

วิธี ATR-FTIR และ GC-MS ในการตรวจหาไซบูทรามินที่ปลอมปนในกาแฟลดน้ำหนัก ATR-FTIR and GC-MS Methods For Detection of Sibutramine Adulterated in Slimming Products of Instant Coffee

สิตานันท์ ปารมีศรีจรรยา*¹ ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง² ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี²
และ ปิยาภา จันทร์มล²

Sitanan Parameesrijanya*¹, Sirirat Choosakoonkriang², Supachai Supalaknari²
and Piyapa Junmon²

¹ สาขานิติวิทยาศาสตร์ ² ภาควิชาเคมีคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ จังหวัดนครปฐม

¹ Forensic Science program, ² Department of Chemistry, Faculty of Science, Silpakorn University, Nakorn Pathom

*E-mail: Parameesrijanya_s@silpakorn.edu โทร. 061-1519224

บทคัดย่อ

ไซบูทรามินจัดเป็นสารปนเปื้อนที่มักพบบ่อยในผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการลดน้ำหนัก วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อนำเอาเทคนิค Attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR) และ Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) มาใช้ในการตรวจวัดไซบูทรามินที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์กาแฟลดน้ำหนัก โดยวิเคราะห์ตัวอย่างกาแฟลดน้ำหนักจำนวน 20 ตัวอย่างที่ถูกซื้อมาจากตลาดท้องถิ่นและร้านค้าออนไลน์ การวิเคราะห์ด้วย ATR-FTIR ที่เลขคลื่น 4000-650 cm⁻¹ สเปกตรัมแสดงพีคที่บ่งบอกถึงลักษณะเฉพาะของสารไซบูทรามินในตัวอย่าง ผลการทดสอบเบื้องต้นที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ATR-FTIR สามารถยืนยันโดยเทคนิค GC-MS โดยระบุมวลต่อประจุ (SIM Mode) ของไซบูทรามินที่ 58, 72, 114 amu ที่เวลาที่สารถูกชะออกมาจากคอลัมน์ที่ 23.997 นาที นอกจากนี้ตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์โดย GC-MS พบว่ามีสารปนเปื้อนด้วยยาระบาย (Bisacodyl) เวลาที่สารถูกชะออกมาจากคอลัมน์ที่ 36.534 นาที และพบยาปฏิชีวนะ (Paromomycin) เวลาที่สารถูกชะออกมาจากคอลัมน์ที่ 6.089 นาที งานวิจัยนี้เป็นการวิเคราะห์เชิงคุณภาพเพื่อตรวจหาสารไซบูทรามินที่ปนเปื้อนในกาแฟสำเร็จรูปที่ใช้ในการลดน้ำหนักด้วย ATR-FTIR และ GC-MS จากผลการวิจัยพบว่าทั้งสองวิธีมีความสามารถในการตรวจหาสารไซบูทรามินและอาจจะนำมาใช้ในทางนิติวิทยาศาสตร์ได้

คำสำคัญ : ไซบูทรามิน ลดน้ำหนัก ATR-FTIR GC-MS

Abstract

One of the most common adulterants: Sibutramine has been found in slimming products. This work aimed to study the application of attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR) and gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) to detect sibutramine in slimming products in the form of Instant coffee. Twenty instant coffee products were acquired from local markets and online stores. At wavenumber 4000-650 cm⁻¹, ATR-FTIR analysis was performed. The mass spectra of the sample indicate a distinct peak for sibutramine. The screening test obtained by ATR-FTIR could be confirmed by GC-MS. The screening was performed on selected ion monitoring mode at 58, 72, and 114 amu (Sibutramine) at a retention time 23.997 minute. Furthermore, laxatives (Bisacodyl) were detected in samples evaluated by GC-MS at a retention time 36.534 minute, while antibiotic (Paromomycin) were detected at a retention time 6.089 minute. This is qualitative investigation using ATR-FTIR and GC-MS to discover sibutramine adulterated in instant

coffee slimming products. Both techniques are capable of detecting sibutramine in slimming Instant coffee, which could be useful in forensic examination.

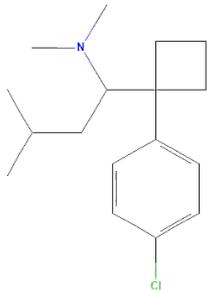
Keywords : sibutramine, slimming, ATR-FTIR, GC-MS

1. บทนำ

ภาวะน้ำหนักเกินหรือโรคอ้วนคือภาวะที่มีการสะสมของไขมันที่ผิดปกติซึ่งส่งผลให้เกิดปัญหาสุขภาพตามมา ซึ่งปัญหาดังกล่าวนี้มีเพิ่มขึ้นในทุก ๆ ปี โดยในแต่ละปีจะมีผู้เสียชีวิตมากกว่า 4 ล้านคน ซึ่งเกิดจากการมีภาวะดังกล่าว ในปี พ.ศ. 2560 ทั่วโลกอัตราการภาวะน้ำหนักเกินและโรคอ้วนยังคงเพิ่มขึ้นทั้งในผู้ใหญ่และเด็ก (World Obesity Federation, 2021) ปัจจุบันคนจำนวนมากให้ความสำคัญกับภาพลักษณ์และรูปร่างสุขภาพดีด้วยการออกกำลังกายและเลือกรับประทานอาหารที่มีประโยชน์ แต่ด้วยภาระเร่งรีบของการประกอบกิจกรรมในแต่ละวัน จึงทำให้เลือกรับประทานอาหารเสริมในรูปแบบกาแฟที่เป็นทางเลือกในการรักษารูปร่าง เพราะโฆษณาชวนเชื่อว่าการดื่มกาแฟสามารถทำให้ลดน้ำหนักได้ ส่งผลให้มีการแข่งขันเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักมากขึ้นทำให้มีผู้ประกอบการบางรายจึงมีการลักลอบใส่สารต้องห้ามลงในผลิตภัณฑ์ ซึ่งสารดังกล่าวนั้นคือ ไสบูทรามิน (Sibutramine) เป็นสารออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลาง ทำให้ลดความอยากอาหารไม่รู้สึกหิวและอึดเร็ว ลักษณะเป็นของแข็งจึงทำให้เป็นที่นิยมในการลักลอบใส่ในอาหารเสริมประเภทต่าง ๆ ผลข้างเคียงที่พบบ่อยทำให้ปากแห้งคอแห้ง ปวดศีรษะ เวียนหัว ท้องผูก ระบบขับถ่ายรวนนอนไม่หลับรู้สึกไม่สบายตัว ความดันสูง เกิดอาการใจสั่นหัวใจเต้นเร็ว ในบางครั้งอาจมีผลข้างเคียงจนถึงขั้นเสียชีวิตได้ (Department of mental health, 2019) ในปี พ.ศ. 2553 ประเทศในยุโรปจึงประกาศยกเลิกการใช้สารไซบูทรามิน รวมทั้งประเทศไทยได้มีการเรียกเก็บยาที่มีการปลอมปนของสารไซบูทรามินออกจากท้องตลาดและยกเลิกทะเบียนยาไซบูทรามิน (Food and drug administration public and consumer affairs division, 2021) สำหรับผลิตภัณฑ์กาแฟลดน้ำหนักที่มีการจำหน่ายทั่วไปในท้องตลาดมักมีการผสมสารที่กระตุ้นการทำงานของระบบเผาผลาญคาร์โบไฮเดรตหรือไขมันในร่างกาย มีการลักลอบเติมด้วยควบคุมหรือสารต้องห้าม เช่น เติมน้ำเกลือ Diuretics ที่มีฤทธิ์ขับปัสสาวะหรือ ผสมสารไซบูทรามิน จากการสำรวจของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา พบว่ามีการปลอมปนในตัวอย่างกาแฟและอาหารเสริมประเภทแคปซูลที่โฆษณาสรรพคุณในการควบคุมน้ำหนัก ซึ่งไม่ได้รับการรับรองเลขทะเบียนมาตรฐาน อย. มีการประกาศห้ามใช้สารดังกล่าวแต่ยังคงมีการนำเข้าหรือลักลอบผลิตเพื่อใช้ผสมในอาหารเสริม และยา (National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards, 2019) ข่าวการเสียชีวิตที่มีสาเหตุจากการรับประทานยาหรืออาหารเสริมลดน้ำหนักส่วนใหญ่พบว่าในยาหรืออาหารเสริมลดน้ำหนักนั้นมีสารไซบูทรามินเป็นส่วนผสม ในปี พ.ศ. 2559-2561 มีผู้ป่วยจากการบริโภคผลิตภัณฑ์อาหารเสริมที่รวมทั้งสิ้น 64 ราย อาการที่พบมากที่สุดคือ ใจสั่น ปากแห้ง คอแห้ง จำนวน 36 ราย รองลงมาคือ นอนไม่หลับฝันร้ายจำนวน 18 ราย และอาการที่ต้องได้รับการรักษาในโรงพยาบาล ได้แก่ อาการคลื่นคลื่นหมดสติจำนวน 5 ราย (Kanthamun, 2019) รายงานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ช่วงในปี พ.ศ. 2556-2559 มีการตรวจผลิตภัณฑ์กาแฟลดน้ำหนัก 344 ตัวอย่าง และผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร 849 ตัวอย่าง พบสารไซบูทรามินในผลิตภัณฑ์กาแฟลดน้ำหนัก 47 และผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร 163 ตัวอย่าง และปี พ.ศ. 2560 มีการตรวจในผลิตภัณฑ์อาหารเสริม 72 ตัวอย่าง พบสารไซบูทรามินถึง 13 ตัวอย่าง ปัญหาการเสียชีวิตจากการบริโภคผลิตภัณฑ์อาหารเสริมลดน้ำหนักในช่วงปี พ.ศ. 2556-2561 มีการติดตามจากสื่อต่าง ๆ ร่วมกับมีการสืบค้นย้อนกลับพบว่า มีผู้เสียชีวิต 13 ราย และบางรายสรุปอย่างสาเหตุชัดเจนว่าเกิดจากจากสารไซบูทรามินแน่นอน (Kiatyingangsulee, 2019)

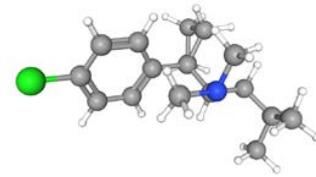
จากการศึกษาอาหารเสริมลดน้ำหนักชนิดสมุนไพรที่มีจำหน่ายในประเทศอิหร่าน โดยใช้เทคนิค GC-MS และ LC-MS พบว่ามีการเจือปนของสารไซบูทรามิน ซึ่งเป็นสารที่ส่งผลกระทบต่อการทำงานของจิตและอารมณ์ เกี่ยวข้องกับระบบหัวใจและหลอดเลือด ทำให้เกิดภาวะหัวใจล้มเหลว และเสียชีวิตอย่างกะทันหัน และยังพบยาฟีนอล์ฟทาไลน์ (Phenolphthalein) ซึ่งออกฤทธิ์เป็นยาระบาย และอาจส่งผลต่อการก่อโรคมะเร็งในร่างกาย รวมทั้งยังพบบูมิทาโนด์

(Bumetanide) ที่ออกฤทธิ์เป็นยาขับปัสสาวะ รวมถึงการใช้สารคาเฟอีน (Caffeine) ร่วมกับสารกระตุ้นประเภทอื่น (Khazan et al., 2014) มีการศึกษาผู้บริโภคนยาสมุนไพรจีน หลังจากบริโภค 1 สัปดาห์ เกิดอาการปวดหัวรุนแรง เวียนศีรษะ รู้สึกชา ได้มีการตรวจ GC-MS และ HPLC-DAD ในยาแคปซูลและปัสสาวะพบสารไซบูทรามิน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารไซบูทรามินส่งผลข้างเคียงที่รุนแรงและอาจนำไปสู่การเสียชีวิต (Jung and Weinmann, 2006) จากการศึกษาของ Deconinck et al. (2014) พบว่าการใช้เทคนิค Attenuated total reflectance-infrared spectroscopy (ATR-IR) ร่วมกับวิธีการวิเคราะห์ข้อมูล k-Nearest Neighbors (k-NN) สามารถตรวจวิเคราะห์สารไซบูทรามินที่เจือปนในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมได้



ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของไซบูทรามิน

ที่มา: PubChem



ภาพที่ 2 แบบจำลองโครงสร้างทางเคมีของ

ไซบูทรามิน ที่มา: PubChem

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ATR-FTIR spectroscopy จากโครงสร้างของไซบูทรามินที่ประกอบด้วย $C_{17}H_{26}ClN$ โดยเปรียบเทียบสเปกตรัมของผลิตภัณฑ์อาหารเสริมกับสเปกตรัมของสารไซบูทรามินบริสุทธิ์พบว่าที่เลขคลื่นบริเวณ 821 cm^{-1} พบว่า มีการสั่นสะเทือนกันของพันธะ CH ของวง aromatic มีการบิดงอออกนอกระนาบ และการสั่นบนระนาบเดียวกันของพันธะ CH aromatic ที่เลขคลื่นบริเวณ 1011 cm^{-1} , ส่วนที่เลขคลื่นบริเวณ 1307 cm^{-1} คือ หมู่ฟังก์ชัน isobutyl และ ที่เลขคลื่นบริเวณ 1428 cm^{-1} คือ หมู่ฟังก์ชัน NCH_3 และมีการเมื่อใช้เทคนิค Gas Chromatography-Mass spectrometer (GC-MS) เพื่อยืนยันผลลัพธ์ที่ได้จากเทคนิค ATR-FTIR จากวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมพบว่ามีสารไซบูทรามินและสารฟลูออกซีทีน (Fluoxetine) ซึ่งเป็นสารในกลุ่มยากดประสาทเป็นส่วนใหญ่ (Popescu et al., 2015) และจากงานวิจัยของ Cebi et al. (2017) การใช้เทคนิค ATR-FTIR ในการวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารเสริมประเภทชาเขียว กาแฟ และชาสมุนไพร เปรียบเทียบที่เลขคลื่นในช่วง $2746\text{--}2656\text{ cm}^{-1}$ ร่วมกับการวิเคราะห์จำแนกกลุ่มตัวอย่างโดยใช้การวิเคราะห์ Hierarchical Cluster Analysis (HCA) เป็นการจัดกลุ่มแบบลำดับขั้นจากการทดสอบแสดงผลออกมาในรูปแบบ dendrogram ซึ่งพบว่าสามารถแยกตัวอย่างที่มีการเจือปนและไม่เจือปนออกจากกันได้ และ การวิเคราะห์ Principal Component Analysis (PCA) จากการวิเคราะห์องค์ประกอบหลักถูกนำเสนอในรูปแบบของภาพสามมิติมีการแสดงกระจายตัวแบ่งออกเป็นสองกลุ่มอย่างชัดเจนระหว่างตัวอย่างที่มีการเจือปนและไม่เจือปนของสารไซบูทรามิน จากการทดลองแม้จะมีสารอยู่เพียง 0.375 มิลลิกรัมก็สามารถตรวจพบสารไซบูทรามินได้ Lanzarotta et al. (2018) กล่าวว่าเทคนิค ATR-FTIR เป็นเทคนิคที่วิเคราะห์ได้รวดเร็ว ใช้งานง่าย ไม่เปลืองสารเคมี และการวิเคราะห์ด้วยวิธี Gas Chromatography-Fourier Transform Infrared Spectroscopy (GC-FTIR) สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งด้านคุณภาพและปริมาณ ลดการใช้ทรัพยากร มีความแม่นยำและความไวมากกว่าการใช้วิธี High-Performance Liquid Chromatography (HPLC)

ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจในการวิเคราะห์สารไซบูทรามินที่อาจจะเจือปนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารประเภทกาแฟลดน้ำหนัก โดยการใช้วิธี ATR-FTIR ร่วมกับ GC-MS และนำไปสู่การใช้วิธีดังกล่าวในการวิเคราะห์สารไซบูทรามินที่อาจเจือปนอยู่ในผลิตภัณฑ์ทั่วไปที่มีการจำหน่ายอยู่ตามท้องตลาด เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับผู้บริโภคในการหลีกเลี่ยงการบริโภคผลิตภัณฑ์นั้น ที่อาจส่งผลในการก่อเกิดโรคในร่างกาย หรืออันตรายถึงชีวิตได้

2. วิธีการศึกษา

2.1 สารเคมี และตัวอย่าง

สารเคมีประกอบด้วย Acetone และ Methanol เกรด Hplc ยี่ห้อ RCI Labscan ใช้เป็นตัวทำละลาย และตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารเสริมประเภทกาแฟซื้อจากท้องตลาดและช่องทางออนไลน์ ประกอบด้วยตัวอย่างกาแฟลดน้ำหนัก C01-C20 จำนวน 20 ตัวอย่าง

2.2 การวิเคราะห์ด้วยวิธี Attenuated total reflectance-infrared spectroscopy (ATR-FTIR)

การวิเคราะห์ด้วยวิธี ATR-FTIR ใช้เครื่อง FT-IR Spectrometer รุ่น Frontier ประกอบด้วย FT-IR Microscope รุ่น Spotlight 200i จากบริษัท Perkin Elmer ตั้งค่าช่วงสเปกตรัมการวิเคราะห์ที่เลขคลื่น $4000-650\text{ cm}^{-1}$ ความละเอียดในการสแกน (resolution) 4 cm^{-1} และสแกนตัวอย่างจำนวน 16 ครั้งต่อตัวอย่าง (Cebi, Yilmaz, and Sagdic, 2017) การเตรียมตัวอย่างทำได้โดยบดตัวอย่างให้ละเอียด แล้วนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ATR-FTIR ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ทุกตัวอย่าง

2.3 วิธีการวิเคราะห์ Gas Chromatography-Mass spectrometer (GC-MS)

วิเคราะห์โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ (Gas Chromatography-Flame ionization Detector/Mass spectrometer) รุ่น Trace 1300 GC จากบริษัท Thermo scientific ประกอบกับคอลัมน์ TG-5MS GC Columns ($30\text{ m} \times 0.25\text{ mm} \times 0.25\text{ }\mu\text{m}$) มีสภาวะการทดลองที่ใช้กับเทคนิค GC-MS ดังนี้ อุณหภูมิบริเวณฉีดสารตัวอย่าง (Injector) 280 องศาเซลเซียส ตั้งอัตราการนำสารเข้า (Split ratio) ที่ 100 ใช้แก๊สฮีเลียมเป็นแก๊สสำหรับพาสารตัวอย่างเข้าคอลัมน์ไปจนถึงตัวตรวจวิเคราะห์ อัตราการไหล (Flow rate) 1 มิลลิลิตรต่อนาที ตั้ง Solvent Delay 3 นาที และตั้งอุณหภูมิคอลัมน์ที่ 150 องศาเซลเซียส คงไว้ 20 นาที เพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นจาก 150 ถึง 280 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 10 องศาเซลเซียส/นาที แล้วคงที่อุณหภูมิที่ 280 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ปริมาณสารที่ฉีดเข้าคอลัมน์มีปริมาตร 1 ไมโครลิตร ตั้งอุณหภูมิส่วนของสารผ่านระหว่างเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีกับเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์ (Transfer Line) และบริเวณที่เกิดไอออน (Ion Source) ที่ 280 องศาเซลเซียส วิธีที่ทำให้ไอออนของสารกลายเป็นไอออนคือ Electron Ionization (EI) ซึ่งตั้งค่าพลังงานอยู่ที่ 70 eV ค่ามวลต่อประจุ (m/z) ที่ใช้วิเคราะห์อยู่ในช่วง 40-500 amu และ SIM Mode (Sibutramine=58, 72, 114 amu) ตั้งค่าอัตราการวิเคราะห์ข้อมูลอยู่ที่ 2 spectra/s โดยเส้นสเปกตรัมจะเทียบกับโปรแกรม National Institute of Standards and Technology (NIST) รุ่น 2.3 เพื่อใช้เปรียบเทียบรูปแบบการแตกมวลของสารตัวอย่างกับข้อมูลของสารที่มีอยู่ในโปรแกรม (Popescu et al., 2015)

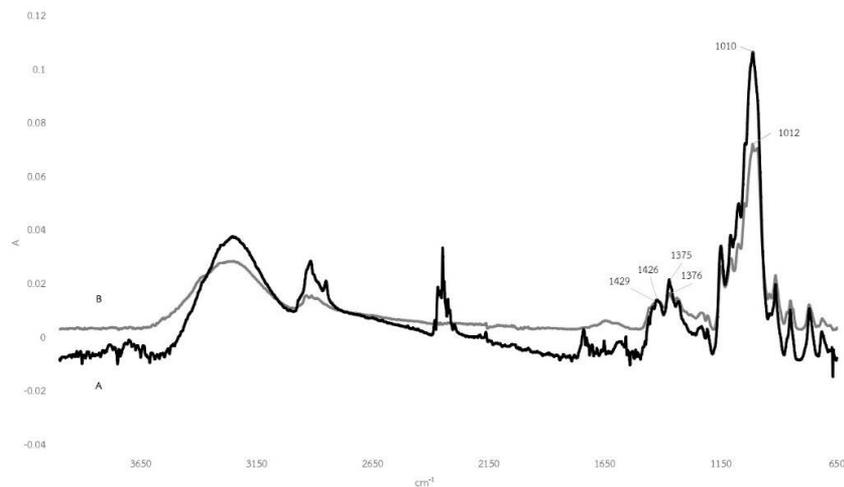
การเตรียมตัวอย่างบดตัวอย่างให้ละเอียดซึ่งตัวอย่าง 5 กรัม ผสมกับตัวทำละลาย Methanol ปริมาตร 15 มิลลิลิตร นำไปผสมให้เข้ากันด้วยการสั่นด้วยเครื่องอัลตราโซนิก ยี่ห้อ Crest Ultrasonics เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง Centrifuge ยี่ห้อ Rotina 380R ที่ความเร็วรอบ 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนใสด้านบนนำไปให้ความร้อนเพื่อระเหยตัวทำละลายออกให้เหลือปริมาตรสุดท้าย 1 มิลลิลิตร กรองผ่าน Membrane filter nylon ขนาดรูพรุน 0.22 ไมครอน ทำการเจือจางสารละลายตัวอย่างที่ได้ 10 เท่า จากนั้นนำตัวอย่างที่ผ่านการเตรียมไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS ตามสภาวะการทดลองที่กำหนด

3. ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

3.1 การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FTIR

จากการศึกษาผลิตภัณฑ์กาแฟลดน้ำหนักจำนวน 20 ตัวอย่างพบว่าในตัวอย่างกาแฟลดน้ำหนัก C06 และตัวอย่างกาแฟลดน้ำหนัก C18 พบสารไซบูทรามิน เมื่อทำการเปรียบเทียบกับเอกสารงานวิจัยของ Cebi et al. (2017) ตำแหน่งสเปกตรัม ATR-FTIR ของไซบูทรามินที่สำคัญคือพีคที่ 3418 cm^{-1} ที่เกิดจากพันธะ O-H ในระหว่างช่วงเลขคลื่น 3000 ถึง 2500 cm^{-1} เป็นการยึดกันของหมู่ฟังก์ชัน CH₃, CH₂ และ CH ซึ่งบริเวณเลขคลื่นที่ 2700 ถึง 2330 cm^{-1} เป็นผล

มาจากการยืดตัวของหมู่ฟังก์ชัน NH^+ จากงานวิจัยพบพีคที่ 2698 cm^{-1} เป็นจุดสำคัญที่เกิดการยืดกันของพันธะ N-H และ ที่บริเวณ 821 และ 833 cm^{-1} เกิดจากการสั่นของพันธะ CH ที่มีการบิดงอในแนวระนาบของวง aromatic และที่บริเวณ 1010 cm^{-1} การสั่นบนระนาบของพันธะ CH ของวง aromatic ที่จุดพีค 1370 cm^{-1} เกิดสั่นของกลุ่มฟังก์ชัน isobutyl ที่เกิดการดัดงอ บริเวณพีคที่ 1407 และ 1428 cm^{-1} พบการสั่นที่เกิดจากการดัดงอของ N-CH_3 และที่บริเวณจุดที่ 1491 cm^{-1} เป็นการสั่นของวงแหวน aromatic ที่เกิดการยืดกันของ C=C ซึ่งจากการทดลองของ Popescu et al. (2015) ได้ทำการเปรียบเทียบตำแหน่งที่สำคัญทั้งหมดที่ 4 จุดคือ 821 , 1011 , 1370 และ 1428 cm^{-1} ในการเปรียบเทียบสารไซบูทรามีนกับตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์



ภาพที่ 3 ATR-FTIR spectrum บริเวณอินฟราเรดกลางช่วงความยาวคลื่น $4000\text{--}650 \text{ cm}^{-1}$

A) ตัวอย่างกาแฟลดน้ำหนัก C06 และ B) ตัวอย่างกาแฟลดน้ำหนัก C18

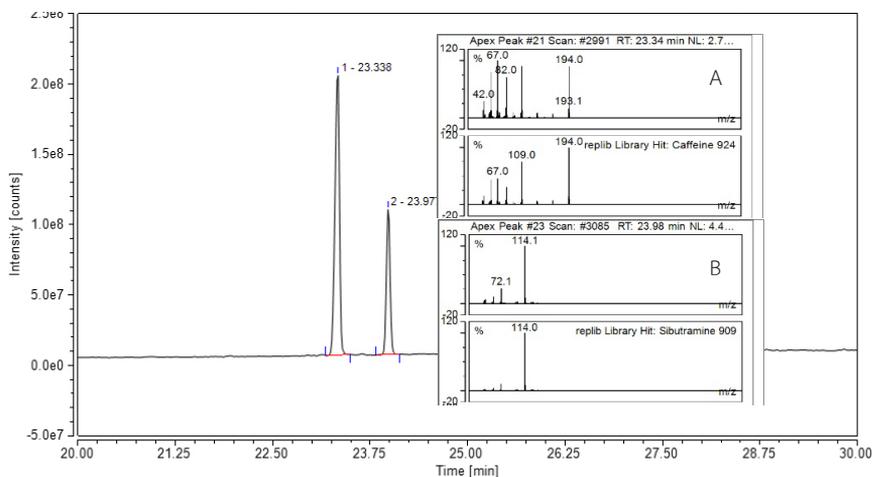
จากภาพที่ 3 แสดงสเปกตรัม ATR-FTIR บริเวณอินฟราเรดกลางช่วงความยาวคลื่น $4000\text{--}650 \text{ cm}^{-1}$ จุดสำคัญในตัวอย่างกาแฟลดน้ำหนัก C06 พบว่ามีพีค 1426 cm^{-1} ที่เกิดจากบิดงอของกลุ่มฟังก์ชัน NCH_3 มีการบิดงอของกลุ่มของ isobutyl ที่จุด 1376 cm^{-1} และการสั่นของพันธะ CH ของวง aromatic ที่จุด 1010 cm^{-1} และ ในตัวอย่างกาแฟลดน้ำหนัก C18 พบพีค 1429 , 1375 และ 1012 cm^{-1} ซึ่งใกล้เคียงกับจุดสำคัญบนสเปกตรัม ATR-FTIR ไซบูทรามีนของ Popescu et al. (2015) เปรียบเทียบพีคโดยการอ้างอิงตำแหน่งพีคที่สำคัญ 3 จุดคือ 1428 , 1370 และ 1011 cm^{-1} อาจสันนิษฐานได้ว่าในตัวอย่างที่ตรวจมีการปลอมปนของสารไซบูทรามีน จากการวิเคราะห์พบว่ามีการรบกวนของส่วนประกอบที่ถูกเติมในตัวอย่าง เนื่องจากตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจคือกาแฟสำเร็จรูปทำให้ค่าที่ได้จากการทดลองในบริเวณช่วงที่ 4000 ถึง 2100 cm^{-1} แสดงค่าของพีคที่ใกล้เคียงกันจึงทำให้ไม่สามารถนำมาใช้ในระบุการมีอยู่ของสารไซบูทรามีนได้

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ATR-FTIR จากการเปรียบเทียบจุดสำคัญของสารไซบูทรามีนกับตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารเสริมประเภทกาแฟจำนวน 20 ตัวอย่าง พบว่ามี 2 ตัวอย่างที่จุดสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับตำแหน่งอ้างอิงจากงานวิจัยของ Popescu et al. (2015) ทำให้คาดว่าเป็นสารไซบูทรามีนปลอมปนอยู่ในตัวอย่าง ต่อมาผู้วิจัยได้เตรียมตัวอย่างทั้ง 20 ตัวอย่างเพื่อทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS เพื่อยืนยันความถูกต้องในการพบสารไซบูทรามีนในตัวอย่าง

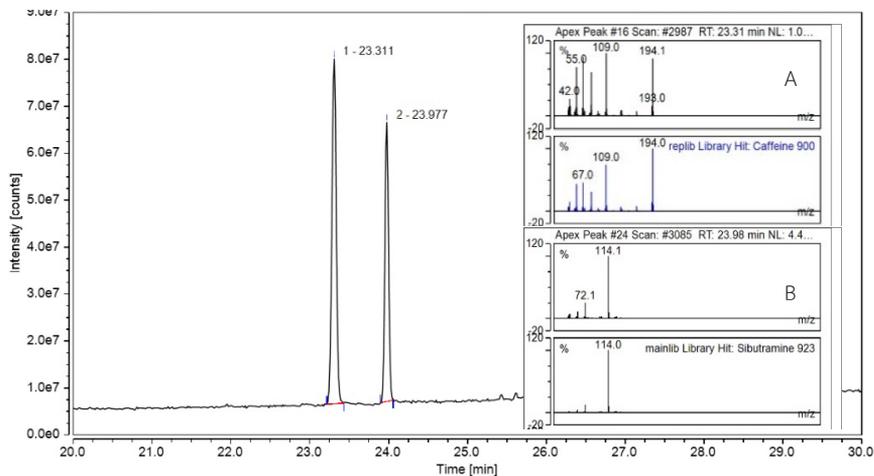
3.2 การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS

จากการศึกษาโดยการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี GC-MS จากผลิตภัณฑ์กาแฟลดน้ำหนักรวม 20 ตัวอย่าง ตรวจพบสารไซบูทรามีนในผลิตภัณฑ์กาแฟลดน้ำหนักรวม 2 ตัวอย่าง จากภาพที่ 4 แสดง Total Ion Chromatogram ที่เวลา $20.0\text{--}30.0$ นาที ของตัวอย่างกาแฟลดน้ำหนัก C06 พบคาเฟอีน (Caffeine) เวลาที่สารถูกชะออกมาจากคอลัมน์

ที่ 23.338 นาที จากภาพที่ 4A แสดงการเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างกับข้อมูลจากฐานข้อมูลโปรแกรม National Institute of Standards and Technology (NIST) และพบสารไซบูทรามินเวลาที่สารถูกชะออกมาจากคอลัมน์ที่ 23.997 นาที ดังภาพที่ 4B ซึ่งแสดงถึงการเปรียบเทียบกับการแตกมวลของสารตัวอย่างกับข้อมูลของสารที่มีอยู่ในโปรแกรม NIST โดยใช้ Selective Ion Monitoring Mode (SIM) ซึ่ง Mass Spectrum ของสารไซบูทรามิน คือ 58, 72 และ 114 (Khazan et al., 2014) จากภาพที่ 5 แสดง Total Ion Chromatogram ที่เวลา 20.0-30.0 นาที ของตัวอย่างกาแฟลดน้ำหนัก C18 พบคาเฟอีนเวลาที่สารถูกชะออกมาจากคอลัมน์ที่ 23.311 นาที ดังภาพที่ 5A มีการเปรียบเทียบของตัวอย่างกับข้อมูลที่มีอยู่ในฐานข้อมูลของโปรแกรม NIST ภาพที่ 5B เป็นการแสดงการเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างกับสารไซบูทรามินที่ถูพบเวลาที่สารถูกชะออกมาจากคอลัมน์ที่ 23.997 นาที

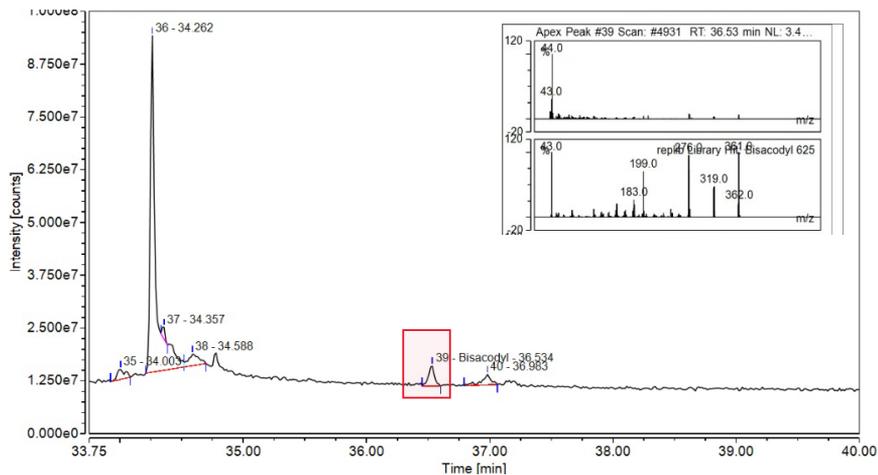


ภาพที่ 4 แสดง Total Ion Chromatogram ของตัวอย่างกาแฟลดน้ำหนัก C06 ที่เวลา 3.0-48.0 นาที A) สารคาเฟอีนถูกชะออกมาจากคอลัมน์ที่เวลา 23.338 นาที และ B) สารไซบูทรามินถูกชะออกมาจากคอลัมน์ที่เวลา 23.997 นาที

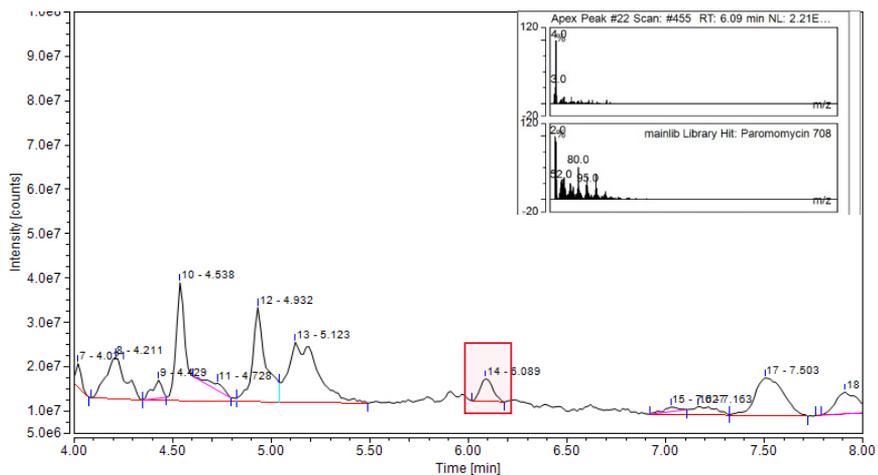


ภาพที่ 5 แสดง Total Ion Chromatogram ของตัวอย่างกาแฟลดน้ำหนัก C18 ที่เวลา 3.0-48.0 นาที A) สารคาเฟอีนถูกชะออกมาจากคอลัมน์ที่เวลา 23.311 นาที และ B) สารไซบูทรามินถูกชะออกมาจากคอลัมน์ที่เวลา 23.997 นาที

เนื่องจากตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบทั้งหมดคือ ผลิตภัณฑ์ประเภทกาแฟทำให้พบพีคของคาเฟอีน ดังภาพที่ 4A ในตัวอย่าง C06 เวลาที่สารถูกชะออกมาจากคอลัมน์ที่ 23.338 นาที และภาพที่ 5A ในตัวอย่าง C18 เวลาที่สารถูกชะออกมาจากคอลัมน์ที่ 23.311 นาที เป็นภาพแสดงสเปกตรัมการแตกมวลของสารตัวอย่างและสเปกตรัมการแตกมวลของคาเฟอีนที่ได้จากการวิเคราะห์เทียบกับข้อมูลที่มีอยู่ในฐานของโปรแกรม NIST



ภาพที่ 6 แสดง Total Ion Chromatogram ของตัวอย่างกาแฟลดน้ำหนัก C07 ที่เวลา 3.0-48.0 นาที สารบิซาโคดีลถูกชะออกมาจากคอลัมน์ที่เวลา 36.534 นาที



ภาพที่ 7 แสดง Total Ion Chromatogram ของตัวอย่างกาแฟลดน้ำหนัก C19 ที่เวลา 3.0-48.0 นาที สารพารอมัยซินถูกชะออกมาจากคอลัมน์ที่เวลา 6.089 นาที

จากภาพที่ 6 ตรวจพบสารปลอมปนในตัวอย่างกาแฟ C07 เวลาที่สารถูกชะออกมาจากคอลัมน์ที่ 36.534 นาที จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี GC-MS ได้มีการเปรียบเทียบสเปกตรัมของตัวอย่างที่ได้จากการวิเคราะห์กับสเปกตรัมจากโปรแกรม NIST พบว่าเป็นสารบิซาโคดีล (Bisacodyl) ซึ่งเป็นยาระบายแก้ท้องผูก โดยออกฤทธิ์กระตุ้นการบีบตัวของลำไส้แล้วเกิดการขับถ่าย ปัจจุบันมีการลักลอบใส่ในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมอ้างว่าช่วยลดความอ้วนได้ซึ่งการกินยาระบายจะทำให้ร่างกายเสียสมดุล จัดอยู่ในยาบัญชี ก เป็นยามาตรฐานที่ใช้ในการป้องกันและแก้ไขปัญหาสุขภาพในประเทศไทย มีการอนุญาตให้ใช้เป็นยาที่ใช้เฉพาะโรคนั้นเท่านั้น (National Drug Information, 2021) และในตัวอย่างกาแฟ C19 จากภาพที่ 7 แสดงเวลาที่สารถูกชะออกมาจากคอลัมน์ที่ 6.089 นาที จากการวิเคราะห์พบสารพารอมัยซิน

(Paromomycin) จัดเป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่ม Aminoglycoside ใช้ในการรักษาการติดเชื้อของลำไส้ และการรักษาโรค Leishmaniasis ที่เกี่ยวกับอวัยวะภายใน (Coser et al., 2020)

4. สรุปผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์กาแฟลดน้ำหนักจำนวน 20 ตัวอย่าง พบสารไซบูทรามินปลอมปนอยู่ 2 ตัวอย่าง คิดเป็น 10 % จากทั้งหมด โดยวิธีการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ATR-FTIR จากสเปกตรัมของตัวอย่างมีพีคที่สำคัญใกล้เคียงกับสเปกตรัมของ Sibutramine สอดคล้องกับงานวิจัยของ Popescu et al. (2015) และ Cebi et al. (2017) ที่พบตำแหน่งพีคที่สำคัญใกล้เคียงกันซึ่งสันนิษฐานได้ว่าเป็นสารไซบูทรามิน และเมื่อใช้เทคนิคการตรวจวิเคราะห์ด้วย GC-MS ในการยืนยันพบว่าในตัวอย่างมีการปลอมปนของสารไซบูทรามินอยู่จริง จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ATR-FTIR เทคนิคนี้สามารถใช้ในการตรวจสอบเบื้องต้นได้ เนื่องจากเป็นวิธีที่รวดเร็ว และใช้ตัวอย่างในการวิเคราะห์เพียงเล็กน้อย เพื่อระบุสารต้องสงสัยหากต้องการความแม่นยำมากขึ้นควรมีสารมาตรฐานที่คาดว่าจะเป็นสารต้องสงสัยเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบค่าที่ได้จากสเปกตรัม ATR-FTIR ของสารตัวอย่างกับสารต้องสงสัย อีกทั้งยังทำงานร่วมกับเทคนิค GC-MS ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เหมาะสมในการนำไปใช้ช่วยตรวจสอบ และพิสูจน์สารอันตรายหรือสารต้องห้ามที่ปลอมปนในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นหลักฐานทางนิติวิทยาศาสตร์ในชั้นศาลได้

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับความอนุเคราะห์การใช้เครื่องมือ และอุปกรณ์สำหรับการทดลองจากภาควิชา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ขอขอบคุณคณะอาจารย์ที่ให้ความช่วยเหลือ และสนับสนุนแก่ผู้ทำวิจัย

5. เอกสารอ้างอิง

- Coser, E. M., B. A. Ferreira, N. Branco, E. H. Yamashiro-Kanashiro, J. A. L. Lindoso, A. C. J. I. J. f. P. D. Coelho and D. Resistance. 2020. **Activity of paromomycin against Leishmania amazonensis: Direct correlation between susceptibility in vitro and the treatment outcome in vivo.** International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance. 14: 91-98.
- Cebi, N., M. T. Yilmaz and O. J. F. C Sagdic. 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.
- Deconinck, E., T. Cauwenbergh, J. Bothy, D. Custers, P. Courselle, J. J. J. o. p. De Beer and B. Analysis. 2014. **Detection of sibutramine in adulterated dietary supplements using attenuated total reflectance-infrared spectroscopy.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 100: 279-283.
- Department of mental health. 2019. **Toxic sibutramine a dangerous substance found in weight loss pills.** <https://www.dmh.go.th/news-dmh/view.asp?id=29829>. Accessed 31 May. 2022. [In Thai]
- Food and drug administration public and consumer affairs division. 2021. **Bisacodyl, laxative and drug misuse.** <https://dlink.me/etgCb>. Accessed 4 Jun. 2021. [In Thai]
- Jung, J., M. Hermanns-Clausen and W. J. F. s. i. Weinmann. 2006. **Anorectic sibutramine detected in a Chinese herbal drug for weight loss.** Forensic Science International. 161(2-3): 221-222.
- Kanthamun, Chatuphol. 2019. **The dangers of dietary supplements containing sibutramine: a case study: Pluak Daeng Hospital Rayong Province.** Ya-wiphak. 10(39): 39-42. [In Thai]

- Khazan, M., M. Hedayati, F. Kobarfard, S. Askari and F. J. I. R. C. M. J Azizi. 2014. **Identification and determination of synthetic pharmaceuticals as adulterants in eight common herbal weight loss supplements.** Iranian Red Crescent Medical Journal. 16(3).
- Kiatyingangsulee, Niyada. 2019. **Magic Skin and Lean: A ‘breaking abscess’ reflects a dietary supplement regimen problem.** Ya-wiphak. 10(39): 43-58. [In Thai]
- Lanzarotta, A., L. Lorenz, S. Voelker, T. M. Falconer and J. S. J. A. s. Batson. 2018. **Forensic drug identification, confirmation, and quantification using fully integrated gas Chromatography with fourier transform Infrared and mass spectrometric detection (GC-FT-IR-MS).** SAGE journals. 72(5): 750-756.
- National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards. 2019. **Sibutramine Harmful substances in coffee lose weight.** <https://warning.acfs.go.th/th/articles-and-research/view/?page=24>. Accessed 14 Dec. 2021. [In Thai]
- National Drug Information. 2021. **Thailand National List of Essential Medicines (NLEM).** http://ndi.fda.moph.go.th/uploads/file_news/20210723999860392.pdf. Accessed 14 Dec. 2021 [In Thai]
- Popescu, A. M., G. L. J. U. S. B. Radu, Series B: Chemistry and M. Science. 2015. **Detection of adulterants by FTIR and GC-MS in herbal slimming food supplements.** UPB Scientific Bulletin, Series B: Chemistry and Materials Science. 77(4): 221-230.
- PubChem. **Sibutramine.** <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sibutramine>. Accessed 31 May. 2022.
- World Obesity Federation. 2021. **Obesity and overweight.** <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>. Accessed 14 Dec. 2021.

(Received: x/Xxx/20xx, Revised: x/Xxx/20xx, Accepted: x/Xxx/20xx)