AOAC, 2019) เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมแล้วจะนำไปใช้ในการพิจารณาต่อในสภาวะต่อไป ซึ่งมีผลการทดลองและการอภิปรายผลการทดลอง ดังนี้

3.1.1 การศึกษา pH ที่เหมาะสมของตัวอย่าง

ศึกษาค่า pH ที่เหมาะสมของตัวอย่างที่ใช้ในการสกัดสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยตัวดูดซับของแข็ง ทดสอบด้วยสารมาตรฐานผสมเมทแอมเฟตามีน คาเฟอีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอลที่ความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} โดยศึกษาค่า pH ของตัวอย่างได้เลือกใช้สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 M มาใช้ในการปรับ pH ซึ่งทำการศึกษาตั้งแต่ pH 6, 8, 10, 12 และ 14 (n=3) จากนั้นนำค่าสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์แต่ละ pH มาพิจารณา โดยเลือกค่า pH ที่ให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) สูงที่สุด จากการศึกษาพบว่าเมื่อตัวอย่างผ่านการปรับความเป็นกรด–เบสเพิ่มขึ้นตั้งแต่ค่า pH 6 ถึง 12 สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) เพิ่มขึ้น **ดังแสดงในภาพที่ 3.3** โดยสารเมทแอมเฟตามีนมีค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) 52.39 ± 1.51% ถึง 86.09 ± 4.32%, คาเฟอีนค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) 97.78 ± 3.32% ถึง 104.30 ± 9.11%, ไซบูทรามีนค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%Extraction efficiency) 37.04 ± 4.79% ถึง 93.78 ± 3.49%, ฟลูออกซิทีนค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) 67.19 ± 4.78% ถึง 93.38 ± 5.90%, และทรามาดอลค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) 98.95 ± 5.15% ถึง 100.92 ± 10.56% ตามลำดับ พบว่าที่ค่า pH 12 ให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) สูงที่สุด เนื่องจากสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามีค่า pK_a สูง ได้แก่ เมทแอมเฟตามีนมีค่า pK_a เท่ากับ 9.9 คาเฟอีนมีค่า pK_a เท่ากับ 14 ไซบูทรามีนมีค่า pK_a เท่ากับ 9.8 ฟลูออกซิทีนมีค่า pK_a เท่ากับ 9.8 และทรามาดอลมีค่า pK_a เท่ากับ 9.4 เมื่อคำนวณค่าการเกิดไอออไนซ์พบว่าสารที่ต้องการวิเคราะห์อยู่ในกลุ่มเบสรูปแบบที่ไม่แตกตัวเป็นไอออน ซึ่งเมื่อการเปลี่ยนแปลงของค่า pH จะส่งผลให้ผลการเกิดไอออไนซ์เปลี่ยนแปลงไปเช่นกัน



ภาพที่ 3.3 แสดงผลของการศึกษา pH ของตัวอย่างที่เหมาะสมสำหรับสกัดสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น

โดยค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัดที่ได้สอดคล้องกับการคำนวณค่าการเกิดไอออไนเซชั่น (ionization) ของสารที่ต้องการตรวจวัด โดยใช้สมการ Henderson–Hasselbalch ดังนี้

$$pH = pKa + \log [UI] / [I]$$

ผลการคำนวณค่าร้อยละการไม่แตกตัวเป็นไอออน (%unionized form of compounds) ของสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาทั้ง 5 ชนิด **แสดงในตารางที่ 3.2** เมทแอมเฟตามีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอล ไม่แตกตัวเป็นไอออนอย่างสมบูรณ์ถึง 99 เปอร์เซ็นต์ เมื่อตัวอย่างถูกทำให้มีสภาวะเป็นเบสที่ pH 12 และ 14 ในขณะเดียวกันเมื่อ pH ต่ำลง ค่าร้อยละการไม่แตกตัวเป็นไอออนก็มีค่าน้อยลงเช่นเดียวกัน แสดงให้เห็นว่าที่ pH ต่ำลง เมทแอมเฟตามีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอล จะอยู่ในรูปไอออไนซ์ ซึ่งมีการดูดซับได้น้อยกว่าที่ pH สูง หรืออาจทำให้สาร

ที่สนใจวิเคราะห์อาจหลุดออกมาตั้งแต่กระบวนการโหลดตัวอย่าง โดยที่ pH 12 และ 14 มีค่าร้อยละการไม่แตกตัวเป็นไอออนที่ใกล้เคียงกัน ผู้วิจัยเลือกใช้การปรับ pH 12 ของตัวอย่าง เนื่องจากที่ pH 12 มีค่าร้อยละการไม่แตกตัวเป็นไอออนถึง 99 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัดอยู่ในเกณฑ์ที่สามารถยอมรับได้แล้ว จึงไม่ต้องปรับถึง pH 14 เพื่อประหยัดสารเคมีไม่ใช้เกินความจำเป็น ดังนั้น จึงเลือกใช้การปรับ pH ของตัวอย่างเท่ากับ 12 เพื่อนำไปศึกษาต่อในขั้นตอนต่อไป

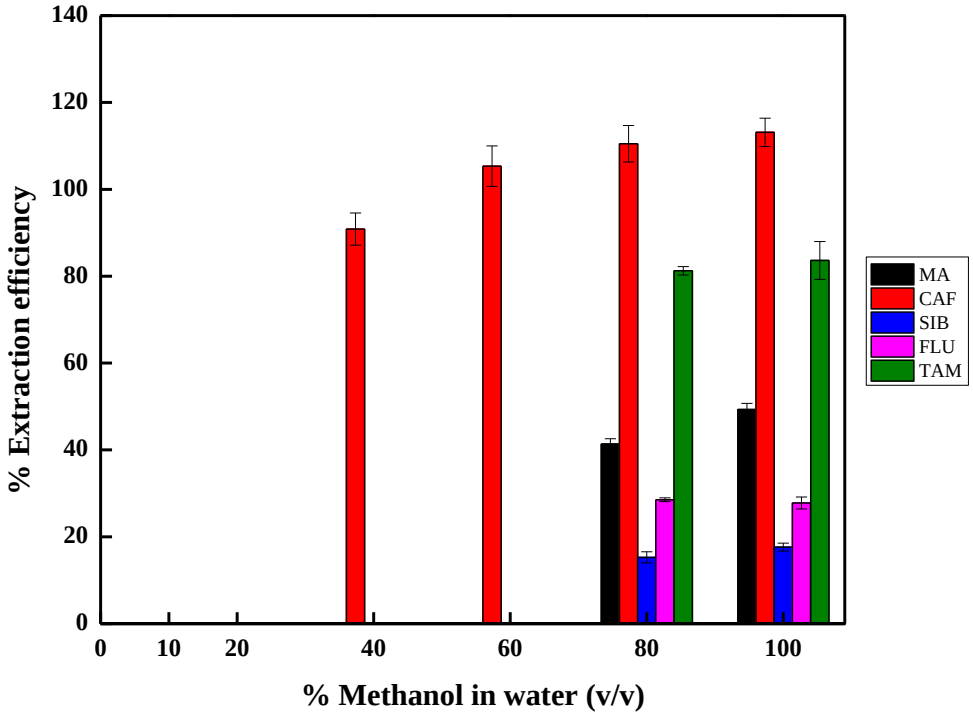
ตารางที่ 3.2 ผลของการคำนวณค่าร้อยละการไม่แตกตัวเป็นไอออนของสารเมทแอมเฟตามีน คาเฟอีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอล ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก ที่ pH 6-14

pH ของตัวอย่าง	ค่าร้อยละการไม่แตกตัวเป็นไอออน				
	เมทแอมเฟตามีน ($pK_a \approx 9.9$)	คาเฟอีน ($pK_a \approx 14$)	ไซบูทรามีน ($pK_a \approx 9.8$)	ฟลูออกซิทีน ($pK_a \approx 9.8$)	ทรามาดอล ($pK_a \approx 9.4$)
pH 6	1.25×10^{-2}	9.99×10^{-7}	6.32×10^{-3}	6.32×10^{-3}	3.97×10^{-2}
pH 8	1.24	9.99×10^{-5}	1.56	1.56	3.83
pH 10	55.72	9.99×10^{-3}	61.31	61.31	79.92
pH 12	99.21	9.9×10^{-1}	99.20	99.20	99.75
pH 14	99.99	50.0	99.99	99.99	99.99

3.1.2 การศึกษาอัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำที่ใช้ในการกำจัดตัวรบกวน

ศึกษาการกำจัดตัวรบกวนที่ใช้ในทดสอบวิธีการสกัดสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยตัวดูดซับของแข็ง โดยศึกษาอัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำ เนื่องจากเมทานอลและน้ำมีสภาพความมีขั้วสูงสามารถกำจัดตัวรบกวนได้ดีและสามารถนำไปใช้ในการชะได้อีกด้วย โดยศึกษาตั้งแต่ 0, 10, 20, 40, 60, 80 และ 100% (v/v) (n=3) ใช้เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ในขั้นตอนการกำจัดตัวรบกวน ทดสอบด้วยสารมาตรฐานผสมเมทแอมเฟตามีน คาเฟอีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอล ที่ความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} จากนั้นนำค่าสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์แต่ละอัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำมาพิจารณา โดยเลือกอัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำที่ให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) น้อยที่สุด จากการศึกษาพบว่า เมื่อใช้อัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำตั้งแต่ 0 ถึง 20% ไม่พบสัญญาณของสารที่สนใจวิเคราะห์และมีค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%Extraction efficiency) สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาทั้ง 5 ชนิด เท่ากับ 0 เมื่อเพิ่มอัตราส่วนระหว่างเมทานอลและ 40 และ 60% สามารถตรวจพบสัญญาณของสารคาเฟอีน โดยมีค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ในช่วง 90.85 ± 3.73% ถึง 105.34 ± 4.66% และเมื่อเพิ่มอัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำ 80 และ 100% สามารถตรวจ

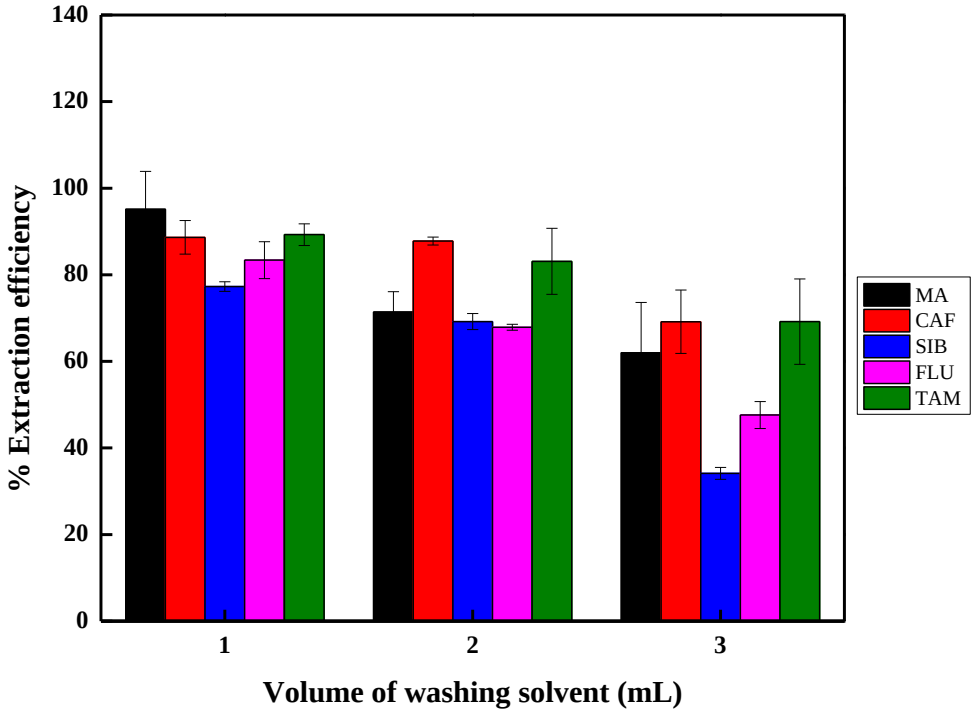
พบสัญญาณสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาทั้ง 5 ชนิด โดยมีค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ของสารเมทแอมเฟตามีนในช่วง 41.37 ± 1.22% ถึง 49.29 ± 1.42%, ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ของสารคาเฟอีนในช่วง 110.49 ± 4.19% ถึง 113.12 ± 3.25%, ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ของสารไซบูทรามีนในช่วง 15.26 ± 1.29% ถึง 17.61 ± 0.92%, ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ของสารฟลูออกซิทีนในช่วง 28.53 ± 0.45% ถึง 27.80 ± 1.37%, ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ของสารทรามาดอลในช่วง 81.24 ± 0.98% ถึง 83.62 ± 4.34% ตามลำดับ (**ดังแสดงในภาพที่ 3.4**) จะเห็นได้ว่าเมื่อเปอร์เซ็นต์ของเมทานอลมีค่ามากขึ้นความมีขั้วจะลดลงเนื่องจากมีปริมาณน้ำที่น้อยลงจะทำให้สารที่สนใจจะวิเคราะห์หลุดออกมาในกระบวนการนี้จึงไม่เหมาะสำหรับนำมาใช้ในการกำจัดตัวรบกวน แต่เหมาะสำหรับการนำไปใช้ในการชะสารตัวอย่าง ดังนั้น ในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ 20% เมทานอลในน้ำน้ำ เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมที่ใช้ในการกำจัดตัวรบกวน เนื่องจากสารที่สนใจวิเคราะห์ไม่ถูกชะออกมาในกระบวนการนี้



ภาพที่ 3.4 แสดงผลของการศึกษาอัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำปราศจากไอออนที่ใช้ในการกำจัดตัวรบกวนที่เหมาะสมสำหรับสกัดสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น

3.1.3 การศึกษาปริมาตรของตัวทำละลายที่ใช้ในการกำจัดตัวรบกวน

ศึกษาปริมาตรของตัวทำละลาย 20% เมทานอลและน้ำที่เหมาะสมในการนำมาใช้ในการกำจัดตัวรบกวน ทดสอบด้วยสารมาตรฐานผสมเมทแอมเฟตามีน คาเฟอีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอลที่ความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} โดยศึกษาที่ปริมาตร 1, 2 และ 3 mL (n=3) จากนั้นนำค่าสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์แต่ละปริมาตรมาพิจารณา โดยเลือกปริมาตรที่ให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) สูงที่สุด จากการศึกษาพบว่า ตัวทำละลาย 20% เมทานอลและน้ำปริมาตร 1 mL ให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) สูงที่สุด โดยมีค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ของสารเมทแอมเฟตามีนในช่วง 62.00 ± 11.61% ถึง 95.13 ± 8.77%, ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ของสารคาเฟอีนในช่วง 99.32 ± 0.92% ถึง 101.20 ± 3.88%, ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ของสารไซบูทรามีนในช่วง 69.16 ± 1.37% ถึง 88.65 ± 1.10%, ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ของสารฟลูออกซิทีนในช่วง 34.12 ± 1.37% ถึง 77.28 ± 4.26%, ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ของสารทรามาดอลในช่วง 47.61 ± 9.8% ถึง 83.39 ± 2.50% ตามลำดับ ในขณะที่ตัวทำละลาย 20% เมทานอลและน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 2 mL และ 3 mL ให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ลดลง **ดังแสดงในภาพที่ 3.5** ทั้งนี้ผู้วิจัยจึงได้นำส่วนสารละลายที่ผ่านขั้นตอนการกำจัดตัวอย่างไปตรวจวิเคราะห์พบว่ามีการตรวจพบสารที่สนใจจะวิเคราะห์ ซึ่งอาจเกิดจากการใช้ปริมาตรที่มากขึ้นทำให้ต้องโหลดตัวอย่างหลายครั้ง เนื่องจากขนาดของคาร์ทริดจ์ที่ใช้มีปริมาตร 1 mL เมื่อทำการโหลดซ้ำหลาย ๆ ครั้ง ความมีขั้วของตัวทำละลาย 20% เมทานอลที่ในการกำจัดตัวรบกวนอาจทำให้สารที่สนใจวิเคราะห์ที่ถูกดูดซับอยู่นั้นหลุดออกมาในกระบวนการนี้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกใช้ทำละลาย 20% เมทานอลและน้ำปราศจากไอออน 1 mL เป็นปริมาตรที่เหมาะสมในการนำมาใช้ในการกำจัดตัวรบกวนเพื่อใช้ในการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

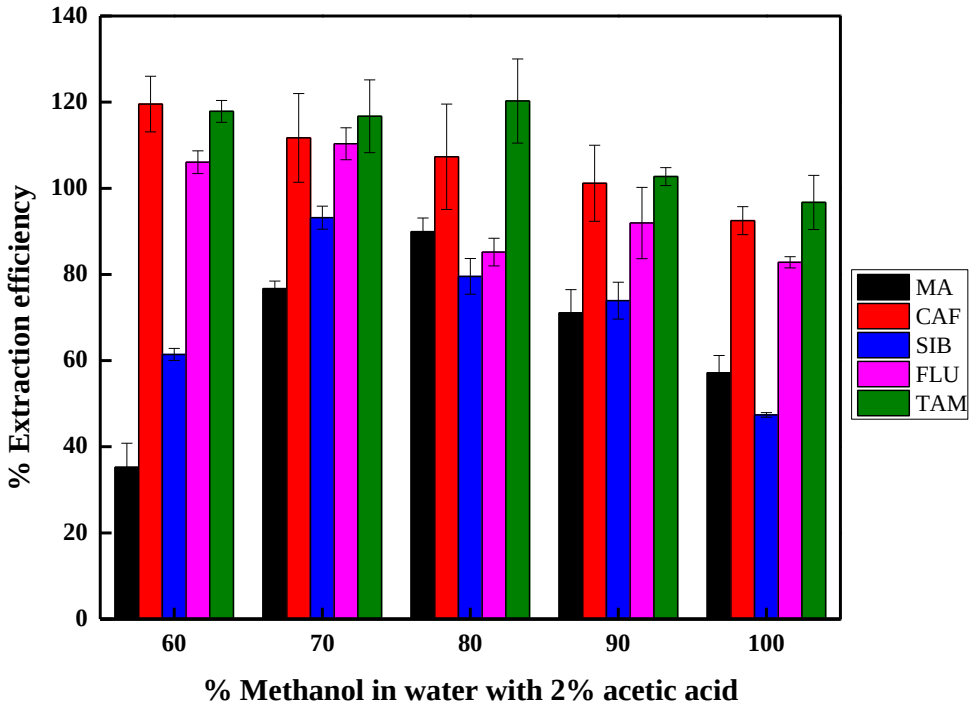


ภาพที่ 3.5 แสดงผลของการศึกษาปริมาตรตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการกำจัดตัวรบกวนที่เหมาะสมสำหรับสกัดสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น

3.1.4 การศึกษาอัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำที่ใช้ในการชะตัวอย่าง

ศึกษาการชะตัวอย่างที่ใช้ในทดสอบวิธีการสกัดสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยตัวดูดซับของแข็ง โดยศึกษาอัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำ ตั้งแต่ 60, 70, 80, 90 และ 100% (v/v) ผสมกับ 2% กรดอะซิติก (n=3) ใช้เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ในการชะสารที่ต้องการตรวจวิเคราะห์ ทดสอบด้วยสารมาตรฐานผสมเมทแอมเฟตามีน คาเฟอีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอลที่ความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} จากนั้นนำค่าสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์แต่ละอัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำมาพิจารณา โดยเลือกอัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำที่ให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) สูงที่สุด จากการศึกษาพบว่า เมื่ออัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำเพิ่มขึ้น (60 และ 70%) มีค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ของสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาทั้ง 5 ชนิด สูงขึ้น โดยสารเมทแอมเฟตามีนมีค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ในช่วง 35.24 ± 5.57% ถึง 76.71 ± 1.77%, คาเฟอีนมีค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ในช่วง 96.47 ±

10.30% ถึง 99.02 ± 6.45%, ไซบูทรามีนมีค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ในช่วง 111.71 ± 2.69% ถึง 119.55 ± 1.39%, ฟลูออกซิทีนมีค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ในช่วง 61.42 ± 2.64% ถึง 93.18 ± 3.70%, และทรามาดอลมีค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัดในช่วง (%extraction efficiency) 106.05 ± 2.54% ถึง 110.33 ± 8.46% ตามลำดับ และเมื่อใช้อัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำเพิ่มขึ้น 80 ถึง 100% มีค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ของสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาทั้ง 5 ชนิด ลดลง **ดังแสดงในภาพที่ 3.6** ทั้งนี้อาจเกิดจากเมื่ออัตราส่วนเมทานอลเพิ่มขึ้นทำให้ตัวทำละลายอินทรีย์มีคุณสมบัติความเป็นขั้วลดน้อยลง กล่าวคือหากมีปริมาณของเมทานอลที่มากเกินไปก็ไม่สามารถชะสารที่สนใจจะวิเคราะห์ออกมาได้ดีที่สุด จึงต้องใช้น้ำมาช่วยในการชะเนื่องจากน้ำมีขั้วแรงกว่าเมทานอล เนื่องจากสารที่สนใจวิเคราะห์มีทั้งส่วนที่มีไม่มีขั้วและมีขั้วน้อยการชะด้วย 70% เมทานอลในน้ำจึงเป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมสามารถชะสารออกมาได้ดียิ่งขึ้น อัตราส่วนของเมทานอลและน้ำจึงต้องมีความเหมาะสมกับสภาพขั้วของสารที่สนใจวิเคราะห์จึงจะสามารถชะออกมาได้ดี ตามกฎการละลาย like dissolves like (Montes et al., 2003) นอกจากนี้ผู้วิจัยได้ผสมกับกรดอะซิติก 2% เพื่อให้เพิ่มความมีขั้วมากขึ้นเพราะเมื่อใส่กรด กรดจะเกิดการไอออไนซ์ช่วยให้มีความสามารถในการชะสารออกจากตัวดูดซับได้ดีขึ้น ดังนั้น ผู้วิจัยจึงเลือกอัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำผสมกับ 2% กรดอะซิติกเท่ากับ 70% เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมในขั้นตอนของการชะตัวอย่างเนื่องจากให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%Extraction efficiency) ของสารที่ต้องการตรวจวิเคราะห์สูงที่สุด

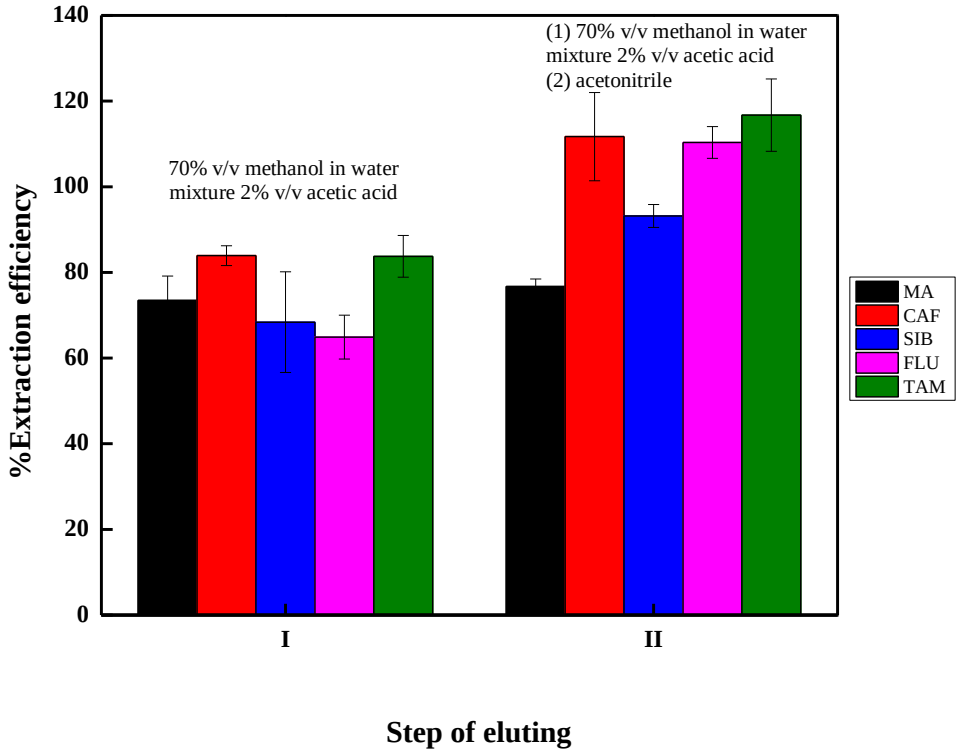


ภาพที่ 3.6 แสดงผลของการศึกษาอัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำปราศจากไอออนที่ใช้ในการชะตัวอย่างที่เหมาะสมสำหรับสกัดสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น

3.1.5 การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการชะแบบที่ 1 และ 2

ศึกษาเปรียบเทียบวิธีการชะตัวอย่างออกจากตัวดูดซับแบบที่ 1 และ 2 ที่เหมาะสม ทดสอบด้วยสารมาตรฐานผสมเมทแอมเฟตามีน คาเฟอีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอลที่ความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} วิธีการชะตัวอย่างแบบที่ 1 ทำการชะด้วย 70% v/v เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติกจำนวน 1 ครั้ง และเปรียบเทียบประสิทธิภาพการชะตัวอย่างแบบที่ 2 ทำการชะด้วย 70% v/v เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติกจำนวน 1 ครั้ง ร่วมกับการใช้ตัวทำละลายอะซิโตไนไตร์ล จำนวน 1 ครั้ง (n=3) จากนั้นทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการชะแบบที่ 1 และ 2 โดยพิจารณาจำนวนครั้งที่ให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) สูงที่สุด จากการศึกษาพบว่าการชะตัวอย่างออกจากตัวดูดซับแบบที่ 1 ด้วย 70% v/v เมทานอลในผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติก ให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ของสารเมทแอมเฟตามีนเท่ากับ 73.467 ± 5.69%, คาเฟอีนเท่ากับ 100.397 ± 2.31%, ไซบูทรามีนเท่ากับ 83.915 ± 11.75%, ฟลูออกซิทีนเท่ากับ 68.391 ± 5.13%, และทรามาดอลเท่ากับ 64.889 ± 4.88%

ตามลำดับ และเมื่อใช้การชะตัวอย่างแบบที่ 2 ด้วย 70% v/v เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติก ร่วมกับการใช้ตัวทำละลายอะซิโตไนไตร์ พบว่า ให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%Extraction efficiency) ของสารเมทแอมเฟตามีนเท่ากับ 76.71 ± 1.77%, คาเฟอีนเท่ากับ 96.47 ± 10.30%, ไซบูทรามีนเท่ากับ 111.71 ± 2.69%, ฟลูออกซิทีนเท่ากับ 93.18 ± 3.70%, และทรามาดอลเท่ากับ 110.33 ± 8.46% ตามลำดับ **ดังแสดงในภาพที่ 3.7** การชะตัวอย่างแบบที่ 2 ให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ของสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาทั้ง 5 ชนิด สูงกว่าการชะตัวอย่างแบบที่ 1 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kamardi และคณะ ได้ทำการวิเคราะห์สารไซบูทรามีนไฮโดคลอไรด์ในผลิตภัณฑ์ยาแผนโบราณด้วยการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคโครมาโทกราฟีสรรมถนะสูง ในการทดลองได้เลือกใช้อะซิโตไนไตร์ลมาใช้ในการชะสารไซบูทรามีนออกจากคาร์ทริดจ์ ซึ่งให้ผลประสิทธิภาพของการสกัดที่ดี (Kamardi et al., 2016) โดยตัวทำละลายอะซิโตไนไตร์ลช่วยในการชะสารไซบูทรามีนและสารที่สนใจวิเคราะห์ชนิดอื่นที่มีค่าร้อยละการสกัดไม่ถึงเกณฑ์ที่ยอมรับได้ เนื่องจากตัวทำละลายอะซิโตไนไตร์มีคุณสมบัติมีขั้วแรงกว่าและมีแรงไดโพลที่แข็งแรงกว่าเมทานอล พิจารณาจากค่า polarity index ของอะซิโตนมีค่าเท่ากับ 5.8 และเมทานอลมีค่าเท่ากับ 5.1 (Huffman et al., 2012) อะซิโตไนไตล์จึงช่วยชะสารที่สนใจวิเคราะห์ออกมาจากคาร์ทริดจ์ได้ดียิ่งขึ้นสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์เมื่อนำอะซิโตไนไตล์มาใช้ในการชะทำให้เพิ่มค่าร้อยละการสกัดเพิ่มขึ้นสารที่วิเคราะห์ทุกตัวอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ดังนั้น ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยจึงเลือกใช้การชะแบบที่ 2 เป็นการชะที่เหมาะสมในการใช้ศึกษาต่อในขั้นตอนต่อไป

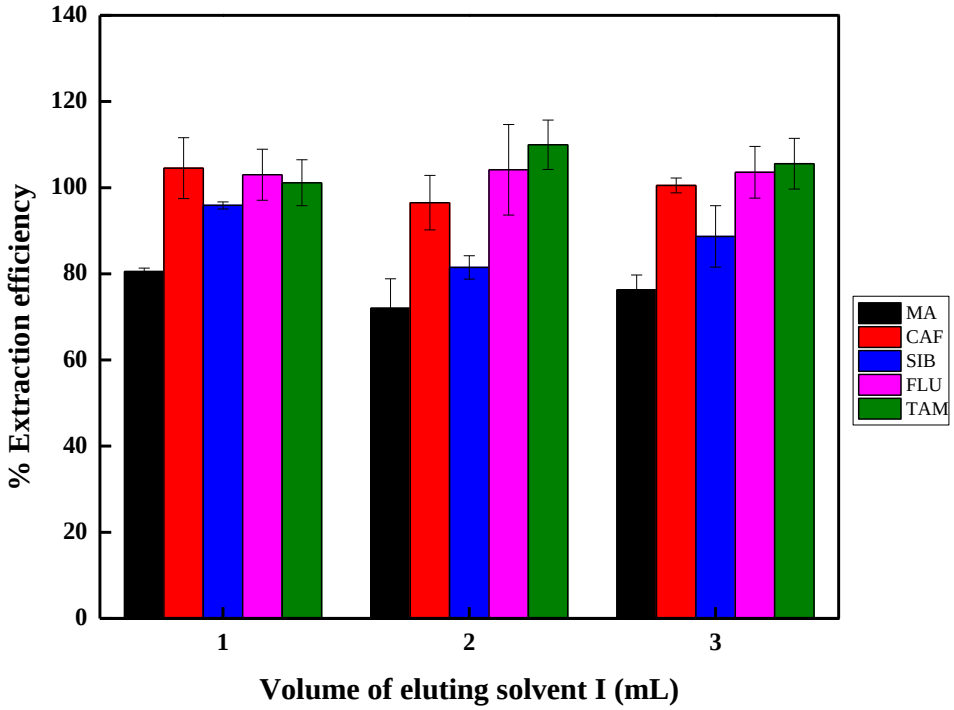


ภาพที่ 3.7 แสดงผลของการศึกษาเปรียบเทียบการชะตัวอย่างแบบที่ 1 และ 2 ที่เหมาะสมสำหรับสกัดสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น

3.1.6 การศึกษาปริมาตรของตัวทำละลาย 70% v/v เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติกใช้ในการชะตัวอย่างขั้นตอนที่ 1

ศึกษาปริมาตรของตัวทำละลาย 70% v/v เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติกที่เหมาะสมในการนำมาใช้ในการชะตัวอย่างขั้นตอนที่ 1 ทดสอบด้วยสารมาตรฐานผสมเมทแอมเฟตามีน คาเฟอีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอลที่ความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} ศึกษาโดยใช้ตัวทำละลาย 70% v/v เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติก ปริมาตร 1.00, 2.00 และ 3.00 mL (n=3) จากนั้นนำค่าสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์แต่ละปริมาตรมาพิจารณา โดยเลือกปริมาตรของตัวทำละลายชนิดที่ 1 ที่ให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) สูงที่สุด จากการศึกษาพบว่า เมื่อเพิ่มปริมาตรของตัวทำละลาย 70% v/v เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติก ตั้งแต่ 1.00 ถึง 3.00 mL มีค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ของสารที่ต้องการตรวจวัดไม่แตกต่างกันและที่ปริมาตร 1.00 mL ให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ของสารไซบูทรามีนดีที่สุด (95.89 ± 5.91%) **ดังแสดงในภาพที่ 3.8**

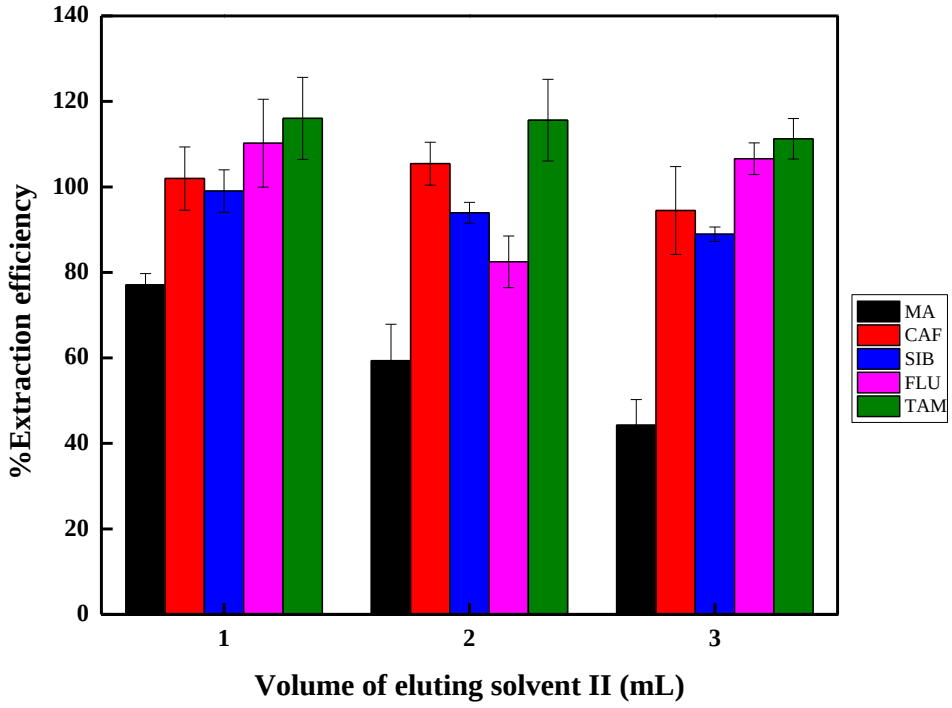
ดังนั้น ผู้วิจัยจึงเลือกใช้ปริมาตรของตัวทำละลายชนิดที่ 1 ในการชะตัวอย่าง ปริมาตร 1.00 mL เป็นปริมาตรที่เหมาะสมในการนำไปใช้ในการศึกษาขั้นตอนต่อไป



ภาพที่ 3.8. แสดงผลของการศึกษาปริมาตรของตัวทำละลาย 70% v/v เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% กรดอะซิติก ที่เหมาะสมในการนำมาใช้ในการชะตัวอย่างขั้นตอนที่ 1 สำหรับสกัดสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น

3.1.7 การศึกษาปริมาตรของตัวทำละลายอะซิโตไนไตรล์ใช้ในการชะตัวอย่างขั้นตอนที่ 2

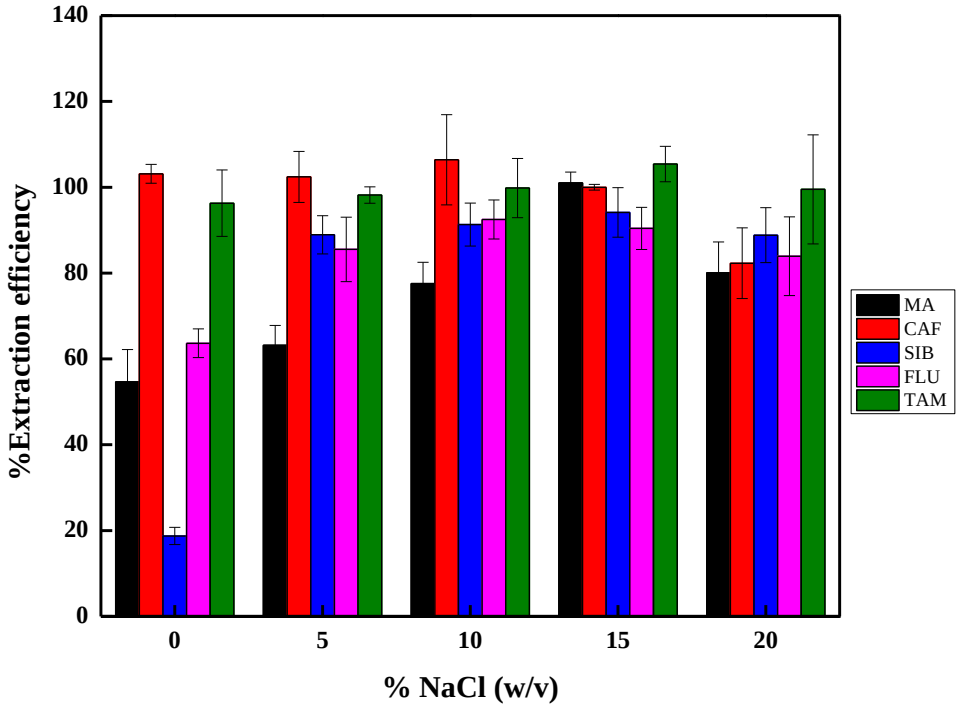
ศึกษาปริมาตรของตัวทำละลายอะซิโตไนไตล์ที่เหมาะสมในการนำมาใช้ในการชะตัวอย่างขั้นตอนที่ 2 ทดสอบด้วยสารมาตรฐานผสมเมทแอมเฟตามีน คาเฟอีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีนและทรามาดอลที่ความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} ศึกษาโดยใช้ตัวทำละลายอะซิโตไนไตล์ที่ปริมาตร 1.00, 2.00 และ 3.00 mL (n=3) จากนั้นนำค่าสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์แต่ละปริมาตรมาพิจารณาโดยเลือกปริมาตรของตัวทำละลายอะซิโตไนไตล์ที่ให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) สูงที่สุด จากการศึกษาพบว่าเมื่อใช้ตัวทำละลายอะซิโตไนไตล์ที่ปริมาตร 1.00 mL ในการชะตัวอย่างขั้นตอนที่ 2 ให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) สูงที่สุด โดยมีค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ของสารเมทแอมเฟตามีนเท่ากับ 77.07 ± 2.65%, คาเฟอีนเท่ากับ 100.36 ± 7.38%, ไซบูทรามีนเท่ากับ 101.96 ± 4.98%, ฟลูออกซิทีนเท่ากับ 99.03 ± 10.29%, และทรามาดอลเท่ากับ 110.23 ± 9.6% ตามลำดับ ดังนั้น ผู้วิจัยจึงเลือกใช้ปริมาตร 1.00 mL ของตัวทำละลายอะซิโตไนไตล์ที่ใช้ในการชะตัวอย่างขั้นตอนที่ 2 เป็นปริมาตรที่เหมาะสมในการนำไปใช้ในการศึกษาขั้นตอนต่อไป



ภาพที่ 3.9 แสดงผลของการศึกษาปริมาตรของตัวทำละลายอะซิโตไนไตล์ที่เหมาะสมในการนำมาใช้ในการชะตัวอย่างขั้นตอนที่ 2 สำหรับสกัดสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น

3.1.8 การศึกษาความแรงของไอออน

ศึกษาความแรงของไอออนโดยเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ในตัวอย่างที่เหมาะสม เพื่อเพิ่มสภาพความมีขั้วของสารละลายตัวอย่างให้จับกับตัวดูดซับได้ดียิ่งขึ้น โดยทดสอบด้วยสารมาตรฐานผสมเมทแอมเฟตามีน คาเฟอีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอลที่ความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} โดยศึกษาความเข้มข้นของเกลือที่ 0, 5, 10, 15 และ 20% w/v ของโซเดียมคลอไรด์ในน้ำปราศจากไอออน (n=3) จากนั้นนำค่าสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์แต่ละความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์มาพิจารณา โดยเลือกความเข้มข้นของเกลือที่ให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) สูงที่สุด จากผลการศึกษาพบว่า เมื่อความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้นจาก 0 ถึง 15% (w/v) ให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาทั้ง 5 ชนิด เพิ่มขึ้น โดยสารเมทแอมเฟตามีนมีค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ในช่วง 54.66 ± 7.52% ถึง 101.03 ± 2.52%, คาเฟอีนมีค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ในช่วง 114.96 ± 0.66% ถึง 119.88 ± 2.18%, ไซบูทรามีนมีค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ในช่วง 100.00 ± 5.77% ถึง 103.13 ± 2.00%, ฟลูออกซิทีนมีค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ในช่วง 18.75 ± 3.35% ถึง 94.13 ± 4.91%, และทรามาดอลมีค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัดในช่วง (%extraction efficiency) 63.65 ± 7.75% ถึง 92.50 ± 6.88% ตามลำดับ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 20% (w/v) ให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) ลดลง **ดังแสดงในภาพที่ 3.10** จะเห็นได้ว่าที่ความเข้มข้น 0–15% (w/v) ความเข้มข้นของเกลือเพิ่มขึ้นทำให้ค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัดเพิ่มขึ้น เนื่องจากเกลือจะแตกตัวเป็นประจุบวกและลบโมเลกุลของเกลือจะไปล้อมรอบโมเลกุลของสารที่สนใจวิเคราะห์ทำให้มีความมีขั้วเพิ่มมากขึ้นและจับกับตัวดูดซับได้ดีขึ้น และเมื่อความเข้มข้นของเกลือสูงเกินไปที่ 20% (w/v) โมเลกุลของเกลือจะไปจับกับโมเลกุลของสารที่สนใจวิเคราะห์จนทำให้แยกออกจากโมเลกุลของน้ำซึ่งเป็นตัวทำละลายทำให้สารที่สนใจวิเคราะห์จับกับตัวดูดซับได้ไม่ดีตัวทำละลายมีความหนืดแทรกซึมได้ไม่ดี ทำให้ที่ 20% (w/v) ของโซเดียมคลอไรด์มีค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัดลดลง (Kliangsuwan et al., 2022) ดังนั้น ผู้วิจัยจึงเลือกความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 15% (w/v) ในการนำไปใช้ในการศึกษาขั้นตอนต่อไป



ภาพที่ 3.10 แสดงผลของการศึกษาความแรงของไอออนโดยการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ในตัวอย่างที่เหมาะสมสำหรับสกัดสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น

3.2 การศึกษาการพิสูจน์การใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

การศึกษาการพิสูจน์การใช้ได้ของการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่นสำหรับตรวจวัดสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนัก เป็นการศึกษาเพื่อพิสูจน์การใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ แสดงให้เห็นว่าวิธีข้างต้นมีประสิทธิภาพในการสกัดที่ดี สามารถใช้ตรวจวัดสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาได้ทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ ผลการทดสอบมีความถูกต้องและแม่นยำ มีความจำเพาะ สามารถนำไปวิเคราะห์ในตัวอย่างจริงได้ โดยทำการศึกษาในปัจจัยต่าง ๆ ดังนี้ ศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นและช่วงความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ (linearity and range) ศึกษาขีดต่ำสุดของการตรวจพบ (limit of detection: LOD) ค่าขีดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (limit of quantification: LOQ) ความเที่ยงของวิธี (precision of method) ความแม่นยำของวิธี (accuracy of method) และความจำเพาะของวิธี (selectivity) โดยมีผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลองดังนี้

3.2.1 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงและช่วงความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ (linearity and range)

การศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงและช่วงความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ ทำการทดสอบภายใต้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับตรวจหาสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีเฟลมไอออไนเซชัน โดยทำการศึกษาความเข้มข้นของสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในช่วง 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 5, 10, 25, 50 และ 100 mg L^{-1} (n=7) ผลการศึกษาพบว่า ไซบูทรามีนและฟลูออกซิทีนมีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.5–100 mg L^{-1} คาเฟอีนมีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.5–50 mg L^{-1} ทรามาดอลมีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.5–5 mg L^{-1} และเมทแอมเฟตามีนช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.5–2.5 mg L^{-1} มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์อยู่ในช่วง 0.9987-0.9997 **ดังแสดงในตารางที่ 3.3**

ตารางที่ 3.3 ผลของการศึกษาการใช้ได้ของวิธีสำหรับตรวจสารหาปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักด้วยการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น

สารที่สนใจวิเคราะห์	สมการเชิงเส้นตรง	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2)	ช่วงความเป็นเส้นตรง (mg L^{-1})
เมทแอมเฟตามีน	y = (12.609 ± 0.261)x – (1.381 ± 0.433)	0.9987	0.5 – 2.5
คาเฟอีน	y = (8.134 ± 0.128)x – (5.399 ± 3.270)	0.9993	0.5 – 50
ไซบูทรามีน	y = (11.352 ± 0.101)x – (4.272 ± 2.579)	0.9995	0.5 – 100
ฟลูออกซิทีน	y = (15.522 ± 0.153)x – (10.753 ± 7.846)	0.9997	0.5 – 100
ทรามาดอล	y = (13.164 ± 0.990)x – (0.233 ± 2.611)	0.9989	0.5 – 5

3.2.2 ขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection: LOD)

การศึกษาขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection: LOD) ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับตรวจหาสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น จากผลการศึกษาโดยการพิจารณาอัตราส่วนสามเท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสารละลายแบลงค์ต่อค่าความชันของกราฟมาตรฐาน พบว่าค่าขีดจำกัดของการตรวจพบของสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาทั้ง 5 ชนิด มีค่าอยู่ในช่วง 0.05–0.09 mg L^{-1} **ดังแสดงในตารางที่ 3.4**

ตารางที่ 3.4 ผลของการคำนวณค่าขีดจำกัดการตรวจพบสำหรับตรวจสารหาปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักด้วยการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น

สารที่สนใจวิเคราะห์	ค่าความชันของกราฟมาตรฐาน	แทนในสมการ	ค่าขีดจำกัดการตรวจพบ (mg L^{-1})
เมทแอมเฟตามีน	12.609	(3x0.24)/12.609	0.06
คาเฟอีน	8.1343	(3x0.24)/8.1343	0.09
ไซบูทรามีน	11.352	(3x0.24)/11.352	0.06
ฟลูออกซิทีน	15.522	(3x0.24)/15.522	0.05
ทรามาดอล	13.146	(3x0.24)/13.146	0.05

3.2.3 ขีดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (limit of quantification: LOQ)

การศึกษาขีดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (limit of quantification: LOQ) ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับตรวจหาสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาด้วยการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น จากผลการศึกษาโดยการพิจารณาอัตราส่วนสิบเท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสารละลายแบลงค์ต่อค่าความชันของกราฟมาตรฐาน พบว่าค่าขีดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณของสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาทั้ง 5 ชนิด มีค่าอยู่ในช่วง 0.15–0.20 mg L^{-1} **ดังแสดงในตารางที่ 3.5**

ตารางที่ 3.5 ผลของการคำนวณค่าขีดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณสำหรับตรวจสารหาปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักด้วยการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น

สารที่สนใจวิเคราะห์	ค่าความชันของกราฟมาตรฐาน	แทนในสมการ	ขีดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (mg L^{-1})
เมทแอมเฟตามีน	12.609	(10x0.24)/12.609	0.19
คาเฟอีน	8.1343	(10x0.24)/8.1343	0.30
ไซบูทรามีน	11.352	(10x0.24)/11.352	0.20
ฟลูออกซิทีน	15.522	(10x0.24)/15.522	0.15
ทรามาดอล	13.146	(10x0.24)/13.146	0.18

3.2.4 ความเที่ยงของวิธี (precision of method)

การศึกษาความเที่ยงของวิธี (precision of method) เป็นการศึกษาความสามารถในการทำซ้ำของวิธีวิเคราะห์ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม โดยทำการทดสอบด้วยสารมาตรฐานผสมเมทแอมเฟตามีน คาเฟอีน ไซบู ทรามีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอลที่ความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง โดยสารเมทแอมเฟตามีนและทรามาดอลทดสอบที่ความเข้มข้น 0, 1 และ 2.5 mg L^{-1} สารคาเฟอีน ไซบูทรามีน และฟลูออกซิทีนทดสอบที่ความเข้มข้น 0.5, 5 และ 25 mg L^{-1} ซึ่งทำการทดสอบภายในวันเดียวกัน (intra-day) ทำซ้ำ 3 ครั้ง และทดสอบระหว่างวัน (inter-day) ทำซ้ำ 5 วัน จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาค่าร้อยละของค่ามาตรฐานเบี่ยงเบนสัมพัทธ์ (%RSD) จากผลการศึกษา พบว่าค่าความเที่ยงของวิธีภายในวันเดียวกันมีค่าอยู่ในช่วง 0.394–9.240 %RSD **ดังตารางที่ 3.6** และค่าความเที่ยงของวิธีระหว่างวันมีค่าอยู่ในช่วง 0.617–9.240 %RSD **ดังตารางที่ 3.7** ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า ค่า %RSD ที่ได้จากการวิเคราะห์ทั้งหมดมีค่าไม่เกิน 11% แสดงให้เห็นว่าการทดสอบนี้มีความถูกต้อง สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักได้ (AOAC, 2019)

ตารางที่ 3.6 ผลของความเที่ยงของวิธีภายในวันเดียวกันสำหรับการตรวจหาสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก (เมทเอมเฟตามีน คาแฟอีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอล) แสดงโดยการวิเคราะห์ %RSD (n=3)

ความเที่ยงของวิธีภายในวันเดียวกัน							
สารที่สนใจจะวิเคราะห์	**ความเข้มข้น ($mg\ L^{-1}$)**	**ค่าความเข้มข้น ($mg\ L^{-1}$)**			**ค่าเฉลี่ย**	**S.D.**	**%RSD**
		n=1	**n=2**	**n=3**			
เมทแอมเฟตามีน	0.5	0.431	0.431	0.444	0.435	0.008	1.774
	1	0.859	0.879	0.832	0.856	0.023	2.742
	2.5	2.136	2.129	2.216	2.160	0.048	2.239
คาเฟอีน	0.5	0.546	0.576	0.546	0.556	0.017	3.119
	5	4.854	4.719	5.020	4.864	0.150	3.091
	25	28.515	27.479	28.470	28.154	0.585	2.080
ไซบูทรามีน	0.5	7.099	7.107	7.055	7.087	0.028	0.394
	5	11.315	11.639	11.255	11.403	0.207	1.813
	25	28.988	29.261	29.327	29.192	0.180	0.617
ฟลูออกซิทีน	0.5	0.414	0.439	0.365	0.406	0.038	9.240
	5	4.551	4.396	5.027	4.658	0.329	7.055
	25	25.187	25.687	25.769	25.548	0.315	1.232
ทรามาดอล	0.5	0.506	0.482	0.435	0.474	0.036	7.577
	1	0.866	0.874	0.866	0.869	0.005	0.521
	2.5	2.294	2.364	2.364	2.341	0.041	1.741

ตารางที่ 3.7 ผลของความเที่ยงของวิธีระหว่างวันสำหรับการตรวจหาสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักที่มีการเติมสารมาตรฐาน (เมทเอมเฟตามีน คาแฟอีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอล) แสดงโดยการวิเคราะห์ %RSD (n=5)

ความเที่ยงของวิธีระหว่างวัน									
สารที่สนใจจะวิเคราะห์	ความเข้มข้น (mg L^{-1})	ค่าความเข้มข้น (mg L^{-1})					ค่าเฉลี่ย	S.D.	%RSD
		วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5			
เมทแอมเฟตามีน	0.5	0.435	0.500	0.484	0.462	0.460	0.468	0.013	2.844
	1	0.856	0.825	0.854	0.941	0.903	0.876	0.044	4.980
	2.5	2.160	2.078	2.031	2.345	2.087	2.140	0.167	7.825
คาเฟอีน	0.5	0.556	0.496	0.506	0.555	0.531	0.529	0.025	4.633
	5	4.864	5.150	4.899	4.533	5.390	4.967	0.430	8.657
	25	28.154	26.563	24.921	30.301	28.019	27.592	2.700	9.787
ไซบูทรามีน	0.5	7.087	7.665	0.440	0.482	0.485	3.232	0.025	0.778
	5	11.403	12.833	4.114	4.402	4.395	7.429	0.164	2.211
	25	29.192	29.266	24.846	20.294	25.412	25.802	2.806	10.874
ฟลูออกซิทีน	0.5	0.406	0.450	0.455	0.472	0.505	0.458	0.025	5.556
	5	4.658	4.696	4.448	4.715	5.371	4.778	0.475	9.942
	25	25.548	24.589	24.865	22.675	27.413	25.018	2.371	9.478
ทรามาดอล	0.5	0.474	0.561	0.487	0.480	0.524	0.505	0.024	4.680
	5	0.869	1.099	0.879	0.872	0.887	0.921	0.008	0.815
	25	2.341	2.121	2.301	2.207	2.315	2.257	0.059	2.602

3.2.5 ความแม่นของวิธี (accuracy of method)

การศึกษาความแม่นของวิธี (accuracy of method) เป็นการศึกษาค่าการวิเคราะห์ว่ามีความใกล้เคียงกับค่าจริงหรือไม่ โดยทำการทดสอบภายใต้สภาวะที่เหมาะสมด้วยสารมาตรฐานผสมเมทแอมเฟตามีน คาเฟอีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอลที่ความเข้มข้น ต่ำ กลาง สูง โดยสารเมทแอมเฟตามีนและทรามาดอลทดสอบที่ความเข้มข้น 0.5, 1 และ 2.5 mg L^{-1} สารคาเฟอีน ไซบูทรามีน และฟลูออกซิทีนทดสอบที่ความเข้มข้น 0.5, 5 และ 25 mg L^{-1} ซึ่งทำการทดสอบภายในวันเดียวกัน (intra-day) ทำซ้ำ 3 ครั้ง และทดสอบระหว่างวัน (inter–day) ทำซ้ำ 5 วัน จากนั้นนำผลที่ได้มาคำนวณหาร้อยละการได้กลับคืน (%recovery) โดยให้เกณฑ์การยอมรับร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 80–115% จากผลการศึกษาพบว่า ผลความแม่นของวิธีภายในวันเดียวกันมีค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 85.356–112.617% **ดังตารางที่ 3.8** และผลความแม่นของวิธีระหว่างวันมีค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 85.61–106.14% **ดังตารางที่ 3.9** จะเห็นได้ว่าผลการวิเคราะห์ความ

แม่นของวิธีภายในวันเดียวกันและระหว่างวันมีค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในเกณฑ์ที่สามารถยอมรับได้ (AOAC, 2019) ดังนั้น การทดสอบนี้จึงมีความแม่นยำสามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์หาสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักได้

ตารางที่ 3.8 ผลของความแม่นของวิธีภายในวันเดียวกันสำหรับการตรวจหาสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก (เมทเอมเฟตามีน คาแฟอีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอล) แสดงโดยการวิเคราะห์ %RSD (n=3)

ความแม่นของวิธีภายในวันเดียวกัน					
สารที่สนใจจะวิเคราะห์	**ความเข้มข้น ($mg\ L^{-1}$)**	**ร้อยละการได้กลับคืน**			**ค่าเฉลี่ย**
		n=1	**n=2**	**n=3**	
เมทแอมเฟตามีน	0.5	86.133	86.133	88.808	86.133
	1	85.862	87.868	83.187	86.865
	2.5	85.431	85.164	88.641	86.412
คาเฟอีน	0.5	109.155	115.160	109.155	112.157
	5	97.089	94.386	100.392	95.738
	25	114.058	109.915	113.878	112.617
ไซบูทรามีน	0.5	99.848	101.324	90.989	100.586
	5	94.290	100.787	93.109	97.538
	25	89.550	90.643	90.909	90.367
ฟลูออกซิทีน	0.5	82.898	87.814	73.068	85.356
	5	91.029	87.916	100.532	89.473
	25	100.748	102.748	103.075	102.190
ทรามาดอล	0.5	101.132	96.427	87.017	98.780
	1	86.639	87.423	86.639	87.031
	2.5	91.745	94.568	94.568	93.627

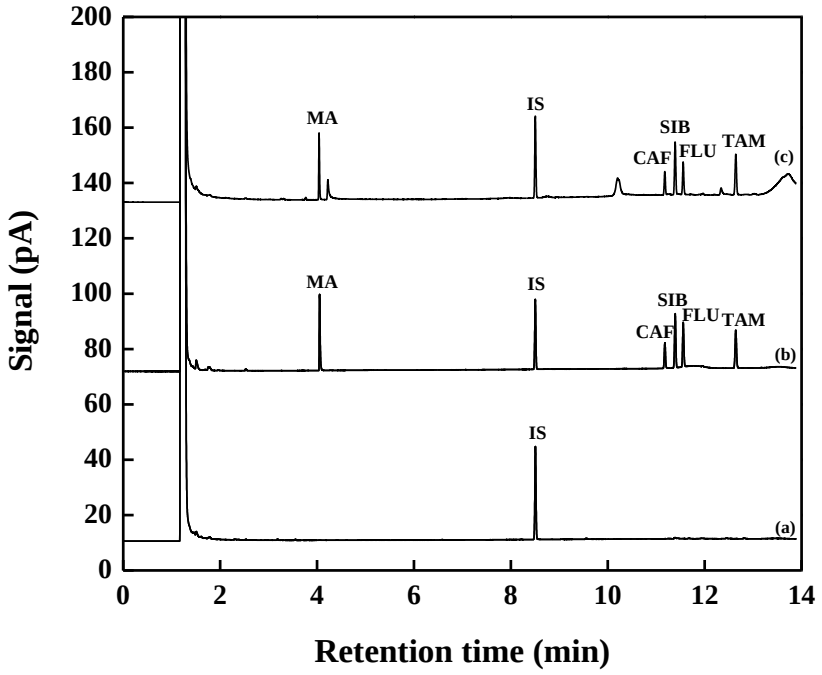
ตารางที่ 3.9 ผลของความเที่ยงของวิธีระหว่างวันสำหรับการตรวจหาสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักที่มีการเติมสารมาตรฐาน (เมทเอมเฟตามีน คาแฟอีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน และ ทรามาดอล) แสดงโดยการวิเคราะห์ %RSD (n=5)

ความแม่นของวิธีระหว่างวัน							
สารที่สนใจจะวิเคราะห์	ความเข้มข้น ($mg\ L^{-1}$)	ร้อยละการได้กลับคืน					ค่าเฉลี่ย
		วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5	
เมทแอมเฟตามีน	0.5	86.133	98.838	96.832	91.482	91.482	92.953
	1	86.865	82.184	85.527	92.883	89.539	87.400
	2.5	86.412	83.113	81.241	93.812	83.470	85.610
คาเฟอีน	0.5	112.157	98.646	101.648	93.508	106.152	102.422
	5	95.738	104.445	97.389	85.315	107.456	98.069
	25	112.617	106.252	99.686	100.804	112.077	106.287
ไซบูทรามีน	0.5	100.586	97.230	88.089	93.257	93.257	94.484
	5	97.538	112.853	82.484	88.168	87.651	93.739
	25	90.367	88.263	99.385	81.175	101.649	92.168
ฟลูออกซิทีน	0.5	85.366	90.270	90.271	92.729	102.559	92.239
	5	89.473	95.043	90.374	94.879	106.348	95.223
	25	102.190	98.357	99.460	90.700	109.651	100.072
ทรามาดอล	0.5	98.780	112.111	97.996	99.564	102.701	102.230
	5	87.031	110.949	87.815	85.463	86.247	91.501
	25	93.627	84.844	92.058	88.294	92.581	90.281

3.2.6 ความจำเพาะ (selectivity)

การศึกษาความจำเพาะ (selectivity) เป็นการศึกษาความสามารถของวิธีที่สามารถแยกได้เฉพาะสารที่สนใจจะวิเคราะห์ออกจากตัวรบกวนได้ โดยทำการศึกษา 3 กระบวนการ ดังนี้ (1) ตัวอย่างสารละลายแบลงค์ซึ่งมีการเติมสารมาตรฐานภายในและนำไปวิเคราะห์ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมด้วยการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง (2) ตัวอย่างที่มีการเติมสารมาตรฐานที่สนใจวิเคราะห์ที่ความเข้มข้น 2.5 $mg\ L^{-1}$ นำไปวิเคราะห์ภายใต้สภาวะที่เหมาะด้วยการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง (3) ตัวอย่างที่มีการเติมสารมาตรฐานที่สนใจวิเคราะห์ที่ความเข้มข้น 2.5 $mg\ L^{-1}$ ไม่ผ่านการสกัด นำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น จากผลการศึกษาพบว่าการวิเคราะห์ตัวอย่างสารละลายแบงค์และตัวอย่างที่มีการเติมสารมาตรฐานที่สนใจวิเคราะห์ที่ความเข้มข้น 2.5 $mg\ L^{-1}$ ที่ผ่านการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ไม่พบพีคของสารชนิดอื่นๆ ใน

โครมาโทแกรม ในขณะที่ตัวอย่างที่มีการเติมสารมาตรฐานที่สนใจวิเคราะห์ที่ความเข้มข้น 2.5 mg L^{-1} ไม่ผ่านการสกัด ตรวจพบพีคของสารรบกวนในโครมาโทแกรม **ดังแสดงในภาพที่ 3.11** จะเห็นได้ว่าตัวอย่างที่ผ่านการสกัดภายใต้สภาวะที่เหมาะสมสามารถแยกหรือกำจัดตัวรบกวนในตัวอย่างได้ดี ดังนั้น การวิเคราะห์จึงมีความจำเพาะสูงนำไปวิเคราะห์หาสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักได้

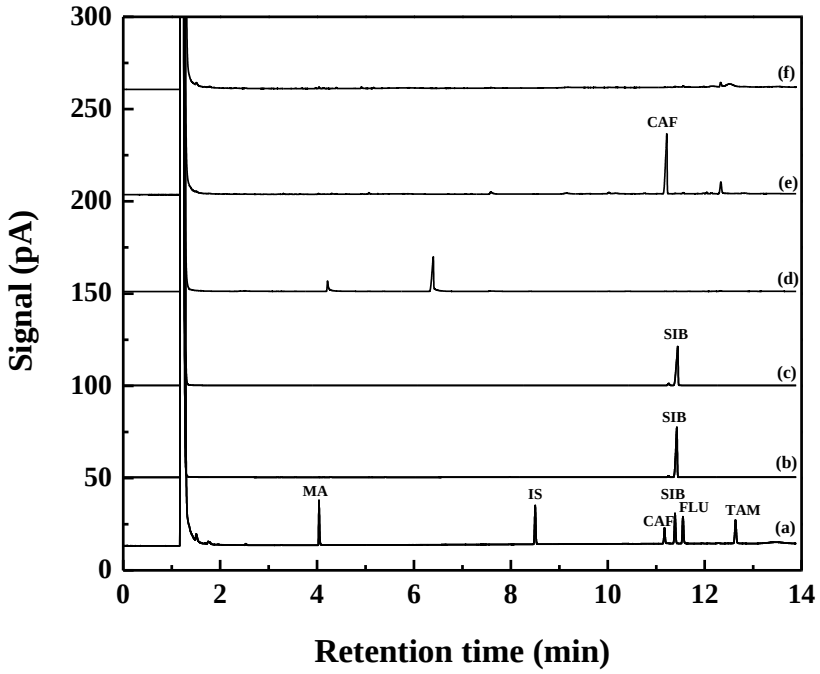


ภาพที่ 3.11 แสดงผลโครมาโทแกรมของสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก (a) ตัวอย่างสารละลายแบลงค์ที่ผ่านการสกัด (b) ตัวอย่างที่มีการเติมสารมาตรฐานที่ผ่านการสกัด (c) ตัวอย่างที่ไม่ผ่านการสกัดที่ตรวจวัดด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น

3.3 การวิเคราะห์สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก

การวิเคราะห์สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักด้วยการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น ทำการทดสอบตัวอย่างจำนวน 5 ตัวอย่าง ได้แก่ ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (A และ B) ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสมุนไพรลดน้ำหนัก (C) ผลิตภัณฑ์กาแฟลดน้ำหนัก (D) และผลิตภัณฑ์เสริมอาหารชนิดชงดื่ม (E) จากผลการศึกษาพบว่าตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักทั้ง 5 ตัวอย่าง มีการตรวจพบสารไซบูทรามีนทั้งหมด 3 ตัวอย่าง มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 1.90–248.11 mg L^{-1} (4.19–17.33 mg per tablet) ซึ่งสารไซบูทรามีนมีกำหนดให้บริโภคไม่เกิน 10 mg day^{-1} เป็นปริมาณที่เหมาะสม จะเห็นได้ว่าตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ได้มีการปลอมปนสารไซบูมรามีนในปริมาณที่อาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคเมื่อรับประทานสะสมไปเรื่อย ๆ นอกจากนี้ยังตรวจพบสารคาเฟอีนและฟลูออกซิทีนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์กาแฟลดน้ำหนัก (D) **ดังแสดงในตารางที่ 3.10 และภาพที่ 3.12** แต่อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักที่วางขายไม่ควรมีสารปลอมปนเหล่านี้อยู่ในผลิตภัณฑ์ ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้ซื้อมาทำการตรวจวิเคราะห์ไม่ได้ระบุถึงการใส่สารปลอมปนเหล่านี้ **ดังแสดงในตารางที่ 3.11** จะเห็นได้ว่าผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักที่วางขายตามท้องตลาดยังมีการปลอมปนของสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาซึ่งมีความผิดตามกฎหมายและยังส่งผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ ผลการศึกษาสอดคล้องกับงานวิจัยของ Phattanawasin และคณะ ได้ศึกษาการตรวจวัดสารไซบูทรามีนในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักในประเทศไทยจำนวน 20 ตัวอย่าง และตรวจพบสารไซบูทรามีนปลอมปนในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจำนวน 6 ตัวอย่าง (Phattanawasin et al., 2012)

นอกจากนี้ได้ศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ด้วยอย่าง โดยทำการทดสอบตัวอย่างทั้งหมดที่เติมสารมาตรฐานผสมเมทแอมเฟตามีนและทรามาดอลที่ความเข้มข้น 0.5, 1 และ 2.5 mg L^{-1} สารคาเฟอีน ไซบูทรามีน และฟลูออกซิทีนที่ความเข้มข้น 2.5, 5 และ 2.5 mg L^{-1} ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม จากนั้นนำค่าสัญญาณที่ได้มาคำนวณความเข้มข้นของสารโดยคำนวณจากกราฟมาตรฐานและคำนวณร้อยละการได้กลับคืน จากการวิเคราะห์สารมาตรฐานผสมที่สนใจจะวิเคราะห์ลงในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก พบว่าสารเมทแอมเฟตามีนมีค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 81–99% สารคาเฟอีนมีค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 85–113% สารไซบูทรามีนมีค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 81–113% สารฟลูออกซิทีนมีค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ ในช่วง 85-110% และสารทรามาดอลมีค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 85–112% ตามลำดับ **ดังตารางที่ 3.12** แสดงให้เห็นว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมีความถูกต้องและแม่นยำในการวิเคราะห์สารปลอมปนวัตถุออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักได้หลายประเภท



ภาพที่ 3.12 แสดงผลโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานผสมและผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก (a) สารมาตรฐานผสมที่ความเข้มข้น 25 mg L^{-1} (b) ตัวอย่างชนิด A (c) ตัวอย่างชนิด B (d) ตัวอย่างชนิด C (e) ตัวอย่างชนิด D และ (f) ตัวอย่างชนิด E

ตารางที่ 3.10 แสดงผลการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักจำนวน 5 ตัวอย่าง (n=3)

ตัวอย่าง	ประเภท	ความเข้มข้นสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่ตรวจพบ (mg L^{-1} ± SD)				
		เมทแอมเฟตามีน	คาเฟอีน	ไซบูทรามีน	ฟลูออกซิทีน	ทรามาดอล
A	ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก	-	-	132.195 ± 1.065	-	-
B	ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก	-	-	248.110 ± 2.315	-	-
C	ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสมุนไพร	-	-	-	-	-
D	ผลิตภัณฑ์กาแฟลดน้ำหนัก	-	34.029 ± 0.90	1.90 ± 0.00	0.895 ± 0.004	-
E	ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารชนิดชงดื่ม	-	-	-	-	-

ตารางที่ 3.11 แสดงองค์ประกอบของตัวอย่าง แหล่งผลิต และแหล่งที่มาของการซื้อผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักจำนวน 5 ตัวอย่าง

ตัวอย่าง	ประเภท	องค์ประกอบของตัวอย่าง	แหล่งผลิต/นำเข้า	แหล่งที่มาของการซื้อ	สารปลอมปนที่ตรวจพบ
A	ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก	แมงลัก, ตะบองเพชร, แอลคาร์นิทีน, แอลทราแทรค, ไฟเบอร์, ถั่วขาว, คอลลาเจน, วิตามินบี 6, ส้มแขก และว่างหางจระเข้	จังหวัดสมุทรสาคร ประเทศไทย (นำเข้า)	ตลาดกิมหยง จังหวัดสงขลา ประเทศไทย	สารไซบูทรามีน
B	ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนัก	ไม่ระบุ	มณฑลยูนนาน ประเทศจีน	ตลาดกิมหยง จังหวัดสงขลา ประเทศไทย	สารไซบูทรามีน
C	ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสมุนไพร	ผงบุก, ตะบองเพชร, ไฟเบอร์, ส้มแขก และถั่วขาว	จังหวัดขอนแก่น ประเทศไทย	ตลาดกิมหยง จังหวัดสงขลา ประเทศไทย	-
D	ผลิตภัณฑ์กาแฟลดน้ำหนัก	ครีมเทียม, กาแฟ, คอลลาเจน, โครเมียมพิโคลิเนต, สารสกัดจากผลส้มแขก, สารสกัดจากระบองเพชร, สารสกัดถั่วขาว และกลิ่นกาแฟ	กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย (นำเข้า)	ตลาดกิมหยง จังหวัดสงขลา ประเทศไทย	สารคาเฟอีน ไซบูทรามีน และฟลูออกซิทีน
E	ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารชนิดงดื่ม	แอลคานิทีน, แอลกลูตาร์ไทโอน, แอลอาร์จินีน, เบต้ากลูแคน, รสแอปเปิ้ล, ซูคราโรส, กรดซิตริก, ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์, เดกโทรส, สารสกัดส้มแขก, คอลลาเจน และผงแต่งสีเขียวแอปเปิ้ล	จังหวัดปทุมธานี ประเทศไทย	ตลาดกิมหยง จังหวัดสงขลา ประเทศไทย	-

ตารางที่ 3.12 แสดงผลการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีการเติมสารมาตรฐานที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและทำการวิเคราะห์ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม (n=3)

สารที่สนใจวิเคราะห์	ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงไป ($mg\ L^{-1}$)	ชนิดของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก								
		ตัวอย่าง A			ตัวอย่าง B			ตัวอย่าง C		
		ความเข้มข้นที่ได้	ร้อยละการได้กลับคืน	%RSD	ความเข้มข้นที่ได้	ร้อยละการได้กลับคืน	%RSD	ความเข้มข้นที่ได้	ร้อยละการได้กลับคืน	%RSD
เมทแอมเฟตามีน	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.5	0.435	86.133	1.793	0.500	98.838	2.067	0.484	96.832	1.381
	1	0.856	86.865	2.703	0.825	82.184	2.934	0.854	85.527	0.451
	2.5	2.160	86.412	2.239	2.078	83.113	0.983	2.031	81.241	1.331
คาเฟอีน	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.5	0.556	112.157	3.091	0.496	98.646	4.649	0.506	101.648	1.705
	5	4.864	95.738	3.141	5.150	104.445	3.430	4.899	97.389	3.556
	25	28.154	112.617	2.108	26.563	106.252	1.745	24.921	99.686	1.080
ไซบูทรามีน	0	6.644	-	0.788	7.215	-	0.928	-	-	-
	0.5	7.087	100.586	5.557	7.665	97.230	8.364	0.440	88.089	1.676
	5	11.403	97.538	4.238	12.833	112.853	0.495	4.114	82.484	0.986
	25	29.192	90.367	0.797	29.266	88.263	9.154	24.846	99.385	0.157
ฟลูออกซิทีน	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.5	0.406	85.366	8.796	0.450	90.270	1.048	0.455	90.271	1.815
	5	4.658	89.473	7.345	4.696	95.043	3.932	4.448	90.374	2.816
	25	25.548	102.190	1.232	24.589	98.357	3.242	24.865	99.460	1.504
ทรามาดอล	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.5	0.474	98.780	7.276	0.561	112.111	1.399	0.487	97.996	6.468
	1	0.869	87.031	0.520	1.099	110.949	1.779	0.879	87.815	1.364
	2.5	2.364	93.627	1.741	2.121	84.844	4.498	2.301	92.058	0.341

ตารางที่ 3.12 แสดงผลการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีการเติมสารมาตรฐานที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและทำการวิเคราะห์ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม (n=3) (ต่อ)

สารที่สนใจวิเคราะห์	ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงไป (mg L^{-1})	ชนิดของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก					
		ตัวอย่าง D			ตัวอย่าง E		
		ความเข้มข้นที่ได้	ร้อยละการได้กลับคืน	%RSD	ความเข้มข้นที่ได้	ร้อยละการได้กลับคืน	%RSD
เมทแอมเฟตามีน	0	-	-	-	-	-	-
	0.5	0.462	91.482	1.688	0.460	91.482	1.688
	1	0.941	92.883	2.528	0.903	89.539	1.879
	2.5	2.345	93.812	0.917	2.087	83.470	1.125
คาเฟอีน	0	5.120	-	2.966	-	-	-
	0.5	5.555	93.508	10.157	0.531	106.152	2.829
	5	9.533	85.315	7.745	5.390	107.45	0.703
	25	30.301	100.804	2.477	28.019	112.077	0.942
ไซบูทรามีน	0	-	-	-	-	-	-
	0.5	0.482	93.257	5.994	0.485	93.257	7.916
	5	4.402	88.168	0.256	4.395	87.651	0.701
	25	20.294	81.175	0.714	25.412	101.649	0.292
ฟลูออกซิทีน	0	-	-	-	-	-	-
	0.5	0.472	92.729	3.534	0.505	102.559	4.227
	5	4.715	94.879	1.1078	5.371	106.348	2.003
	25	22.675	90.700	2.666	27.413	109.651	3.116
ทรามาดอล	0	-	-	-	-	-	-
	0.5	0.480	99.564	8.957	0.524	102.701	5.782
	1	0.872	85.463	3.708	0.887	86.247	2.923
	2.5	2.207	88.294	0.615	2.315	92.581	2.178

บทที่ 4

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

4.1 บทสรุป

การตรวจหาสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักโดยใช้การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่นที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้ มีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟเพื่อใช้ในการแยกและตรวจวัดสารเมทแอมเฟตามีน สารมาตรฐานภายใน (ไดฟีนิลลามีน) คาเฟอีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีนและ ทรามาดอล ภายในเวลา 13.9 นาที มีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดสารด้วยตัวดูดซับของแข็งชนิดเอส แอล บี พบว่า ตัวอย่างจะต้องผ่านการปรับ pH เท่ากับ 12 และเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 15% (w/v) กระบวนการสกัดในขั้นตอนการกำจัดตัวรบกวนใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ 20% v/v เมทานอลในน้ำ ปริมาตร 1.00 mL ขั้นตอนการชะตัวอย่างใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ 70% v/v เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% กรดอะซิติก ปริมาตร 1.00 mL ร่วมกับการใช้อะซิโตไนไตร์ปริมาตร 1.00 mL ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมมีค่าร้อยละประสิทธิภาพการสกัด (%extraction efficiency) สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาทั้ง 5 ชนิด อยู่ในช่วง 83–105% **ดังตารางที่ 4.1** วิธีที่พัฒนาขึ้นมีความถูกต้องและแม่นยำในการตรวจวัด มีความน่าเชื่อถือ สามารถใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการสำหรับตรวจวิเคราะห์เชิงคุณภาพและปริมาณสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก

ดังนั้น สรุปได้ว่าการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่นสำหรับตรวจหาสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก มีประสิทธิภาพในการสกัดที่ดี สามารถนำสภาวะที่ได้ศึกษาไปประยุกต์ใช้ในการตรวจหาสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทาเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก เพื่อใช้เป็นพยานหลักฐานในการสนับสนุนการพิสูจน์ความผิดทางด้านนิติวิทยาศาสตร์และใช้ในการคุ้มครองผู้บริโภคได้

ตารางที่ 4.1 แสดงสรุปผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งร่วมกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่นสำหรับตรวจหาสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก

ปัจจัยของสภาวะที่ศึกษา	**ช่วงการศึกษา**	**สภาวะที่เหมาะสมที่เลือก**
pH ที่เหมาะสมของตัวอย่าง	pH 6–14	pH 12
อัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำที่ใช้ในการกำจัดตัวรบกวน	0–100% v/v เมทานอลในน้ำ	20% v/v เมทานอลในน้ำ
ปริมาตรที่ใช้ในการตัวกำจัดตัวรบกวน	1.00–3.00 mL	1.00 mL
อัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำที่ใช้ในการชะตัวอย่าง	60–100% v/v เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติก	70% v/v เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติก
เปรียบเทียบวิธีการชะแบบที่ 1 และ 2	แบบที่ 1 และ 2	แบบที่ 2
ปริมาตรของตัวทำละลาย 70% v/v เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติกใช้ในการชะตัวอย่างขั้นตอนที่ 1	1.00–3.00 mL	1.00 mL
ปริมาตรของตัวทำละลายอะซิโตไนไตล์ใช้ในการชะตัวอย่างขั้นตอนที่ 2	1.00–3.00 mL	1.00 mL
ความแรงของไอออน	0–20% w/v โซเดียมคลอไรด์ในน้ำ	15% w/v โซเดียมคลอไรด์ในน้ำ

4.2 ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ได้ทำการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งแบบแมนนวล (สกัดโดยใช้มือ) จึงทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ในแต่ละซ้ำ และการสกัดใช้เวลาประมาณ 15-20 นาที ต่อหนึ่งซ้ำ เพื่อลดความคลาดเคลื่อนและลดระยะเวลาผู้วิเคราะห์ควรใช้เครื่อง SPE Vacuum Manifold

บรรณานุกรม

AÇIKKOL, M., & SALKIM, D. (2010). GC-MS analysis of fluoxetine and its active metabolite norfluoxetine in human urine. *Marmara Pharmaceutical Journal* 14, 98-103.

Aranda, J. V., & Beharry, K. D. (2020). Pharmacokinetics, pharmacodynamics and metabolism of caffeine in newborns. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* 25, 101183.

Ashihara, H., & Crozier, A. (2001). Caffeine: a well known but little mentioned compound in plant science. *Trends in Plant Science* 6, 407-413.

Benfield, P., Heel, R. C., & Lewis, S. P. (1986). Fluoxetine. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy in depressive illness. *Drugs* 32, 481-508.

Bruce, P., Minkkinen, P., & Riekkola, M.-L. (1998). Practical method validation: validation sufficient for an analysis method. *Microchimica Acta* 128, 93-106.

Bymaster, F. P., Zhang, W., Carter, P. A., Shaw, J., Chernet, E., Phebus, L., Wong, D. T., & Perry, K. W. (2002). Fluoxetine, but not other selective serotonin uptake inhibitors, increases norepinephrine and dopamine extracellular levels in prefrontal cortex. *Psychopharmacology (Berl)* 160, 353-61.

Carvalho, L. M. d., Cohen, P. A., Silva, C. V., Moreira, A. P. L., Falcão, T., Dal Molin, T. R., Zemolin, G. M., & Martini, M. (2012). A new approach to determining pharmacologic adulteration of herbal weight loss products. *Food Additives & Contaminants: Part A* 29, 1661 - 1667.

Caterson, I. D., Finer, N., Coutinho, W., Van Gaal, L. F., Maggioni, A. P., Torp-Pedersen, C., Sharma, A. M., Legler, U. F., Shepherd, G. M., Rode, R. A., Perdok, R. J., Renz, C. L., & James, W. P. (2012). Maintained intentional weight loss reduces cardiovascular outcomes: results from the sibutramine cardiovascular outcomes (SCOUT) trial. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 14, 523-30.

Cebi, N., Yilmaz, M. T., & Sagdic, O. (2017). A rapid ATR-FTIR spectroscopic method for detection of sibutramine adulteration in tea and coffee based on hierarchical cluster and principal component analyses. *Food Chemistry* 229, 517-526.

Chaisiwamongkhol, K., Labaidae, S., Pon-in, S., Pinsrithong, S., Bunchuay, T., & Phonchai, A. (2020). Smartphone-based colorimetric detection using gold nanoparticles of sibutramine in suspected food supplement products. *Microchemical Journal* 158, 105273.

Chandrasekaran, A., Linderman, K., & Schroeder, R. (2012). Antecedents to ambidexterity competency in high technology organizations. *Journal of operations management* 30, 134-151.

Cheng, Q., Shou, L., Chen, C., Shi, S., & Zhou, M. (2017). Application of ultra-high-performance liquid chromatography coupled with LTQ-Orbitrap mass spectrometry for identification, confirmation and quantitation of illegal adulterated weight-loss drugs in plant dietary supplements. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 1064, 92-99.

Chorilli, M., Bonfilio, R., Chicarelli, R., & Salgado, H. (2011). Development and validation of an analytical method by RP-HPLC for quantification of sibutramine hydrochloride in pharmaceutical capsules. *Analytical Methods* 3, 985-990.

Cianchino, V., Acosta, G., Ortega, C., Martínez, L., & Gomez, M. (2008). Analysis of potential adulteration in herbal medicines and dietary supplements for the weight control by capillary electrophoresis. *Food Chemistry* 108, 1075-1081.

Copyright © 2023, StatPearls Publishing LLC., Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: abdolreza saadabadi declares no relevant financial relationships with ineligible companies.

Cruickshank, C. C., & Dyer, K. R. (2009). A review of the clinical pharmacology of methamphetamine. *Addiction* 104, 1085-1099.

Csupor, D., Boros, K., Dankó, B., Veres, K., Szendrei, K., & Hohmann, J. (2013). Rapid identification of sibutramine in dietary supplements using a stepwise approach. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences* 68, 15-18.

Dastjerdi, A. G., Akhgari, M., Kamali, A., & Mousavi, Z. (2018). Principal component analysis of synthetic adulterants in herbal supplements advertised as weight loss drugs. *Complementary Therapies in Clinical Practice* 31, 236-241.

Deconinck, E., Cauwenbergh, T., Bothy, J. L., Custers, D., Courselle, P., & De Beer, J. O. (2014). Detection of sibutramine in adulterated dietary supplements using attenuated total reflectance-infrared spectroscopy. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 100, 279-283.

Dias, N. C., & Poole, C. F. (2002). Mechanistic study of the sorption properties of OASIS® HLB and its use in solid-phase extraction. *Chromatographia* 56, 269-275.

Diefenbach, I. C. F., Friedrich, M., Santos, M. R. D., & Bittencourt, C. F. (2009). Development and validation of a column high-performance liquid chromatographic method for determination of sibutramine in capsules. *Journal of AOAC INTERNATIONAL* 92, 148-151.

Freye, E., & Freye, E. (2010). Pharmacology of methamphetamine. *Pharmacology and abuse of cocaine, amphetamines, ecstasy and related designer drugs: A comprehensive review on their mode of action, treatment of abuse and intoxication*, 119-124.

Guidance for the validation of analytical methodology and calibration of equipment used for testing of illicit drugs in seized materials and biological specimens :a commitment to quality and continuous improvement. (2009). United Nations, New York.

Goto, Y., Takeda, S., Araki, T., and Fuchigami, T. (2011). Method of simultaneous stir bar sorptive extraction of phenethylamines and THC metabolite from urine. *The Journal of Toxicological Sciences* 36, 523-529.

Grond, S., & Sablotzki, A. (2004). Clinical pharmacology of tramadol. *Clinical Pharmacokinetics* 43, 879-923.

Hachem, R., Assemat, G., Martins, N., Balayssac, S., Gilard, V., Martino, R., & Malet-Martino, M. (2016). Proton NMR for detection, identification and quantification of adulterants in 160 herbal food supplements marketed for weight loss. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 124, 34-47.

Hayun, Maggadani, B., & Amalina, N. (2016). Determination of sibutamine adulterated in herbal slimming products using TLC densitometric method. *Indonesian journal of Pharmacy* 27, 15-21.

Hieu, T. Q., Vi, P. P. H., Phuong, P. K., Bien, L. T. K., & Tan, N. T. (2021). Validation of the method for determination of phenolphthalein and sibutramine in weight-loss functional foods from Viet Nam by UPLC-MS/MS. *Vietnam Journal of Chemistry* 59, 467-474.

Huang, Z., Xiao, S., Luo, D., Chen, B., & Yao, S. (2008). Simultaneous determination of sibutramine and N-Di-desmethylsibutramine in dietary supplements for weight control by HPLC—ESI-MS. *Journal of Chromatographic Science* 46, 707-711.

James, H. (2000). "The golden bowl," Wordsworth Editions.

Jin, R., Li, L., Guo, L., Li, W., & Shen, Q. (2017). A graphene tip coupled with liquid chromatography tandem mass spectrometry for the determination of four synthetic adulterants in slimming supplements. *Food Chem* 224, 329-334.

Jung, J., Hermanns-Clausen, M., & Weinmann, W. (2006). Anorectic sibutramine detected in a chinese herbal drug for weight loss. *Forensic Science International* 161, 221-222.

Khazan, M., Hedayati, M., Askari, S., & Azizi, F. (2013). Adulteration of products sold as chinese herbal medicines for weight loss with thyroid hormones and PCP. *Journal of Herbal Medicine* 3, 39–43.

Kim, M. K., Lee, W.-Y., Kang, J.-H., Kang, J.-H., Kim, B. T., Kim, S. M., Kim, E. M., Suh, S.-H., Shin, H. J., & Lee, K. R. (2014). 2014 clinical practice guidelines for overweight and obesity in Korea. *Endocrinology and Metabolism* 29, 405-409.

Kliangsuwan, A., Phonchai, A., & Bunkoed, O. (2022). A magnetic molecularly imprinted polymer hierarchical composite adsorbent embedded with a zinc oxide carbon foam nanocomposite for the extraction of sulfonamides. *Microchemical Journal* 179, 107443.

Koch, S., Perry, K. W., Nelson, D. L., Conway, R. G., Threlkeld, P. G., & Bymaster, F. P. (2002). R-fluoxetine increases extracellular DA, NE, as well as 5-HT in rat prefrontal cortex and hypothalamus: An in vivo microdialysis and receptor binding study. *Neuropsychopharmacology* 27, 949-959.

Köhler, K., Geyer, H., Guddat, S., Orlovius, A., Parr, M. K., Thevis, M., Mester, J., & Schänzer, W. (2007). Sibutramine found in chinese herbal slimming tea and capsules. *Recent advances in doping analysis* 15, 367-70.

Kyle, P. B. (2017). Chapter 7 - Toxicology: GCMS. *In* "Mass spectrometry for the clinical laboratory" (H. Nair and W. Clarke, eds.), pp. 131-163. Academic Press, San Diego.

Lan, L., Hu, B., & Yu, C. (2010). pH-resistant titania hybrid organic-inorganic coating for stir bar sorptive extraction of drugs of abuse in urine samples followed by high performance liquid chromatography-ultraviolet visible detection. *Journal of Chromatography A* 1217, 7003-9.

Lee-Kelland, R., Zehra, S., & Mappa, P. (2018). Fluoxetine overdose in a teenager resulting in serotonin syndrome, seizure and delayed onset rhabdomyolysis. *BMJ Case Rep* 2018.

Li, Y., Zhang, H., Hu, J., Xue, F., Li, Y., & Sun, C. (2012). A GC-EI-MS-MS method for simultaneous determination of seven adulterants in slimming functional foods. *Journal of Chromatographic Science* 50, 928-33.

Liguori, A., Hughes, J. R., & Grass, J. A. (1997). Absorption and subjective effects of caffeine from coffee, cola and capsules. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 58, 721-726.

Liu, Z. Q., Zhu, B., Tan, Y. F., Tan, Z. R., Wang, L. S., Huang, S. L., Shu, Y., & Zhou, H. H. (2002). O-Dealkylation of fluoxetine in relation to CYP2C19 gene dose and involvement of CYP3A4 in human liver microsomes. *J Pharmacol Exp Ther* 300, 105-11.

Maluf, D. F., Farago, P. V., Barreira, S. M., Pedroso, C. F., & Pontarolo, R. (2007). Validation of an analytical method for determination of sibutramine hydrochloride monohydrate in capsules by UV-vis spectrophotometry. *Latin American Journal of Pharmacy* 26, 909.

Mandrioli, R., Forti, G. C., & Raggi, M. A. (2006). Fluoxetine metabolism and pharmacological interactions: the role of cytochrome p450. *Current Drug Metabolism* 7, 127-33.

Mariotti, K. d. C., Schuh, R. S., Ferranti, P., Ortiz, R. S., Souza, D. Z., Pechansky, F., Froehlich, P. E., & Limberger, R. P. (2014). Simultaneous analysis of amphetamine-type stimulants in plasma by solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Analytical Toxicology* 38, 432-437.

Mathon, C., Ankli, A., Reich, E., Bieri, S., & Christen, P. (2014). Screening and determination of sibutramine in adulterated herbal slimming supplements by HPTLC-UV densitometry. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 31, 15-20.

McNeely, W., & Goa, K. L. (1998). Sibutramine. *Drugs* 56, 1093-1124.

Miller, G. M. (2011). The emerging role of trace amine-associated receptor 1 in the functional regulation of monoamine transporters and dopaminergic activity. *Journal of Neurochemistry* 116, 164-76.

Muschietti, L., Redko, F., & Ulloa, J. (2020). Adulteration of selected dietary supplements and their detection methods. *Drug Testing and Analysis* 12.

Mustafa, Y. (2020). Adulteration of slimming products and its detection methods. *Systematic Reviews in Pharmacy* 11, 289 296.

Nirogi, R. V. S., Kandikere, V., Shukla, M., Mudigonda, K., & Maurya, S. (2007). Sensitive and reproducible liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for quantification of sibutramine in human plasma. *Forensic Toxicology* 25, 30-36.

Nualdee, K., Buain, R., Janchawee, B., Sukree, W., Thammakhet-Buranachai, C., Kanatharana, P., Chaisiwamongkhol, K., Prutipanlai, S., & Phonchai, A. (2022). A stir bar sorptive extraction device coupled with a gas chromatography flame ionization detector for the determination of abused prescription drugs in lean cocktail samples. *Analytical Methods* 14, 2557-2568.

Pälvimäki, E. P., Roth, B. L., Majasuo, H., Laakso, A., Kuoppamäki, M., Syvälahti, E., & Hietala, J. (1996). Interactions of selective serotonin reuptake inhibitors with the serotonin 5-HT2c receptor. *Psychopharmacology (Berl)* 126, 234-40.

Pascali, J. P., Fais, P., Vaiano, F., and Bertol, E. (2018). Application of HRAM screening & LC–MS/MS confirmation of active pharmaceutical ingredient in “natural” herbal supplements. *Forensic Science International* 286, e28-e31.

Phattanawasin, P., Sotanaphun, U., Sukwattanasinit, T., Akkarawaranthorn, J., & Kitchaiya, S. (2012). Quantitative determination of sibutramine in adulterated herbal slimming formulations by TLC-image analysis method. *Forensic Science International* 219, 96-100.

Phonchai, A., Janchawee, B., Prutipanlai, S., & Thainchaiwattana, S. (2012). Solid phase extraction for GC-FID determination of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA), 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDA) and methamphetamine (MA) in human urine. *Journal of Analytical Chemistry* 67, 122-130.

Popp, P., Bauer, C., & Wennrich, L. (2001). Application of stir bar sorptive extraction in combination with column liquid chromatography for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. *Analytica Chimica Acta* 436, 1-9.

Ramos, D. L. O., Freitas, J. M., Munoz, R. A. A., & Richter, E. M. (2021). Simple and rapid voltammetric method for the detection of the synthetic adulterant fluoxetine in weight loss products. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 882, 115028.

Rebiere, H., Guinot, P., Civade, C., Bonnet, P.-A., & Nicolas, A. (2012). Detection of hazardous weight-loss substances in adulterated slimming formulations using ultra-high-pressure liquid chromatography with diode-array detection. *Food Additives & Contaminants: Part A* 29, 161-171.

Rodvelt, K. R., & Miller, D. K. (2010). Could sigma receptor ligands be a treatment for methamphetamine addiction? *Curr Drug Abuse Rev* 3, 156-62.

Rossi, A., Barraco, A., & Donda, P. (2004). Fluoxetine: a review on evidence based medicine. *Annals of General Hospital Psychiatry* 3, 2.

Saichanapan, J., Promsuwan, K., & Limbut, W. (2020). Adsorption and determination of sibutramine in illegal slimming product using porous graphene ink-modified electrode. *Talanta* 212, 120788.

Santagati, N. A., Ferrara, G., Marrazzo, A., & Ronsisvalle, G. (2002). Simultaneous determination of amphetamine and one of its metabolites by HPLC with electrochemical detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 30, 247-255.

Schmidt, B. (2005). Methylxanthine therapy for apnea of prematurity: evaluation of treatment benefits and risks at age 5 years in the international caffeine for apnea of prematurity (CAP) trial. *Neonatology* 88, 208-213.

Schmidt, B., Anderson, P. J., Doyle, L. W., Dewey, D., Grunau, R. E., Asztalos, E. V., Davis, P. G., Tin, W., Moddemann, D., Solimano, A., Ohlsson, A., Barrington, K. J., Roberts, R. S., and Caffeine for Apnea of Prematurity Trial Investigators, f. t. (2012). Survival without disability to age 5 years after neonatal caffeine therapy for apnea of prematurity. *JAMA* 307, 275-282.

Shi, Y., Sun, C., Gao, B., & Sun, A. (2011). Development of a liquid chromatography tandem mass spectrometry method for simultaneous determination of eight adulterants in slimming functional foods. *Journal of Chromatography A* 1218, 7655-7662.

Simpson, N. J. (2000). "Solid-phase extraction: principles, techniques, and applications," CRC press.

Singh, H., Singh, H., Latief, U., Tung, G. K., Shahtaghi, N. R., Sahajpal, N. S., Kaur, I., & Jain, S. K. (2022). Myopia, its prevalence, current therapeutic strategy and recent developments: A Review. *Indian Journal of Ophthalmology* 70.

Smyj, R., Wang, X.-P., & Han, F. (2013). Chapter eleven - tramadol hydrochloride. *In* "Profiles of drug substances, excipients and related methodology" (H. G. Brittain, ed.), Vol. 38, pp. 463-494. Academic Press.

Stock, M. (1997). Sibutramine: a review of the pharmacology of a novel anti-obesity agent. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders: Journal of the International Association for the Study of Obesity* 21, S25-9.

Tabrizi, R., Saneei, P., Lankarani, K. B., Akbari, M., Kolahdooz, F., Esmaillzadeh, A., Nadi-Ravandi, S., Mazoochi, M., & Asemi, Z. (2019). The effects of caffeine intake on weight loss: a systematic review and dos-response meta-analysis of randomized controlled trials. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 59, 2688-2696.

Taverniers, I., De Loose, M., & Van Bockstaele, E. (2004). Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 23, 535-552.

Wang, J., Chen, B., & Yao, S. (2008). Analysis of six synthetic adulterants in herbal weight-reducing dietary supplements by LC electrospray ionization-MS. *Food additives & contaminants. Part A, chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment* 25, 822-30.

Welsh, E. J., Bara, A., Barley, E., & Cates, C. J. (2010). Caffeine for asthma. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2010, Cd001112.

Willson, C. (2018). The clinical toxicology of caffeine: A review and case study. *Toxicology Reports* 5, 1140-1152.

Xie, Z., & Miller, G. M. (2009). A receptor mechanism for methamphetamine action in dopamine transporter regulation in brain. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 330, 316-25.

Yasaei, R., & Saadabadi, A. (2023). Methamphetamine. *In* "StatPearls". StatPearls Publishing

Yilmaz, B., & Erdem, A. F. (2015). Simultaneous determination of tramadol and its metabolite in human urine by the gas chromatography–mass spectrometry method. *Journal of chromatographic science* 53, 1037-1043.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 แสดงค่าร้อยละการได้กลับคืนของสารที่สนใจจะวิเคราะห์ในการศึกษา pH ที่เหมาะสมของตัวอย่าง (n=3)

สารที่สนใจจะวิเคราะห์	ร้อยละการได้กลับคืน				
	pH ของตัวอย่าง				
	6	8	10	12	14
เมทแอมเฟตามีน	52.395±1.512	76.143±5.298	79.327±11.221	86.086±4.320	82.508±5.711
คาเฟอีน	97.781±3.324	104.304±9.106	100.175±10.758	100.093±8.996	94.007±7.333
ไซบูทรามีน	37.042±4.793	47.270±0.249	51.415±1.206	93.782±3.494	87.962±0.826
ฟลูออกซิทีน	67.188±4.782	81.486±11.891	91.226±3.853	93.377±5.897	85.428±2.763
ทรามาดอล	98.955±5.147	100.917±10.563	99.995±6.324	100.917±10.563	96.326±7.458

ตารางที่ 2 แสดงค่าร้อยละการได้กลับคืนของสารที่สนใจจะวิเคราะห์หากการศึกษาอัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำที่ใช้ในการกำจัดตัวรบกวน (n=3)

สารที่สนใจจะวิเคราะห์	ร้อยละการได้กลับคืน						
	ความเข้มข้นของเมทานอลในน้ำปราศจากไอออน %(v/v)						
	0	10	20	40	60	80	100
เมทแอมเฟตามีน	-	-	-	-	-	41.373±1.222	49.290±1.426
คาเฟอีน	-	-	-	90.848±3.735	105.336±4.657	110.490±4.191	113.120±3.260
ไซบูทรามีน	-	-	-	-	-	15.260±1.290	17.610±0.922
ฟลูออกซิทีน	-	-	-	-	-	28.530±0.457	27.800±1.371
ทรามาดอล	-	-	-	-	-	81.240±0.987	83.620±4.344

ตารางที่ 3 แสดงค่าร้อยละการได้กลับคืนของสารที่สนใจจะวิเคราะห์ในการศึกษาปริมาตรของการกำจัดตัวรบกวน (n=3)

สารที่สนใจจะวิเคราะห์	**ร้อยละการได้กลับคืน**		
	ปริมาตรของ 20% (v/v) เมทานอลในน้ำ (mL)		
	1	**2**	**3**
เมทแอมเฟตามีน	95.132±8.769	71.413±4.669	62.004±11.616
คาเฟอีน	88.646±3.880	87.795±0.924	69.157±7.321
ไซบูทรามีน	77.284±1.095	69.192±1.864	34.118±1.377
ฟลูออกซิทีน	83.392±4.258	67.874±0.701	47.609±3.103
ทรามาดอล	89.263±2.499	83.105±7.625	69.184±9.853

ตารางที่ 4 แสดงค่าร้อยละการได้กลับคืนของสารที่สนใจจะวิเคราะห์หากการศึกษาอัตราส่วนระหว่างเมทานอลและน้ำผสมกับ 2% (v/v) กรดอะซิติกที่ใช้ในการชะตัวอย่าง (n=3)

สารที่สนใจจะวิเคราะห์	**ร้อยละการได้กลับคืน**				
	ความเข้มข้นของเมทานอลในน้ำ %(v/v) ผสมกับ 2% (v/v) กรดอะซิติก				
	60	**70**	**80**	**90**	**100**
เมทแอมเฟตามีน	35.241±5.565	76.708±1.773	89.950±3.161	71.074±5.419	57.162±4.024
คาเฟอีน	119.553±6.455	111.706±10.304	107.322±12.225	101.182±8.832	92.479±3.254
ไซบูทรามีน	61.425±1.394	93.180±2.687	79.549±4.151	73.920±4.264	47.392±0.549
ฟลูออกซิทีน	106.051±2.645	110.333±3.700	85.194±3.202	91.945±8.267	82.818±1.297
ทรามาดอล	117.855±2.535	116.728±8.459	120.261±9.753	102.720±2.077	96.733±6.286

ตารางที่ 5 แสดงค่าร้อยละการได้กลับคืนของสารที่สนใจจะวิเคราะห์ในการศึกษาเปรียบเทียบจำนวนการชะแบบที่ 1 และ 2 (n=3)

สารที่สนใจจะวิเคราะห์	**ร้อยละการได้กลับคืน**	
	รูปแบบการชะ	
	I	**II**
เมทแอมเฟตามีน	73.467±5.686	76.708±1.773
คาเฟอีน	83.915±2.307	111.706±10.304
ไซบูทรามีน	68.391±11.748	93.180±2.687
ฟลูออกซิทีน	64.889±5.127	110.333±3.700
ทรามาดอล	83.753±4.878	116.728±8.459

ตารางที่ 6 แสดงค่าร้อยละการได้กลับคืนของสารที่สนใจจะวิเคราะห์ในการศึกษาปริมาตรของตัวทำละลาย 70% v/v เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% v/v กรดอะซิติกใช้ในการชะตัวอย่างขั้นตอนที่ 1 (n=3)

สารที่สนใจจะวิเคราะห์	**ร้อยละการได้กลับคืน**		
	ปริมาตรของ 70% (v/v) เมทานอลในน้ำผสมกับ 2% (v/v) กรดอะซิติ (mL)		
	1	**2**	**3**
เมทแอมเฟตามีน	80.532±0.817	72.017±6.818	76.274±3.456
คาเฟอีน	104.518±7.066	96.517±6.332	100.517±1.706
ไซบูทรามีน	95.886±0.816	81.484±2.708	88.685±7.139
ฟลูออกซิทีน	103.004±5.912	104.151±10.493	103.578±5.888
ทรามาดอล	101.148±5.134	109.966±5.723	105.557±5.883

ตารางที่ 7 แสดงค่าร้อยละการได้กลับคืนของสารที่สนใจจะวิเคราะห์ในการศึกษาปริมาตรของตัวทำละลายอะซิโตไนไตรล์ใช้ในการชะตัวอย่างขั้นตอนที่ 2 (n=3)

สารที่สนใจจะวิเคราะห์	**ร้อยละการได้กลับคืน**		
	ปริมาตรของอะซิโตไนไตร์ล (mL)		
	1	**2**	**3**
เมทแอมเฟตามีน	77.073±2.646	59.368±8.492	44.260±6.005
คาเฟอีน	101.957±7.385	105.442±5.025	94.484±10.279
ไซบูทรามีน	99.035±4.981	93.941±2.444	88.920±1.682
ฟลูออกซิทีน	110.226±10.287	82.465±6.036	106.591±3.697
ทรามาดอล	116.044±9.600	115.623±9.543	111.269±4.741

ตารางที่ 8 แสดงค่าร้อยละการได้กลับคืนของสารที่สนใจจะวิเคราะห์ในการศึกษาความแรงของไอออน (n=3)

สารที่สนใจจะวิเคราะห์	**ร้อยละการได้กลับคืน**				
	ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ %(w/v)				
	0	**5**	**10**	**15**	**20**
เมทแอมเฟตามีน	54.660±7.523	63.179±4.609	77.535±4.973	101.031±2.516	80.082±7.191
คาเฟอีน	103.135±2.183	102.424±5.939	106.400±10.521	99.999±0.660	82.297±8.246
ไซบูทรามีน	18.745±1.998	88.926±4.458	91.300±5.009	94.133±5.768	88.835±6.410
ฟลูออกซิทีน	63.654±3.355	85.520±7.509	92.500±4.543	90.417±4.907	83.917±9.170
ทรามาดอล	96.293±7.751	98.181±1.911	99.813±6.884	105.426±4.131	99.512±12.708

ตารางที่ 9 แสดงผลการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของสารไซบูทรามีนเมื่อทำการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งภายใต้สภาวะที่เหมาะสม (n=7)

ช่วงความเป็นเส้นตรงของไซบูทรามีน										
ค่าความเข้มข้น ($mg\ L^{-1}$)	**ค่าพื้นที่ใต้พีค (pA)**							**ค่าเฉลี่ย**	**SD**	**%RSD**
	n=1	**n=2**	**n=3**	**n=4**	**n=5**	**n=6**	**n=7**			
0.5	6.9	7.8	7.0	7.5	7.2	7.2	7.0	7.229	0.32	4.426
5	59.4	60.9	66.9	60.3	60.0	63.9	63.7	62.157	2.745	4.416
25	267.8	268.1	264.3	263.6	259.7	268.2	264.9	265.229	3.106	1.171
50	553.6	553.8	553.6	556.7	555.8	556.1	554.3	554.843	1.318	0.237
100	1138.3	1138.9	1139.0	1138.1	1137.8	1137.7	1138.1	1138.271	0.506	0.044

ตารางที่ 10 แสดงผลการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของสารฟลูออกซิทีนเมื่อทำการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งภายใต้สภาวะที่เหมาะสม (n=7)

ช่วงความเป็นเส้นตรงของสารฟลูออกซิทีน										
ค่าความเข้มข้น ($mg\ L^{-1}$)	**ค่าพื้นที่ใต้พีค (pA)**							**ค่าเฉลี่ย**	**SD**	**%RSD**
	n=1	**n=2**	**n=3**	**n=4**	**n=5**	**n=6**	**n=7**			
0.5	6.3	6.5	6.5	6.5	6.7	6.5	6.4	6.486	0.121	1.873
5	60.7	60.3	60.2	59.6	59.5	60.0	59.9	60.029	0.415	0.692
25	381.4	384.4	383.5	383.1	384.2	384.2	385.9	383.814	1.380	0.360
50	747.8	759.8	747.4	749.6	748.9	747.0	747.5	749.714	4.540	0.606
100	1548.5	1548.4	1547.6	1547.0	1548.2	1547.8	1548.3	1547.971	0.538	0.035

ตารางที่ 11 แสดงผลการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของสารคาเฟอีนเมื่อทำการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งภายใต้สภาวะที่เหมาะสม (n=7)

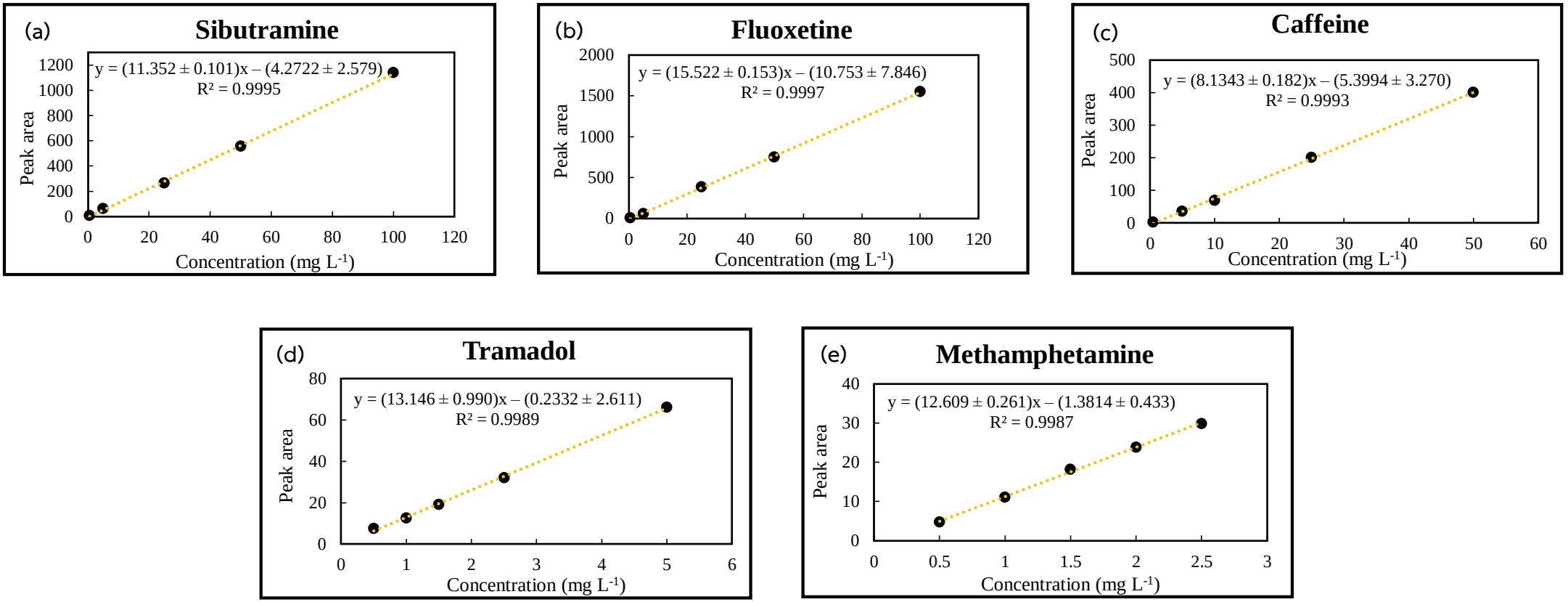
ช่วงความเป็นเส้นตรงของสารคาเฟอีน										
ค่าความเข้มข้น ($mg\ L^{-1}$)	ค่าพื้นที่ใต้พีค (pA)							ค่าเฉลี่ย	SD	%RSD
	n=1	n=2	n=3	n=4	n=5	n=6	n=7			
0.5	3.0	2.6	2.4	2.6	2.7	2.4	2.4	2.586	0.219	8.481
5	31.1	35.8	36.5	34.5	37.0	37.3	37.9	35.729	2.321	6.497
10	68.7	68.9	68.0	69.3	68.6	68.7	68.0	68.600	0.469	0.684
25	201.3	201.8	202.0	199.7	198.3	202.2	202.6	201.129	1.560	0.775
50	407.3	400.5	397.0	405.7	400.7	398.6	398.0	401.114	3.933	0.980

ตารางที่ 12 แสดงผลการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของสารทรามาดอลเมื่อทำการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งภายใต้สภาวะที่เหมาะสม (n=7)

ช่วงความเป็นเส้นตรงของสารทรามาดอล										
ค่าความเข้มข้น ($mg\ L^{-1}$)	ค่าพื้นที่ใต้พีค (pA)							ค่าเฉลี่ย	SD	%RSD
	n=1	n=2	n=3	n=4	n=5	n=6	n=7			
0.5	7.3	7.4	7.5	7.9	7.5	7.3	7.5	7.486	0.204	2.719
1	12.1	12.2	12.4	11.8	13.6	12.6	12.4	12.440	0.570	4.584
1.5	19.5	18.8	19.0	19.1	18.9	19.3	19.0	19.086	0.241	1.263
2.5	31.1	31.8	32.3	32.0	32.4	32.4	32.1	32.014	0.460	1.436
5	79.6	79.3	79.0	78.5	79.1	78.9	79.1	79.071	0.340	0.430
10	134.4	133.8	134.2	134.2	131.0	130.7	130.7	132.714	1.802	1.358
25	193.7	207.7	185.5	187.0	191.0	189.8	181.7	190.914	8.370	4.384

ตารางที่ 13 แสดงผลการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของสารเมทแอมเฟตามีนเมื่อทำการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งภายใต้สภาวะที่เหมาะสม (n=7

ช่วงความเป็นเส้นตรงของสารเมทแอมเฟตามีน										
ค่าความเข้มข้น ($mg\ L^{-1}$)	**ค่าพื้นที่ใต้พีค (pA)**							**ค่าเฉลี่ย**	**SD**	**%RSD**
	n=1	**n=2**	**n=3**	**n=4**	**n=5**	**n=6**	**n=7**			
0.5	4.9	3.9	4.8	5.4	4.7	4.9	4.7	4.757	0.447	9.390
1	10.6	10.3	12.0	10.7	10.5	11.5	11.7	11.043	0.673	6.094
1.5	18.1	17.8	18.3	17.9	18.0	18.6	18.4	18.157	0.288	1.585
2	23.6	23.2	24.0	23.8	23.6	24.2	24.2	23.800	0.365	1.534
2.5	29.3	29.8	30.1	30.2	30.0	29.9	30.0	29.900	0.294	0.985
5	24.5	20.6	25.9	32.2	25.5	25.4	25.5	25.657	3.413	13.303
10	4.1	4.7	5.3	5.1	5.2	5.0	4.9	4.900	0.404	8.248



ภาพที่ 14 แสดงความสัมพันธ์ช่วงความเป็นเส้นตรงของสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา: (a) ไซบูทรามีน (b) ฟลูออกซิทีน (c) คาเฟอีน (d) ทรามาดอล และ (e)

ตารางที่ 15 แสดงผลการศึกษาค่าความเที่ยงของวิธีภายในวันเดียวกันของวันที่ 1 (intraday precision) n=3

ความเที่ยงของวิธีภายในวันเดียวกัน (วันที่ 1)							
สารที่สนใจจะวิเคราะห์	**ความเข้มข้น ($mg\ L^{-1}$)**	**ค่าความเข้มข้น ($mg\ L^{-1}$)**			**ค่าเฉลี่ย**	**S.D.**	**%RSD**
		n=1	**n=2**	**n=3**			
เมทแอมเฟตามีน	0.5	0.431	0.431	0.444	0.435	0.008	1.774
	1	0.859	0.879	0.832	0.856	0.023	2.742
	2.5	2.136	2.129	2.216	2.160	0.048	2.239
คาเฟอีน	0.5	0.546	0.576	0.546	0.556	0.017	3.119
	5	4.854	4.719	5.020	4.864	0.150	3.091
	25	28.515	27.479	28.470	28.154	0.585	2.080
ไซบูทรามีน	0.5	7.099	7.107	7.055	7.087	0.028	0.394
	5	11.315	11.639	11.255	11.403	0.207	1.813
	25	28.988	29.261	29.327	29.192	0.180	0.617
ฟลูออกซิทีน	0.5	0.414	0.439	0.365	0.406	0.038	9.240
	5	4.551	4.396	5.027	4.658	0.329	7.055
	25	25.187	25.687	25.769	25.548	0.315	1.232
ทรามาดอล	0.5	0.506	0.482	0.435	0.474	0.036	7.577
	1	0.866	0.874	0.866	0.869	0.005	0.521
	2.5	2.294	2.364	2.364	2.341	0.041	1.741

ตารางที่ 16 แสดงผลการศึกษาค่าความเที่ยงของวิธีภายในวันเดียวกันของวันที่ 2 (intraday precision) n=3

ความเที่ยงของวิธีภายในวันเดียวกัน (วันที่ 2)							
สารที่สนใจจะวิเคราะห์	**ความเข้มข้น ($mg\ L^{-1}$)**	**ค่าความเข้มข้น ($mg\ L^{-1}$)**			**ค่าเฉลี่ย**	**S.D.**	**%RSD**
		n=1	**n=2**	**n=3**			
เมทแอมเฟตามีน	0.5	0.498	0.491	0.511	0.500	0.010	2.044
	1	0.798	0.845	0.832	0.825	0.024	2.922
	2.5	2.056	2.082	2.096	2.078	0.020	0.983
คาเฟอีน	0.5	0.516	0.471	0.501	0.496	0.023	4.626
	5	5.350	5.095	5.005	5.150	0.179	3.478
	25	26.608	26.158	26.923	26.563	0.385	1.449
ไซบูทรามีน	0.5	7.668	7.705	7.623	7.665	0.041	0.530
	5	12.820	12.865	12.813	12.833	0.028	0.218
	25	27.976	28.227	31.594	29.266	2.020	6.902
ฟลูออกซิทีน	0.5	0.447	0.455	0.447	0.450	0.005	1.051
	5	4.592	4.912	4.854	4.696	0.187	3.979
	25	23.672	24.982	25.113	24.589	0.897	3.242
ทรามาดอล	0.5	0.553	0.568	0.561	0.561	0.008	1.399
	1	1.102	1.117	1.078	1.099	0.020	1.796
	2.5	2.074	2.058	2.231	2.121	0.095	4.498

ตารางที่ 17 แสดงผลการศึกษาค่าความเที่ยงของวิธีภายในวันเดียวกันของวันที่ 3 (intraday precision) n=3

ความเที่ยงของวิธีภายในวันเดียวกัน (วันที่ 3)							
สารที่สนใจจะวิเคราะห์	ความเข้มข้น (mg L^{-1})	ค่าความเข้มข้น (mg L^{-1})			ค่าเฉลี่ย	S.D.	%RSD
		n=1	n=2	n=3			
เมทแอมเฟตามีน	0.5	0.491	0.477	0.484	0.484	0.007	1.381
	1	0.859	0.852	0.852	0.854	0.004	0.452
	2.5	2.002	2.035	2.0565	2.031	0.027	1.331
คาเฟอีน	0.5	0.501	0.516	0.501	0.506	0.009	1.714
	5	4.704	5.035	4.960	4.899	0.173	3.534
	25	25.092	24.611	25.062	24.921	0.269	1.080
ไซบูทรามีน	0.5	0.448	0.433	0.440	0.440	0.007	1.676
	5	4.161	4.087	4.095	4.114	0.041	0.988
	25	24.802	24.861	24.876	24.846	0.039	0.157
ฟลูออกซิทีน	0.5	0.445	0.447	0.464	0.455	0.008	1.799
	5	4.551	4.486	4.306	4.448	0.127	2.861
	25	24.433	25.097	25.064	24.865	0.374	1.504
ทรามาดอล	0.5	0.521	0.459	0.482	0.487	0.032	6.503
	1	0.890	0.866	0.882	0.879	0.012	1.362
	2.5	2.301	2.309	2.294	2.301	0.008	0.341

ตารางที่ 18 แสดงผลการศึกษาค่าความเที่ยงของวิธีภายในวันเดียวกันของวันที่ 4 (intraday precision) n=3

ความเที่ยงของวิธีภายในวันเดียวกัน (วันที่ 4)							
สารที่สนใจจะวิเคราะห์	ความเข้มข้น ($mg\ L^{-1}$)	ค่าความเข้มข้น ($mg\ L^{-1}$)			ค่าเฉลี่ย	S.D.	%RSD
		n=1	n=2	n=3			
เมทแอมเฟตามีน	0.5	0.457	0.457	0.471	0.462	0.008	1.672
	1	0.939	0.919	0.966	0.941	0.023	2.495
	2.5	2.370	2.336	2.330	2.345	0.021	0.917
คาเฟอีน	0.5	5.515	5.620	5.530	5.555	0.057	1.023
	5	9.208	9.523	9.869	9.533	0.330	3.466
	25	29.580	30.646	30.676	30.301	0.624	2.060
ไซบูทรามีน	0.5	0.463	0.470	0.514	0.482	0.028	5.795
	5	4.405	4.412	4.390	4.402	0.011	0.256
	25	20.461	20.210	20.210	20.294	0.145	0.714
ฟลูออกซิทีน	0.5	0.455	0.472	0.488	0.472	0.016	3.472
	5	4.756	4.732	4.658	4.715	0.051	1.085
	25	21.984	22.934	23.106	22.675	0.604	2.666
ทรามาดอล	0.5	0.529	0.466	0.443	0.480	0.045	9.299
	1	0.866	0.843	0.906	0.872	0.032	3.636
	2.5	2.200	2.200	2.223	2.207	0.014	0.615

ตารางที่ 19 แสดงผลการศึกษาค่าความเที่ยงของวิธีภายในวันเดียวกันของวันที่ 5 (intraday precision) n=3

ความเที่ยงของวิธีภายในวันเดียวกัน (วันที่ 5)							
สารที่สนใจจะวิเคราะห์	ความเข้มข้น ($mg\ L^{-1}$)	ค่าความเข้มข้น ($mg\ L^{-1}$)			ค่าเฉลี่ย	S.D.	%RSD
		n=1	n=2	n=3			
เมทแอมเฟตามีน	0.5	0.464	0.451	0.464	0.460	0.008	1.680
	1	0.905	0.885	0.919	0.903	0.017	1.863
	2.5	2.089	2.062	2.109	2.087	0.023	1.125
คาเฟอีน	0.5	0.516	0.546	0.531	0.531	0.015	2.829
	5	5.395	5.350	5.425	5.390	0.038	0.701
	25	28.319	27.914	27.824	28.019	0.264	0.942
ไซบูทรามีน	0.5	0.448	0.485	0.522	0.485	0.037	7.615
	5	4.405	4.360	4.419	4.395	0.031	0.699
	25	25.481	25.333	25.422	25.412	0.074	0.292
ฟลูออกซิทีน	0.5	0.496	0.529	0.488	0.505	0.022	4.295
	5	5.371	5.264	5.477	5.371	0.106	1.983
	25	26.891	26.948	28.398	27.413	0.854	3.116
ทรามาดอล	0.5	0.490	0.537	0.545	0.524	0.030	5.66
	1	0.866	0.859	0.906	0.887	0.025	2.875
	2.5	2.294	2.278	2.372	2.315	0.050	2.178

ตารางที่ 20 แสดงผลการศึกษาค่าความเที่ยงของวิธีระหว่างวัน (interday precision) n=5

ความเที่ยงของวิธีระหว่างวัน									
สารที่สนใจจะวิเคราะห์	ความเข้มข้น (mg L^{-1})	ค่าความเข้มข้น (mg L^{-1})					ค่าเฉลี่ย	S.D.	%RSD
		วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5			
เมทแอมเฟตามีน	0.5	0.435	0.500	0.484	0.462	0.460	0.468	0.013	2.844
	1	0.856	0.825	0.854	0.941	0.903	0.876	0.044	4.980
	2.5	2.16	2.078	2.031	2.345	2.087	2.140	0.167	7.825
คาเฟอีน	0.5	0.556	0.496	0.506	0.555	0.531	0.529	0.025	4.633
	5	4.864	5.150	4.899	4.533	5.390	4.967	0.430	8.657
	25	28.154	26.563	24.921	30.301	28.019	27.592	2.700	9.787
ไซบูทรามีน	0.5	7.087	7.665	0.44	0.482	0.485	3.232	0.025	0.778
	5	11.403	12.833	4.114	4.402	4.395	7.429	0.164	2.211
	25	29.192	29.266	24.846	20.294	25.412	25.802	2.806	10.874
ฟลูออกซิทีน	0.5	0.406	0.450	0.455	0.472	0.505	0.458	0.025	5.556
	5	4.658	4.696	4.448	4.715	5.371	4.778	0.475	9.942
	25	25.548	24.589	24.865	22.675	27.413	25.018	2.371	9.478
ทรามาดอล	0.5	0.474	0.561	0.487	0.480	0.524	0.505	0.024	4.680
	5	0.869	1.099	0.879	0.872	0.887	0.921	0.008	0.815
	25	2.341	2.121	2.301	2.207	2.315	2.257	0.059	2.602

ตารางที่ 21 แสดงผลการศึกษาค่าความแม่นของวิธีภายในวันเดียวกันของวันที่ 1 (intraday accuracy) n=3

ความแม่นของวิธีภายในวันเดียวกัน (วันที่ 1)					
สารที่สนใจจะวิเคราะห์	**ความเข้มข้น ($mg\ L^{-1}$)**	**ร้อยละการได้กลับคืน**			**ค่าเฉลี่ย**
		n=1	**n=2**	**n=3**	
เมทแอมเฟตามีน	0.5	86.133	86.133	88.808	86.133
	1	85.862	87.868	83.187	86.865
	2.5	85.431	85.164	88.641	86.412
คาเฟอีน	0.5	109.155	115.160	109.155	112.157
	5	97.089	94.386	100.392	95.738
	25	114.058	109.915	113.878	112.617
ไซบูทรามีน	0.5	99.848	101.324	90.989	100.586
	5	94.290	100.787	93.109	97.538
	25	89.550	90.643	90.909	90.367
ฟลูออกซิทีน	0.5	82.898	87.814	73.068	85.366
	5	91.029	87.916	100.532	89.473
	25	100.749	102.748	103.075	102.190
ทรามาดอล	0.5	101.132	96.427	87.017	98.780
	1	86.639	87.423	86.639	87.031
	2.5	91.745	94.568	94.568	93.627

ตารางที่ 22 แสดงผลการศึกษาค่าความแม่นของวิธีภายในวันเดียวกันของวันที่ 2 (intraday accuracy) n=3

ความแม่นของวิธีภายในวันเดียวกัน (วันที่ 2)					
สารที่สนใจจะวิเคราะห์	**ความเข้มข้น ($mg\ L^{-1}$)**	**ร้อยละการได้กลับคืน**			**ค่าเฉลี่ย**
		n=1	**n=2**	**n=3**	
เมทแอมเฟตามีน	0.5	99.507	98.169	102.181	98.838
	1	79.844	84.524	83.187	82.184
	2.5	82.222	83.291	83.826	83.113
คาเฟอีน	0.5	103.150	94.142	100.147	98.646
	5	106.997	101.893	100.091	104.445
	25	106.432	104.630	107.693	106.252
ไซบูทรามีน	0.5	93.535	100.917	84.676	97.23
	5	112.410	113.396	112.262	112.853
	25	83.105	84.109	97.574	88.263
ฟลูออกซิทีน	0.5	89.452	91.090	89.452	90.27
	5	91.848	98.238	91.685	95.043
	25	94.687	99.929	100.454	98.357
ทรามาดอล	0.5	110.543	113.679	112.111	112.111
	1	110.165	111.733	107.812	110.949
	2.5	82.962	82.334	89.235	84.844

ตารางที่ 23 แสดงผลการศึกษาค่าความแม่นของวิธีภายในวันเดียวกันของวันที่ 3 (intraday accuracy) n=3

ความแม่นของวิธีภายในวันเดียวกัน (วันที่ 3)					
สารที่สนใจจะวิเคราะห์	**ความเข้มข้น ($mg\ L^{-1}$)**	**ร้อยละการได้กลับคืน**			**ค่าเฉลี่ย**
		n=1	**n=2**	**n=3**	
เมทแอมเฟตามีน	0.5	98.169	95.494	96.832	96.832
	1	85.862	85.193	85.193	85.527
	2.5	80.082	81.419	82.222	81.241
คาเฟอีน	0.5	100.147	103.150	100.147	101.648
	5	94.086	100.692	99.191	97.389
	25	100.367	98.445	100.246	99.686
ไซบูทรามีน	0.5	89.566	86.613	88.089	88.089
	5	83.225	81.746	81.893	82.484
	25	99.208	99.444	99.503	99.385
ฟลูออกซิทีน	0.5	91.090	89.452	92.729	90.271
	5	91.029	89.719	86.114	90.374
	25	97.734	100.388	100.257	99.460
ทรามาดอล	0.5	104.269	91.722	96.427	97.996
	1	88.992	86.639	88.207	87.815
	2.5	92.058	92.372	91.745	92.058

ตารางที่ 24 แสดงผลการศึกษาค่าความแม่นของวิธีภายในวันเดียวกันของวันที่ 4 (intraday accuracy) n=3

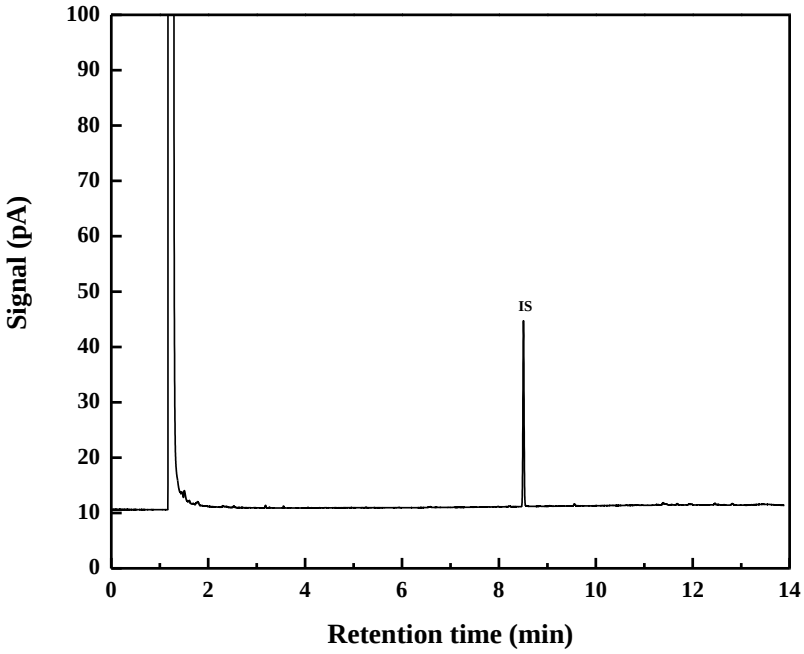
ความแม่นของวิธีภายในวันเดียวกัน (วันที่ 4)					
สารที่สนใจจะวิเคราะห์	**ความเข้มข้น ($mg\ L^{-1}$)**	**ร้อยละการได้กลับคืน**			**ค่าเฉลี่ย**
		n=1	**n=2**	**n=3**	
เมทแอมเฟตามีน	0.5	91.482	91.482	94.157	91.482
	1	93.886	91.880	96.560	92.883
	2.5	94.793	93.455	93.188	93.812
คาเฟอีน	0.5	83.000	104.017	86.002	93.508
	5	82.163	88.468	95.374	85.315
	25	97.922	102.185	102.306	100.804
ไซบูทรามีน	0.5	92.519	93.995	102.854	93.257
	5	88.094	88.242	87.799	88.168
	25	81.844	80.840	80.840	81.175
ฟลูออกซิทีน	0.5	91.090	94.367	97.644	92.729
	5	95.125	94.634	93.159	94.879
	25	87.936	91.737	92.426	90.700
ทรามาดอล	0.5	105.838	93.290	88.585	99.564
	1	86.639	84.286	90.560	85.463
	2.5	87.981	87.981	88.922	88.294

ตารางที่ 25 แสดงผลการศึกษาค่าความแม่นของวิธีภายในวันเดียวกันของวันที่ 5 (intraday accuracy) n=3

ความแม่นของวิธีภายในวันเดียวกัน (วันที่ 5)					
สารที่สนใจจะวิเคราะห์	**ความเข้มข้น ($mg\ L^{-1}$)**	**ร้อยละการได้กลับคืน**			**ค่าเฉลี่ย**
		n=1	**n=2**	**n=3**	
เมทแอมเฟตามีน	0.5	92.820	90.145	92.820	91.482
	1	90.542	88.536	91.880	89.539
	2.5	83.559	82.489	84.361	83.470
คาเฟอีน	0.5	103.150	109.155	106.152	106.152
	5	107.898	106.997	108.498	107.456
	25	113.278	111.656	111.296	112.077
ไซบูทรามีน	0.5	89.566	96.948	104.330	93.257
	5	88.094	87.208	88.390	87.651
	25	101.924	101.334	101.688	101.649
ฟลูออกซิทีน	0.5	99.282	105.836	97.644	102.559
	5	107.413	105.283	109.543	106.348
	25	107.564	107.794	113.594	109.651
ทรามาดอล	0.5	97.993	107.406	108.974	102.701
	1	86.639	85.855	90.560	86.247
	2.5	91.745	91.117	94.881	92.581

ตารางที่ 26 แสดงผลการศึกษาค่าความแม่นของวิธีระหว่างวัน (interday accuracy) n=5

ความแม่นของวิธีระหว่างวัน							
สารที่สนใจจะวิเคราะห์	**ความเข้มข้น ($mg\ L^{-1}$)**	**ร้อยละการได้กลับคืน**					**ค่าเฉลี่ย**
		วันที่ 1	**วันที่ 2**	**วันที่ 3**	**วันที่ 4**	**วันที่ 5**	
เมทแอมเฟตามีน	0.5	86.133	98.838	96.832	91.482	91.482	92.953
	1	86.865	82.184	85.527	92.883	89.539	87.400
	2.5	86.412	83.113	81.241	93.812	83.47	85.610
คาเฟอีน	0.5	112.157	98.646	101.648	93.508	106.152	102.422
	5	95.738	104.445	97.389	85.315	107.456	98.069
	25	112.617	106.252	99.686	100.804	112.077	106.287
ไซบูทรามีน	0.5	100.586	97.23	88.089	93.257	93.257	94.484
	5	97.538	112.853	82.484	88.168	87.651	93.739
	25	90.367	88.263	99.385	81.175	101.649	92.168
ฟลูออกซิทีน	0.5	85.366	90.27	90.271	92.729	102.559	92.239
	5	89.473	95.043	90.374	94.879	106.348	95.223
	25	102.19	98.357	99.46	90.700	109.651	100.072
ทรามาดอล	0.5	98.78	112.111	97.996	99.564	102.701	102.230
	5	87.031	110.949	87.815	85.463	86.247	91.501
	25	93.627	84.844	92.058	88.294	92.581	90.281



ภาพที่ 2 แสดงโครมาโทแกรมของแบลงค์ที่มีการเติมสารมาตรฐานภายในความเข้มข้น 25 mg L^{-1}

INSCIC
Yala Rajabhat University
21-22 Feb 2023
SEAT
PROCEEDING
รายงานสืบเนื่องจาก
การประชุมวิชาการระดับชาติ
ด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเครือข่ายภาคใต้ ครั้งที่ 8 และ
การประชุมวิชาการระดับนานาชาติ
ด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเครือข่ายภาคใต้ ครั้งที่ 1
The 8th National Conference on Science and Technology 2023 (NSCIC2023) and
The 1st International Conference on Science and Technology 2023 (INSCIC2023)
วันที่ 21-22 กุมภาพันธ์ 2566
คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร
มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา

INSCIC 21-22 Feb 2023
การประชุมวิชาการระดับชาติด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเครือข่ายภาคใต้ ครั้งที่ 8 และ
การประชุมวิชาการระดับนานาชาติด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเครือข่ายภาคใต้ ครั้งที่ 1

แก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่นสำหรับตรวจวัดสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนัก

Gas chromatography-flame ionization detector (GC-FID) for determination of pharmacologically active adulterants in slimming products

วริยา เกตุแก้ว[1], ทักศิกา เจริญขันธ์[1], เบญจมาศ จันทร์ฉวี[1] สถาพร พฤฒิพรรลาย[1] และอภิชัย พลชัย[1,2*]
Wariya Ketkaew[1], Thaksika Charoenkun[1], Benjamas Janchawee[1] Sathaporn Prutipanlai[1]
and Apichai Phonchai[1,2*]

[1]สาขาวิทยาศาสตร์สุขภาพและวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112
[2]ศูนย์นวัตกรรมและบริการนิติวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112
[1]Division of Health and Applied Sciences, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112, Thailand
[2]Forensic Science Innovation and Service Center, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112, Thailand
*Corresponding author, e-mail: apichai.ph@psu.ac.th

บทคัดย่อ

การบริโภคผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักเป็นตัวเลือกหนึ่งที่ให้ผลอย่างรวดเร็วสำหรับผู้บริโภคที่ต้องการลดน้ำหนัก ซึ่งผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักสามารถหาซื้อได้ง่ายตามร้านขายยาทั่วไป ตลาดนัด หรือตามสื่อโซเชียลมีเดีย โดยผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักที่วางขายมักมีการอวดอ้างสรรพคุณบนฉลากและมีการโฆษณาที่เป็นเท็จ มักมีการปลอมปนสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและสารควบคุมที่ผิดกฎหมายลงในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนัก เพื่อช่วยเสริมประสิทธิภาพในการลดน้ำหนัก เช่น สารไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน คาเฟอีน เมทแอมเฟตามีน และทรามาดอล เป็นต้น ดังนั้นผู้วิจัยได้พัฒนาการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักเพื่อตรวจหาสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและสารควบคุมที่ผิดกฎหมาย ศึกษาโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีร่วมกับตัวตรวจวัดเฟลมไอออไนเซชั่น จากผลการศึกษาพบว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมีช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วง 10–250 μg mL^{-1} มีค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณในช่วง 2.1–3.2 μg mL^{-1} และ 6.8–10.8 μg mL^{-1} ตามลำดับ มีความแม่นยำอยู่ในช่วง 84.5% ± 3.4% ถึง 117.5% ± 2.5% ความเที่ยงภายในวันเดียวกันและระหว่างวันอยู่ในช่วง 1.0–5.1% RSD และ 2.6–14.5% RSD ตามลำดับ วิธีที่พัฒนาขึ้นนำไปใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักต้องสงสัยและตรวจพบสารไซบูทรามีนที่ความเข้มข้นในช่วง 185.3–215.7 μg mL^{-1} วิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถใช้งานได้ง่าย มีความถูกต้องและความแม่นยำ ให้ผลการวิเคราะห์ที่น่าเชื่อถือสามารถนำไปวิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักได้

คำสำคัญ : ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนัก สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา สารควบคุมที่ผิดกฎหมาย และเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-เฟลมไอออไนเซชั่น

Abstract

Slimming product is another option that provides quick results for consumers who want to lose weight. Weight loss dietary supplements can be easily purchased at pharmacies store, convenient store or online shopping. There are often false claims on the label and false advertising. Pharmacologically active adulterants and controlled substances have been found in slimming products in order to enhance the efficiency of weight loss such as sibutramine, fluoxetine, caffeine, methamphetamine and tramadol, etc.

Therefore, this work has developed an analysis of pharmacologically active adulterants and controlled substances in slimming product by gas chromatography–flame ionization (GC-FID). Under the optimized conditions, the developed method provided a good linearity ranged from 10–250 μg mL^{-1}. Limits of detection and limits of quantitation were 2.1–3.2 μg mL^{-1} and 6.8–10.8 μg mL^{-1}, respectively. The accuracy of the method was 84.5% ± 3.4% to 117.5% ± 2.5%. The intra-day and inter-day precisions were 1.0–5.1% RSD and 2.6–14.5% RSD. The proposed method was applied for the analysis of suspected slimming products. The sibutramine compound was found in all of slimming products in the concentration range of 185.3–215.7 μg mL^{-1}. The developed method are simple and reliable which can be used to analyze the quality of slimming products.

Keywords: slimming products, pharmacologically active adulterants, controlled substances and gas chromatography–flame ionization technique

บทนำ

ปัจจุบันผู้คนส่วนใหญ่หันมาให้ความสำคัญกับสุขภาพ น้ำหนัก รูปร่างและสัดส่วน โดยมีค่านิยมที่ว่าหากมีรูปร่างที่ผอมเพรียวจะเรียกได้ว่ามีรูปร่างที่ดี จึงทำให้บุคคลที่มีความต้องการผอมแต่ไม่นิยมออกกำลังกายหันมาใช้วิธีทางลัดโดยเลือกใช้ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักหรือยาลดน้ำหนักเป็นตัวช่วยเพื่อให้ได้รูปร่างและน้ำหนักตามที่ต้องการและเห็นผลอย่างรวดเร็ว ผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักที่มีขายตามท้องตลาดมักใช้กลยุทธ์ในการขายเพื่อให้ผู้บริโภคสามารถเข้าถึงและหาซื้อผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักได้ง่าย เช่น ร้านขายยาทั่วไป ตลาดนัด รถหาบเร่ สื่อโซเชียลมีเดีย (เว็บไซต์ เฟซบุ๊กและทวิตเตอร์) เป็นต้น จึงทำให้ผู้บริโภคไม่ได้รับคำแนะนำที่ถูกต้อง ผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักที่มีขายตามท้องตลาดมักพบการโฆษณาอวดอ้างสรรพคุณบนฉลากและโฆษณาที่เป็นเท็จ หลอกลวงผู้บริโภค โดยมีการปลอมปนวัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาท และสารควบคุมที่ผิดกฎหมายลงในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก เพื่อช่วยเสริมประสิทธิภาพในการลดน้ำหนัก เช่น สารไซบูทรามีน (Sibutramine) ฟลูออกซิทีน (Fluoxetine) นิโคทินาไมด์ (Nicotinamide) เมทแอมเฟตามีน (Methamphemine) ทรามาดอล (Tramadol) คาเฟอีน (Caffeine) เฟนเทอมีน (Phentermine) และโพรพราโนลอล (Propranolol) เป็นต้น (Muschietti *et al*., 2020) ส่งผลให้ผู้บริโภคได้รับผลข้างเคียงที่รุนแรงและเสียชีวิตจากการรับประทานผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักที่มีการปลอมปนวัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาทและสารควบคุมที่ผิดกฎหมาย (Chaisiwamongkhol *et al*., 2020) ดังนั้นการตรวจพิสูจน์การปลอมปนวัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาทและสารควบคุมที่ผิดกฎหมายในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักต้องสงสัยจึงมีความสำคัญทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ เนื่องจากสามารถใช้ข้อมูลดังกล่าวในการดำเนินคดีและกำหนดบทลงโทษผู้กระทำความผิดในกรณีที่ผลิตหรือขายผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักที่ผิดกฎหมาย

การตรวจวิเคราะห์สารปลอมปนวัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาทและสารควบคุมที่ผิดกฎหมาย (ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน เมทแอมเฟตามีน ทรามาดอล และคาเฟอีน) ในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนักสามารถตรวจวิเคราะห์ได้หลายวิธีด้วยกัน เช่น การตรวจวัดด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี (Spectrophotometry) (Youssef *et al*., 2014) วิธีเอทีอาร์-เอฟทีไออาร์สเปกโทรสโกปี (Attenuated total reflection-fourier transform infrared spectroscopy; ATR- FTIR) (Cebi *et al*., 2017) วิธีการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงสีด้วยสมาร์ทโฟน (Smartphone-based colorimetric detection) (Chaisiwamongkhol *et al*., 2020) วิธีโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (Thin layer chromatography; TLC) (Hayun *et al*., 2016) วิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High performance liquid chromatography; HPLC) (Csupor *et al*., 2013) วิธีแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatography; GC) (Khazan *et al*., 2014) และวิธีทางเคมีไฟฟ้า

(Electrochemistry) (Saichanapan *et al*., 2020) ซึ่งวิธีวิเคราะห์ที่กล่าวมาข้างต้นเป็นวิธีวิเคราะห์ที่มีความน่าเชื่อถือ มีความถูกต้องและแม่นยำได้การยอมรับจากหน่วยงานระดับสากล

เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี เป็นเทคนิคที่ได้รับความน่าสนใจและมีความน่าเชื่อถือ เป็นเทคนิคที่สามารถแยกสารเคมีได้มากกว่าหนึ่งชนิดและสารต้องมีคุณสมบัติที่สามารถกลายเป็นไอระเหยได้ง่าย โดยมีแก๊สเป็นตัวพา (Carrier gas) นำสารเข้าสู่คอลัมน์ซึ่งเป็นเฟสอยู่กับที่ (Stationary phase) และวิเคราะห์ร่วมกับตัวตรวจวัดชนิดเฟรมไอออไนเซชั่น (Flame ionization detector; FID) จะได้ผลการวิเคราะห์เป็นโครมาโทแกรม (Chromatogram) ที่มีความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณกับเวลาที่สารเคลื่อนที่ในคอลัมน์ ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ใช้งานง่าย ให้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้องและแม่นยำ เหมาะสำหรับใช้ในการตรวจวิเคราะห์แบบยืนยันผลในห้องปฏิบัติการ ดังนั้น งานวิจัยนี้ได้ใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีในการศึกษากระบวนการตรวจวิเคราะห์สารปลอมปนวัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาทและสารควบคุมที่ผิดกฎหมาย ศึกษาการพิสูจน์การใช้ได้ของวิธีและตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักต้องสงสัยที่ปนเปื้อนวัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาทและสารควบคุมที่ผิดกฎหมายที่มีขายตามท้องตลาด

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษากระบวนการตรวจวัดและพิสูจน์การใช้ได้ของเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-เฟลมไอออไนเซชั่นเพื่อใช้ในการตรวจวิเคราะห์สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนัก

วิธีดำเนินการวิจัย

สารเคมีและวัสดุอุปกรณ์

สารมาตรฐานไซบูทรามีน ผลิตโดยบริษัท trc Canada (Ontradio, Canada), ฟลูออกซิทีน ไฮโดรคลอไรด์ ผลิตโดยบริษัท Tokyo Chemical Industry (Tokyo, Japan), คาเฟอีน ผลิตโดยบริษัท Supelco (USA), ทรามาดอล ผลิตโดยบริษัท Sigma-Aldrich (Switzerland), เมทแอมเฟตามีน ผลิตโดยบริษัท Lipomed (Switzerland) และ ไดฟีนิลเอมีน ผลิตโดยบริษัท Loba Chemie (Mumbai, India) ตัวทำละลายเมทานอล ผลิตโดยบริษัท Sigma-Aldrich (Germany) ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (ซื้อจากตลาดออนไลน์ในประเทศไทย) ไมโครปิเปต ผลิตโดยบริษัท Socorex (Switzerland) เครื่องชั่งสาร 4 ตำแหน่ง Sartorius Model TE214S (Thailand) ไซริงค์ 1 มิลลิลิตร ผลิตโดยบริษัท Nipro (Thailand)

เครื่องมือวิจัย

การตรวจวิเคราะห์สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก วิเคราะห์โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีชนิดตัวตรวจวัดเฟลมไอออไนเซชั่น รุ่น 7890A (Agilent Technologie, USA) คอลัมน์สำหรับตรวจวัด HP-5 capillary column (30 m x 250 µm i.d. x 0.25 µm film thickness) อุณหภูมิหัวฉีดและอุณหภูมิของตัวตรวจวัดเท่ากับ 290 °C และ 300 °C ตามลำดับ อัตราการไหลของแก๊สพาเท่ากับ 2.0 mL min^{-1} (สัดส่วนสารเข้าคอลัมน์ 10:1) อัตราการไหลของแก๊สไนโตรเจน ไฮโดรเจนและออกซิเจนเท่ากับ 25, 30 และ 300 mL min^{-1} ตามลำดับ ปริมาตรสารในการฉีดเข้าคอลัมน์เท่ากับ 1 µL และตั้งอุณหภูมิของคอลัมน์เริ่มต้นที่ 100 °C เป็นเวลา 1.5 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 18 °C min^{-1} สูงขึ้นเท่ากับ 160 °C เป็นเวลา 1.5 นาที และเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 9 °C min^{-1} สูงขึ้นเท่ากับ 210 °C เป็นเวลา 2 นาที วิธีนี้ใช้เวลาในการวิเคราะห์เท่ากับ 12.6 นาที

การเตรียมสารมาตรฐาน

เตรียมสารมาตรฐานเมทแอมเฟตามีน ไซบูทรามีน คาเฟอีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอล ที่ความเข้มข้น 5000 µg mL^{-1} ปริมาตร 1 mL เพื่อใช้เป็น Stock standard solution เตรียมโดยทำการชั่งสารมาตรฐานแต่ละตัว 0.0050 g ละลายในตัวทำละลายเมทานอลปริมาตร 1 mL และเตรียมสารมาตรฐานภายในไดฟีนิลเอมีนที่ความเข้มข้น 1000 µg mL^{-1} ปริมาตร 2 mL เตรียมโดยทำการชั่งสารมาตรฐาน 0.0020 g ละลายในตัวทำละลายเมทานอลปริมาตร 2 mL

การเตรียมสารมาตรฐานผสมเมทแอมเฟตามีน ไซบูทรามีน คาเฟอีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอล ที่ความเข้มข้น 500 µg mL^{-1} ปริมาตร 2 mL เพื่อใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐาน เตรียมโดยการปิเปต Stock standard solution ของสารแต่ละตัวมา 200 µL และเติมตัวทำละลายเมทานอล 1000 µL จากนั้นทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ (0, 25, 50, 100 และ 250 µg mL^{-1}) ก่อนทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-เฟลมไอออไนเซชั่น

การพิสูจน์การใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

ศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นและช่วงความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ

ศึกษาโดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานผสมไดฟีนิลลามีน เมทแอมเฟตามีน ไซบูทรามีน คาเฟอีน ฟลูออกซิทีน และ ทรามาดอลความเข้มข้น 0, 10, 25, 50, 100, และ 250 µg mL^{-1} (n=5) จากนั้นนำไปวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-เฟลมไอออไนเซชั่น นำพื้นที่ใต้พีคที่ได้จากสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้น สร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับค่าสัญญาณ แสดงค่าสมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Coefficient of correlation: r^2)

ศึกษาขีดต่ำสุดของการตรวจพบ

ศึกษาโดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานผสมไดฟีนิลลามีน เมทแอมเฟตามีน ไซบูทรามีน คาเฟอีน ฟลูออกซิทีน และ ทรามาดอลความเข้มข้น 0, 10, 25, 50, 100, และ µg mL^{-1} (n=5) จากนั้นนำไปวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-เฟลมไอออไนเซชั่น โดยการทดสอบค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ในตัวอย่างแต่ไม่สามารถรายงานเป็นปริมาณที่แน่นอนได้ ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสูตร LOD = 3 S_a/b โดยที่ S_a คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานบนจุดตัดแกน y และ b คือ ความชันของกราฟมาตรฐาน

ค่าขีดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ

ศึกษาโดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานผสมไดฟีนิลลามีน เมทแอมเฟตามีน ไซบูทรามีน คาเฟอีน ฟลูออกซิทีน และ ทรามาดอลความเข้มข้น 0, 10, 25, 50, 100, และ 250 µg mL^{-1} (n=5) จากนั้นนำไปวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-เฟลมไอออไนเซชั่น โดยการทดสอบค่าขีดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ คือ ความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สามารถตรวจพบได้ในตัวอย่าง และสามารถระบุปริมาณหรือความเข้มข้นของสารชนิดนั้นได้อย่างถูกต้องแม่นยำ โดยสามารถคำนวณได้จากสูตร LOQ = 10 S_a/b โดยที่ S_a คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานบนจุดตัดแกน y และ b คือ ความชันของกราฟมาตรฐาน

ความเที่ยงของวิธี

ศึกษาโดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานผสมไดฟีนิลลามีน เมทแอมเฟตามีน ไซบูทรามีน คาเฟอีน ฟลูออกซิทีน และ ทรามาดอลที่ระดับความเข้มข้นขีดจำกัดของการตรวจวัด ต่ำ กลางและสูง (0, 25, 50 และ 100 µg mL^{-1}) เติมลงในตัวอย่าง (Spike sample) ทำการทดลองภายในวันเดียวกันและระหว่างวัน (3 วัน) คำนวณร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative standard deviation: RSD) โดยให้เกณฑ์การยอมรับ % RSD ต้องไม่เกิน ± 15% โดยสามารถคำนวณได้จากสูตร % RSD = $\frac{SD}{\bar{x}}$ x 100 เมื่อ RSD = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์, SD = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และ $\overline{X}$ = ค่าเฉลี่ยของข้อมูลทั้งหมด

ความแม่นยำของวิธี

ศึกษาโดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานผสมไดฟีนิลลามีน เมทแอมเฟตามีน ไซบูทรามีน คาเฟอีน ฟลูออกซิทีน และ ทรามาดอลที่ระดับความเข้มข้นขีดจำกัดของการตรวจวัด ต่ำ กลางและสูง (0, 25, 50 และ 100 µg mL^{-1}) เติมลงในตัวอย่าง (Spike sample) ทำการทดลองภายในวันเดียวกันและระหว่างวัน (3 วัน) เมื่อวิเคราะห์จะแสดงอยู่ในรูปค่าร้อยละการคืนกลับ (%Recovery) ซึ่งเกณฑ์การยอมรับ %Recovery อยู่ในช่วง 80–120% โดยสามารถคำนวณได้จากสูตร

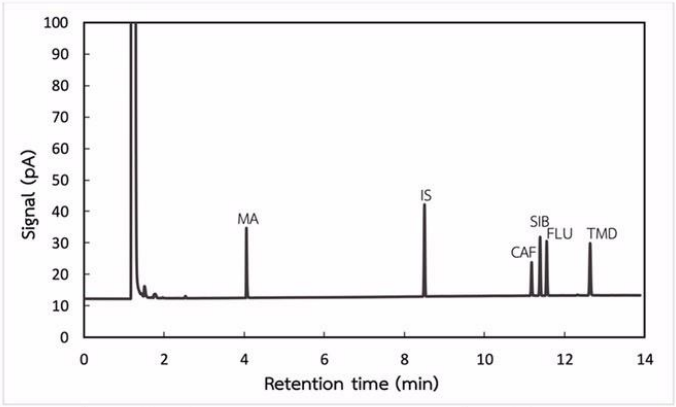
$$\%\text{Recovery} = \frac{(\text{ค่าจากตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน} - \text{ค่าจากตัวอย่างที่ไม่เติมสารมาตรฐาน}) \times 100}{\text{ค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติม}}$$

การวิเคราะห์ตัวอย่างจริง

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักที่ซื้อจากตลาดออนไลน์ในประเทศไทยจำนวน 5 ตัวอย่าง ชั่งตัวอย่างละ 30 mg จากนั้นละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอลปริมาตร 5 mL นำเข้าเครื่องอัลตราโซนิคเป็นเวลา 30 min และนำมากรองด้วยไซริงค์ฟิวเตอร์และนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-เฟลมไอออไนเซชั่น (n=3)

ผลการวิจัย

การวิเคราะห์หาสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนัก โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีร่วมกับตัวตรวจวัดชนิดเฟลมไอออไนเซชั่น ผลโครมาโทแกรมของการวิเคราะห์โดยใช้สารมาตรฐานผสมเมทแอมเฟตามีน (MA) สารมาตรฐานภายในไดฟีนิลเอมีน (IS) คาเฟอีน (CAF) ไซบูทรามีน (SIB) ฟลูออกซิทีน (FLU) และทรามาดอล (TMD) แสดงดังภาพที่ 1 จากผลการทดลองสารมาตรฐานและสารมาตรฐานภายในทั้ง 6 ชนิด สามารถแยกและตรวจวัดได้ภายในเวลา 12.6 นาที



ภาพที่ 1 แสดงโครมาโทแกรมของการแยกสารมาตรฐานผสมที่ความเข้มข้น 25 μg mL^{-1} ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–เฟลมไอออไนเซชั่น

การพิสูจน์การใช้ได้ของวิธีแก๊สโครมาโทกราฟีร่วมกับตัวตรวจวัดชนิดเฟลมไอออไนเซชั่นสำหรับตรวจวัด สารมาตรฐานภายใน เมทแอมเฟตามีน คาเฟอีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอล พบว่าวิธีวิเคราะห์ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารเมทแอมเฟตามีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอลอยู่ในช่วง 10–250 μg mL^{-1} มีเพียงคาเฟอีนที่ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 25–250 μg mL^{-1} มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) อยู่ในช่วง 0.9998–0.9999 มีค่าขีดต่ำสุดของการตรวจพบ และค่าขีดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ ของสารเมทแอมเฟตามีน คาเฟอีน ไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน และทรามาดอลอยู่ในช่วง 2.1–3.2 μg mL^{-1} และ 6.8–10.8 μg mL^{-1} ตามลำดับ วิธีที่พัฒนาขึ้นให้ผลความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ภายในวันเดียวกันและต่างวัน เมื่อทำการวิเคราะห์สารมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นในช่วงความเข้มข้นต่ำ กลางและสูง (25, 50 และ 100 μg mL^{-1}) ผลการศึกษาพบว่าความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ภายในวันเดียวกันและระหว่างวันอยู่ในช่วง 1.0–5.1% และ 2.6–14.5% ตามลำดับ ค่า %RSD ที่ได้จากการวิเคราะห์ทั้งหมดมีค่าไม่เกิน 15% แสดงให้เห็นว่าการทดสอบนี้มีความถูกต้อง สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักได้ (UNODC, 2009) เมื่อทดสอบความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ภายในวันเดียวกันและต่างวันด้วยการวิเคราะห์สารมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นในช่วงความเข้มข้นต่ำ กลางและสูง (25, 50 และ 100 μg mL^{-1}) ผล

การศึกษาพบว่าค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 84.5% ± 3.4% ถึง 117.5% ± 2.5% ซึ่งค่าร้อยละการได้กลับคืนที่สามารถยอมรับได้อยู่ในช่วง 80–120% ดังนั้น การทดสอบนี้มีความแม่นยำของการวิเคราะห์สามารถนำไปวิเคราะห์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักได้ (UNODC, 2009)

การวิเคราะห์หาสารปลอมปนวัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาทและสารควบคุมที่ผิดกฎหมายในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนัก จำนวน 5 ตัวอย่าง ซึ่งทำการวิเคราะห์ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-เฟลมไอออไนเซชั่น จากผลการศึกษาพบว่าตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักจำนวน 5 ตัวอย่าง ตรวจพบการปลอมปนของสารไซบูทรามีน ทั้ง 5 ตัวอย่าง ที่ช่วงความเข้มข้น 185.3–215.7 $\mu g\ mL^{-1}$ แสดงให้เห็นว่าในตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักมีการปลอมปนของวัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาท แสดงในตารางที่ 1 แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักที่มีการขายให้ผู้บริโภคผ่านการซื้อขายในตลาดออนไลน์มีการปลอมปนวัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาทและสารควบคุมที่ผิดกฎหมายและเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค

ตารางที่ 1 การตรวจสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีร่วมกับตัวตรวจวัดเฟลมไอออไนเซชั่น (n=3)

ตัวอย่าง	สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ($\mu g\ mL^{-1}$)				
	เมทแอมเฟตามีน	คาเฟอีน	ไซบูทรามีน	ฟลูออกซิทีน	ทรามาดอล
ตัวอย่างที่ 1	ND	ND	215.7 ± 1.3	ND	ND
ตัวอย่างที่ 2	ND	ND	185.3 ± 1.0	ND	ND
ตัวอย่างที่ 3	ND	ND	187.9 ± 1.8	ND	ND
ตัวอย่างที่ 4	ND	ND	260.1 ± 0.9	ND	ND
ตัวอย่างที่ 5	ND	ND	251.3 ± 5.6	ND	ND

*ND = ไม่มีการตรวจพบสาร

อภิปรายผลการวิจัย

การศึกษากระบวนการตรวจวัดและพิสูจน์การใช้ได้ของเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-เฟลมไอออไนเซชั่นเพื่อใช้ในการตรวจวิเคราะห์สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนัก พบว่าวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นสามารถใช้แยกและตรวจวัดสารเมทแอมเฟตามีน ไซบูทรามีน คาเฟอีน ฟลูออกซิทีน ทรามาดอลและสารมาตรฐานภายในไดฟีนิลเอมีนภายในเวลา 12.6 นาที และมีความจำเพาะเจาะจงต่อการตรวจพิสูจน์สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาทั้ง 6 ชนิด โดยไม่พบการรบกวนจากสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก เหมาะสำหรับใช้ในการตรวจพิสูจน์และระบุชนิดสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักได้ วิธีที่นำเสนอมีกระบวนการเตรียมตัวอย่างและตรวจวัดตัวอย่างที่ทำได้ง่ายและไม่ยุ่งยาก ใช้การละลายตัวอย่างด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ร่วมกับคลื่นอัลตราโซนิคก่อนการวิเคราะห์ สามารถลดความคลาดเคลื่อนอันเนื่องจากการเตรียมตัวอย่างที่มีขั้นตอนซับซ้อนได้ วิธีที่นำเสนอให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการวิเคราะห์เชิงปริมาณที่กว้างเหมาะสำหรับตรวจวัดตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักที่มักพบการปลอมปนสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาความเข้มข้นสูง มีค่าความถูกต้องและแม่นยำที่ดี มีต้นทุนในการวิเคราะห์ต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ สิตานันท์ ปารมีศรีจรรยา และคณะ ศึกษาการตรวจหาไซบูทรามีนที่ปลอมปนในกาแฟลดน้ำหนักด้วยวิธีเอทีอาร์-เอฟทีไออาร์สเปกโทรสโกปีและเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมสทรี จากการศึกษาด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมสทรีใช้เวลาในการตรวจวัดสารคาเฟอีนและไซบูทรามีนที่นานกว่าวิธีที่นำเสนอ (23.997 นาที) (Parameesrijanya *et al*., 2022) ผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักผ่านการซื้อในตลาด

ออนไลน์พบสารไซบูทรามีน ซึ่งเป็นวัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาทประเภท 1 สอดคล้องกับงานวิจัยของเจนจิรา สายชนะพันธ์ และคณะ ตรวจพบสารไซบูทรามีนในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารลดน้ำหนักที่ความเข้มข้น 277–557 μg mL^{-1} (Saichanapan *et al.,* 2020)

สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ศึกษากระบวนการตรวจวัดและพิสูจน์การใช้ได้ของเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-เฟลมไอออไนเซชั่นเพื่อใช้ในการตรวจวิเคราะห์สารปลอมปนวัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาทในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนัก ประกอบด้วย สารไซบูทรามีน ฟลูออกซิทีน เมทแอมเฟตามีน ทรามาดอล และคาเฟอีน ใช้เวลาในการตรวจวัด 12.6 นาที วิธีที่พัฒนาขึ้นมีช่วงความเป็นเส้นตรงของสารทั้ง 5 ชนิด ในช่วง 10–250 μg mL^{-1} มีค่าขีดต่ำสุดของการตรวจพบในช่วง 2.1–3.2 μg mL^{-1} และค่าขีดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณในช่วง 6.8–10.8 μg mL^{-1} ตามลำดับ มีความถูกต้องและความแม่นยำ ผลการวิเคราะห์ที่น่าเชื่อถือสามารถนำไปวิเคราะห์คุณภาพและเชิงปริมาณสำหรับตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักได้ วิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจพิสูจน์สารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักที่ผิดกฎหมาย เพื่อควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักและคุ้มครองผู้บริโภคให้ได้รับผลิตภัณฑ์อาหารเสริมที่มีคุณภาพและไม่เป็นอันตรายได้

ข้อเสนอแนะ

การใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-เฟลมไอออไนเซชั่นร่วมกับการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดตัวรบกวนในตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์และสามารถวิเคราะห์สารปลอมปนสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาปริมาณน้อยหรือความเข้มข้นต่ำ ๆ ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้ได้รับการสนับสนุนจากหลักสูตรนิติวิทยาศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์สุขภาพและวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ ศูนย์นวัตกรรมและบริการนิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านวัสดุ อุปกรณ์ สารเคมีและสถานที่ในการทำการศึกษาครั้งนี้ และได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยบางส่วนจากแหล่งทุนจาก สำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (รหัสทุน วช. อว. (อ) (กกต.)/๕๐๒/๒๕๖๓)

เอกสารอ้างอิง

Cebi, N., Yilmaz, M. T., & Sagdic, O. (2017). A rapid ATR-FTIR spectroscopic method for detection of sibutramine adulteration in tea and coffee based on hierarchical cluster and principal component analyses. *Food Chemistry,* 229, 517-526.

Chaisiwamongkhol, K., Labaidae, S., Pon-in, S., Pinsrithong, S., Bunchuay, T., & Phonchai, A. (2020). Smartphone-based colorimetric detection using gold nanoparticles of sibutramine in suspected food supplement products. *Microchemical Journal,* 158, 105273.

Csupor, D., Boros, K., Dankó, B., Veres, K., Szendrei, K., & Hohmann, J. (2013). Rapid identification of sibutramine in dietary supplements using a stepwise approach. *Pharmazie,* 68(1), 15-18.

Hayun, Maggadani, B., & Amalina, N. (2016). Determination of sibutramine adulterated in herbal slimming products using TLC densitometric method. *INDONESIAN JOURNAL OF PHARMACY,* 27, 15.

Khazan, M., Hedayati, M., Kobarfard, F., Askari, S., & F, A. (2014). Identification and determination of synthetic pharmaceuticals as adulterants in eight common herbal weight loss supplements. *International journal of the Iranian Red Crescent Society*.

Muschietti, L., Redko, F., & Ulloa, J. (2020). Adulteration of selected dietary supplements and their detection methods. *Drug Testing and Analysis,* 12.

Saichanapan, J., Promsuwan, K., & Limbut, W. (2020). Adsorption and determination of sibutramine in illegal slimming product using porous graphene ink-modified electrode. *Talanta,* 212, 120788.

Parameesrijanya, S., Choosakoonkriang, S., Supalaknari, S., & Junmon, P. (2022). ATR-FTIR and GC-MS Methods for Detection of Sibutramine Adulterated in Slimming Products of Instant Coffee. *Rajamangala university of technology Tawan-ok Research Journal* 15, 1906-1889. (in Thai)

UNODC. (2009). "Guidance for the Validation of Analytical Methodology and Calibration of Equipment used for Testing of Illicit Drugs in Seized Materials and Biological Specimens".Accessed October 2009. Available from https://www.unodc.org/documents/scientific/validation_E.pdf

Youssef, R. M., Khamis, E. F., Korany, M. A., Mahgoub, H., & Kamal, M. F. (2014). Microspectrometric determination of sibutramine in an adulterated slimming formulation. *Analytical Methods,* 6, 3395-3400.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุลชื่อ สกุล นางสาววริยา เกตุแก้ว
รหัสประจำตัวนักศึกษา 6310220054
วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมี-ชีววิทยา)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2562

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)
ได้รับทุนอุดหนุนวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ ประจำปีงบประมาณ 2565 จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยบางส่วนจากแหล่งทุนจาก สำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (รหัสทุน วช. อว. (อ) (กกต.)/๕๐๒/๒๕๖๓)

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน (ถ้ามี)
วริยา เกตุแก้ว, ทักศิกา เจริญขันธ์, เบญจมาศ จันทร์ฉวี, สถาพร พฤฒิพรรลาย และอภิชัย พลชัย. แก๊สโครมาโทกราฟี-เฟลมไอออไนซ์ชั่นสำหรับตรวจวัดสารปลอมปนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนัก. การประชุมวิชาการระดับชาติด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี เครือข่ายภาคใต้ ครั้งที่ 8 และการประชุมวิชาการระดับนานาชาติด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี เครือข่ายภาคใต้ ครั้งที่ 1. 21-22 กุมภาพันธ์ 2566 ณ คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา