

**การหาปริมาณและชนิดแอลกอฮอล์ในยาธาตุน้ำแดง และยาขับลม
โดยวิธีแกสโครมาโทกราฟีร่วมกับแมสสเปคโตรเมตรี**

คำนำ

ปัจจุบันปัญหายาและสุขภาพเป็นปัญหาสำคัญเร่งด่วนประเด็นหนึ่งที่รัฐบาลควรได้ตระหนัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งการบริโภคยาบรรจสุเสร็จ ซึ่งรวมทั้งยาสามัญประจำบ้าน และยาดำราหลวง ซึ่งเป็นหมวดยาที่ประชาชนสามารถหาซื้อได้ง่ายตามร้านขายยา หรือแม้กระทั่งร้านค้าของชำทั่วไป ในขณะที่ภาครัฐไม่ได้ให้ความสนใจ หรือเข้มงวดกวดขันเท่าที่ควรในการตรวจสอบและควบคุมคุณภาพ ตลอดจนวิธีการบริหารยา (Dosage and Administration) เหล่านี้ เมื่อเทียบกับยาประเภทอื่น ๆ อาทิ ยาอันตราย ยาควบคุมพิเศษ เป็นต้น ทั้งนี้อาจเนื่องเพราะเหตุว่าได้จัดรายการยาในหมวดยาบรรจสุเสร็จเป็นกลุ่มยาที่ค่อนข้างจะปลอดภัย และก่อให้เกิดอันตรายได้น้อยในการบริโภค ทำให้ประชาชนใช้ยาผิดข้อบ่งใช้ (Indication) อย่างกว้างขวาง ดังที่พบเห็นได้ทั่วไปในชีวิตประจำวัน

ยาธาตุน้ำแดง และยาขับลม เป็นยาบรรจสุเสร็จรายการหนึ่งที่ประชาชนมีอัตราการบริโภคค่อนข้างสูง ผู้จำหน่ายหลายชื่อการค้าในท้องตลาด ยาเหล่านี้มักมีแอลกอฮอล์เป็นส่วนผสมอยู่ในปริมาณค่อนข้างสูง ซึ่งพบว่า เป็นสาเหตุให้ประชาชนเกิดอาการของการติดแอลกอฮอล์ในยาประเภทนี้ได้ นอกจากนี้จากการวิเคราะห์เบื้องต้นเพื่อหาปริมาณส่วนประกอบต่าง ๆ ในตัวอย่างยาธาตุน้ำแดง และยาขับลม พบว่า นอกจากจะมีแอลกอฮอล์เป็นส่วนผสมในปริมาณค่อนข้างสูงแล้วยังพบอีกว่า มีปริมาณแคมเฟอร์ (camphor) ซึ่งเป็นสารที่มักเติมเป็นส่วนประกอบในยาประเภทนี้ มากกว่าที่ระบุในฉลากอย่างมาก

การวิจัยชนิดและปริมาณแอลกอฮอล์สามารถทำได้หลายวิธี วิธีที่กำลังได้รับความนิยมและให้ความถูกต้องสูงในปัจจุบันคือ วิธีแกสโครมาโทกราฟี หลายหน่วยงานได้ให้ความสนใจในการศึกษาหาปริมาณเมทานอล และเอทานอล ในเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ผสม (Alcoholic Beverages) ตลอดจนตำรับยาแผนโบราณพื้นบ้าน อันได้แก่ ยาดอกเหล้า¹ อย่างกว้างขวาง อย่างไรก็ตามการใช้แกสโครมาโทกราฟีร่วมกับแมสสเปคโตรเมตรี จะช่วยยืนยันผลการตรวจวิเคราะห์ได้ดียิ่งขึ้น ยาบรรจสุเสร็จประเภทยาธาตุน้ำแดง และยาขับลมเป็นอีกรายการหนึ่งที่ประชาชนมีอัตราการบริโภคค่อนข้างสูง จึงควรได้ทำการศึกษาวิจัย เพื่อให้ได้ข้อมูลที่สามารใช้เป็นแนวทางในการหามาตรการในการคุ้มครองผู้บริโภคทางด้านข้างต้นก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพและความปลอดภัยต่อสุขภาพของประชาชนโดยตรง

ดังนั้น การศึกษาวิจัยนี้จึงเป็นการตรวจสอบคุณภาพของยาบรรจสุเสร็จประเภทยาธาตุน้ำแดง และยาขับลม ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด เพื่อเป็นแนวทางให้ภาครัฐตระหนักถึงมาตรการในการ

ตรวจสอบ และควบคุมคุณภาพยาบรรจุกึ่งตลอดจนหาบดทอนต่าง ๆ เพื่อให้เกิดความปลอดภัย เป็นธรรม และประโยชน์สูงสุดแก่ประชาชนผู้บริโภค

วัตถุประสงค์ของโครงการ คือ เพื่อวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณแอลกอฮอล์ที่เป็นส่วนประกอบใน ตำรับยาชาตุน้ำแดง และยาขับลมที่มีจำหน่ายในท้องตลาด และเพื่อวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์แอมเฟอรัลที่มีอยู่จริงในตำรับเปรียบเทียบกับปริมาณแอมเฟอรัลที่ฉลากระบุ (%LABELLED AMOUNT) ใน ตำรับยาชาตุน้ำแดงและยาขับลมที่มีจำหน่ายในท้องตลาด

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับมีดังนี้คือ

1. ทราบชนิดและปริมาณของแอลกอฮอล์ที่เป็นส่วนผสมในยาชาตุน้ำแดงและยาขับลม ตำรับต่างๆ ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด
2. ทราบเปอร์เซ็นต์ของปริมาณแอมเฟอรัลที่มีอยู่จริงในตำรับ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณที่ระบุบน ฉลากของยาชาตุน้ำแดงและยาขับลมตำรับต่างๆ ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด
3. เป็นแนวทางให้ประชาชนในการเลือกซื้อยาชาตุน้ำแดง และยาขับลมได้อย่างถูกต้อง และ ยุติธรรม
4. ให้ภาครัฐตระหนักถึงมาตรการในการควบคุมตรวจสอบคุณภาพมาตรฐานยาบรรจุกึ่ง ตลอด จนบดทอนต่าง ๆ เพื่อให้บังเกิดความยุติธรรม ปลอดภัยและประโยชน์สูงสุดแก่ผู้บริโภค

วัสดุและอุปกรณ์

ใช้แกสโครมาโทกราฟฟีอี่ห้อ Hewlett packard รุ่น HP6890 ร่วมกับเครื่องตรวจวัด FID และแกสโครมาโทกราฟฟีอี่ห้อ Fisons Instruments โดย GC เป็นรุ่น 8000 Series ร่วมกับเครื่อง ตรวจวัดแมสสเปกโตรเมตรี รุ่น MD800 คอลัมน์เป็น HP wax Bonded Polyethylene glycol capillary ความยาว 30 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลางภายนอก 0.25 mm ความหนาของฟิล์ม 0.5 μm แก๊สพา ใช้ไนโตรเจนและฮีเลียมชนิดบริสุทธิ์สูง สารเคมีทุกชนิดที่ใช้เป็นชนิด AR หรือคุณภาพที่สูงกว่า

วิธีทดลอง แบ่งได้เป็น 4 ขั้นตอนคือ

ขั้นตอนที่ 1 การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสมสำหรับหาเมทธานอล เอทานอล แอมเฟอรัล และเมนทอลโดยใช้แกสโครมาโทกราฟฟี (GC)

ขั้นตอนที่ 2 การเก็บตัวอย่างยาชาตุน้ำแดง และยาขับลม จากท้องตลาด

ขั้นตอนที่ 3 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

ขั้นตอนที่ 4 ยืนยันการตรวจหาเมทธานอลและสารอื่นในตัวอย่างโดยเครื่องแกสโครมาโท กราฟีที่ร่วมกับแมสสเปกโตรเมตรี

ขั้นตอนที่ 1 การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสมสำหรับหาเมทธานอล เอทานอล แคมเฟอร และเมนทอล โดยใช้แกสโครมาโทกราฟี

ยาชาคาน้ำแดง และยาขับลม แม้ว่าในตำรับมักประกอบด้วยปริมาณแอลกอฮอล์ที่ค่อนข้างสูงคือประมาณ 5-15% และส่วนที่เหลือคือน้ำ การที่จะฉีดยาชาคาน้ำแดง หรือยาขับลมโดยตรงเข้าสู่ระบบของแกสโครมาโทกราฟีเป็นสิ่งไม่สมควรอย่างยิ่ง เพราะปริมาณน้ำ ซึ่งมีมากกว่า 85% อาจไปทำลายคอลัมน์ที่ใช้ได้ โดยเฉพาะคอลัมน์ชนิด capillary ดังนั้นขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างจึงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการวิเคราะห์ นอกจากนี้เพื่อเพิ่มความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์การมี internal standard ในระบบจึงเป็นสิ่งจำเป็น ลำดับการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ทำดังต่อไปนี้คือ

การทดลองที่ 1.1 การหาโปรแกรมอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการแยกเมทธานอล เอทานอล แคมเฟอร และเมนทอล ในคราวเดียว

วิธีทดลอง

1. แปรอุณหภูมิที่ใช้ในการแยกสาร โดยอาศัยคุณสมบัติทางฟิสิกส์คือจุดเดือดของสารที่ต้องการแยกออกจากกันในการตั้งโปรแกรมอุณหภูมิของเครื่องแกสโครมาโทกราฟี
2. ฉีดสารละลายบริสุทธิ์ของเฮกเซน เมทธานอล และเอทานอล เพื่อดูตำแหน่ง peak ในโครมาโทแกรม
3. เตรียมสารละลาย 2 ชนิด คือ 0.1%w/v แคมเฟอรในเอทานอล และ 0.1%w/v เมนทอลในเอทานอล แล้วฉีดสารละลายเหล่านี้เพื่อดูตำแหน่งของสารแต่ละชนิดในโครมาโทแกรม
4. เตรียมสารละลายซึ่งมีส่วนประกอบของเมทธานอล, เอทานอล, แคมเฟอร และเมนทอลในเฮกเซนให้มีความเข้มข้น 0.7%v/v, 7%v/v, 0.1%w/v และ 0.1%w/v ตามลำดับ แล้วฉีดอีกครั้งเพื่อยืนยันตำแหน่งของสารแต่ละตัว และดูลักษณะการแยกออกจากกันของสารเหล่านี้ในโครมาโทแกรม

การทดลองที่ 1.2 การสกัด เมทธานอล เอทานอล แคมเฟอร และเมนทอล ออกจากชั้นน้ำ

ก. การเลือกชนิดเกลือที่เหมาะสมสำหรับ salting out effect ระหว่าง sodium chloride และ ammonium acetate

วิธีทดลอง

1. เตรียมสารละลายมาตรฐาน ซึ่งมีส่วนประกอบของเมทธานอล เอทานอล แคมเฟอร และเมนทอล ในน้ำให้มีความเข้มข้น 0.7%v/v, 7%v/v, 0.1% w/v และ 0.1%w/v ตามลำดับ (S)

2. อดสารละลาย S มา 10 ml ใส่ในกรวยสกัดขนาด 100 ml เติมเกลือแล้วเขย่าจนเกลืออิ่มตัว แล้วสกัดด้วย 5 ml เฮกเซน
3. น้ำชั้น เฮกเซน 1 μ l ไปฉีด GC แล้วเทียบโครมาโทแกรมที่เกิดจากการใช้ sodium chloride และ ammonium acetate

ข. การเลือกสัดส่วนที่เหมาะสมระหว่างชั้นน้ำ และชั้นสารสกัด โดยการสกัดเพียงครั้งเดียว
วิธีทดลอง

1. อดสารละลาย S จากการทดลองที่ 1.2 ก มา 5 ml
2. เติมเกลือ sodium chloride เขย่าจนเกลืออิ่มตัว
3. เปรียบเทียบโครมาโทแกรมที่ได้จากการสกัดด้วย 5 ml และ 10 ml ของเฮกเซน
4. ทดลองซ้ำโดยใช้สารละลาย S 10 ml และสกัดด้วยเฮกเซน 10 ml เปรียบเทียบโครมาโทแกรมกับข้อที่ 3

ค. การเลือกชนิดสารสกัดที่เหมาะสม โดยเลือกสารละลายที่ไม่ผสมเข้าเป็นเนื้อเดียวกับน้ำ ทดลอง
โดยใช้สารละลาย 6 ชนิด ดังนี้คือ

1. hexane
2. n-butanol
3. Isoamyl alcohol
4. cyclohexane
5. n-butyl acetate
6. Methyl-iso butyl alcohol

วิธีทดลอง

1. ฉีดสารละลายบริสุทธิ์แต่ละชนิดเพื่อดูตำแหน่งของ peak ในโครมาโทแกรม
2. เตรียมสารละลายมาตรฐาน ซึ่งมีส่วนประกอบของเมทธานอล เอทานอล แคมเฟอร์ และเมนทอล ในน้ำให้มีความเข้มข้น 0.7%v/v, 7%v/v, 0.1%w/v และ 0.1%w/v ตามลำดับ (S)
3. อดสารละลาย S มา 10 ml ใส่ในกรวยสกัด ขนาด 100 ml เติมเกลือ sodium chloride เขย่าจนเกลืออิ่มตัว แล้วสกัดด้วย 10 ml ของสารละลายแต่ละชนิด แยกชั้นสารสกัดน้ำ ไปฉีด GC 1 μ l
4. เทียบโครมาโทแกรมที่ได้จากชั้นสารสกัดแต่ละชนิด และเทียบกับโครมาโทแกรมที่ได้จากข้อ 1

การทดลองที่ 1.3 การหา internal standard ที่เหมาะสม

internal standard สามารถช่วยลดความผิดพลาดจากขบวนการวิเคราะห์ สารที่จะใช้เป็น internal standard ต้องให้ peak คงตำแหน่งกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ ต้องมีความบริสุทธิ์สูง กรณีนี้นี้ต้องผสมเข้าเป็นเนื้อเดียวกับน้ำได้ และสามารถถูกสกัดได้เช่นเดียวกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ สารที่ใช้ทดสอบเป็น internal standard มีดังนี้คือ

1. Iso butanol
2. Dimethylsulfoxide
3. Diethylamine
4. N,N-dimethylformamide
5. Isopropyl alcohol
6. n-propyl alcohol

ทดลองโดยการฉีดดูตำแหน่ง peak ของสารเหล่านี้ ว่าเหมาะสมหรือไม่ และดูลักษณะ peak ด้วย

การทดลองที่ 1.4 การทดสอบหาความน่าเชื่อถือของวิธีวิเคราะห์

ก. การหา % Recovery

วิธีทดลอง

1. เตรียมสารละลายมาตรฐาน ซึ่งมีส่วนประกอบของเมทธานอล เอทานอล แคมเฟอร์ และเมนทอล ใน n-butanol ให้มีความเข้มข้น 0.6%v/v, 6%v/v, 0.1%w/v และ 0.1%w/v ตามลำดับ
2. นำสารละลายในข้อ 1 1 μ l ไปฉีด GC วัดพื้นที่ที่ได้พีคที่เกิดขึ้นของสารเมทธานอล, เอทานอล, แคมเฟอร์ และเมนทอล
3. เตรียมสารละลายมาตรฐาน ซึ่งมีส่วนประกอบของเมทธานอล เอทานอล แคมเฟอร์ และเมนทอล ในน้ำให้มีความเข้มข้นเช่นเดียวกับในข้อ 1
4. ดูดสารละลาย 10 ml จากข้อ 3 ใส่กรวยสกัด เติมน้ำเกลือ sodium chloride เขย่าจนเกลืออิ่มตัว สกัดด้วย 10 ml n-butanol
5. นำชั้น n-butanol 1 μ l ไปฉีด GC วัดพื้นที่ที่ได้พีคของสารเมทธานอล, เอทานอล, แคมเฟอร์ และเมนทอล เทียบกับพื้นที่ที่ได้พีคในข้อ 2
6. ทำซ้ำ 10 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ข. การหาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ภายในเวลา 1 วัน

วิธีทดลอง

การสร้าง calibration curve

1. เตรียมสารละลายมาตรฐาน 4 ความเข้มข้น โดยเมทธานอลมีความเข้มข้นจาก 0-0.009 ml/ml, เอทานอล ความเข้มข้นจาก 0-0.09 ml/ml, แคมเฟอร์ ความเข้มข้นจาก 0-1.5 mg/ml และเมนทอลความเข้มข้นจาก 0-1.5 mg/ml
2. นำสารละลายแต่ละความเข้มข้น 10 ml ใส่กรวยสกัด เติม 250 μ l isobutanol เป็น internal standard
3. เติมเกลือ sodium chloride เขย่าจนอิ่มตัว
4. สกัดด้วย 10 ml n-butanol
5. นำชั้น n-butanol 1 μ l ไปฉีด GC
6. สร้าง calibration curve ขึ้น จากสมการเส้นตรง plot ระหว่างค่าสัดส่วนของพีค (สารมาตรฐานต่อ internal standard) และความเข้มข้นของสารมาตรฐาน

การเตรียมสารมาตรฐานสำหรับทดสอบ

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานประกอบด้วย เมทธานอล เอทานอล แคมเฟอร์ และเมนทอล ความเข้มข้น 0.006 ml/ml, 0.06 ml/ml, 1.0 mg/ml และ 1.0 mg/ml ตามลำดับ
2. ดูดสารละลายในข้อ 2 10 ml ใส่กรวยสกัด เติม 250 μ l isobutanol เป็น internal standard
3. เติมเกลือ sodium chloride เขย่าจนอิ่มตัว
4. สกัดด้วย 10 ml n-butanol
5. นำชั้น n-butanol 1 μ l ไปฉีด GC
6. หาปริมาณเมทธานอล เอทานอล แคมเฟอร์ และเมนทอลในสารละลายนี้โดยเทียบกับ calibration curve ที่สร้างขึ้น
7. ทำซ้ำจากข้อ 1 ถึงข้อ 6 รวม 10 ครั้ง หาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค. การหาความแม่นยำระหว่างวันของวิธีวิเคราะห์

วิธีทดลอง

1. สร้าง calibration curve ดังกล่าวแล้วไปทำการทดลองที่ 1.4 ข
2. สร้าง calibration curve ทุกวันเป็นเวลา 4 วัน
3. หาค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของ correlation coefficient (r^2), calibration slope และ intercept ของสมการถดถอยเชิงเส้นที่เกิดขึ้น

ขั้นตอนที่ 2 การเก็บตัวอย่างยาธาตุน้ำแดง และยาขับลมจากห้องตลาดอำเภอเมืองขอนแก่น

วิธีการ โดยการเก็บตัวอย่างยาธาตุน้ำแดง และยาขับลมที่มีขายในห้องตลาด อำเภอเมืองขอนแก่น ทุกตัวอย่าง

ขั้นตอนที่ 3 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

Chromatographic condition : อัตราการไหลของ N_2 โดยตั้งให้ความดันคงที่ที่ 8.7 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (หรืออัตราการไหลของ N_2 เท่ากับ 119 ml/นาที)

Column : AB003 HP wax Bonded Polyethylene glycol capillary ความยาว 30 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 0.25 mm และความหนาของฟิล์ม 0.5 μm

Oven temperature : เริ่มต้นที่ 80°C นาน 2 นาที เพิ่มอุณหภูมิเป็น 120°C ในเวลา 12 นาที คงไว้ 2 นาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิเป็น 230°C ในเวลา 15 นาที คงไว้ 10 นาที

inlet temperature : 170°C

detector temperature : 250°C

detector : FID

split ratio : 50 : 1 โดยมี split flow เท่ากับ 115 ml/min (ใช้ N_2)

วิธีทดลอง

I. การสร้าง calibration curve ของสารมาตรฐาน

1. เตรียมสารละลายมาตรฐาน 4 ความเข้มข้นคือ S_0 , S_1 , S_2 และ S_3 แต่ละความเข้มข้น ประกอบด้วย

	S_0	S_1	S_2	S_3
เมนทอล (mg)	-	50	100	150
แคมเฟอร์ (mg)	-	50	100	150
เอทานอล (ml)	-	3	6	9
เมทานอล (ml)	-	0.3	0.6	0.9
เติมน้ำจนครบ (ml)	100	100	100	100

2. คูณสารละลาย แต่ละความเข้มข้น 10 ml ใส่กรวยสกัด ขนาด 100 ml, 10 ml

3. เติม 250 μl iso butanol เป็น internal standard เขย่าให้เข้ากัน

4. เติมเกลือ sodium chloride เขย่าจนเกลืออิ่มตัว

5. เติม 10 ml n-butanol เขย่าจนสารละลายแยกชั้นออกจากกัน

6. นำชั้น n-butanol 1 μl ไปฉีด GC

7. สร้าง calibration curve โดยใช้สมการถดถอยเชิงเส้น

II. การเตรียมตัวอย่าง

1. เขย่าขวดตัวอย่าง ลูบตัวอย่างมา 10 ml ใส่กรวยสกัดขนาด 100 ml
2. เติม 250 μ l iso butanol เป็น internal standard เขย่าให้เข้ากัน
3. เติมเกลือ sodium chloride เขย่าจนเกลืออิ่มตัว
4. เติม 10 ml n-butanol เขย่ารอนสารละลายแยกชั้นออกจากกัน
5. นำชั้น n-butanol 1 μ l ไปฉีด GC
6. หาปริมาณโดยคำนวณเทียบกับ calibration curve ของสารมาตรฐานที่สร้างขึ้นในข้อ I

ขั้นตอนที่ 4 ยืนยันการตรวจหาเมทธานอลและสารอื่น ในตัวอย่างโดยเครื่องแกสโครมาโทกราฟี ร่วมกับแมสสเปกโตรเมตรี

วิธีทดลอง

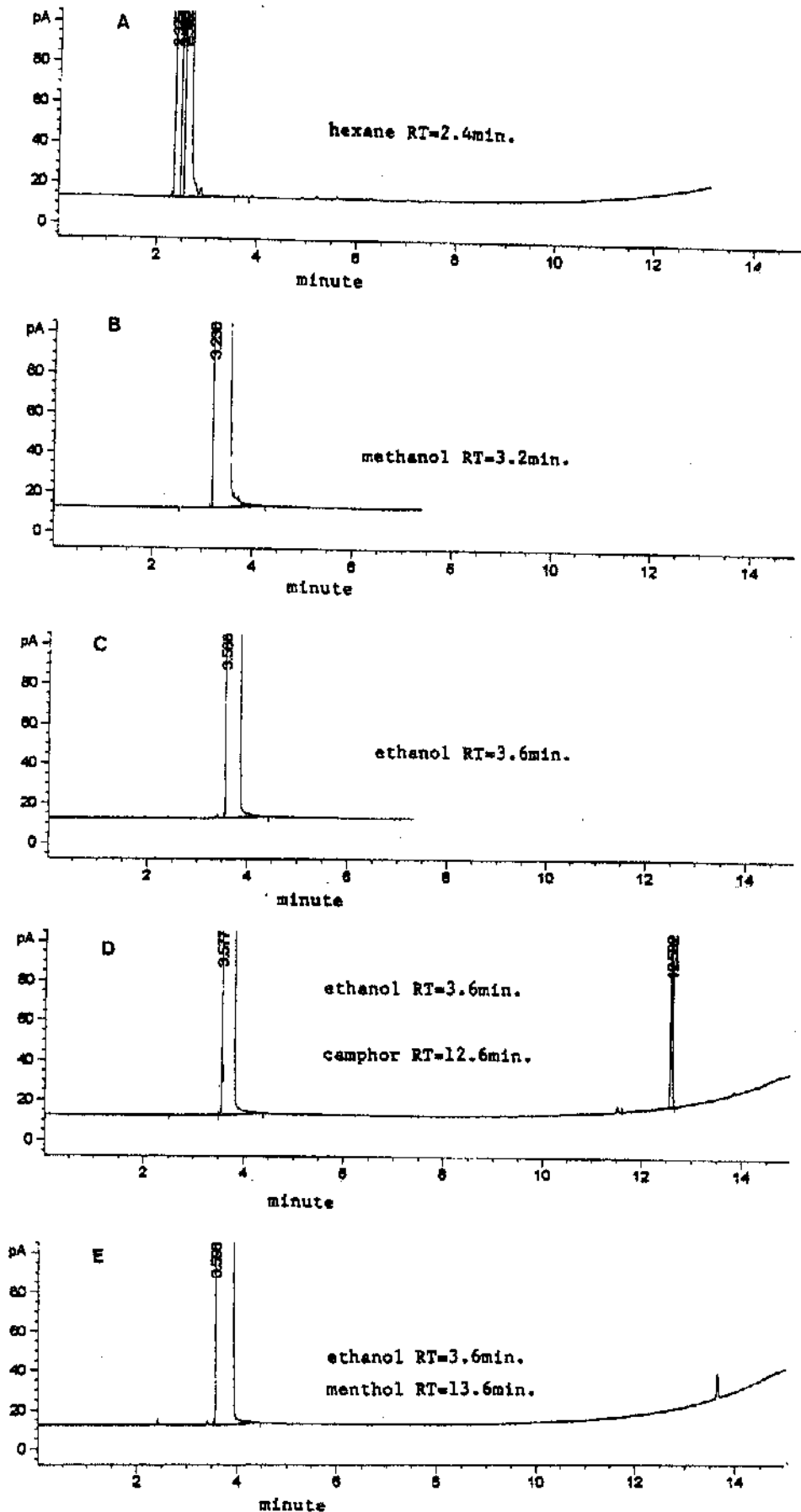
1. เตรียมสารละลายมาตรฐานประกอบด้วย เมทธานอล เอทานอล แคมเฟอร์ และ เมนทอล ใน n-butanol ให้มีความเข้มข้น 0.6%v/v, 6%v/v, 0.1%w/v และ 0.1%w/v ตามลำดับ
2. นำสารละลายในข้อ 1 1 μ l ไปฉีด GC-MS ดูตำแหน่ง peak และ mass spectrum ของแต่ละ peak
3. นำตัวอย่าง 1,2,3,16 ซึ่งพบว่ามี เมทธานอลในการตรวจวัดด้วยเครื่องแกสโครมาโทกราฟี ร่วมกับเครื่องตรวจวัด FID มาตรวจวิเคราะห์ซ้ำ โดยลูดตัวอย่างมา 10 ml เติมเกลือ sodium chloride เขย่าจนอิ่มตัว สกัดด้วย n-butanol 10 ml รอนแยกชั้น นำชั้น n-butanol 1 μ l ไปฉีด GC-MS ดูตำแหน่ง peak และ mass spectrum ของแต่ละ peak เทียบดูกับข้อ 2 และยืนยันการมีเมทธานอลปลอมปนในตัวอย่างโดย mass spectrum
4. นำตัวอย่าง 8, 9, 16, 20, 22 ซึ่งพบว่า อาจมีแคมเฟอร์ หรือเมนทอลในตัวอย่างโดยมิได้ บ่งบอกไว้บนฉลากได้จากการตรวจวัดด้วยเครื่องแกสโครมาโทกราฟี ร่วมกับเครื่องตรวจวัด FID มาตรวจวิเคราะห์ซ้ำด้วย โดยใช้เครื่องตรวจวัดแมสสเปกโตรเมตรี scan mass spectra ของสารที่พบว่าเป็นอะไร

ผลการทดลอง

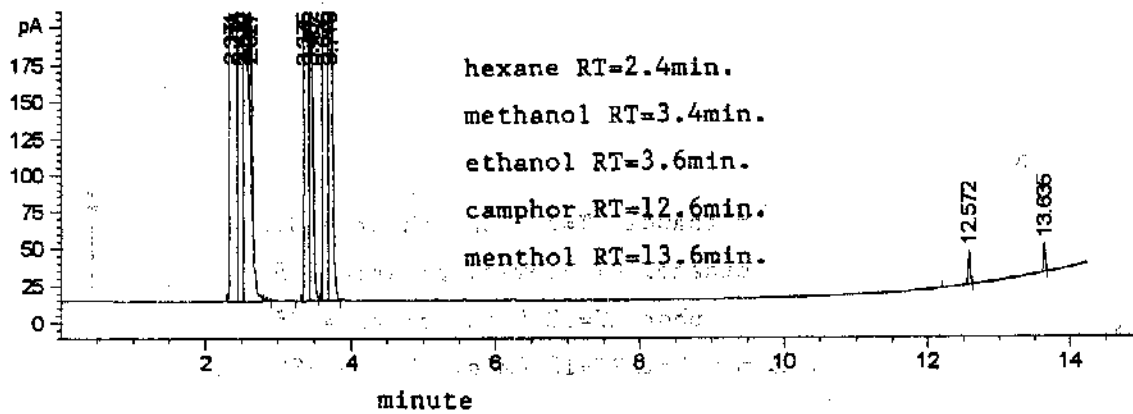
ขั้นตอนที่ 1 การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสมสำหรับหามะทธานอล เอทธานอล แคมเฟอร์ และเมนทอล โดยใช้แก๊สโครมาโทกราฟี

การทดลองที่ 1.1 การหาโปรแกรมอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการแยกมะทธานอล เอทธานอล แคมเฟอร์ และเมนทอล ในคราวเดียว

ในการแยกมะทธานอล เอทธานอล แคมเฟอร์ และเมนทอล โดยใช้คอลัมน์ AB003 HP wax นั้น พบว่า โปรแกรมอุณหภูมิที่ใช้คือ เริ่มต้นที่ 80°C นาน 2 นาที เพิ่มอุณหภูมิเป็น 120°C ในเวลา 12 นาที คงไว้ 2 นาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิเป็น 230°C ในเวลา 15 นาที คงไว้ 10 นาที โดยกำหนดอุณหภูมิที่ inlet เท่ากับ 170°C และที่ตรวจวัดเท่ากับ 250°C ภายใต้สภาวะนี้ retention time ของเฮกเซน มะทธานอล เอทธานอล แคมเฟอร์ และเมนทอล ปรากฏที่เวลา 2.4, 3.2, 3.6, 12.6 และ 13.6 นาที ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 1 และรูปที่ 2



รูปที่ 1 โครมาโทแกรมของสารบริสุทธิ์แต่ละชนิด เฮกเซน (A) เมทานอล (B) เอทานอล (C) แคมเฟอร์ (D) และเมนทอล (E)

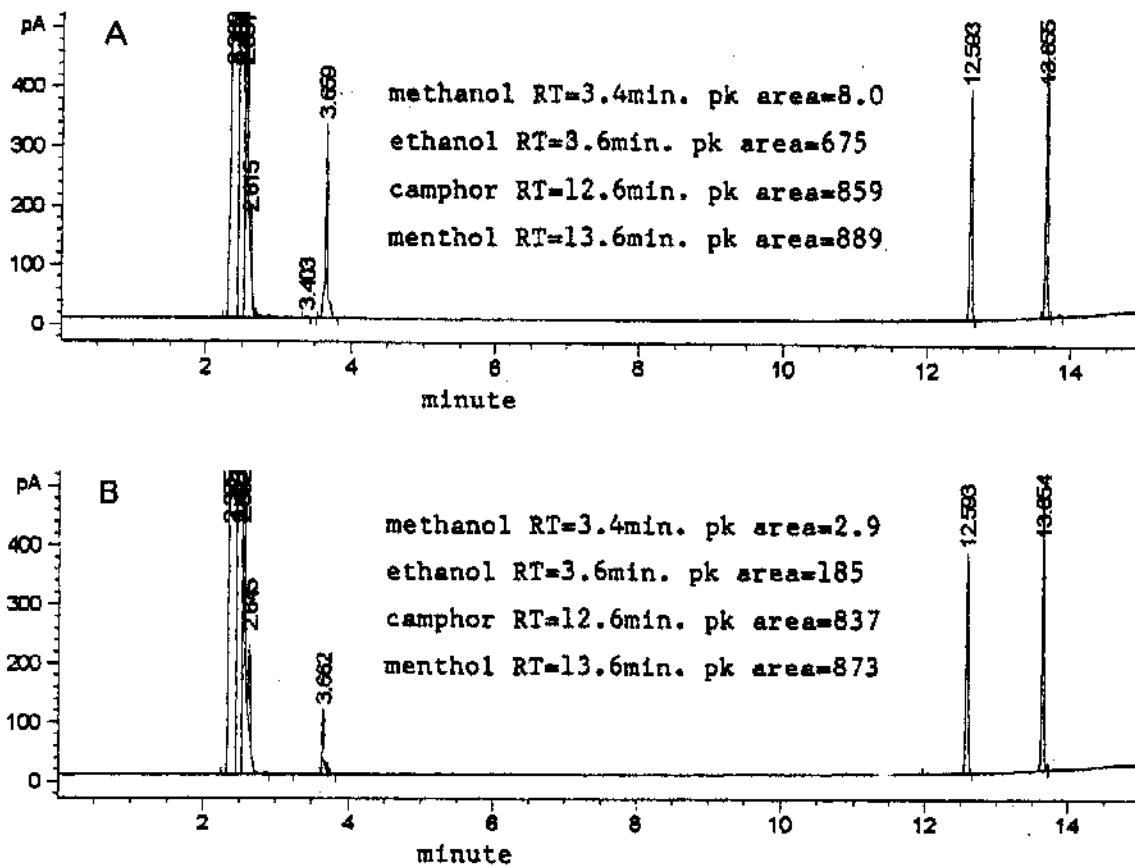


รูปที่ 2 โครมาโทแกรมของสารผสมของเฮกเซน เมทานอล เอทานอล แคมเฟอร์ และเมนทอล

การทดลองที่ 1.2 การสกัดเมทานอล เอทานอล แคมเฟอร์ และเมนทอลออกจากชั้นน้ำ

ก. การเลือกชนิดเกลือที่เหมาะสม สำหรับ salting out effect ระหว่าง sodium chloride และ ammonium acetate

พบว่า เกลือ sodium chloride เหมาะสมสำหรับทำ salting out effect ในการสกัดมากกว่า การใช้เกลือ ammonium acetate พบว่า ถ้าใช้เกลือ ammonium acetate จะสกัดเมทานอล และ เอทานอลออกมาได้น้อยกว่าการใช้เกลือ sodium chloride แต่เกลือทั้งสองสามารถสกัดทั้ง แคมเฟอร์และเมนทอลออกได้ในสัดส่วนที่ใกล้เคียงกัน ดังแสดงในรูปที่ 3

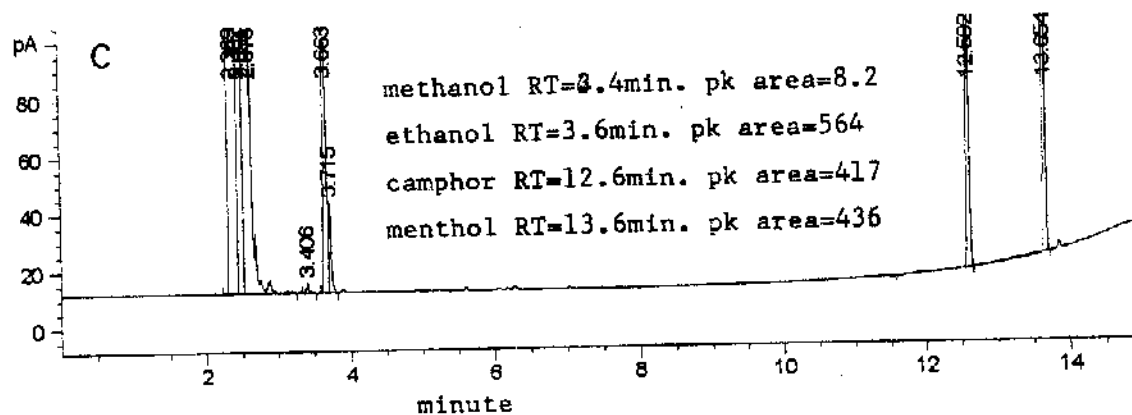
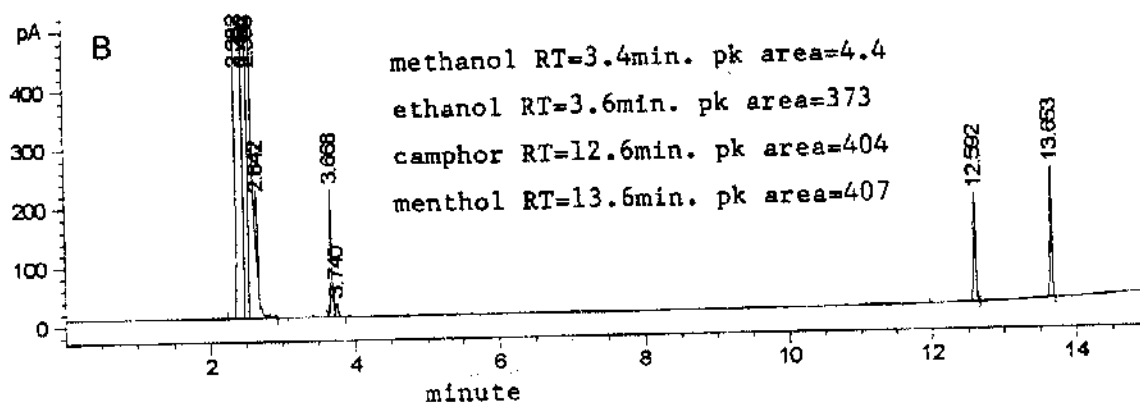
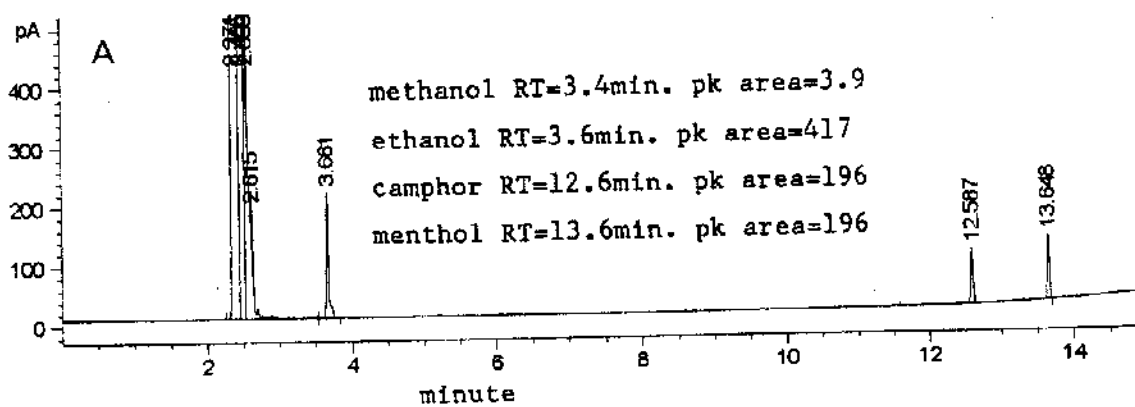


รูปที่ 3 A โครมาโทแกรมจากการสกัดโดยใช้เกลือ sodium chloride

B โครมาโทแกรมจากการสกัดโดยใช้เกลือ ammonium acetate

ข. การเลือกสกัดส่วนที่เหมาะสม ระหว่างชั้นน้ำ และชั้นสารสกัด โดยการสกัดเพียงครั้งเดียว

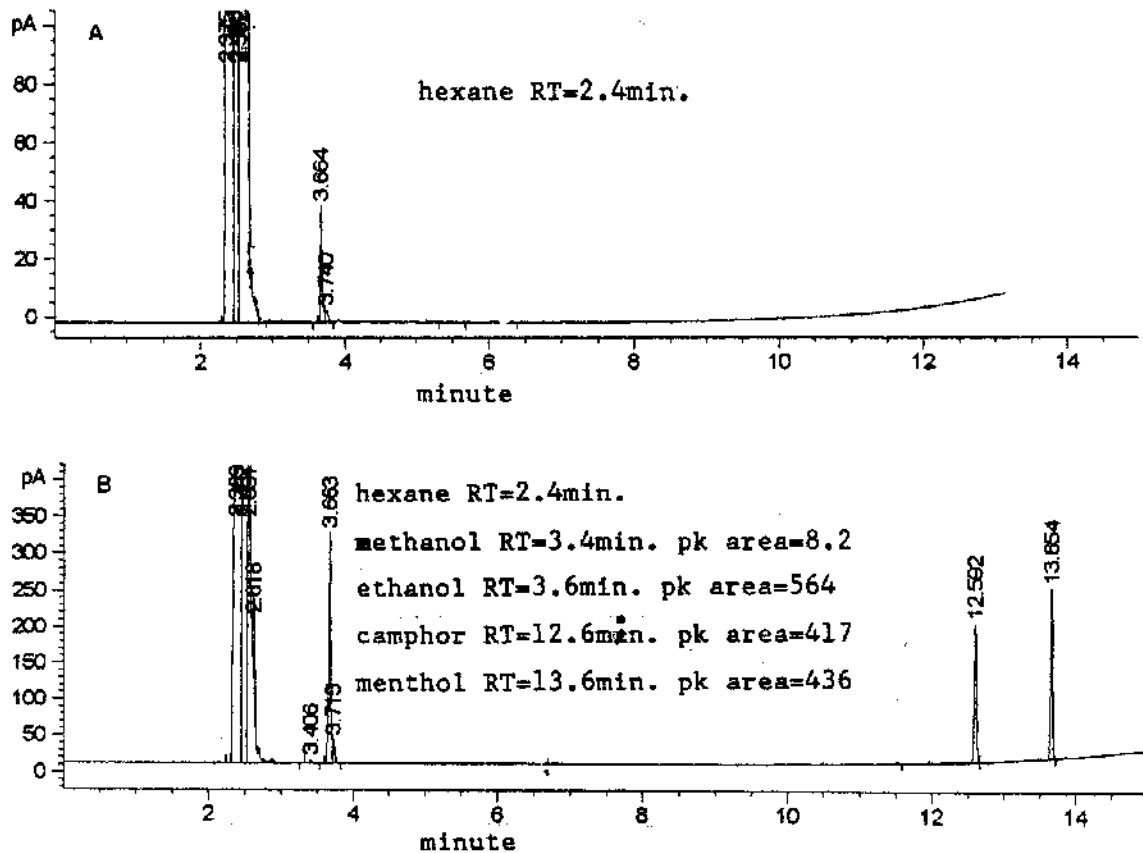
สกัดส่วนที่เหมาะสมในการสกัดระหว่างชั้นน้ำ และชั้นสารสกัดคือใช้ 10 ml ของสารตัวอย่างต่อ 10 ml ของเฮกเซน พบว่าถ้าใช้ 5 ml ของสารตัวอย่างสกัดด้วย 5 ml ของเฮกเซน ซึ่งเป็นอัตราส่วน 1:1 เหมือนกันได้ปริมาณแคมเฟอร์ และเมนทอล ในสัดส่วนที่เท่ากัน แต่จะให้สัดส่วนของเมทธานอล และเอทธานอลต่ำกว่า ถ้าใช้สารตัวอย่าง 5 ml และสกัดด้วยเฮกเซน 10 ml พบว่าได้ความเข้มข้นของแคมเฟอร์ และเมนทอล ลดลงเท่าตัว และได้ความเข้มข้นของเมทธานอล และเอทธานอล น้อยมาก สรุปได้ว่า แคมเฟอร์ และเมนทอล จะถูกสกัดได้มาก และความเข้มข้นที่ได้จะแปรผกผันกับสัดส่วนของสารสกัด ขณะที่เมทธานอล และเอทธานอล ความเข้มข้นที่ได้จากการสกัดจะไม่แปรผกผันกับปริมาณของสารสกัดที่ใช้ ดังแสดงในรูปที่ 4



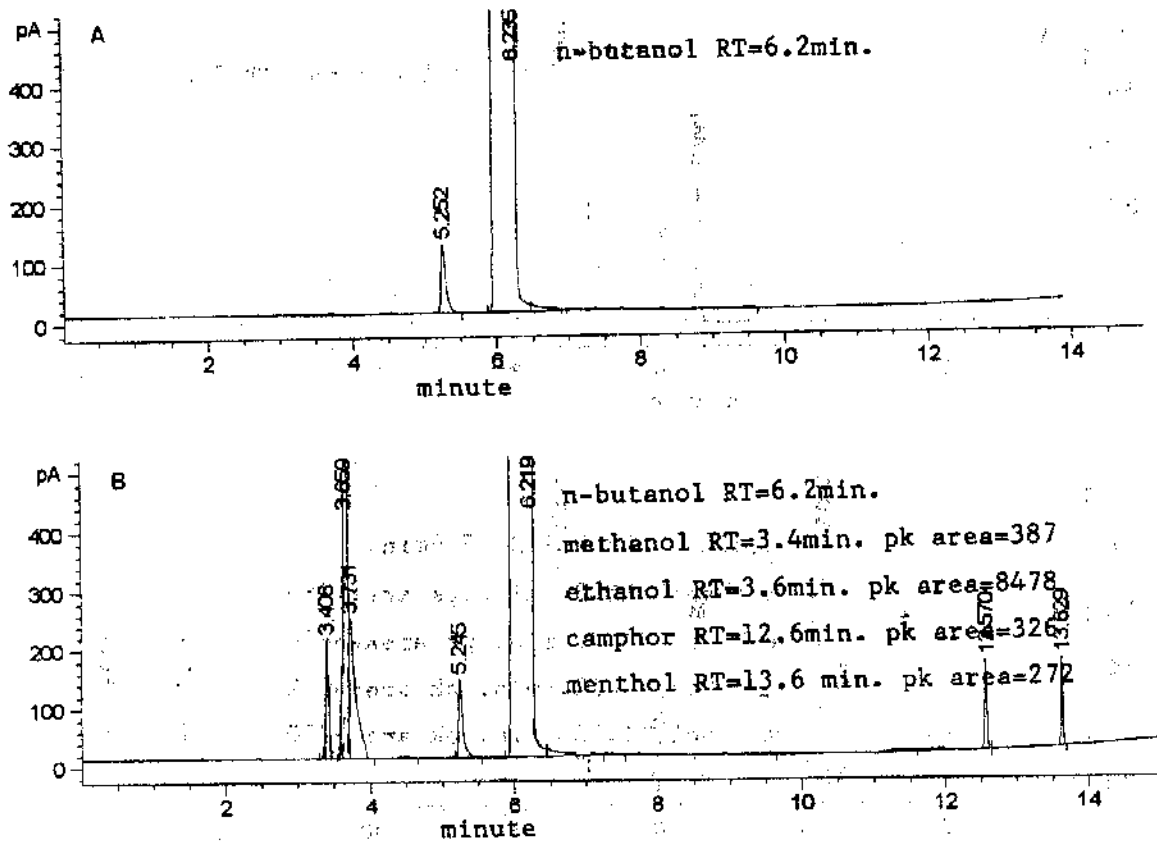
รูปที่ 4 โครมาโทแกรมจากการสกัดสารละลายตัวอย่างด้วยเฮกเซนในอัตราส่วน 5 ml ต่อ 10 ml (A), 5 ml ต่อ 5 ml (B) และ 10 ml ต่อ 10 ml (C)

ค. การเลือกชนิดสารสกัดที่เหมาะสม

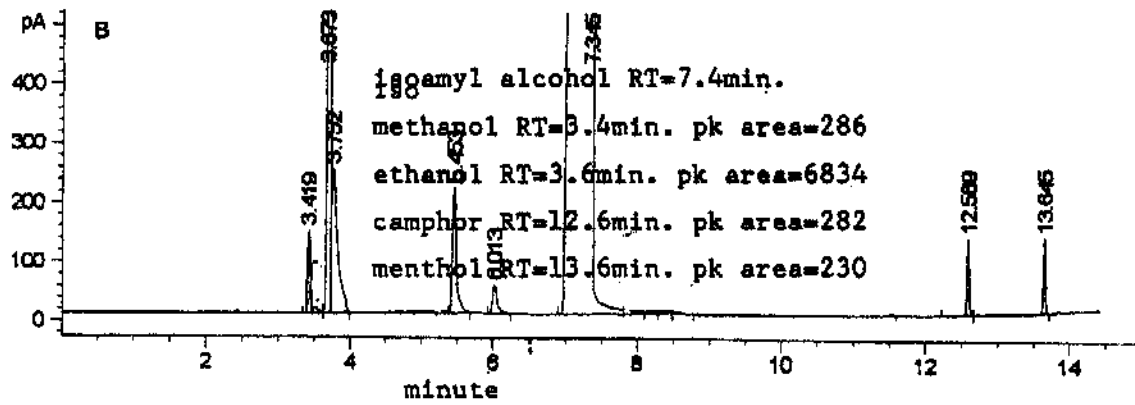
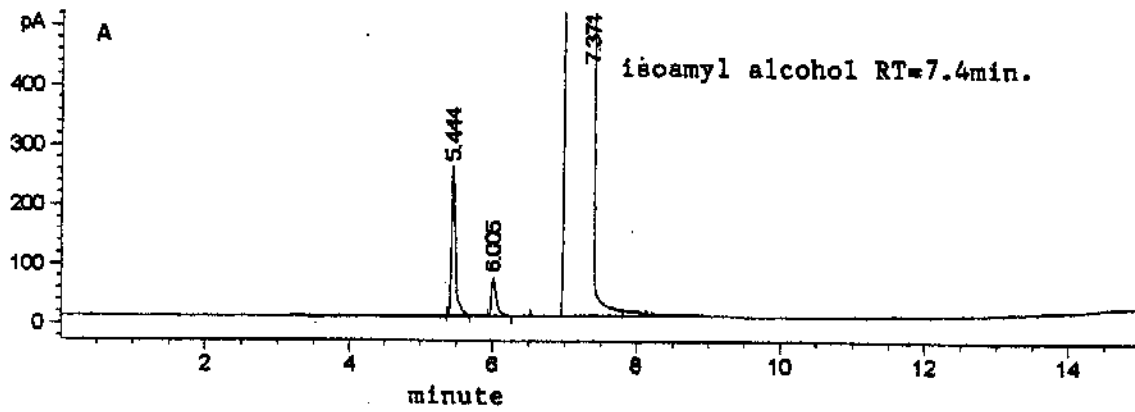
พบว่า n-butanol เหมาะสมที่จะถูกเลือกใช้เป็นสารสกัด โดยมีเหตุผล 2 ประการคือ retention time อยู่ในช่วงเวลาที่เหมาะสมคือ 6.2 นาที แยกออกจากสารที่ต้องการวิเคราะห์ได้ชัดเจน นอกจากนี้ n-butanol ยังสามารถสกัดเมธานอล และเอทานอล ออกได้ในสัดส่วนที่สูงกว่าสารตัวอื่น ๆ ที่ใช้ในการทดลอง ดังแสดงในรูปที่ 5-10



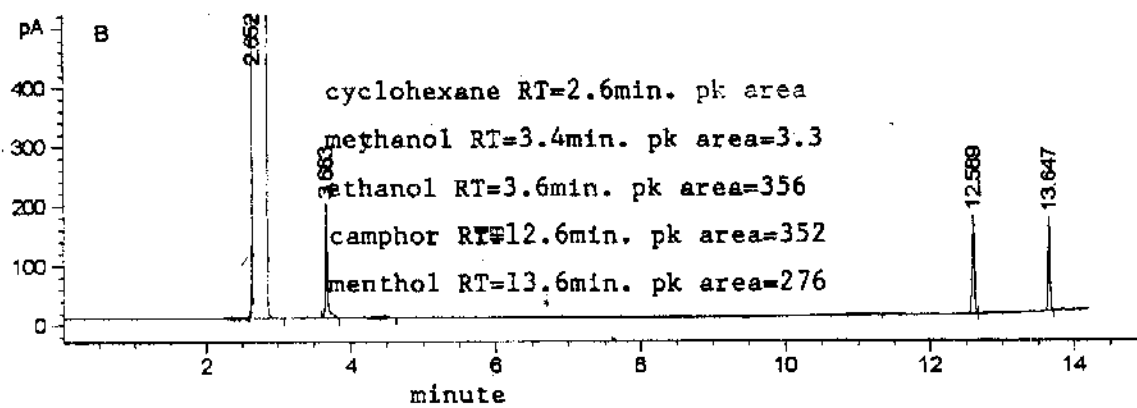
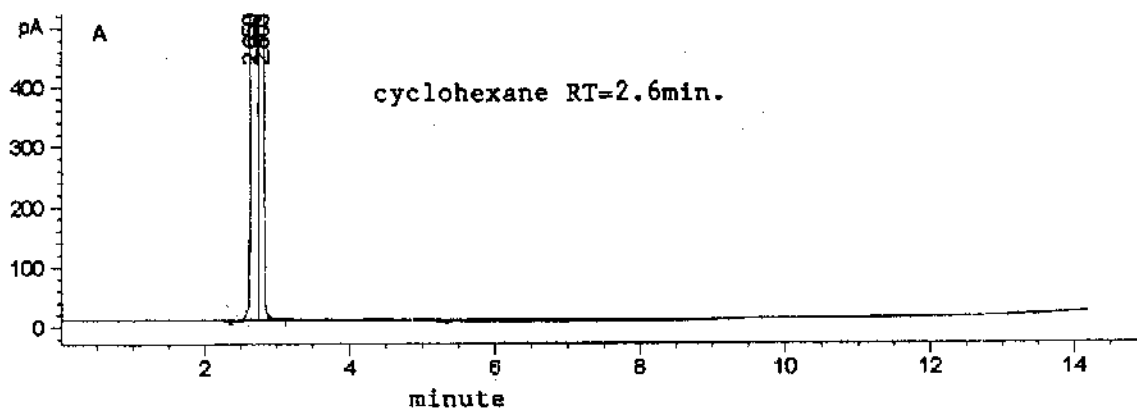
รูปที่ 5 เปรียบเทียบโครมาโทแกรมของ hexane บริสุทธิ์ (A) และจากการสกัดสารตัวอย่าง (B)



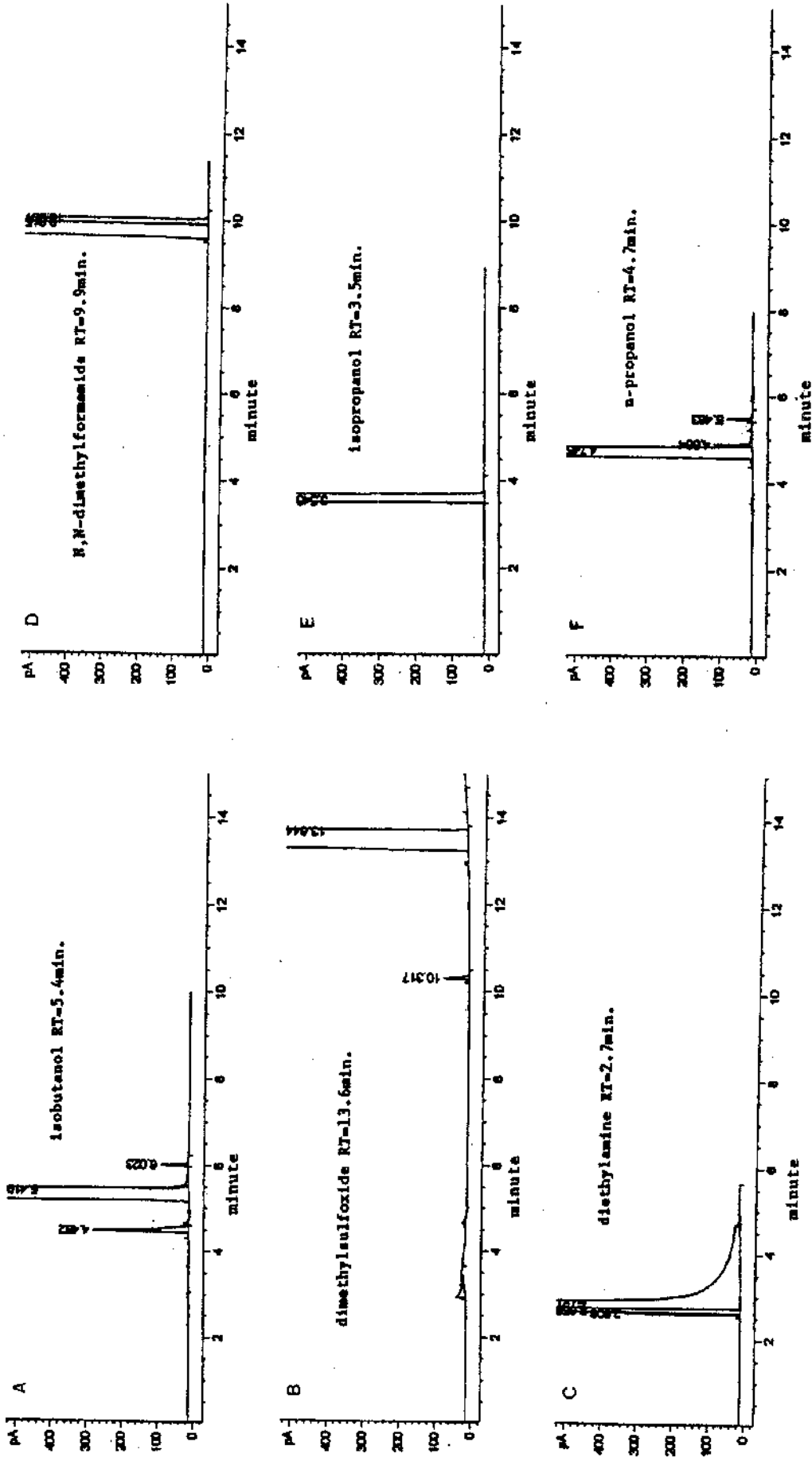
รูปที่ 6 เปรียบเทียบโครมาโทแกรมของ n-butanol บริสุทธิ์ (A) และจากการสกัดสารตัวอย่าง (B)



รูปที่ 7 เปรียบเทียบโครมาโทแกรมของ Isoamyl alcohol บริสุทธิ์ (A) และจากการสกัดสารตัวอย่าง (B)



รูปที่ 8 เปรียบเทียบโครมาโทแกรมของ Cyclohexane บริสุทธิ์ (A) และจากการสกัดสารตัวอย่าง (B)



รูปที่ 11 เปรียบเทียบ โครมาโทแกรมของสารบริสุทธิ์แต่ละชนิดที่ใช้ทดสอบเป็น internal standard, isobutanol (A) dimethyl sulfoxide (B) diethylamine (C) N,N-dimethyl formamide (D) isopropanol (E) และ n-propanol (F)

การทดลองที่ 1.4 การทดสอบหาความน่าเชื่อถือของวิธีวิเคราะห์

ก. การหา %recovery

ตารางที่ 1 แสดง % recovery ของสารตัวอย่างที่ได้จากการสกัด เมทธานอล, เอทธานอล, แคมเฟอร์ และเมนทอล ถูกสกัดได้ 48.80 ± 2.60 , 69.82 ± 2.68 , 69.82 ± 2.27 และ 47.83 ± 4.39 ตามลำดับ พบว่า เมนทอลมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานมากที่สุดคือ $\pm 4.39\%$

ข. การหาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ภายในเวลา 1 วัน

ตารางที่ 1 แสดงความเข้มข้นของสารที่หาได้เทียบกับความเข้มข้นของสารจากการเตรียม พบว่า เมทธานอล เอทธานอล และแคมเฟอร์ มีค่า %RSD น้อยกว่า 5% ส่วนเมนทอลมีค่าสูงถึง 15.46%

ตารางที่ 1 แสดง %recovery และการหาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ภายใน 1 วัน ของการหาปริมาณเมทธานอล เอทธานอล แคมเฟอร์ และเมนทอล ในน้ำ

	recovery (%) n=10	conc. Spiked mg,ml/ml	Mean found (n=10)	RSD% (n=10)
เมทธานอล	48.80 ± 2.60	0.006	0.0066 ± 0.0003	4.845
เอทธานอล	69.82 ± 2.68	0.06	0.0581 ± 0.0025	4.258
แคมเฟอร์	69.82 ± 2.27	1.066	1.1016 ± 0.0369	3.348
เมนทอล	47.83 ± 4.39	0.978	1.0266 ± 0.1589	15.46

ค. การหาความแม่นยำระหว่างวันของวิธีวิเคราะห์

ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าที่ได้จาก calibration curve ของสารเมทธานอล เอทธานอล แคมเฟอร์ และเมนทอล ค่า correlation coefficient ของเมทธานอล เอทธานอล และแคมเฟอร์ มีค่ามากกว่า 0.99 แต่เมนทอลมีค่าเพียง 0.92

ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ได้จาก calibration curve ของสารเมทธานอล เอทานอล แคมเฟอร์ และเมนทอล

	Calibration slope n = 4	Correlation coefficient (r^2) n = 4	intercept $\times 10^{-3}$ n = 4
เมทธานอล	0.803 ± 0.199	0.9970 ± 0.0032	0.05 ± 0.23
เอทานอล	0.011 ± 0.001	0.9993 ± 0.0005	10.67 ± 2.68
แคมเฟอร์	0.025 ± 0.001	0.9946 ± 0.0048	0.90 ± 0.38
เมนทอล	0.016 ± 0.001	0.9209 ± 0.0597	2.48 ± 1.07

ขั้นตอนที่ 2 การสุ่มเก็บตัวอย่างยาชาดูน้ำแดง และยาขับลมจากท้องตลาด

ผลการสุ่มตัวอย่าง พบว่า สามารถสุ่มตัวอย่างยาชาดูน้ำแดงได้ 9 ตัวอย่าง และยาขับลม 2 ตัวอย่าง จึงได้สุ่มตัวอย่างชนิดอื่นที่เป็นยาแผนโบราณเพิ่มคือ ยาชาดูน้ำขาว 2 ตัวอย่าง ยากุมาร 2 ตัวอย่าง ยาสตรี 6 ตัวอย่าง และยาประคอง 1 ตัวอย่าง ผลการสุ่มตัวอย่างเป็นดังนี้คือ

ตัวอย่างที่ 1

ชื่อ ยาชาดูน้ำแดง ผลิตโดย บริษัท วิทยาศาสตร์ จำกัด ขนาดบรรจุ 500 cc สีน้ำตาล

ทะเบียนเลขที่ 2A 497/29 วันผลิต 14/8/38 เลขที่วิเคราะห์ 017138

สูตรตำรับ

Sodium bicarbonate	0.2700 gm	
Powdered Rhubarb	0.0750 gm	
Oil of Peppermint	0.0255 gm	
Camphor	0.0135 gm	
Glycerin	0.0075 ml	
Alcohol 90%	1.0500 ml	(6.65%v/v)
Purified water qs	15.0000 ml	

ตัวอย่างที่ 2

ชื่อ ยาราดุน้ำแดง ผลิตโดย บริษัท วิทยาธรรม จำกัด ขนาดบรรจุ 300 cc สีนํ้าตาล

ทะเบียนเลขที่ 2A 497/29 วันผลิต 13/2/39 เลขที่วิเคราะห์ 023439

สูตรตำรับ

Sodium bicarbonate	0.2700 gm	
Powdered Rhubarb	0.0750 gm	
Oil of Peppermint	0.0255 gm	
Camphor	0.0135 gm	
Glycerin	0.0075 ml	
Alcohol 90%	1.0500 ml	(6.65%v/v)
Purified water qs	15.0000 ml	

ตัวอย่างที่ 3

ชื่อ ยาราดุนํ้า ๔ ตรากิเลน ผลิตโดย บริษัท ไอสถสภาก จำกัด ขนาดบรรจุ 300 cc สีนํ้าตาล

ทะเบียนเลขที่ 2A 86/26 วันผลิต 18/6/39 Lot & Control No.1213

สูตรตำรับ ทุก 15 cc ประกอบด้วย

Tincture Rhei Co	1.6000	cc
Sodium bicarbonate	0.4800	gm
Spirit of Peppermint	0.3000	cc

และมีแอลกอฮอล์ผสมอยู่ 9.5%v/v

ตัวอย่างที่ 4

ชื่อ ยาราดุนํ้าแดงเพ็ญภาค ผลิตโดย บริษัท ขายยาเพ็ญภาค จำกัด ขนาดบรรจุ 240 cc

สีน้ำตาล

ทะเบียนเลขที่ 2A138/32 วันผลิต 14/11/34 Lot & Control No.4144

สูตรตำรับ ทุก 15 cc ประกอบด้วย

Sodium bicarbonate	1.00 gm
Tincture Rhei. Co.	1.60 cc
Tincture Gent. Co	1.00 cc
Tincture Nux Vom.	0.30 cc
Peppermint spt.	0.30 cc

ไม่ได้บ่งบอกปริมาณแอลกอฮอล์

ตัวอย่างที่ 5

ชื่อ ยาชาคุน้ำแดง 8 ผลิตโดย บริษัท เขาวราช จำกัด ขนาดบรรจุ 320 ml สีน้ำตาล
ทะเบียนเลขที่ 2A 315/26 วันผลิต 20/11/39 Lot & Control No. 065294
สูตรตำรับ ทุก 15 ml ประกอบด้วย

Sodium bicarbonate	0.6 gm
Rhubarb (Compound Rhubarb Tincture)	1.6 ml
Camphor Water Concentrated	0.31 ml
Syrup	2.08 ml
Peppermint oil	0.009 g
Menthol	0.002 g
และมีแอลกอฮอล์ผสมอยู่ 6.5%v/v	

ตัวอย่างที่ 6

ชื่อ ยาชาคุน้ำแดงกรุงเทพฯ ผลิตโดย ห้างหุ้นส่วนปลูกเศกโฮสถ ขนาด 300 cc สีแดง
ทะเบียนเลขที่ 2A 626/28 วันผลิต - Lot & Control No.29311
สูตรตำรับ ทุก 150 cc ประกอบด้วย

Sodium bicarbonate	2.0 gm
Camphor	0.3 gm
Menthol	0.16 gm
Nux Vomica Tincture	1.50 cc

ไม่ได้บ่งบอกปริมาณแอลกอฮอล์

ตัวอย่างที่ 7

ชื่อ ยาชาคุน้ำแดง เบอร์ 5 ผลิตโดย ห้างหุ้นส่วนจำกัด โรงงานไต้ฮันโฮสถ
ขนาดบรรจุ 300 cc ไม่มีสี
ทะเบียนเลขที่ 2A 16/2539 วันผลิต พ.ศ. 2539 Lot & Control No.001

สูตรตำรับ ทุก 15 ml ประกอบด้วย

Sodium bicarbonate	0.2 gm
Camphor	0.3 gm
Menthol	0.016 gm
Nux Vomica Tincture	0.15 ml

และมีแอลกอฮอล์ผสมอยู่ 3.82%



ขอสมทบจาก มหาวิทยาลัยมหามกุฏราชวิทยาลัย

๖๗
๑๑
๘๐๑
• ๑๓
๗ ๕๖๑

ตัวอย่างที่ 8

ชื่อ ยาชาตุน้ำแดง ผลิตโดย องค์การเภสัชกรรม ขนาดบรรจุ 180 ml สีน้ำตาล

ทะเบียนเลขที่ - วันผลิต 13/6/40 Lot & Control No. H.005156

สูตรตำรับ ทุก 15 ml ประกอบด้วย

Sodium bicarbonate	0.60 gm
Compound Tinospora Tincture	0.50 ml
Compound Rhubarb Tincture	1.60 ml
Compound Cardamom Tincture	0.50 ml
Peppermint Spirit	0.30 ml

ไม่ได้บ่งบอกปริมาณแอลกอฮอล์

ตัวอย่างที่ 9

ชื่อ มิกซ์เจอร์ คาร์มินตีฟ ผลิตโดย องค์การเภสัชกรรม ขนาดบรรจุ 180 ml สีแดง

ทะเบียนเลขที่ - วันผลิต 23/1/40 Lot & Control No. M001113

สูตรตำรับ ทุก 15 ml ประกอบด้วย

Cardamom (Compound Cardamom Tincture	1.80 ml)
Ginger (Weak Ginger Tincture	0.12 ml)
Capsicum (Capsicum Tincture	0.12 ml)

มีแอลกอฮอล์ผสมอยู่ 8.5%

ตัวอย่างที่ 10

ชื่อ ยาน้ำขับลมตรากลอง ผลิตโดย ห้างหุ้นส่วนจำกัด โรงงานไต้ฮันโฮตด ขนาดบรรจุ 60 cc

สีเหลือง

ทะเบียนเลขที่ 1688/2524 วันผลิต 15/9/39 Lot & Control No.0006

สูตรตำรับ

Tr. Zingiber. Mit.	0.15 ml
Tr. Capsicum	0.15 ml
Spt. Camphor	0.40 ml
Spt. Ammonia	0.15 ml
Spt. Menthea pip	0.15 ml
Aqua to	15.00 ml

ไม่ได้บ่งบอกปริมาณแอลกอฮอล์

ตัวอย่างที่ 11

ชื่อ ยาธาตุน้ำขาว ผลิตโดย บริษัท บี.แอล.ฮั่ว จำกัด ขนาดบรรจุ 240 ml สีขาวขุ่น

ทะเบียนเลขที่ 2A 454/27 วันผลิต 16/7/39 Lot & Control No.32-03172

สูตรตำรับ ทุก 15 ml ประกอบด้วย

Salol 225 mg

Menthol 22.5 mg

Anise oil as flavor

มีแอลกอฮอล์ผสมอยู่ 3.18%v/v

ตัวอย่างที่ 12

ชื่อ ยาธาตุน้ำขาว ผลิตโดย บริษัท ห้างยาไทย 1942 จำกัด ขนาดบรรจุ 50 ml สีขาวขุ่น

ทะเบียนเลขที่ 2A 479/29 วันผลิต 3/2/40 Lot & Control No. B23

สูตรตำรับ ทุก 100 ml ประกอบด้วย

Salol 2 gm

Menthol 0.176 gm

Anise oil as flavor 0.132 ml

มีแอลกอฮอล์ผสมอยู่ 0.95%w/v

ตัวอย่างที่ 13

ชื่อ ยาธาตุน้ำขี้เหล็ก ผลิตโดย บริษัท ห้างขายยาเข็ชะเหลง จำกัด

ขนาดบรรจุ 240 cc สีน้ำตาล

ทะเบียนเลขที่ 314/2519 วันผลิต - Lot & Control No.65L/1747

สูตรตำรับ

Sodium bicarbonate 0.43 gm

Spt Ammonia Aromatic 0.43 cc

Peppermint oil 0.08 cc

Tr. Nux Vomica 0.39 cc

Tr. Rhei Co. 0.69 cc

Spt. Chloroform 0.43 cc

Tr. Zingib. Mit 0.39 cc

Tr. Gentian Co. 0.43 cc

Aqua qs to 15.00 cc
 ไม่ได้บ่งบอกปริมาณแอลกอฮอล์

ตัวอย่างที่ 14

ชื่อ ยาภูมิารปิ่นเพชร ผลิตโดย บริษัท ไทยปิ่นเพชร จำกัด ขนาดบรรจุ 320 ml สีแดง

ทะเบียนยาเลขที่ G101/29 วันผลิต 18/8/40 Lot & Control No.20/40

สูตรตำรับ ใน 20 ลิตร ประกอบด้วย

ชุมเห็ดไทย	250 gm
ชุมเห็ดเทศ	250 gm
ตานเสี้ยน	250 gm
ตานดำ	250 gm
ตานหม่อน	250 gm
รากตานขโมย	250 gm
งวงตาลโคנד	250 gm
กระเพราแดง	250 gm
เปลือกไข่เน่า	250 gm
ลูกเล็บมือนาง	250 gm
กระพังโหม	250 gm
หญ้างวงช้าง	250 gm
ว่านกีบแรด	250 gm
เนระพูสี	250 gm
ฝาง	250 gm
คัสเกิลฝรั่ง	250 gm
ไม่ได้บ่งบอกปริมาณแอลกอฮอล์	

ตัวอย่างที่ 15

ชื่อ ยาภูมิารตราไก่ ผลิตโดย ห้างขายยาธีระพานิช ตราไก่

ขนาดบรรจุ 300 cc สีน้ำตาล

ทะเบียนยาเลขที่ G306/2528 วันผลิต 24/5/40 Lot & Control No.253

สูตรตำรับ ใน 206.89 cc ประกอบด้วย

ตานดำ	2 gm
ตานเสี้ยน	2 gm

ตานหม่อน	2 gm
รากสะแก	2 gm
เปลือกไข่เน่า	2 gm
กะเพราแดง	2 gm
กะเพราขาว	2 gm
ยาเข้าเย็นเหนื่อ	2 gm
ยาเข้าเย็นได้	2 gm
ชุดหืดไทย	2 gm
ไม่ได้บ่งบอกปริมาณแอลกอฮอล์	

ตัวอย่างที่ 16

ชื่อ ยาสตรีตราแก่นนคร ผลิตโดย ห้างหุ้นส่วนจำกัดแก่นนคร (1978) กรุงเทพฯ
 ขนาดบรรจุ 150 cc สีนํ้าตาล
 ทะเบียนเลขที่ G411/2529 วันผลิต - Lot & Control No.342539

สูตรตำรับ	ทุก 1000 cc ประกอบด้วย
พริกไทย	30 gm
ดอกจันทร์	30 gm
เจตมูลเพลิง	15 gm
ดีปลี	30 gm
ลูกจันทร์	30 gm
แซ่ตี	10 gm
ไม่ได้บ่งบอกปริมาณแอลกอฮอล์	

ตัวอย่างที่ 17

ชื่อ ยาสตรีเบนโล ผลิตโดย ห้างหุ้นส่วนจำกัดสุขแลนด์ฟาร์มชาติ
 ขนาดบรรจุ 180 cc สีนํ้าตาล
 ทะเบียนเลขที่ G 107/2529 วันผลิต 13/10/40 Lot & Control No.012

สูตรตำรับ	ทุก 216.3 ลิตร ประกอบด้วย
ขวนเกียง	1800 gm
มะปะเจียก	2700 gm
หัวแห้งหมู	3600 gm
เล้งจือจี้	1800 gm

กำฝอย	1800 gm
ท่อยัน	1350 gm
ไต้ต้ง	1800 gm
เอี้ยะบ่อเช่า	13.5 kg
คังกวย	2700 gm

ไม่ได้บ่งบอกปริมาณแอลกอฮอล์

ตัวอย่างที่ 18

ชื่อ ยาสตรีเพ็ญภาค ผลิตโดย บริษัท ขายยาเพ็ญภาค จำกัด

ขนาดบรรจุ 150 cc สีนํ้าตาล

ทะเบียนเลขที่ G 565/29 วันผลิต 1/12/40 Lot & Control No.0486

สูตรตำรับ ทุก 150 cc ประกอบด้วย

โกฐเชียง	4.00 gm
โกฐหัวบัว	4.50 gm
คานเทียม	2.50 gm
กิ่งอานเฮย	2.50 gm
บักคี่	3.00 gm

ไม่ได้บ่งบอกปริมาณแอลกอฮอล์

ตัวอย่างที่ 19

ชื่อ ยาสตรีสิงเห ผลิตโดย ร้านขายยาทรงกำเน็ด โอสถ

ขนาดบรรจุ 300 cc สีนํ้าตาล

ทะเบียนเลขที่ G519/29 วันผลิต 13/10/40 Lot & control No.121040

สูตรตำรับ ทุก 18,000 cc ประกอบด้วย

คังกวย	180 gm
ชวนเกียง	180 gm
อั้งฮวย	180 gm
แปะตุ๊ก	180 gm
กั้งเกีย	180 gm
กำเช่า	180 gm
คังเทียม	180 gm
แป๊ะจี่	180 gm

ไม่ได้บ่งบอกปริมาณแอลกอฮอล์

ตัวอย่างที่ 20

ชื่อ ยาสตรีชัชภูมิ ผลิตโดย ห้างชัยภูมิโอสถ ขนาดบรรจุ 200 cc สีน้ำตาล

ทะเบียนเลขที่ 931/2520 วันผลิต 9/9/39 Lot & Control No.2-32

สูตรตำรับ ทุก 20,000 cc ประกอบด้วย

โกฐเชียง	150 gm
โกฐหัวบัว	150 gm
อบเชยเทศ	50 gm
น้ำผึ้ง	375 cc

ไม่ได้บ่งบอกปริมาณแอลกอฮอล์

ตัวอย่างที่ 21

ชื่อ ยาสตรีจอมทอง ผลิตโดย ห้างหุ้นส่วนจำกัด ห้างขายยาจอมทอง

ขนาดบรรจุ 180 cc สีน้ำตาล

ทะเบียนเลขที่ G 164/27 วันผลิต 28/3/40 Lot & Control No. 1

สูตรตำรับ ทุก 10,500 cc ประกอบด้วย

เทียนทั้งห้า	250 gm
ตริกฤก	150 gm
ตรีสาร	150 gm
ฝาง	100 gm
ชะเอม	100 gm
ไพล	100 gm
บรเพ็ด	100 gm
คอกคำฝอย	100 gm
คอกสารภี	50 gm

ไม่ได้บ่งบอกปริมาณแอลกอฮอล์

ตัวอย่างที่ 22

ชื่อ ยาประคตตราแก่นนคร ผลิตโดย ห้างหุ้นส่วนจำกัดแก่นนคร (1978) กรุงเทพฯ
 ขนาดบรรจุ 180 cc สีน้ำตาล
 ทะเบียนเลขที่ G 655/29 วันผลิต Lot & Control No.342539

สูตรตำรับ	ทุก 12830 gm ประกอบด้วย
	ประคตเลือด 75 gm
	ประคตลม 75 gm
	ประคตไฟ 75 gm
	ประคตซ้าง 75 gm
	ขันทองพยาบาท 60 gm
	เปลือกโรคแดง 2400 gm
	พิศนาสน์ 120 gm
	ระย่อม 3000 gm
	คอกจันทร์ 75 gm
	กานพลู 50 gm
	ลูกจันทร์ 75 gm
	คิปลิ 100 gm
	โกฐสอ 100 gm
	เทียนขาว 100 gm
	น้ำผึ้ง 2000 cc
	ไม่ได้บ่งบอกปริมาณแอลกอฮอล์

ขั้นตอนที่ 3 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

ตารางที่ 3 แสดงความเข้มข้น และ %labeled amount ของตัวอย่างที่วัดได้ ในตัวอย่างที่ 1,2,3 และ 16 สันนิษฐานว่า อาจจะมีเมทานอลปลอมปนอยู่ในปริมาณน้อยกว่า 0.2%v/v ตัวอย่างที่ 1,2,5,6,7,11 และ 12 พบว่า มีแคมเฟอร์ และหรือเมนทอลไม่ได้มาตรฐานตามกำหนดไว้บนฉลาก ตำรับยาสำหรับเด็กไม่อนุญาตให้มีแอลกอฮอล์ผสมอยู่แต่พบว่าตัวอย่างที่ 14 ซึ่งเป็นยากุมารใช้สำหรับเด็กมีเอทานอล อยู่ 0.6%v/v พบเมนทอลในตัวอย่างที่ 8 พบแคมเฟอร์ในตัวอย่างที่ 9, 16, 20 และ 22 โดยไม่ได้บ่งบอกไว้บนฉลาก ตัวอย่างที่ 4, 6, 8, 10, 13-22 ไม่ได้บ่งบอกปริมาณเอทานอลไว้บนฉลาก ซึ่งสังเกตได้ว่า ยาหลายตัวอย่างในที่นี้จะมีปริมาณเอทานอลอยู่ในความเข้มข้นที่สูงมาก โดยเฉพาะยาสตรี (ตัวอย่างที่ 16-22) ซึ่งมีเอทานอลอยู่ในช่วงประมาณ 13-17%v/v ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่สูงมาก เทียบได้เท่ากับแอลกอฮอล์ที่มีในไวน์ (11-13%)² หรือสูงกว่า

ตารางที่ 3 แสดงความเข้มข้น และ %labeled amount ของตัวอย่างที่วัดได้ (ภายในวงเล็บ () คือ ความเข้มข้นที่บ่งบอกบนฉลาก x คือ มีสารที่ตรวจวิเคราะห์โดยไม่ได้บ่งบอกไว้บนฉลาก และ ? คือปริมาณบ่งบอกบนฉลากไม่ชัดเจน)

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นที่วัดได้ (ความเข้มข้นบ่งบอกบนฉลาก)				%labeled amount	
	เมทานอล ml/ml	เอทานอล ml/ml	แคมเฟอร် mg/ml	เมนทอล mg/ml	แคมเฟอร်	เมนทอล
1.	1.693x10 ⁻³	0.047 (0.067)	0.489 (0.9)	- (-)	54.33	-
2.	2.018x10 ⁻³	0.047 (0.067)	0.489 (0.9)	- (-)	54.33	-
3.	1.085x10 ⁻³	0.078 (0.095)	- (-)	- (-)	-	-
4.	-	0.092 (-)	- (-)	- (-)	-	-
5.	-	0.058 (0.065)	0.708 (?)	- (0.13)	?	0
6.	-	0.007 (-)	1.381 (2)	0.282 (1.07)	69.05	26.36
7.	-	0.040 (0.038)	2.576 (20)	0.643 (1.07)	12.88	60.09
8.	-	0.097 (-)	- (-)	1.132 (-)	-	x
9.	-	0.090 (0.085)	2.0778 (-)	- (-)	x	-
10.	-	0.044 (-)	- (-)	- (-)	-	-
11.	-	0.029 (0.032)	- (-)	3.383 (1.5)	-	225.53
12.	-	0.015 (0.010)	- (-)	3.538 (1.76)	-	201.02
13.	-	0.104 (-)	- (-)	- (-)	-	-
14.	-	0.006 (-)	- (-)	- (-)	-	-
15.	-	- (-)	- (-)	- (-)	-	-
16.	5.869x10 ⁻⁴	0.128 (-)	1.243 (-)	- (-)	x	-
17.	-	0.065 (-)	- (-)	- (-)	-	-
18.	-	0.173 (-)	- (-)	- (-)	-	-
19.	-	0.141 (-)	- (-)	- (-)	-	-
20.	-	0.149 (-)	0.049 (-)	- (-)	x	-
21.	-	0.128 (-)	- (-)	- (-)	-	-
22.	-	0.133 (-)	1.169 (-)	- (-)	x	-

ขั้นตอนที่ 4 ยืนยันการตรวจหาเมทธานอล และสารอื่นในตัวอย่างโดยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี ร่วมกับแมสสเปกโตรเมตรี

ในการทดลองนี้พบว่า เมื่อเปลี่ยนเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีที่ใช้ แม้ว่าจะใช้คอลัมน์อันเดียวกัน แต่โครมาโทแกรมที่ได้จากสถานะเดียวกันจะแตกต่างกันไป จึงได้ทำการปรับสถานะการทดลองใหม่ให้เหมาะสมดังนี้คือ

Chromatographic condition :- อัตราการไหลของ He โดยตั้งให้ความดันคงที่ที่ 8.7 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

Column AB003HP wax Bonded Polyethylene glycol capillary ความยาว 30 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลางภายนอก 0.25 mm และความหนาของฟิล์ม 0.5 μm

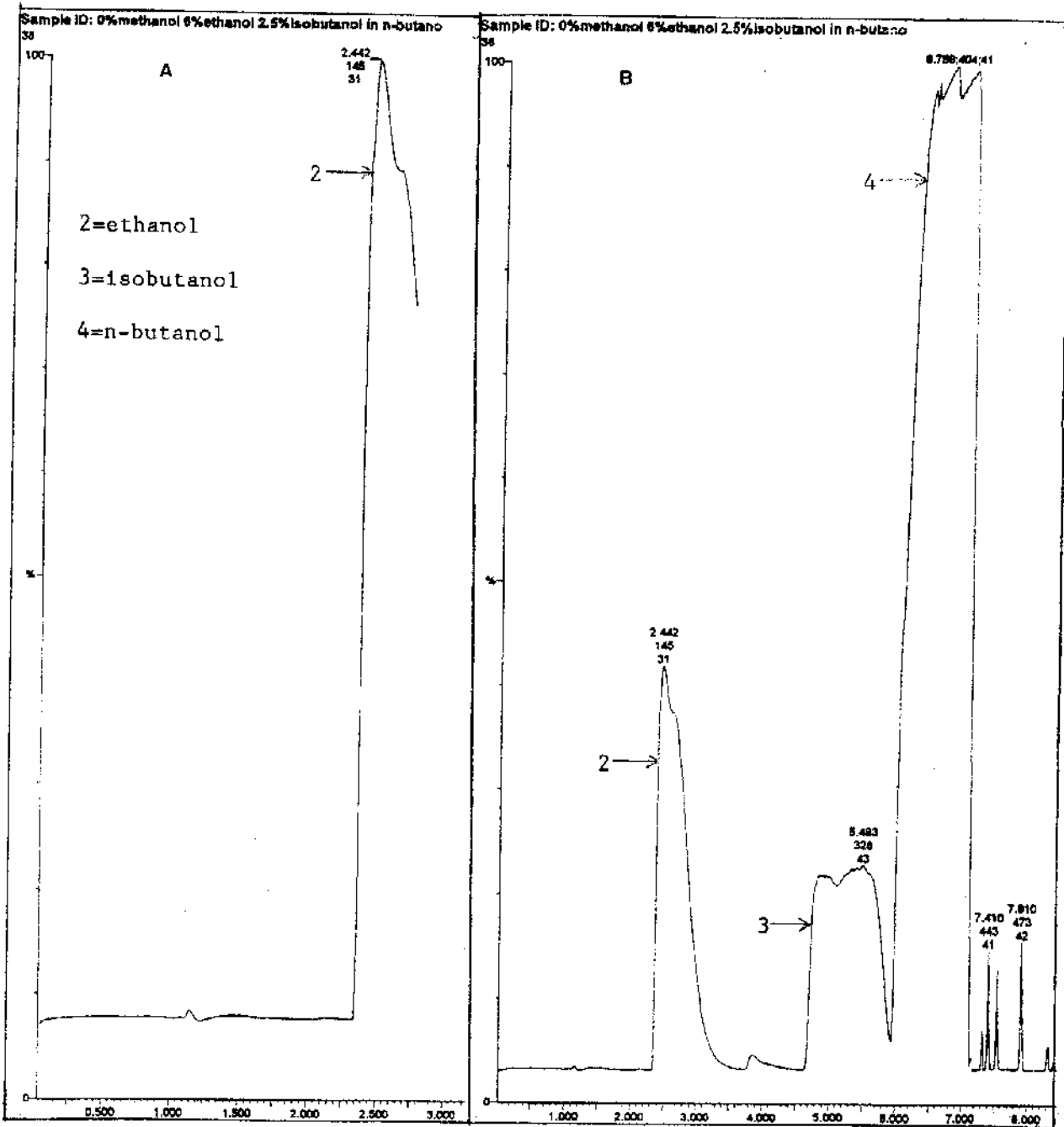
Oven temperature เริ่มต้นที่ 70°C นาน 5 นาที เพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 20°C ต่อนาที จนได้ 120°C คงไว้ 2 นาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 20°C ต่อนาที จนได้ 230°C คงไว้ 2 นาที

inlet temperature :- zone แรก 80°C
zone ที่ 2 120°C

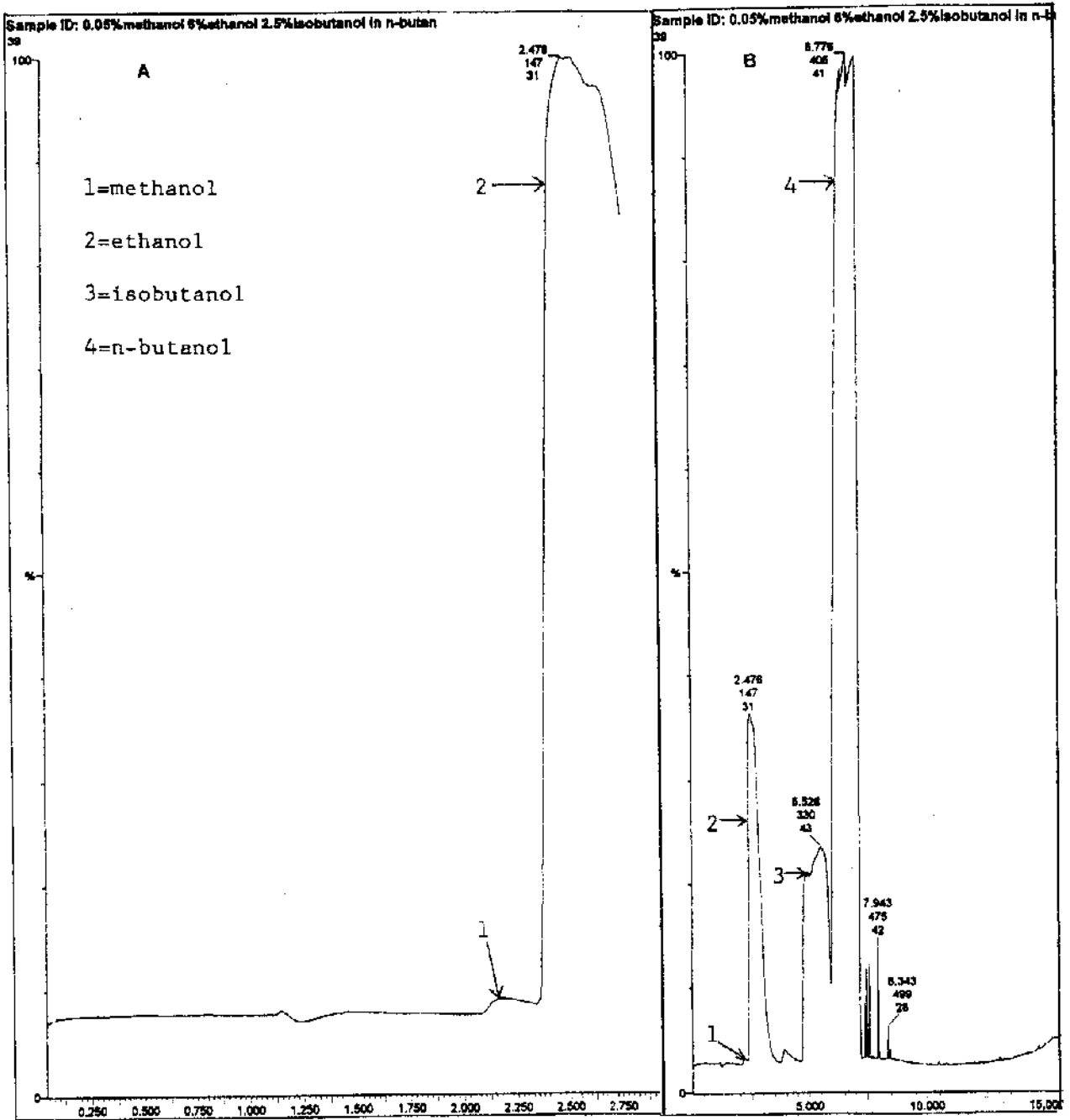
detector:- Mass spectrometer

split ratio : 50 : 1

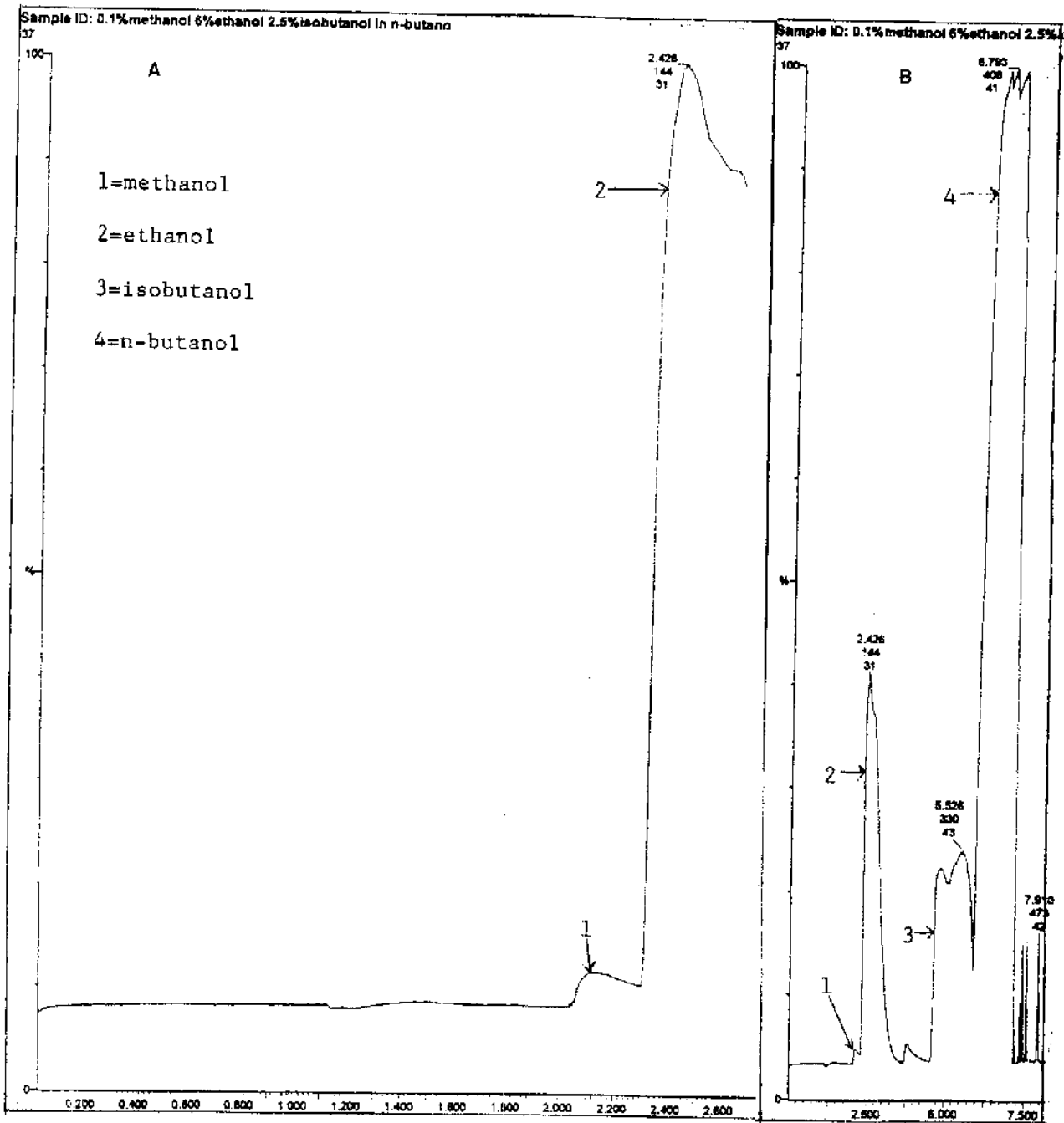
พบว่า peak ของเมทธานอล และเมทธานอล ไม่แยกออกจากกันอย่างเด็ดขาด แต่สามารถตรวจพบเมทธานอลได้ในระดับ 0.05%v/v เมื่ออยู่ร่วมกับเอทธานอล ระดับ 6%v/v ดังแสดงในรูปที่ 12-16



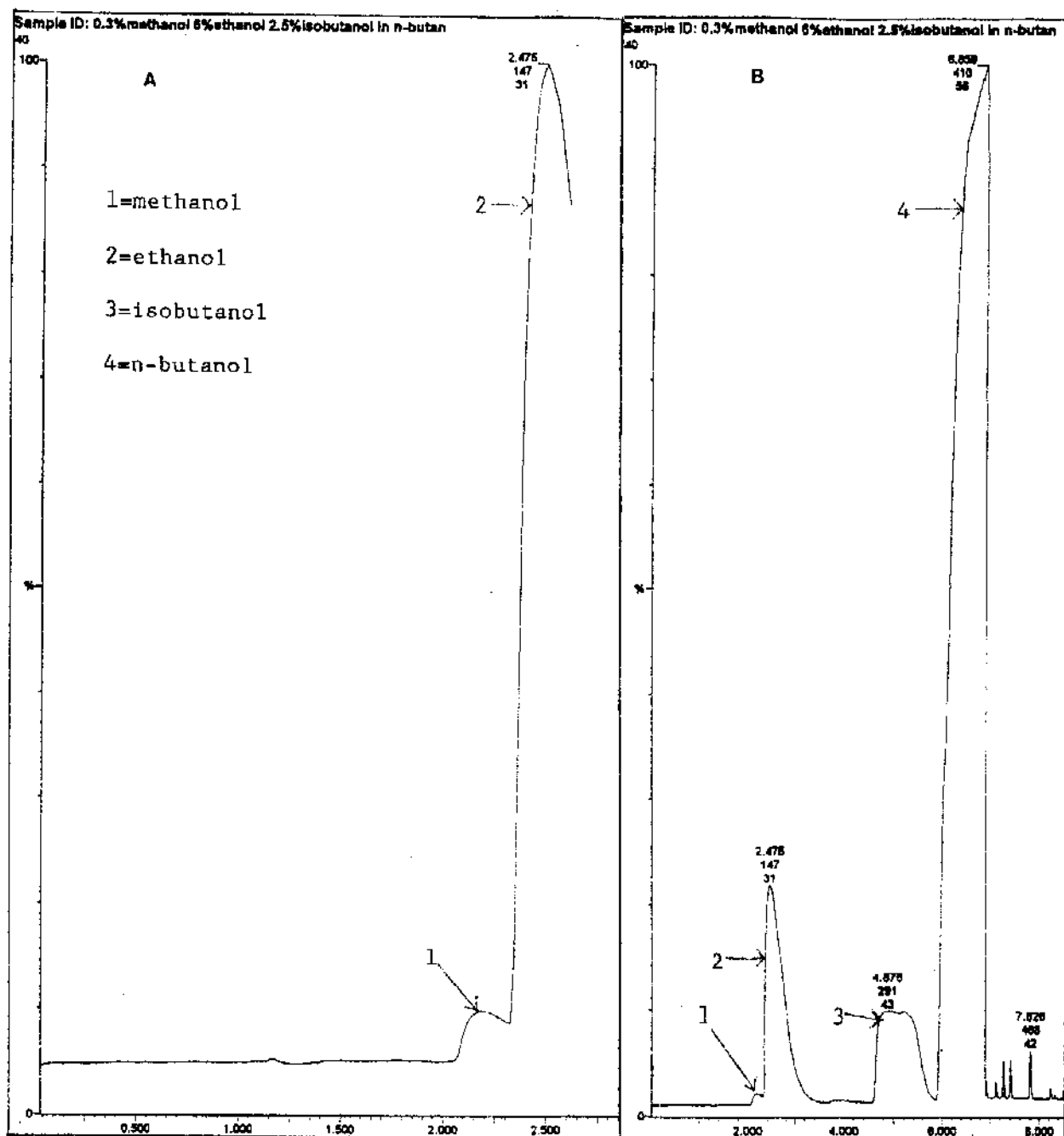
รูปที่ 12 โครมาโทแกรมของสารผสม ซึ่งประกอบด้วย 0% เมทธานอล 6%v/v เอทานอล 2.5%v/v isobutanol ใน n-butanol, A = ขยายสัญญาณที่ peak ของเอทานอล B = โครมาโทแกรมปกติ



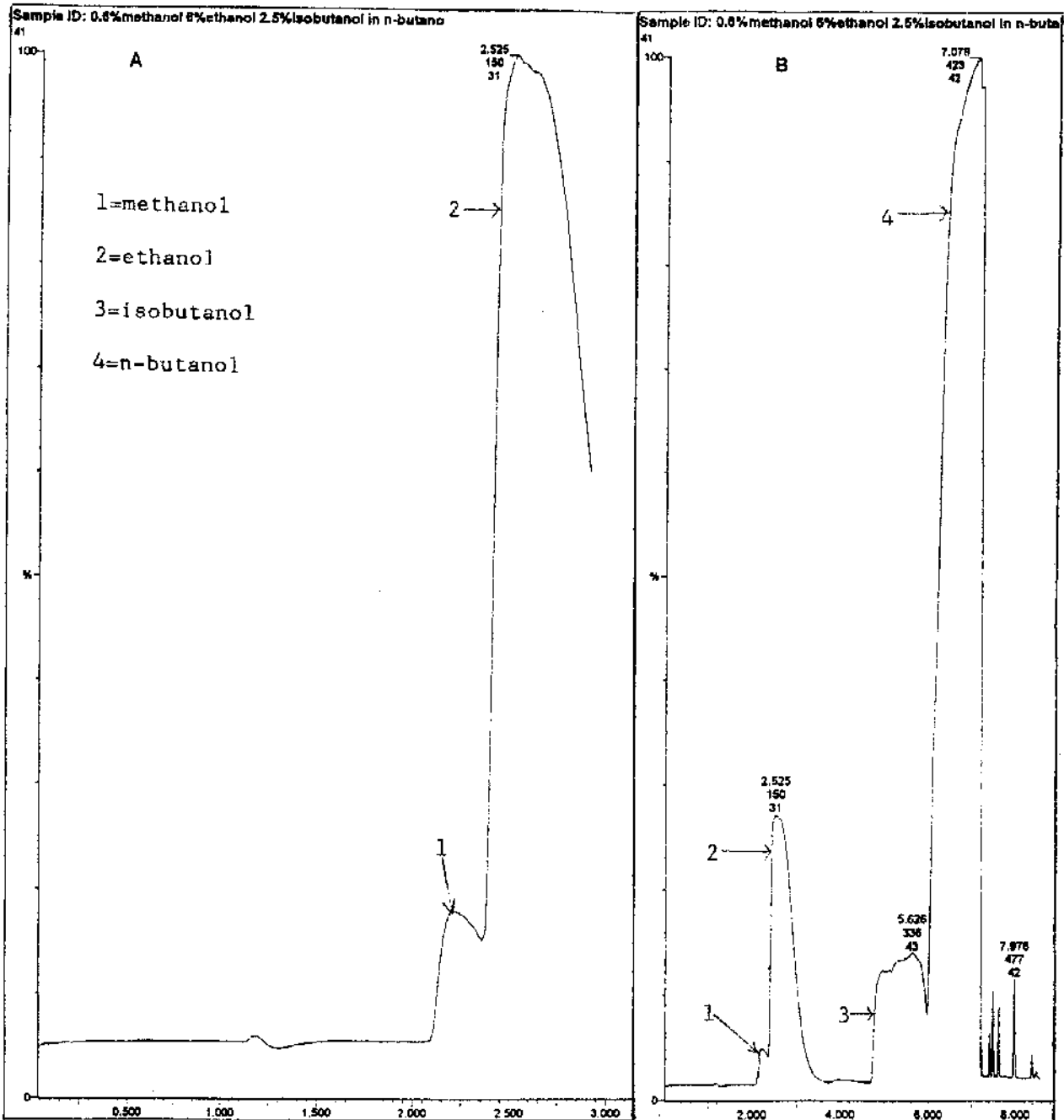
รูปที่ 13 โครมาโทแกรมของสารผสม ซึ่งประกอบด้วย 0.05% เมทานอล 6%v/v เอทานอล 2.5%v/v isobutanol ใน n-butanol, A = ขยายสัญญาณที่ peak ของเอทานอล B = โครมาโทแกรมปกติ



รูปที่ 14 โครมาโทแกรมของสารผสม ซึ่งประกอบด้วย 0.1% เมทานอล 6%v/v
เอทานอล 2.5%v/v isobutanol ใน n-butanol, A = ขยายสัญญาณที่ peak ของเอทานอล
B = โครมาโทแกรมปกติ

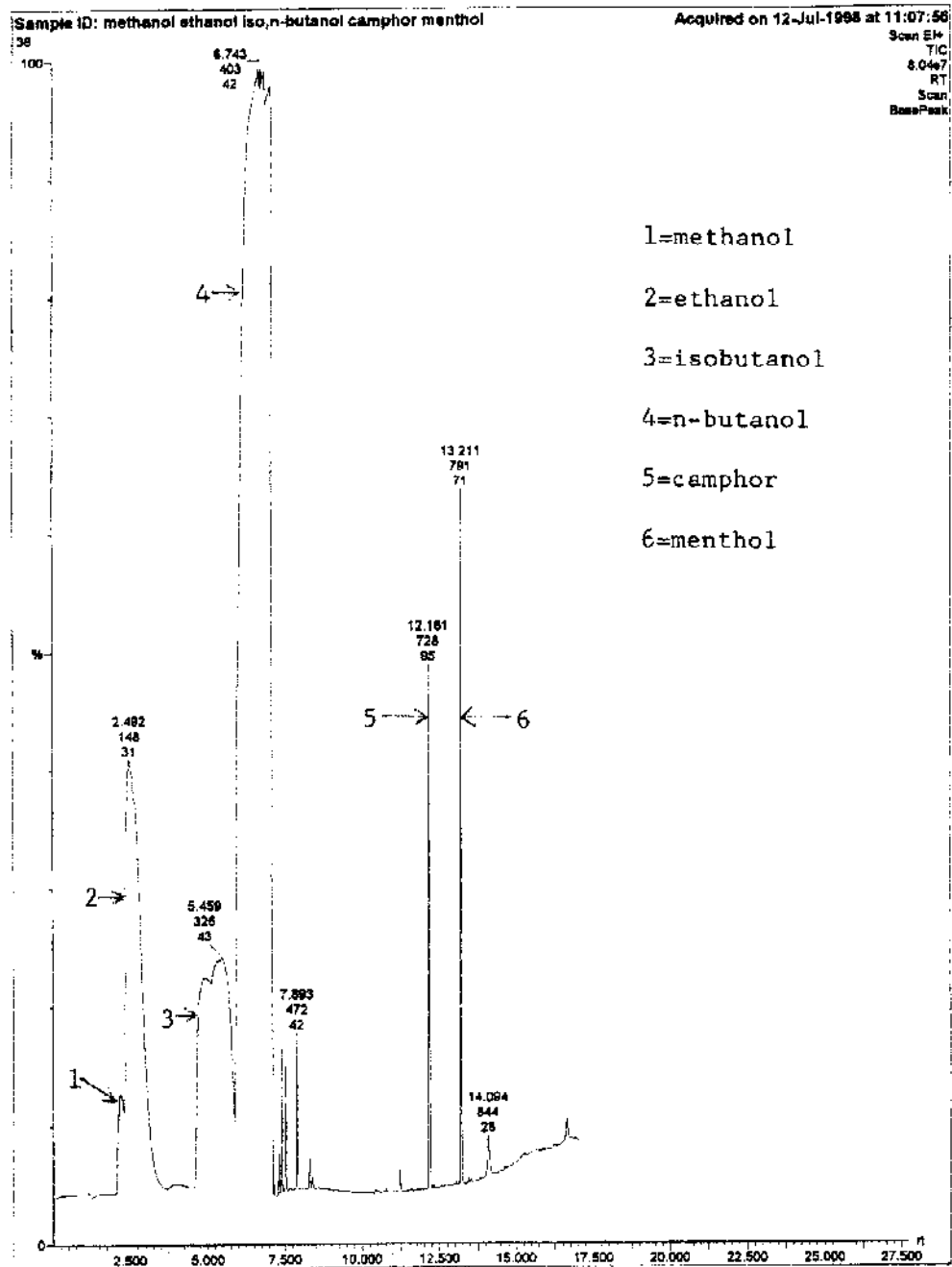


รูปที่ 15 โครมาโทแกรมของสารผสม ซึ่งประกอบด้วย 0.3% เมทธานอล 6%v/v
เอทานอล 2.5%v/v isobutanol ใน n-butanol, A = ขยายสัญญาณที่ peak ของเอทานอล
B = โครมาโทแกรมปกติ



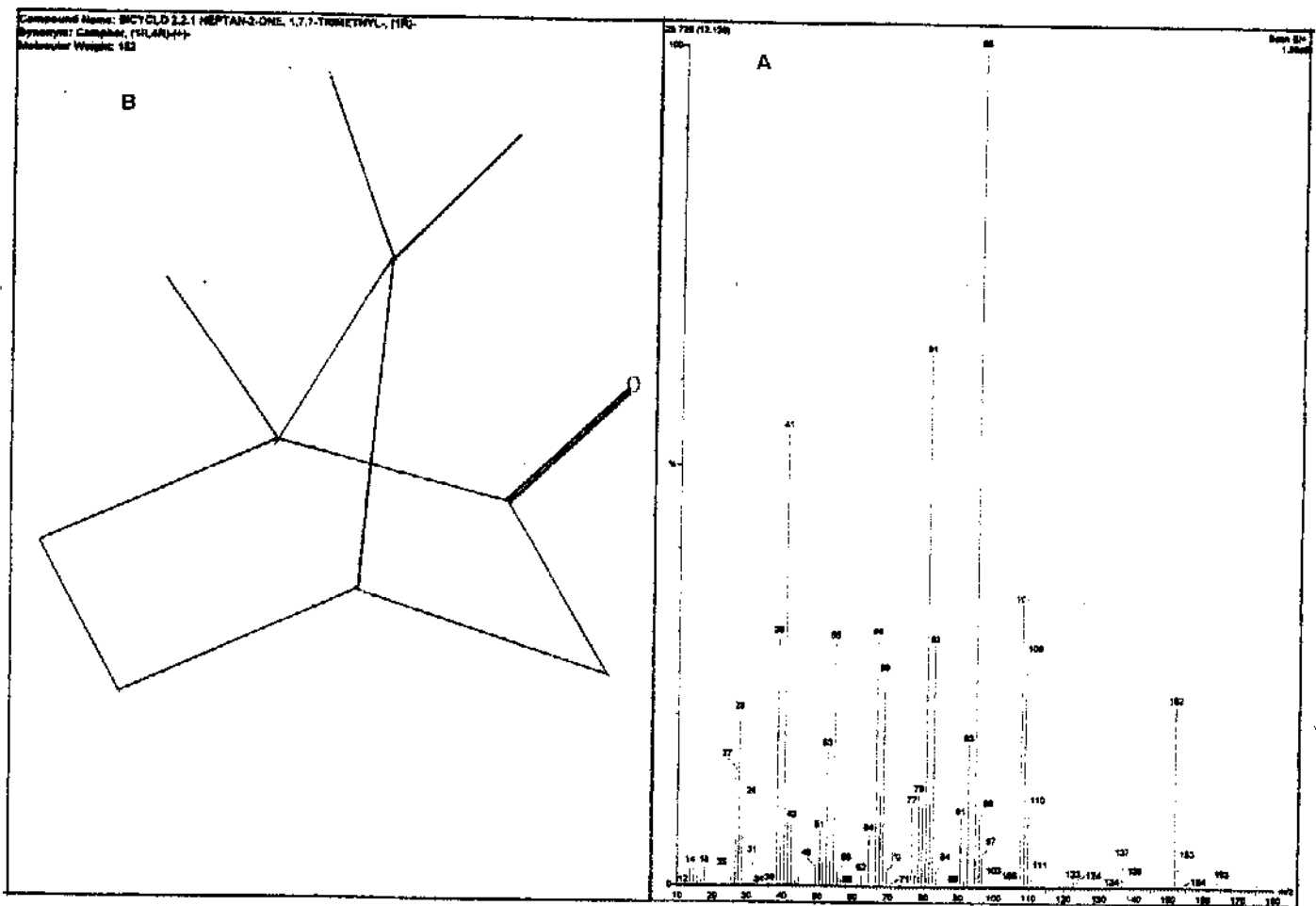
รูปที่ 16 โครมาโทแกรมของสารผสม ซึ่งประกอบด้วย 0.6% เมททานอล 6%v/v
เอทานอล 2.5%v/v isobutanol ใน n-butanol, A = ขยายสัญญาณที่ peak ของเอทานอล
B = โครมาโทแกรมปกติ

โครมาโทแกรมที่ได้จะให้ peak ของเมทานอล เอทานอล isobutanol และ n-butanol ไม่เป็นทรงระฆังคว่ำ ไม่สมมาตร ส่วนแคมเฟอร์ และเมนทอล ให้ peak ที่สวยงาม retention time ของเมทานอล เอทานอล iso-butanol n-butanol แคมเฟอร์ และเมนทอล เท่ากับ 2.2, 2.5, 5.5, 6.7, 12.2 และ 13.2 นาที ความลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 17

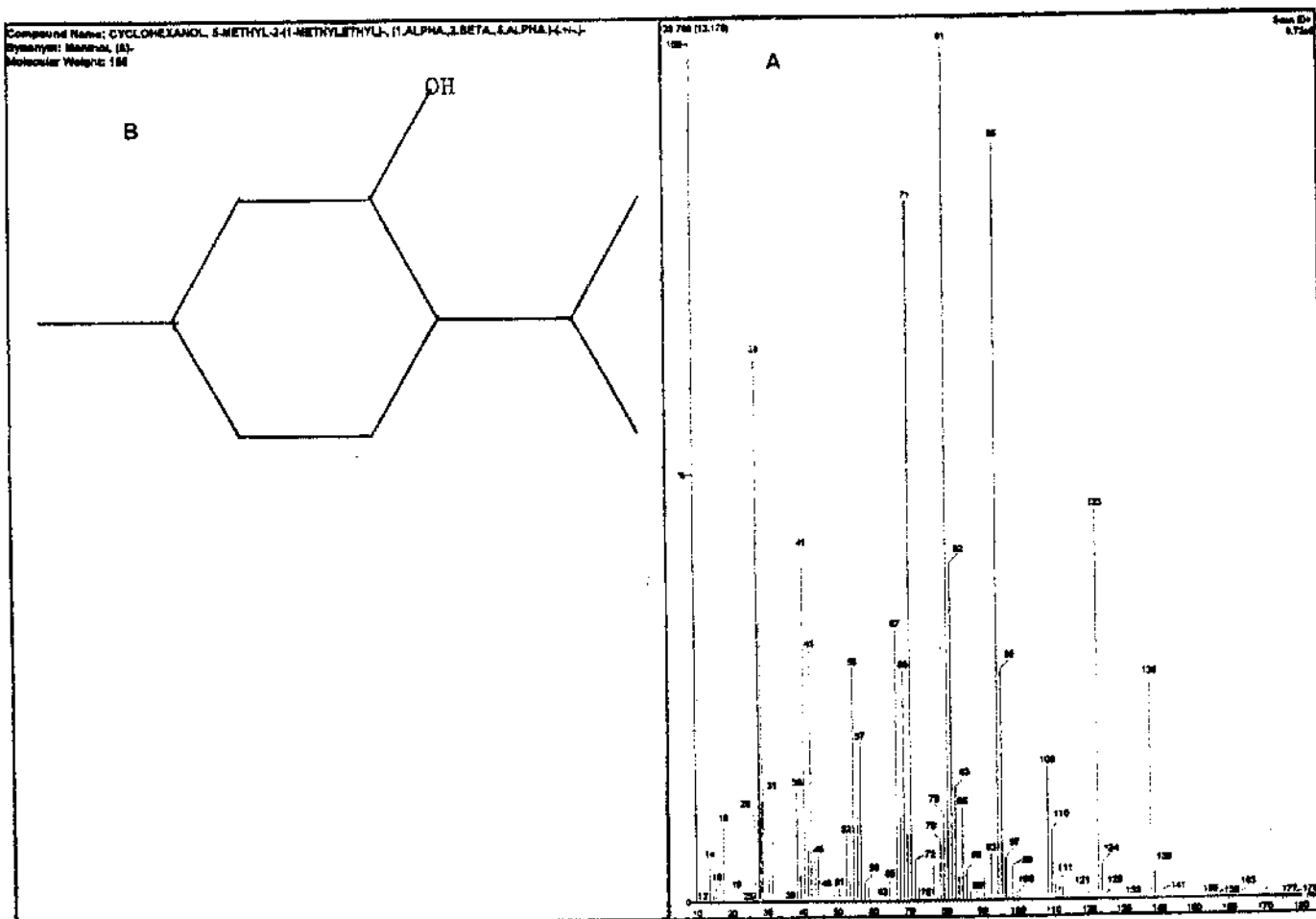


รูปที่ 17 โครมาโทแกรมที่ได้จากการแยกสารผสมของเมทานอล เอทานอล isobutanol n-butanol แคมเฟอร์ และเมนทอล

นอกจากนี้ยังพบว่า mass spectrum ของเมทธานอล เอพทานอล isobutanol และ n-butanol มีความไม่แน่นอนสูง ไม่อาจยืนยันโดยใช้วิธีสืบค้นข้อมูลจาก library ในคอมพิวเตอร์ของเครื่อง GC-MS แต่แคมเฟอร์ และเมนทอล สามารถยืนยันด้วยวิธีสืบค้นจาก library ในคอมพิวเตอร์ของเครื่อง GC-MS ได้ดี ดังแสดงในรูปที่ 18 และ 19

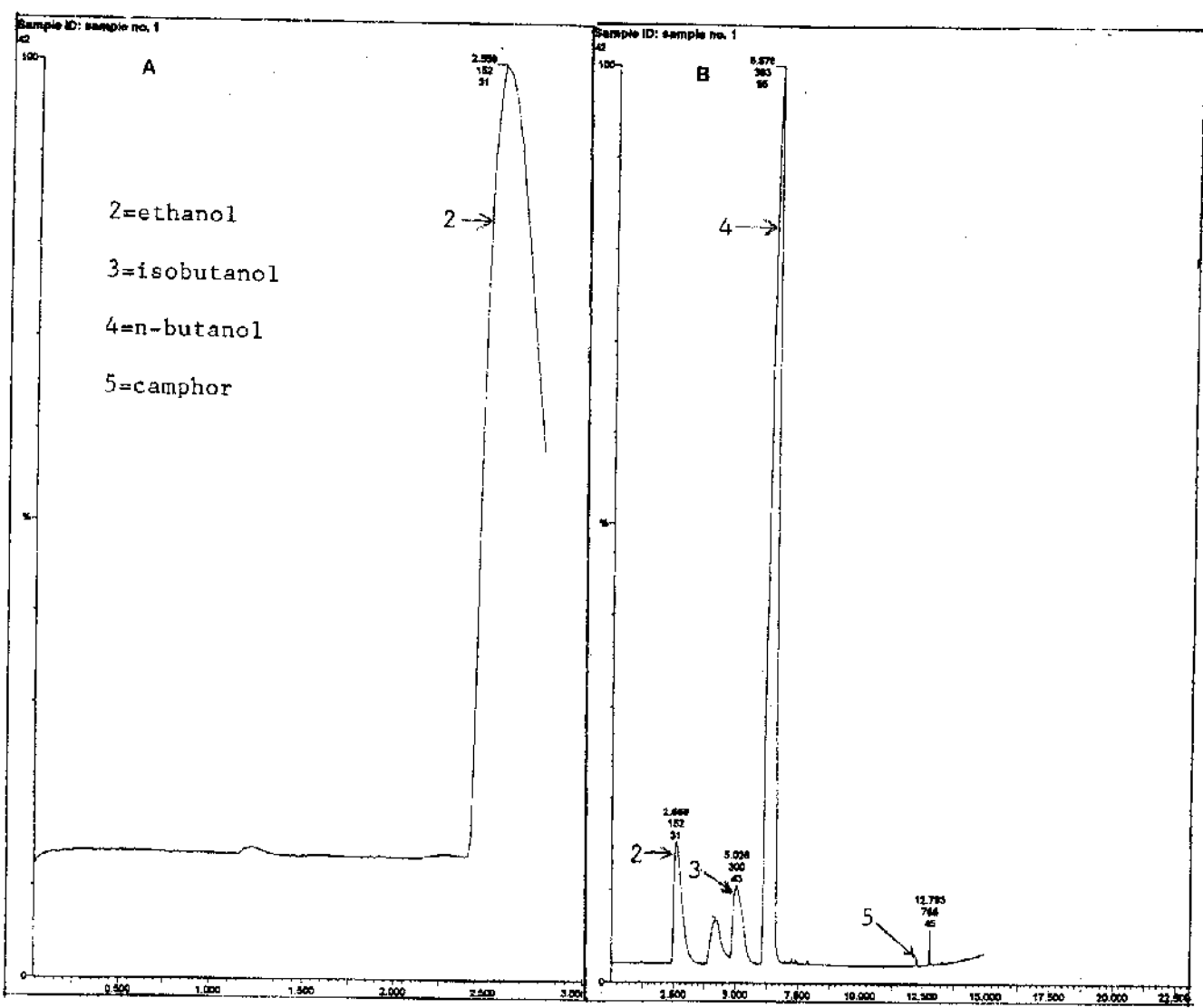


รูปที่ 18 แสดง mass spectrum (A) และสูตรโครงสร้างของแคมเฟอร์ (B) ซึ่งได้จากการยืนยัน โดยวิธีสืบค้นข้อมูลจาก library ในเครื่องคอมพิวเตอร์ของเครื่อง GC-MS ในตำแหน่ง peak ที่สงสัย

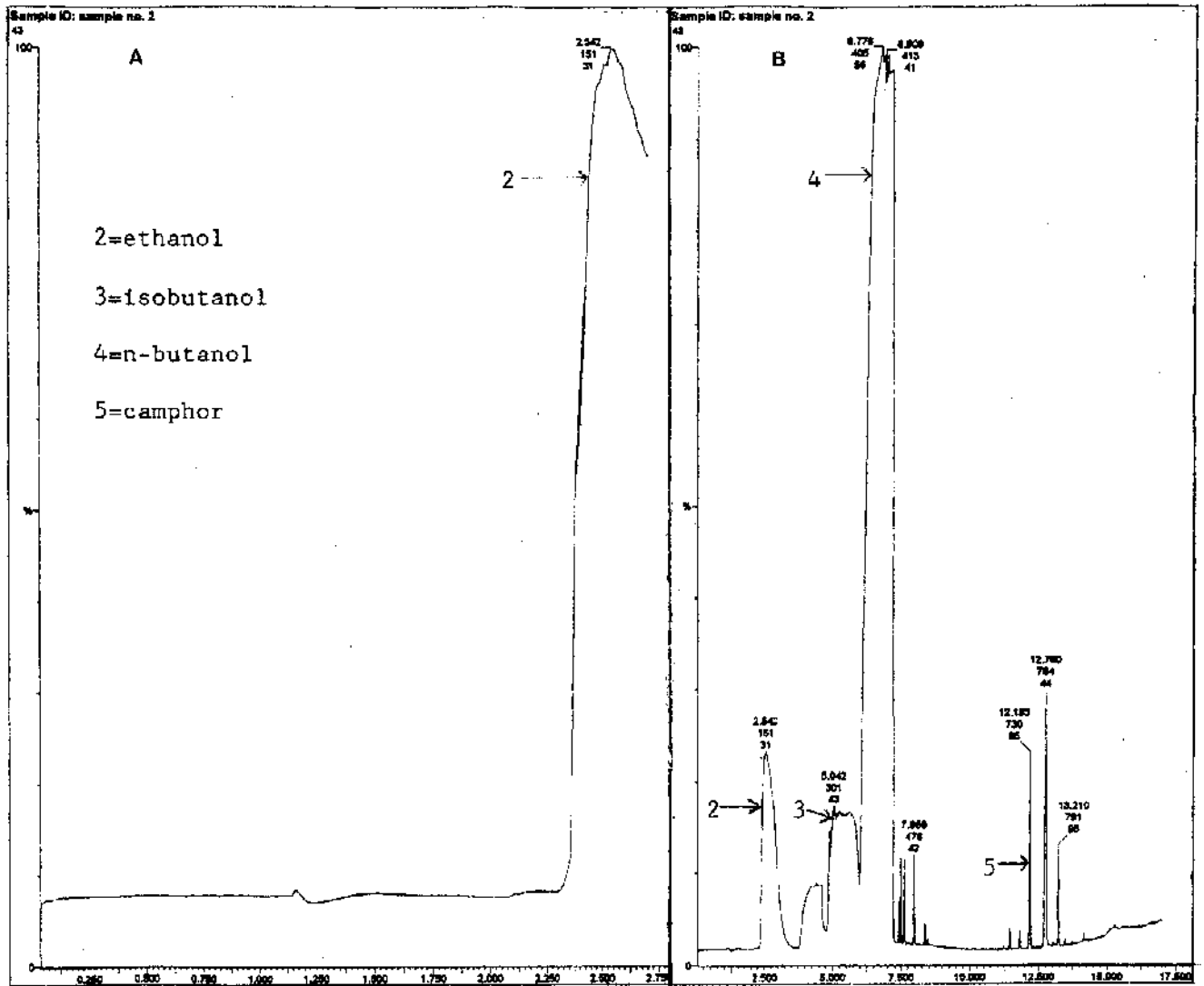


รูปที่ 19 แสดง mass spectrum (A) และสูตรโครงสร้างของเมนทอล (B) ซึ่งได้จากการยืนยัน โดยวิธีสืบค้นข้อมูลจาก library ในเครื่องคอมพิวเตอร์ของเครื่อง GC-MS ในตำแหน่ง peak ที่สงสัย

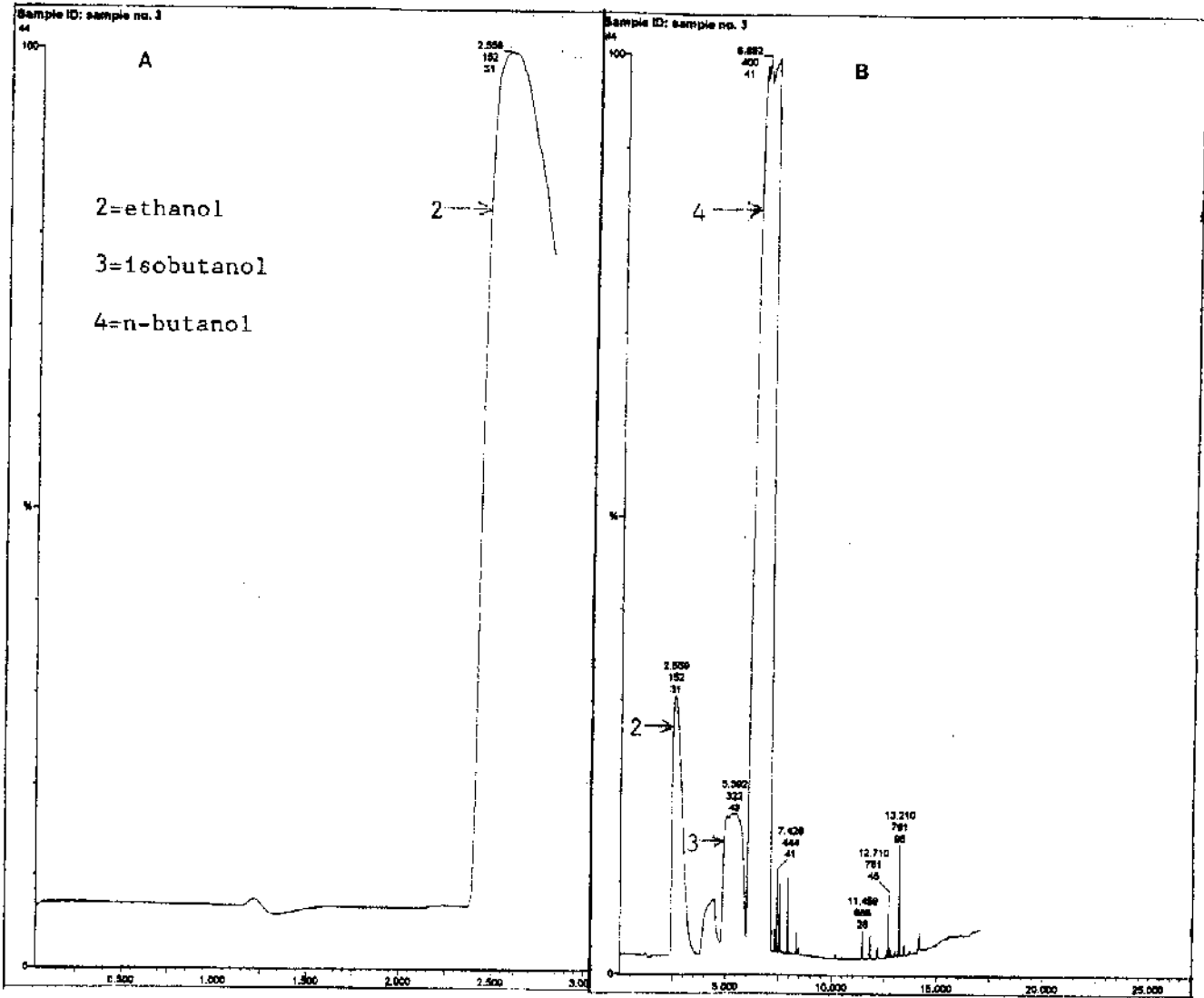
จากปัญหาดังกล่าวข้างต้น ในการทดลองครั้งนี้จึงไม่สามารถยืนยันการปลอมปนเมทธานอลด้วย mass spectrum ได้เพียงแต่ยืนยันด้วยตำแหน่งของ peak ของเมทธานอลเท่านั้น ตัวอย่างที่ 1,2,3 และ 16 ซึ่งสันนิษฐานว่าจะมีเมทธานอลปลอมปนอยู่ จึงได้ถูกวิเคราะห์ซ้ำและพบว่า ตัวอย่างที่ 1,2,3 ไม่พบการปลอมปนของเมทธานอล ดังแสดงในรูปที่ 20, 21 และ 22 แต่ตัวอย่างที่ 16 ปรากฏ peak ของเมทธานอล ดังเช่นปรากฏในการใช้เครื่อง GC ด้วยเครื่องตรวจวัด FID ดังแสดงในรูปที่



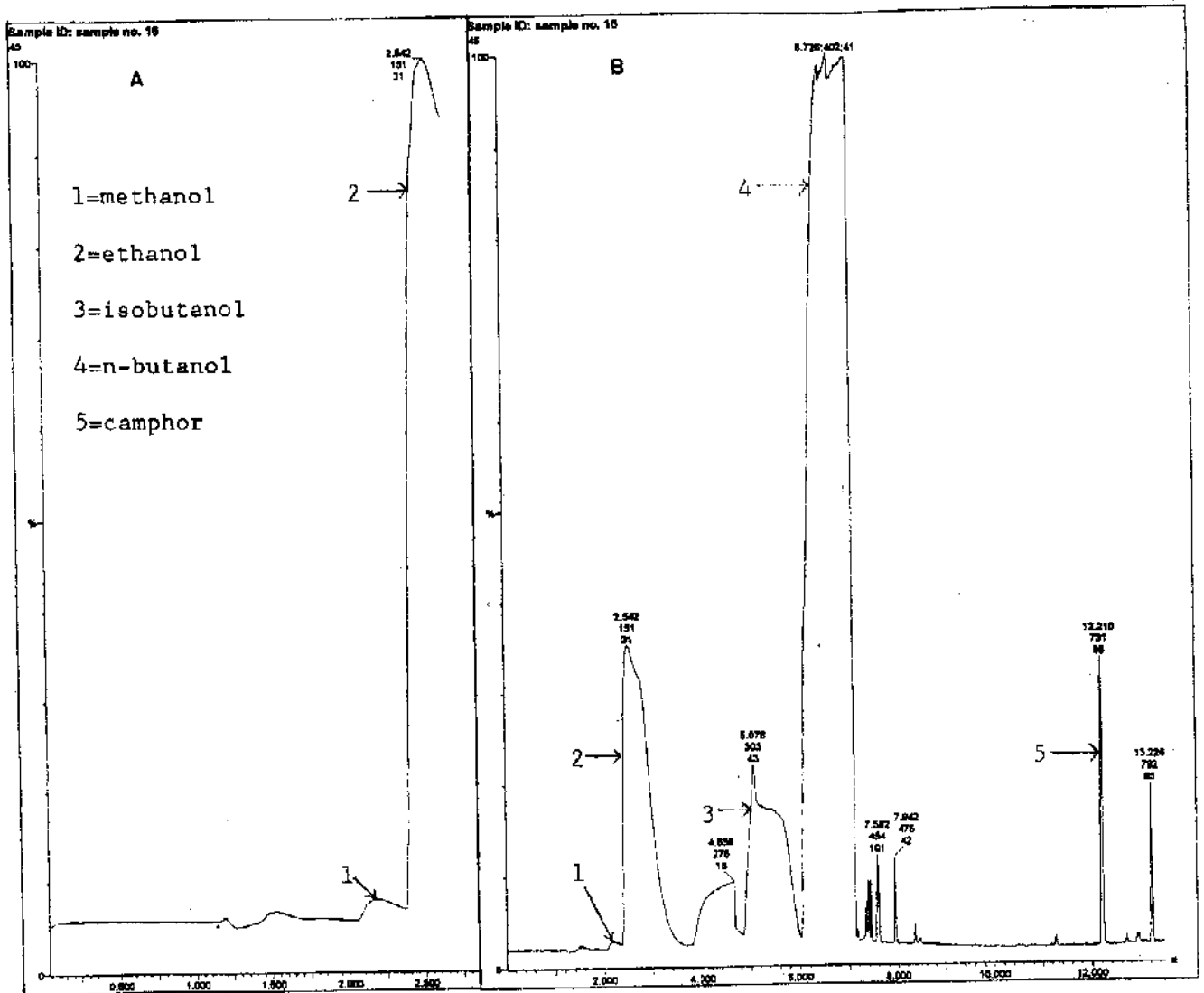
รูปที่ 20 โครมาโทแกรม ขยายสัญญาณ (A) และโครมาโทแกรมปกติ (B) ของตัวอย่างที่ 1



รูปที่ 21 โครมาโทแกรม ขยายสัญญาณ (A) และโครมาโทแกรมปกติ (B) ของตัวอย่างที่ 2



รูปที่ 22 โครมาโทแกรม ขยายสัญญาณ (A) และโครมาโทแกรมปกติ (B) ของตัวอย่างที่ 3



รูปที่ 23 โครมาโทแกรม ขยายสัญญาณ (A) และโครมาโทแกรมปกติ (B) ของตัวอย่างที่ 16

ตัวอย่างที่ 8, 9, 16, 20 และ 22 ซึ่งพบ เมนทอล หรือแคมเฟอร์ โดยมีได้บ่งบอกไว้บนฉลาก ได้ถูกตรวจวิเคราะห์ซ้ำ โดย GC-MS จากการ Scan mass spectrum ตัวอย่างที่ 8 พบเมนทอล ตัวอย่างที่ 9, 16, 20 และ 22 พบแคมเฟอร์ นอกจากนี้ยังได้ยืนยันปริมาณเมนทอลที่สูงเกินกำหนดจริงในตัวอย่างที่ 11 และ 12

วิจารณ์ และสรุปผลการทดลอง

วิธีวิเคราะห์ตัวอย่างโดยใช้แก๊สโครมาโทกราฟฟีร่วมกับเครื่องตรวจวัด FID พบว่า การวิเคราะห์เมณฑอลในที่นี้ไม่ใช่วิธีวิเคราะห์ที่น่าเชื่อถือ เพราะได้ค่า correlation coefficient ต่ำเพียงประมาณ 0.92 เท่านั้น %recovery และความแม่นยำในวิธีวิเคราะห์มีความแปรปรวนสูง ทั้งนี้เกิดจากปริมาณเมณฑอลที่ใช้ในการเตรียมสารละลายมาตรฐานมีความเข้มข้นสูงเกินกว่าที่จะละลายได้ในน้ำทั้งหมด จึงเกิดเมณฑอลแยกตัวเป็นชั้นน้ำมันลอยอยู่ทำให้การวิเคราะห์ละลายมาตรฐานมาใช้ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน การออกแบบทดลองนี้จำเป็นต้องใช้ความเข้มข้นของเมณฑอลในระดับนี้ เพราะเป็นความเข้มข้นที่ปรากฏในผลึกของตัวอย่างส่วนใหญ่ จากผลการทดลองนี้ทำให้เชื่อได้ว่า ตัวอย่างยาที่ไม่สามารถละลายเมณฑอลได้หมด แต่จะเป็นชั้นน้ำมันลอยแยกกับชั้นน้ำ และจะระเหยหายไปเมื่อเวลาผ่านไป สำหรับวิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสมสำหรับใช้วิเคราะห์เมณฑอล เอทานอล และแคมเฟอร์ แม้ว่า %recovery จะน้อยกว่า 70% แต่มีความสม่ำเสมอในการสกัดทุกครั้งมี calibration curve ที่ดี ให้ผลการวิเคราะห์ได้ถูกต้องเที่ยงตรง

เป็นที่น่าสังเกตว่า การใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟฟีต่างยี่ห้อกันมีผลต่อผลการทดลองมาก ดังเช่น การทดลองในครั้งนี้ โครมาโทแกรมของเมณฑอล เอทานอล iso-butanol และ n-butanol จากการใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟฟีร่วมกับเครื่องตรวจวัด FID ยี่ห้อ Hewlett Packard สามารถใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณได้คือ ได้ peak ที่มีลักษณะดี แต่เมื่อเปลี่ยนไปใช้แก๊สโครมาโทกราฟฟีร่วมกับเครื่องตรวจวัด mass spectrometer ยี่ห้อ Fisons Instruments โครมาโทแกรมที่ได้กลับมีลักษณะไม่ดีให้ peak บิดเบี้ยว แม้ว่าจะใช้คอลัมน์อันเดียวกัน และสถานะเดียวกัน อย่างไรก็ตาม จากตำแหน่งของ peak ต่าง ๆ ที่ได้สามารถยืนยันผลการทดลองร่วมกับการใช้แก๊สโครมาโทกราฟฟียี่ห้อ Hewlett Packard ได้

แม้ว่ามีตัวอย่างที่พบเมณฑอลปลอมปนอยู่ (ตัวอย่างที่ 16) แต่ระดับเมณฑอลที่พบนี้ไม่ควรเป็นอันตรายต่อสุขภาพ เมณฑอลระดับนี้สามารถพบได้ทั่วไปในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ชนิดต่าง ๆ ทว่า แอลกอฮอล์ที่สามารถนำมาใช้ปรุงยาได้ต้องไม่มีเมณฑอลเจือปนอยู่เลย จึงเป็นไปได้ว่า บริษัทผู้ผลิตยาเหล่านี้ไม่ได้นำแอลกอฮอล์ชนิดบริสุทธิ์มาปรุงยา แต่ใช้แอลกอฮอล์ที่มีคุณภาพรองลงมาใช้แทน หรือไม่ได้ควบคุมคุณภาพวัตถุดิบแอลกอฮอล์ที่ใช้ปรุงยา ยาชาคูน้าแดง และยาขับลมมีปรากฏในเภสัชตำรับมานานมากแล้วจัดเป็นยาสามัญประจำบ้านประเภทบรรจุเสร็จและไม่ใช่ยาอันตราย หากแต่ปริมาณที่สูงของแอลกอฮอล์ในตัวอย่งยาเหล่านี้อาจก่อผลเสียได้หากผู้บริโภค บริโภคเกินขนาดที่กำหนด เพราะทำให้เกิดโรคพิษสุราเรื้อรังขึ้นได้ ปริมาณตัวยาที่บ่งบอกบนฉลากก็เชื่อถือไม่ได้ เพราะเกือบทุกอย่างไม่ได้มาตรฐาน หรือไม่ได้ปริมาณตามที่บ่งบอกไว้บนฉลาก สาเหตุที่เป็นดังนี้ อาจเป็นเพราะไม่มีการควบคุมคุณภาพของยาเหล่านี้โดยบริษัทผู้ผลิต และมีความหย่อนยานในการควบคุมคุณภาพจากหน่วยงานรับผิดชอบของรัฐ เพราะเห็นว่าไม่ใช่ยาอันตราย อย่างไรก็ตาม เพื่อเป็นการคุ้มครองผู้บริโภค บริษัทยาผู้ผลิตควรมีการควบคุม

คุณภาพให้มีปริมาณตรงกับที่บ่งบอกไว้บนฉลาก หากทำไม่ได้ก็ควรเปลี่ยนฉลากยาใหม่ หรือ
ขึ้นทะเบียนตำรับยาใหม่ให้มีปริมาณตรงกับฉลาก เพื่อผู้บริโภคได้เลือกซื้อสินค้าได้อย่างถูก
ต้องตามหลักสากลนิยม และยังเป็นการยกมาตรฐานยาแผนโบราณ และยาสามัญประจำบ้านด้วย