หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

1.1. ความเป็นมาของปัญหา

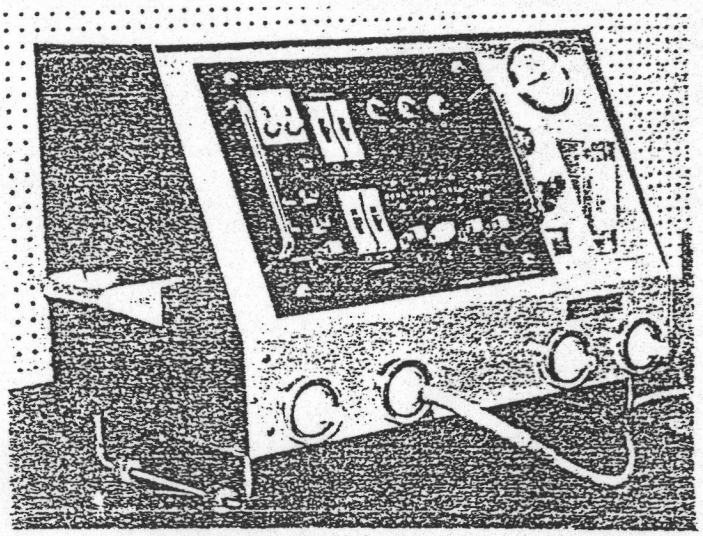
นิโคตินเป็นสารที่มีอยู่ในใบยาสูบและเป็นสารที่เป็นพิษ(Toxic) มากสารหนึ่งโดยพบว่าถ้าได้รับนิโคตินประมาณ 60 มิลลิกรัม เข้าสู่ร่างกายจะทำให้ถึงแก่ความตายภายในเวลา 2-3 นาที เนื่องจากเกิดอาการกล้ามเนื้ออ่อนเพลีย และถ้าคนรับนิโคตินปริมาณไม่เกิน 60 มิลลิกรัม จะทำให้เกิดอาการคลื่นเหียนอาเจียน ชัก ใจสั่น ขับถ่ายและปัสสาวะอย่างเฉียบพลัน ซิการ์(cigar) 1 มวน มีปริมาณนิโคตินถึง 150 มิลลิกรัม ซึ่งมีปริมาณมากเป็นสองเท่าของปริมาณนิโคตินที่ทำให้ตาย แต่คนเราเมื่อสูบบุหรี่จะรับนิโคตินเข้าทางระบบหายใจน้อยกว่า 10% ของปริมาณนิโคตินในบุหรี่ 1 มวนจึงต้องใช้ระยะเวลาในการสะสมจึงปรากฏผลเป็นอันตรายต่อร่างกาย (1)

ก้นกรองบุหรี่(Filter) เป็นมาตรการหนึ่งที่ลดปริมาณนิโคตินที่เข้าสู่ร่างกายได้ ดังนั้นการตรวจสอบปริมาณนิโคนิกที่ถูกก้นกรองดูดจับเท่าใดจึงเป็นการหาประสิทธิภาพก้นกรองบุหรี่ได้

ตารางที่ 1.1 การวิเคราะห์หาปริมาณนิโคติน

วิธีการ	วิธีวิเคราะห์และอุปกรณ์
การกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) แกซโครมาโทกราฟฟี (GC) HPLC	อุปกรณ์ชุดกลั่น (2) การวัดปริมาณนิโคตินจากโครมาโตรแกรม (chromatogram)

จากตารางที่ 1.1 จะพบว่ากรรมวิธีในการตรวจสอบเหล่านี้ยุ่งยาก เนื่องจากต้องใช้อุปกรณ์เตรียมตัวอย่างก่อนวิเคราะห์ และใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน การนำเอาเทคนิคทางนิวเคลียร์มาประยุกต์ โดยทำการติดฉลากนิโคตินด้วยสารรังสี(C-14 หรือ H-3) การวัดปริมาณนิโคตินที่เหลือตกค้างที่ก้นกรอง โดยนำเอา C-14 หรือ H-3 ติดฉลากนิโคตินผสมลงในเส้นใบยาสูบของบุหรี่ และทำการสูบด้วยเครื่องสูบบุหรี่(smoking machine)(3,4)ดังรูปที่ 1.1



รูปที่ 1.1 เครื่องสูบบุหรี่

จากนั้นนำก้นกรองบุหรี่มาวัดปริมาณนิโคตินรังสีที่เหลือตกค้างที่ก้นกรอง และนำไปเปรียบเทียบ กับปริมาณนิโคตินรังสีที่ใส่ในบุหรี่ทั้งหมด ก็จะได้ประสิทธิภาพของก้นกรองบุหรี่(3) ดังนั้นเพื่อจะทำการหาประสิทธิภาพก้นกรองบุหรี่ให้ได้ง่าย และสะดวกขึ้นจำเป็นต้องทำการศึกษาการสังเคราะห์นิโคตินกัมมันตรังสี

1.2 วัตถุประสงค์ขอบเขตการวิจัย

1.2.1 วัตถุประสงค์

1.2.1.1 เพื่อศึกษาวิธีการผลิตนิโคตินกัมมันตรังสี(นิโคตินC-14 หรือ H-3)จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนิโคตินอะนาทาแบคคุม(Nicotiana tabacum)

1.2.1.2 เพื่อผลิตนิโคตินกัมมันตรังสีจากวิธีที่ได้ศึกษาและพัฒนาขึ้น

1.2.2 ขอบเขตการวิจัย

1.2.2.1 ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนิโคติอะนาทาแบคคุม, เบอร์เล่ย์, พันธุ์เขียวใหญ่ 14(KY-14)

1.2.2.2 ทำการศึกษาวิธีสังเคราะห์นิโคตินกัมมันตรังสี C-14 หรือ H-3 โดยผ่านการทำการติดฉลากแบบรีคอล์ยของ C-14 และ H-3 กับนิโคนินามีด และกรดนิโคตินิก

1.2.2.3 ทำการสังเคราะห์นิโคตินกัมมันตรังสี C-14 หรือ H-3 โดยใช้เงื่อนไขที่เหมาะสมตามผลการศึกษาให้มีความแรงรังสีจำเพาะสูงเพื่อนำไปใช้เป็นสารติดตาม (tracer)ได้

1.3 ขั้นตอนดำเนินการวิจัย

1.3.1 การผลิตนิโคตินิก C-14

1.3.1.1 นำนิโคตินามีดอาบรังสีรังสีนิวตรอนช้า(slow neutron) ที่เตาปฏิกรณ์นิวเคลียร์เป็นเวลานาน 288 ชม. ที่ประมาณ 0.7×10^{12} นิวตรอน/ตร.ซม./วินาที ได้นิโคตินามีด C-14

1.3.1.2 เปลี่ยนนิโคตินามีด C-14 เปลี่ยนเป็นนิโคตินิค C-14 โดยกระบวนการทางเคมี และ วัดปริมาณรังสีของกรดนิโคตินิก C-14 ด้วยเครื่องวัดลิควิดซินทิลเลชัน(Liquid Scintillation Counter(LSC)) พร้อมกับวัดปริมาณน้ำหนักผลผลิต

1.3.2 การผลิตนิโคตินิก H-3

1.3.2.1 นำกรดนิโคตินิก 20 กรัม ผสมกับ Li_2CO_3 1 กรัม โดยนำมาบดให้ละเอียด และอาบรังสี $0.7x10^{12}$ นิวตรอน/ตร.ซม./วินาที ในเตาปฏิกรณ์นิวเคลียร์เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

1.3.2.2 ทำการระเหิดสารผสมในข้อ 2.1 และนำมาตกผลึกจะได้กรดนิโคตินิก H-3

1.3.2.3 ทำการวัดปริมาณน้ำหนัก และปริมาณรังสีของกรดนิโคตินิก H-3

1.3.3 การผลิตนิโคตินกัมตภาพรังสีจากทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนิโคนิตอะนาทาแบคคุมพันธุ์เขียวใหญ่ 14 หรือ KY-14 ดังนี้

1.3.3.1 ทำการเพาะต้นกล้าใบยาสูบ KY-14 ในสภาพปลอดเชื้อนาน 2 สัปดาห์

1.3.3.2 นำต้นกล้าเพาะบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตรM&S,10IAA, 0.1 ไคนิติน นาน 2 เดือนเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อทุกๆ 2 สัปดาห์

1.3.3.3 ตัดลำต้นพืชขนาด 1 เซนติเมตร จากต้นใบยาสูบที่เลี้ยงที่ได้จากข้อ 1.3.3.2 ลงในอาหารเลี้ยงเพาะเนื้อเยื่อ M&S 11.5 μM NAA และ1μM ไคนิตีน เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์เปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทุกๆ 2 สัปดาห์

1.3.3.4 ทำการคัดเลือกเนื้อเยื่อและทาการขยายพันธุ์เนื้อเยื่อชนิดที่ต้องการลงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ M&S. 0.1 μM NAA และ1μM ไคนิตีน เป็นเวลานาน 6 สัปดาห์เปลี่ยนอาหารเนื้อเยื่อทุก ๆ 2 สัปดาห์

1.3.3.5 ทำการทดลองที่ 1.3.3.4 ซ้ำ แต่ไม่เปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1.3.3.6 วัดปริมาณนิโคติน และการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อนิโคติอะนาทาแบคคุม ในข้อ 1.3.3.4 และ 1.3.3.5 และทำการเปรียบเทียบปริมาณนิโคตินและการ

เจริญเติบโตระหว่างการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบเปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และแบบไม่เปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1.3.3.7 นำเอากรดนิโคตินิกกัมมันตรังสีมาใส่ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ M&S และ ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อซึ่งสามารถผลิตนิโคตินได้สูงสุดจะได้นิโคตินกัมมันตรังสี โดยจะได้จากการสกัด

1.4 <u>ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัยนี้</u>

1.4.1 ได้วิธีการสังเคราะห์นิโคตินกัมมันตภาพรังสี

1.4.2 ได้นิโคตินกัมมัตภาพรังสีเพื่อใช้เป็นสารติดตาม เช่น การหาประสิทธิภาพก้นกรองบุหรี่ และ การศึกษากลไกทางปฏิกิริยาชีวเคมีของนิโคติน