การพัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ยาจากอาหารในกระเพาะ

Development of Drugs Sample Preparation in Stomach Content

ปัถยา พรหมมา[1], ธิติ มหาเจริญ[2], ธนสิริ ยกเชื้อ[3]
คณะนิติวิทยาศาสตร์ โรงเรียนนายร้อยตำรวจ[1,2], สถาบันนิติวิทยาศาสตร์[3]
Pattaya Promma[1], Thiti Maharjaroen[2], Tanasiri Yokchue[3]
Faculty of Forensic Science, Royal Police Cadet Academy[1,2],
Central Institute of Forensic Science[3]
E-mail: Pattaya75815@gmail.com[1, 2, 3]

Received: January 18, 2023; Revised: March 12, 2024; Accepted: May 14, 2024

บทคัดย่อ

การวิจัยเพื่อพัฒนาวิธีตรวจวิเคราะห์ยาจากอาหารในกระเพาะเพื่อกำจัดไขมันออกจากตัวอย่าง โดยศึกษาชนิดของตัวทำละลายการสกัดยา ได้แก่ อะซีโตไนไตรล์ เมทานอล และ ตัวทำละลายผสมอะซีโตไนไตรล์ต่อไอโซโพพานอล ปริมาตร 1, 1.5 และ 2 มิลลิลิตร และศึกษาชนิดตัวทำละลายสกัดร่วมที่ใช้กำจัดไขมัน ได้แก่ เฮกเซน ปิโตรเลียมอีเทอร์ และตัวทำละลายผสมเฮกเซนต่อปิโตรเลียมอีเทอร์ ที่ปริมาตร 1, 2 และ 3 มิลลิลิตร ผลการศึกษาการสกัดยาด้วยตัวทำละลาย อะซีโตไนไตรล์ ที่ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ร่วมกับตัวทำละลายสกัดร่วม ได้แก่ เฮกเซนต่อปิโตรเลียมอีเทอร์ที่ปริมาตร 1 มิลลิลิตร สามารถสกัดยาที่ให้ค่าร้อยละของ Recovery สูงสุด และการทดสอบความแตกต่างของประสิทธิภาพการสกัดของทั้งสองวิธี (pair-t-test) พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และนำไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างอาหารในกระเพาะจากศพพบว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นสามารสกัดยาได้ครบทั้ง 10 ชนิด และเมื่อเปรียบเทียบความสูงของพีคคอเลสเตอรอลในตัวอย่างพบว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมีความสูงของพีคต่ำกว่าวิธีดั้งเดิม ทำให้สามารถวิเคราะห์ผลได้ง่าย ใช้ปริมาณตัวอย่างที่น้อยลง สามารถวิเคราะห์ยาทั้งกลุ่มกรดและกลุ่มด่างได้ในครั้งเดียว ทำให้ยืดอายุการใช้งานเครื่องมือ และลดต้นทุนในการตรวจวิเคราะห์

คำสำคัญ: อาหารในกระเพาะ ยา GC-MS

ABSTRACT

The stomach contents are a typical sample for postmortem analysis of drugs and toxins along with analysis of other biological samples. It was found that in the stomach had background interference from fat interfering with the analysis using the technique GC-MS, thus obscuring the detection of the target drugs. The researcher therefore developed an analysis of drugs and clean-up lipids in stomach content. The purposes were to study the Types of drug extraction solvents, namely

Acetonitrile Methanol and Acetonitrile Isopropanol at volumes of 1, 1.5 and 2 mL and to study the types of solvents used for cleaning-up lipids, namely hexane petroleum ether and hexane to petroleum ether mixed solvent at volumes of 1, 2 and 3 mL. Results of the study on drug extraction with Acetonitrile at a volume of 2 mL when used with a Hexane found that Petroleum Ether cleaning-up lipids at a volume of 1 mL. was able to extract the drug that gave the highest recovery value and the obtained values were tested for differences (pair-t-test). The extraction efficacy of the two drugs was significantly different at the 95% confidence level. When applied to the stomach content samples comparing the cholesterol peak in the sample, the developed method had lower peak height than the traditional method. This method is easy to analyze results, uses a smaller sample volume and can analyze both acidic and basic drugs at one time. It also extends tool life and reduces the cost of analysis

KEYWORDS: Stomach content, Drugs, GC-MS

บทนำ

ตั้งแต่ปี พ.ศ.2562 เป็นต้นมาอัตราการฆ่าตัวตายสำเร็จของประเทศไทยสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง (ศูนย์เฝ้าระวังการฆ่าตัวตาย, 2565) การเสียชีวิตด้วย การกินยา ในรูปแบบการกินยาเกินขนาด หรือการใช้ยาในการฆาตกรรมหรืออำพรางคดี เป็นอีกหนึ่งวิธีการที่ทำได้ง่าย สะดวก ซึ่งการตายใดที่ผิดธรรมชาติ ต้องเข้าสู่กระบวนการชันสูตรพลิกศพตามประมวลกฎหมายวิธีพิจารณาความอาญา มาตรา 148 เพื่อหาสาเหตุของการเสียชีวิต (สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข, 2561) โดยใช้องค์ความรู้ทางนิติพิษวิทยา (Forensic Toxicology) ในการตรวจหายาหรือสารพิษในอวัยวะต่าง ๆ ของคนตาย รวมทั้งจากเลือด น้ำดี น้ำไขสันหลัง และน้ำปัสสาวะ และอาหารในกระเพาะ เป็นต้น ที่สงสัยว่าจะตายจากยาหรือสารพิษใดๆ

อาหารในกระเพาะเป็นตัวอย่างชีววัตถุที่สามารถตรวจวิเคราะห์หายาได้ เนื่องจากกระเพาะอาหารมี pH ประมาณ 1 ถึง 3 จากการหลั่งของ Hydrochloric acid สภาวะที่เป็นกรดของกระเพาะอาหาร ทำให้เป็นตำแหน่งที่ยาที่เป็นกรดดูดซึมได้ดี ถ้ายาละลายและคงสภาพอยู่ในสารละลายที่เป็นกรดของกระเพาะอาหาร ขณะที่ยาที่เป็นด่างจะละลายทันทีในกระเพาะแต่การดูดซึมไม่ดีเนื่องจากยาจะแตกตัวเป็นไอออน ทำให้ไม่มีความสามารถในการละลายในไขมันได้เพียงพอที่จะนำส่งผ่านผนังเยื่อหุ้มได้ แต่เมื่อเข้าสู่ลำไส้เล็กจะแตกตัวเป็นไอออนน้อยลงจึงดูดซึมได้ที่ลำไส้เล็ก (เพียรกิจ แดงประเสริฐ, 2559) จึงนิยมนำมาตรวจวิเคราะห์หายาและสารพิษหลังการเสียชีวิตร่วมกับการตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่างชีววัตถุอื่นๆ เช่น เลือด ปัสสาวะ เนื้อตับ เป็นต้น และยังสามารถระบุเวลาการตายของศพหลังจากการรับประทานอาหารมื้อสุดท้ายได้ ทั้งนี้ในการตรวจวิเคราะห์ต้องอาศัยความรู้ เทคนิค และกระบวนการสกัดที่เหมาะสมกับเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ ซึ่งเทคนิคทางแมสสเปคโตรเมตรีสามารถใช้หาน้ำหนักโมเลกุลของสารที่ต้องการวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้อง ทำให้นำไปศึกษา

โครงสร้างทางเคมีของสารนั้นๆได้ เทคนิคแมสสเปกโทรเมตรีจึงถูกนำไปประยุกต์ใช้ในงานวิจัยรวมถึงงานเคมีวิเคราะห์อย่างกว้างขวาง อาทิ เทคนิคแก๊ส-โครมาโตกราฟี แมสสเปคโตรเมตรี และเทคนิคลิควิดโครมาโตกราฟี แมสสเปคโตรเมตรี (จิตนภา วรนิธิกุล, 2561) อย่างไรก็ตามพบว่า อาหารในกระเพาะเป็นตัวอย่างที่มีไขมันค่อนข้างสูง ทำให้มี Background Interference รบกวนการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี แมสสเปคโตรเมตรีส่งผลให้บางครั้งบดบังการตรวจพบสารกลุ่มเป้าหมายได้ ปัจจุบันใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย โดยการสกัดแยกยากลุ่มที่เป็นกรด (Acidic Drugs) และยากลุ่มที่เป็นเบส (Basic Drugs) ต้องทำการวิเคราะห์ถึง 2 ครั้ง ซึ่งเป็นขั้นตอนที่ยุ่งยาก ใช้เวลามาก สิ้นเปลืองทรัพยากรใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่เป็นพิษ ทำให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมเป็นพิษ ส่งผลต่อปัญหาสุขภาพของผู้ทำการตรวจวิเคราะห์ในอนาคต และในการตรวจวิเคราะห์หายาและสารพิษในห้องปฏิบัติการต้องมีการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว ให้ผลการวิเคราะห์ที่มีความแม่นยำและความเที่ยงสูง ซึ่งเป็นเรื่องที่สำคัญในการวิเคราะห์สารปริมาณน้อย (Trace Analysis) โดยเฉพาะสำหรับงานทางนิติวิทยาศาสตร์ ดังนั้นการเตรียมตัวอย่างจึงเป็นขั้นตอนที่สำคัญและจำเป็นในกระบวนการวิเคราะห์ เพื่อทำให้สารที่วิเคราะห์มีความเข้มข้นไม่ต่ำเกินไปจนไม่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ ด้วยเหตุผลข้างต้นผู้วิจัยจึงพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์เพื่อลดปัญหาการปนเปื้อนของไขมันในคอลัมน์ซึ่งไปลดความสามารถในการตรวจวิเคราะห์ของโดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างอาหารในกระเพาะ ด้วยการสกัดที่ใช้ปริมาณตัวอย่างน้อยลง สามารถวิเคราะห์ยาได้ทั้งกลุ่มกรดและกลุ่มเบสพร้อมกันในครั้งเดียว เพื่อให้ได้วิธีที่สะดวกรวดเร็ว สามารถสกัดยาหลายชนิดพร้อมกันในครั้งเดียวและประยุกต์ใช้วิธีการตรวจวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นใช้กับตัวอย่างจริง

วัตถุประสงค์

1.เพื่อศึกษาสภาวะในการเตรียมตัวอย่างเพื่อลดปัญหาการปนเปื้อนของไขมันในคอลัมน์ในการตรวจวิเคราะห์ยาในตัวอย่างอาหารในกระเพาะจากศพโดยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี แมสสเปคโตรเมตรี

2. เพื่อลดขั้นตอนในกระบวนการการสกัดยาให้สามารถสกัดยาในกลุ่มกรดและกลุ่มเบสได้ในขั้นตอนเดียว

3. เปรียบเทียบวิธีการสกัดที่พัฒนาขึ้นกับวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม

สมมติฐาน

1.สามารถลดปัญหาการปนเปื้อนของไขมันในคอลัมน์ในการตรวจวิเคราะห์หายาในตัวอย่างอาหารในกระเพาะจากศพ โดยเทคนิคแก๊สโครมาโต-กราฟี แมสสเปคโตรเมตรี ได้

2. สามารถสกัดยาในกลุ่มกรดและกลุ่มเบสได้ในขั้นตอนเดียว

ประโยชน์ที่ได้รับ

1. ได้วิธีการสกัดยาที่สามารถลดปัญหาการปนเปื้อนของไขมันสำหรับเครื่อง Gas Chromatography-Mass spectrometer

2. ได้วิธีการตรวจวิเคราะห์ยาในตัวอย่างอาหารในกระเพาะโดยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี แมสสเปคโตรเมตรีที่มีความสะดวก รวดเร็ว โดยใช้ปริมาณตัวอย่างที่น้อยลง และสามารถวิเคราะห์ยาทั้งกลุ่มกรดและกลุ่มเบสได้ในครั้งเดียว

วิธีดำเนินการวิจัย

ขอบเขตการศึกษา

1. ศึกษาตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดยา 3 ชนิด ได้แก่ อะซีโตไนไตรล์, เมทานอล และ

ตัวทำละลายผสมอะซีโตไนไตรล์ต่อไอโซโพรพานอล อัตราส่วน 1: 1 และศึกษาตัวทำละลายที่ใช้ในการกำจัดไขมัน 3 ชนิดได้แก่ ได้แก่ เฮกเซน, ปิโตรเลียม-อีเทอร์ และตัวทำละลายผสมต่อเฮกเซนต่อปิโตรเลียมอีเทอร์ อัตราส่วน 1: 1 โดยศึกษาค่าร้อยละการกลับคืน (% Recovery)

2. ศึกษาปริมาตรตัวละลายที่ใช้ในการสกัดยาทั้ง 3 ชนิด ที่ปริมาตรต่างๆ ได้แก่ 1 มิลลิลิตร 1.5 มิลลิลิตร 2 มิลลิลิตร และศึกษาปริมาตรตัวทำละลายที่ใช้ในการกำจัดไขมัน ทั้ง 3 ชนิด ที่ปริมาตรต่างๆ ได้แก่ 1 มิลลิลิตร 2มิลลิลิตร 3 มิลลิลิตร โดยศึกษาค่าร้อยละการกลับคืน (% Recovery) ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี แมสสเปคโตรเมตรี

วิธีการคำนวณหาร้อยละการได้กลับคืน (% Recovery)

$$\% \text{ Recovery} = \frac{A}{B} \times 100$$

เมื่อ A = พื้นที่ Peak Area ของสารมาตรฐานที่ Spike ลงในตัวอย่าง

B = พื้นที่ Peak Area ของสารมาตรฐาน

เครื่องมือ

เครื่อง Gas Chromatography-Mass spectrometer (GC-MS) ประกอบด้วยเครื่อง Gas Chromatography ยี่ห้อ Agilent รุ่น 7890 และเครื่อง Mass spectrometer ชนิด Single Quadrupole ยี่ห้อ Agilent รุ่น 5975C

สารเคมี

ได้แก่ Acetonitrile, n–hexane, Methanol, Petroleum Ether, Isopropanol, Ethyl Acetate, Sodium sulfate และน้ำปราศจากไอออน

สารมาตรฐาน

ได้แก่ Acetaminophen, Amitriptyline, Diphenylhydramine, Phenytoin, Pentobarbital Methamphetamine, Phenobarbital, Ketamine, Chlorpheniramine, Orphenadrine และ Cyclizine เป็น Internal standard (ISTD)

การเตรียมสารตัวอย่าง

1. เตรียมสารละลายสารมาตรฐานยา 11 ชนิด ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยชั่งสารมาตรฐานยาชนิดละ 2 มิลลิกรัม ละลายด้วยเมทานอล 1 มิลลิลิตร เก็บไว้ตู้ -20 °C

2. เตรียมตัวอย่างอาหารในกระเพาะแบบจำลอง โดยนำอาหารเสริมธัญพืช Cerelac ชั่งมา 500 กรัม เติมน้ำร้อนปริมาตร 150 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันแล้วเติม 1% Hydrochloric acid จน pH ประมาณ 3

3. การเตรียมตัวอย่างอาหารในกระเพาะจากตัวอย่างจริงจำนวน 10 ตัวอย่าง เลือกตัวอย่างจากศพที่ตรวจพบยาที่ต้องการศึกษา

ขั้นตอนการสกัดยา

1. ปิเปตตัวอย่างอาหารในกระเพาะปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดสกัด เติมสารละลายมาตรฐานยาทั้ง 11 ชนิด ปริมาตรละ 5 ไมโครลิตร จากนั้น vortex เพื่อให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน

2. เติมตัวทำละลายสกัดยาที่ต้องการศึกษา นำไปเขย่าด้วย vortex 30 วินาที

3. เติมตัวทำละลายที่ใช้กำจัดไขมันที่ต้องการศึกษา นำไปเขย่าด้วย vortex 30 วินาที

4. เติมน้ำปราศจากไอออน 4 มิลลิลิตร และเติมเกลือโซเดียมซัลเฟส 2.5 กรัม

5. นำไป vortex 2 นาที และปั่นเหวี่ยง 12,000 rpm 5 นาที

6. สารละลายจะแยกออกเป็น 3 ชั้น ให้ดูดส่วนใสชั้นที่ 2 ลงใน Vial ขนาด 2 มิลลิลิตร นำส่วนใสไประเหยแห้ง

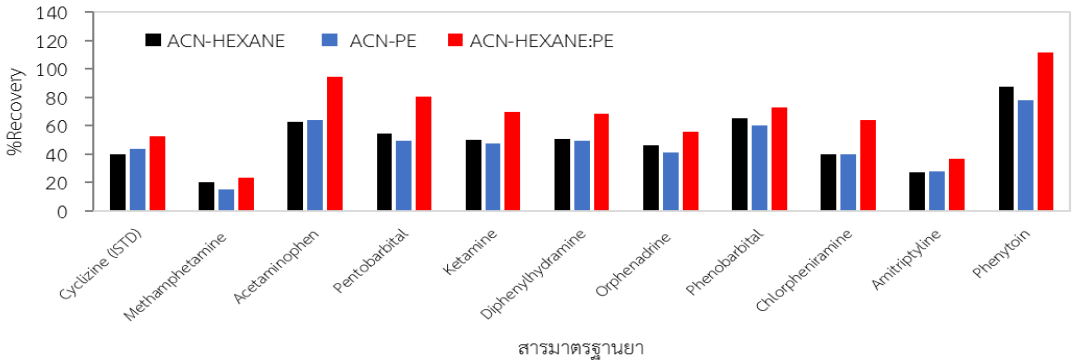
7. ละลายกลับด้วยแอททิลอะซิเตรท

100 ไมโครลิตร จากนั้นกรองสารละลายด้วย Filter membrane ขนาด 0.2 ไมโครเมตร ลงใน Vial ขนาด 2 มิลลิลิตรที่มี Insert

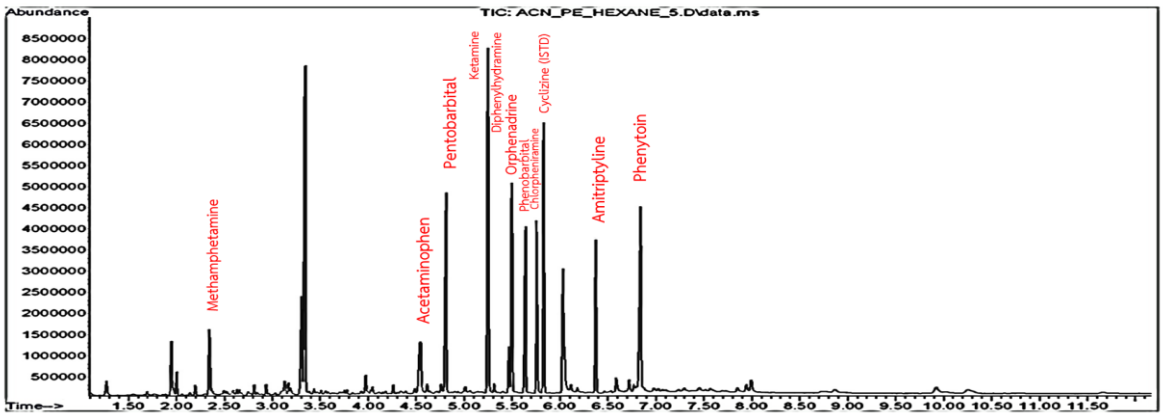
8. ตรวจวิเคราะห์ผลด้วย เทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี แมสสเปคโตรเมตรี

ผลการวิจัย

1. การศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดยาและไขมัน เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการสกัดยาจำนวน 11 ชนิด ผลการศึกษาพบว่าเมื่อนำตัวทำละลายสกัดยาและตัวทำละลายกำจัดไขมันแต่ละคู่มาใช้ในการสกัดยา พบว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายสกัดยาอะซีโตไนไตรล์ (ACN) สามารถสกัดยาออกมาได้ครบทุกชนิดและเมื่อใช้สกัดร่วมกับตัวทำละลายกำจัดไขมัน ได้แก่ ตัวทำละลายผสมเฮกเซนต่อปิโตรเลียมอีเทอร์ (Hexane: PE) สามารถสกัดยาที่ให้ค่า % Recovery สูงสุด 8 ชนิด ได้แก่ Acetaminophen, Ketamine, Phenytoin, Chlorpheniramine, Pentobarbital, Phenobarbital, Diphenylhydramine, และ Methamphetamine ดังนั้น จากการศึกษาจึงเลือกใช้ตัวทำลายสกัดยาคือ อะซีโตไนไตรล์ร่วมกับตัวทำละลายสกัดไขมัน คือ เฮกเซนต่อปิโตรเลียมอีเทอร์ อัตราส่วน 1: 1 เพราะมีพื้นที่ใต้พีคสูงและให้ประสิทธิภาพในการสกัดยาสูงที่สุดสามารถสกัดยาออกมาได้ครบทุกชนิด ดังภาพที่ 1 และแสดงโครมาโตแกรม ดังภาพที่ 2

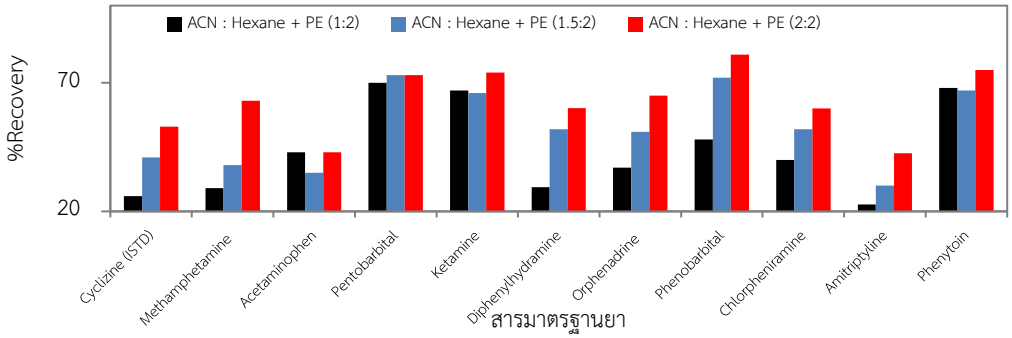


ภาพที่ 1 แผนภูมิเปรียบเทียบ % Recovery ของการสกัดโดยใช้อะซีโนไนไตรล์ (ACN) เป็นตัวทำละลายที่ใช้สกัดยา ต่อตัวทำละลายกำจัดไขมัน ได้แก่ เฮกเซน (Hexane), ปิโตรเลียมอีเทอร์ (PE) และเฮกเซนต่อปิโตรเลียมอีเทอร์ (Hexane: PE)

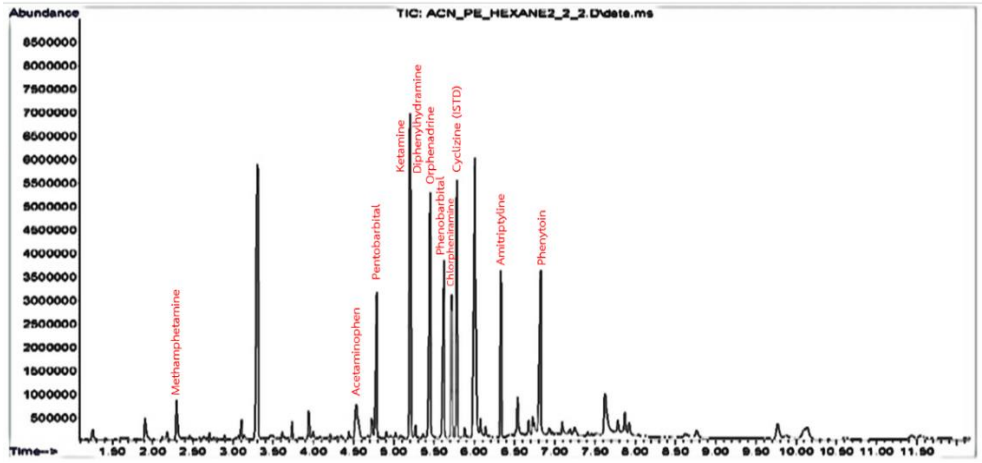


ภาพที่ 2 โครมาโทแกรมเปรียบเทียบพื้นที่ใต้พีคของยาที่สกัดด้วยตัวทำละลายอะซีโตไนไตรล์และตัวทำละลายผสมเฮกเซนต่อปิโตรเลียมอีเทอร์ อัตราส่วน 1: 1

2. การศึกษาปริมาณตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดยา เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการสกัดยา พบว่าเมื่อใช้ตัวทำละลายอะซีโตไนไตรล์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร สามารถให้ค่า %Recovery สูงสุด ดังนั้นในการศึกษานี้จึงใช้ตัวทำละลายใช้อะซีโตไนไตรล์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ดังภาพที่ 3 และแสดงโครมาโตแกรมดังภาพที่ 4

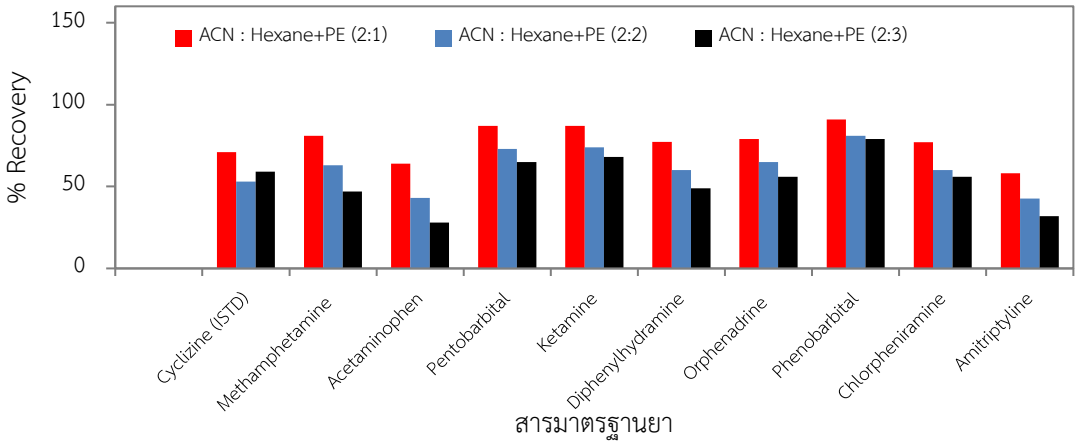


ภาพที่ 3 แผนภูมิการเปรียบเทียบ % Recovery ของปริมาณตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดยา

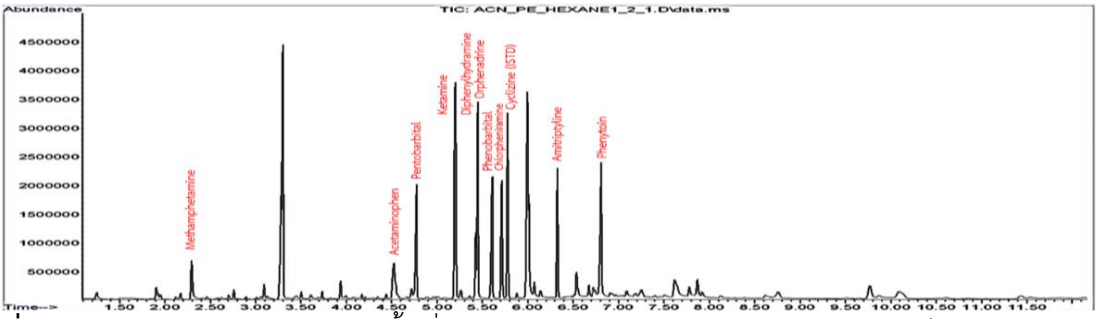


ภาพที่ 4 โครมาโทแกรมเปรียบเทียบพื้นที่ใต้พีคของยาด้วยอะซีโตไนไตรล์ที่ปริมาตร 2 มิลลิลิตร

3. การศึกษาปริมาณตัวทำละลายที่ใช้ในการกำจัดไขมัน เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการสกัดยา ผลการทดลองพบว่าเมื่อใช้ตัวทำละลายผสมเฮกเซนต่อปิโตรเลียมอีเทอร์ อัตราส่วน 1: 1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร สามารถให้ค่า %Recovery สูงสุด ดังนั้นในการศึกษานี้จึงใช้ตัวทำละลายผสมเฮกเซนต่อปิโตรเลียมอีเทอร์อัตราส่วน 1: 1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ดังภาพที่ 5 และแสดงโครมาโตแกรมดังภาพที่ 6

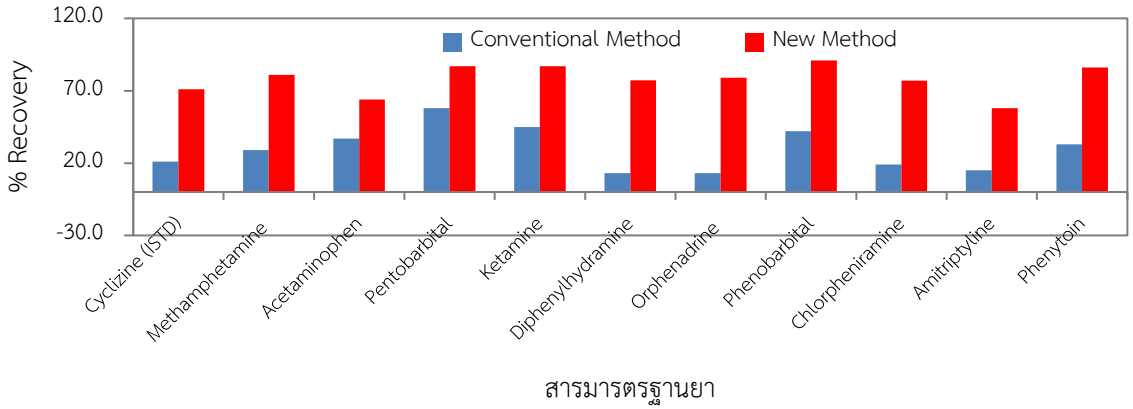


ภาพที่ 5 แผนภูมิการเปรียบเทียบ % Recovery ของปริมาณตัวทำละลายที่ใช้ในการกำจัดไขมัน

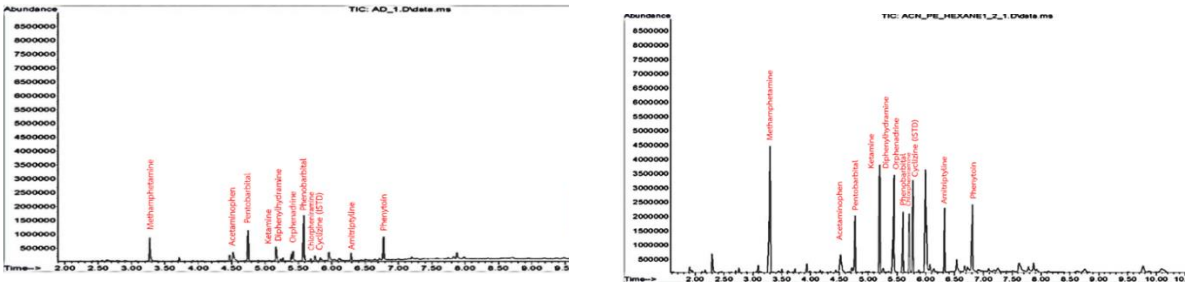


ภาพที่ 6 โครมาโทแกรมเปรียบเทียบพื้นที่ใต้พีคของยาด้วยปริมาตรตัวทำละลายกำจัดไขมัน ระหว่างตัวทำละลายผสมเฮกเซนต่อปิโตรเลียมอีเทอร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

นำมาเปรียบเทียบวิธีการสกัดของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับวิธีดั้งเดิมของห้องปฏิบัติการ โดยนำค่า% Recovery ที่ได้มาทดสอบความแตกต่างประสิทธิภาพการสกัดยาของทั้งสองวิธี (pair-t-test) พบว่า Diphenylhydramine, Amitriptyline, Chlorpheniramine, Cyclizine (ISTD), Methamphetamine และ Orphenadrine ของทั้งสองวิธีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ Acetaminophen, Ketamine, Pentobarbital ,Phenobarbital และ Phenytoin ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังภาพที่ 7 แต่เมื่อพิจารณาโครมาโทรแกรมของวิธีที่พัฒนาขึ้น พบว่าสามารถกำจัดพีคของไขมัน และให้ค่าพื้นที่พีคสูงกว่าวิธีดั้งเดิมดังภาพที่ 8 ผู้วิจัยจึงเลือกใช้วิธีที่พัฒนาขึ้นใช้ทดสอบกับตัวอย่างจริง



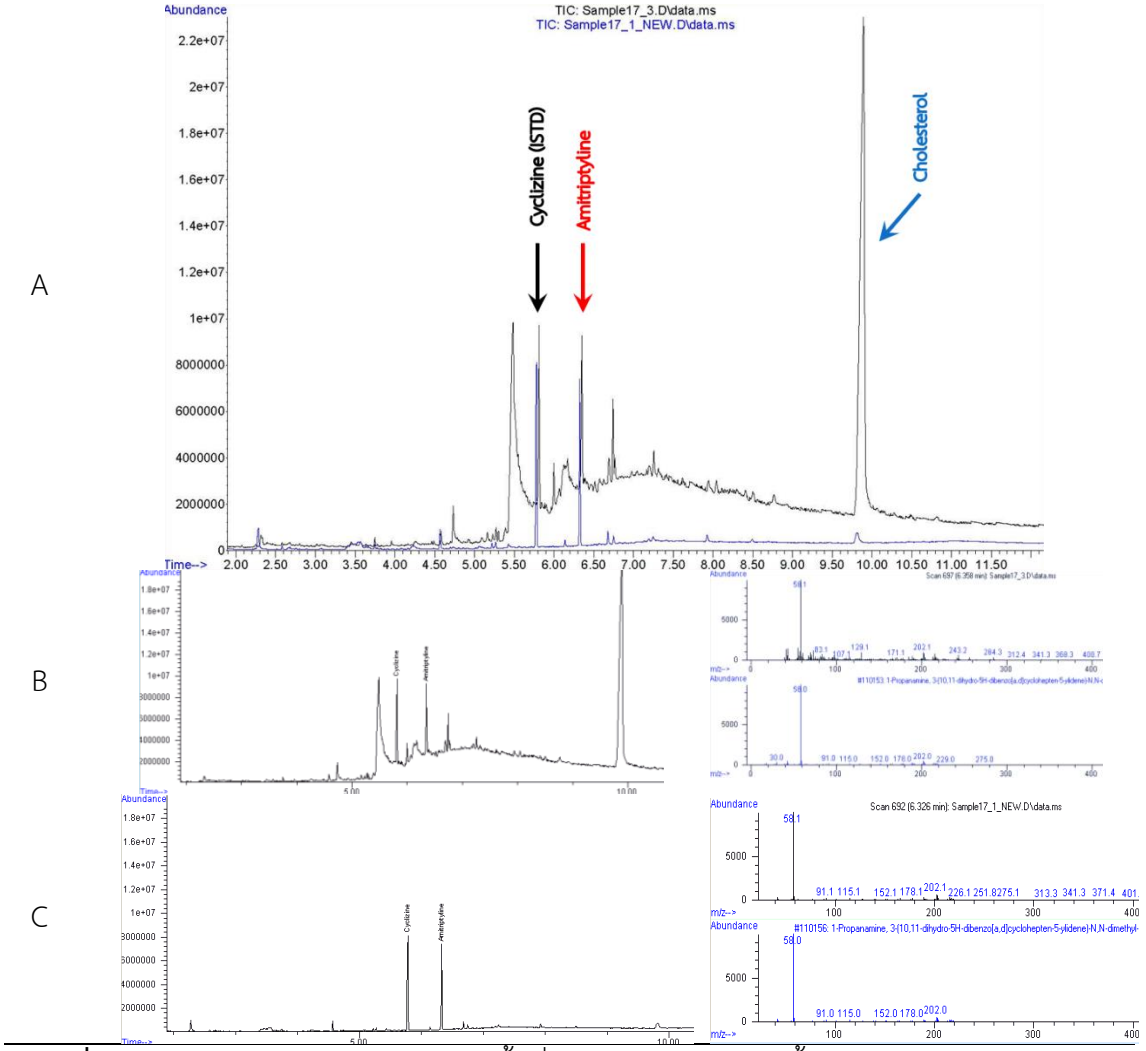
ภาพที่ 7 แผนภูมิการเปรียบเทียบ % Recovery ของวิธีสกัดแบบดั้งเดิม (Convention Method) และแบบที่พัฒนาขึ้น (New Method)



(A) (B)

ภาพที่ 8 โครมาโทแกรมเปรียบเทียบพื้นที่ใต้พีคของยาด้วยวิธีการสกัดทั้ง 2 วิธี (A) วิธีการสัดแบบดั้งเดิม (B) วิธีการสกัดที่พัฒนาขึ้น

จากการประยุกต์ใช้วิธีที่พัฒนาขึ้นกับตัวอย่างอาหารในกระเพาะจากศพ เมื่อเปรียบเทียบ ion 386 extracted ของ Cholesterol ช่วง RT ที่ 9.861 ในตัวอย่างอาหารในกระเพาะจากศพของการสกัดแบบทั้ง 2 วิธี พบว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมีความสูงของพีค Cholesterol ต่ำกว่าวิธีดั้งเดิม และยังพบว่า Background Interference ของตัวอย่างอาหารในกระเพาะลดลงอย่างเห็นได้ชัด ถึงแม้ว่าสารบางตัวที่มีช่วง RT เดียวกับพีคไขมันการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมสารจะถูกไขมันบดบังพีคของสาร แต่วิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถกำจัดไขมันออกไปได้ทำให้เห็นพีคของสารได้ชัดเจน ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าวิธีการสกัดที่พัฒนาขึ้นสามารถกำจัดไขมันออกจากตัวอย่างอาหารในกระเพาะได้ดีกว่าวิธีดั้งเดิม ดังภาพที่ 9



ภาพที่ 9 (A) โครมาโทแกรมเปรียบเทียบพื้นที่ใต้พีคของวิธีสกัดแบบดั้งเดิม(สีดำ) และวิธีที่พัฒนาขึ้น (สีน้ำเงิน)
(B) โครมาโทแกรม และแมสสเปกตรัมของวิธีสกัดแบบดั้งเดิม,
(C) โครมาโทแกรม และแมสสเปกตรัมของวิธีที่พัฒนาขึ้น

อภิปรายผลการวิจัย

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้พัฒนาวิธีการสกัดไขมันออจากเลือดจากงานวิจัยของ Farajzadeh and Abbaspour. (2018) จึงพัฒนาให้มีความเหมาะสมกับอย่างอาหารในกระเพาะ เนื่องจากเป็นตัวอย่างที่มีไขมันค่อนข้างสูง ทำให้มี Background Interference รบกวนการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS โดยได้ศึกษาชนิดและปริมาตรของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดยาและตัวทำละลายที่ใช้กำจัดไขมัน พบว่า อะซีโตไนไตรล์ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และตัวทำละลายผสมเฮกเซนต่อปิโตรเลียมอีเทอร์ อัตราส่วน 1: 1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการสกัดยาและไขมัน

จากการประยุกต์ใช้วิธีที่พัฒนาขึ้น กับตัวอย่างอาหารในกระเพาะจากศพสามารถสกัดยาออกมาได้ครบทุกชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่การสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมไม่สามารถสกัดยาออกมาได้ครบทุกชนิด เนื่องจากใช้ตัวทำละลาย Methyl tertiary-butyl ether ในการสกัดยา ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่ไม่

มีขั้ว จึงทำให้มีการสกัดเอา Matrix ออกมาด้วย ส่งผลให้รบกวนการตรวจวิเคราะห์ของเครื่องมือ แต่วิธีที่พัฒนาขึ้นมีศึกษาการใช้ตัวทำลายละลายที่ใช้ในการสกัดยา คือ อะซีโตไนไตรล์ ที่มีคุณสมบัติเป็นสารละลายที่มีขั้วสูงนิยมนำมาประยุกต์ใช้ในการเตรียมตัวอย่างโดยวิธีการสกัดแบบ liquid-liquid extraction กับกระบวนการ Salting-out การสกัดแบบ extraction freezing หรือการสกัดแบบใช้ QuEChERS (Rudakov et al., 2018) ทำให้สามารถสกัดยาออกมาได้อย่างมีประสิทธิภาพ และใช้ตัวทำละลายสกัดร่วม (co–extraction) ที่ใช้กำจัดไขมัน คือตัวทำละลายผสมเฮกเซนต่อปิโตรเลียมอีเทอร์ ที่มีคุณสมบัติเป็นตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วนิยมนำมาใช้ในการสกัดสกัดไขมัน น้ำมันต่าง ๆ จึงทำให้สามารถลด matrix ทำให้เครื่องมือสามารถวิเคราะห์ผลได้ง่ายขึ้น นอกจากนี้ยังช่วยยืดอายุการใช้งานของเครื่องมือตรวจวิเคราะห์ อีกทั้งยังใช้ระยะเวลาในการสกัด และระยะเวลาในการวิเคราะห์ผล ที่สั้นลง จึงสามารถรองรับเคสในปริมาณที่มากได้ ลดปัญหาในกรณีที่สิ่งส่งตรวจมีปริมาณที่น้อยได้ เพราะใช้ตัวอย่างอาหารในกระเพาะเพียง 1 มิลลิลิตร จึงเป็นวิธีที่เหมาะกับงานตรวจพิสูจน์ด้านนิติวิทยาศาสตร์ ซึ่งวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้ยังช่วยลดต้นทุนในการตรวจวิเคราะห์ เนื่องจากใช้ตัวทำละลายสกัดในปริมาตรที่น้อยลง มีความเป็นพิษต่ำต่อสิ่งแวดล้อมและผู้ตรวจวิเคราะห์

ข้อเสนอแนะ

1. งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ยาจากอาหารในกระเพาะ จึงต้องมีการทวนสอบความใช้ได้ของวิธีก่อนนำไปใช้ใช้งานจริง

2. ในการทำวิจัยนี้ได้ศึกษายาและสารเสพติด จำนวน 11 ชนิด ดังนั้นควรศึกษาเพิ่มเติมชนิดอื่นๆ เพื่อให้งานวิจัยมีความครอบคลุมและเป็นประโยชน์ต่อเจ้าหน้าที่ในการสืบสวนสอบสวนคดี ที่เกี่ยวข้องกับเสียชีวิตและเพื่อเป็นประโยชน์ต่องานด้านนิติวิทยาศาสตร์ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณผู้ที่มีส่วนร่วมกับผลงานวิจัยนี้ ทุกท่าน

เอกสารอ้างอิง

จิตนภา วรนิธิกุล. (2561). *หลักการพื้นฐานของเทคนิคแมสสเปกโตรเมตรี.* สืบค้นจาก https://www.scispec.co.th/learning/index.php/blog/chromatography/2018-11-06-05-22-51

เพียรกิจ แดงประเสริฐ. (2559*). การดูดซึมและการเพิ่มชีวประสิทธิผลของยาเตรียมที่ให้ทางปาก.*วิทยาลัยเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต.

ศูนย์เฝ้าระวังการฆ่าตัวตาย. (2565). *ปัญหาการฆ่าตัวตายในคนไทย ปี 2565* . สืบค้นจาก suicide.dmh.go.th/news/files/สรุปผลการวิเคราะห์ข้อมูลปัญหาการฆ่าตัวตายv2.1.pdf

สำนักงานปลัดระทรวงสาธารณสุข. (2561). *คู่มือการดำเนินงานชันสูตรพลิกศพ.*(พิมพ์ครั้งที่1). ISBN 978-616-11-3679-6.

Farajzadeh, M. A., & Abbaspour, M**.** (2018)**.** Development of new extraction method based on liquid–liquid–liquid extraction followed by dispersive liquid–liquid microextraction for extraction of three tricyclic antidepressants in plasma samples. *Journal of Department of Analytical Chemistry. 32(8):e4251.* doi: 10.1002/bmc.4251.

Rudakov, Oleg B. *et al.* (2018)**.** Acetonitrile as Tops Solvent for Liquid Chromatography and Extraction. *Journal of Analytical Chromatography and Spectroscopy.1, DOI:10.24294/jacs.v1i2.883*