

การพัฒนาวิธีตรวจหาสารต้องห้ามประเภท สารเสพติด ยาขับปัสสาวะและยาเบต้าบล็อกเกอร์ ในปัสสาวะ โดยใช้เครื่อง LC/MS/MS



ปัญญามหิดล
คุณภาพคน คุณภาพงาน
Mahidol Quality Fair 2014

18-12-2557 ณ ศูนย์การประชุมหิดล ศาลา ๕

นางสาวรุ่งกานต์ ภู่อรรถกรณชัย, นางสาวธาริณี อินทอง, นางสาวเสาวคนธ์ แป้นแอ้น, นายเสกสรร แก้วกล้า,
นางมรกต แก้วกล้า, รศ.ดร. ประพิณ วิไลรัตน์, รศ.ดร. ธนิต คูสำราญ, รศ.นพ. สุพรชัย กองพัฒนากุล

บทคัดย่อ

การตรวจหาสารต้องห้ามในนักกีฬา ตามที่กำหนดไว้ในรายชื่อสารต้องห้ามขององค์กร WADA (World Anti-Doping Agency) ปัจจุบันมีจำนวนสารเพิ่มขึ้นและระดับความเข้มข้นที่ต่ำมาก เครื่อง LC/MS/MS จึงถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจวัดสารเสพติด ยาขับปัสสาวะและยาเบต้าบล็อกเกอร์ โดยช่วยเพิ่มความรวดเร็วและถูกต้องในการวิเคราะห์ ทั้งยังสามารถตรวจวัดสารที่มีความเข้มข้นต่ำในระดับ ng/ml และสามารถลดกระบวนการวิเคราะห์จากหลายวิธีเดิมเหลือเพียงวิธีเดียว

หลักการและเหตุผล

เนื่องจากศูนย์ตรวจสอบสารต้องห้ามในนักกีฬาเป็นห้องปฏิบัติการที่ทำการตรวจสอบหาสารต้องห้าม ตามที่กำหนดไว้ในรายชื่อสารต้องห้ามขององค์กร WADA (World Anti-Doping Agency) ในช่วงแรกของการตรวจหาสาร นิยมใช้เครื่อง GC/MS ในการตรวจวัด ซึ่งต้องใช้วิธีสกัดและเครื่องมือจำนวนมากในการตรวจวัดสารทั้งหมด แต่เนื่องจากสารบางกลุ่มระเหยได้ยากและเป็นสารที่มีขั้ว จึงทำให้ยากที่จะตรวจวัดสารทั้งหมดได้ จึงมีการใช้เครื่อง LC/MS/MS เข้ามาช่วยแก้ปัญหาในการตรวจวัดสาร ซึ่งนอกจากจะเป็นวิธีการที่มีความรวดเร็ว, แม่นยำและมีความไวสูงแล้ว ยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้กับงานนิติวิทยาศาสตร์หรือการตรวจทางพิษวิทยาและประยุกต์ดัดแปลงใช้ตรวจหาสารประเภทเดียวกันแต่ไม่ใช่สารต้องห้ามในนักกีฬาได้

จุดประสงค์

เพื่อพัฒนาวิธีตรวจหาสารต้องห้าม ประเภท สารเสพติด ยาขับปัสสาวะและยาเบต้าบล็อกเกอร์ ในปัสสาวะ โดยการใช้เครื่อง LC/MS/MS

กระบวนการพัฒนาคุณภาพ

LC/MS/MS เป็นเครื่องมือสำหรับแยกวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสารในสถานะของเหลว โดยใช้ตัวตรวจวัด เป็นแบบเครื่องวิเคราะห์มวลสาร (Mass Spectrometer) โดยที่ MS ตัวที่หนึ่งใช้สำหรับแยกไอออนจากกลุ่มไอออนเบื้องต้น (Primary ion) ไอออนที่แยกออกมาได้นี้เรียกว่า Precursor ion และเมื่อ Precursor ion วิ่งผ่านไปยัง collision cell ก็จะถูกแตกตัวเป็น Product ion แล้วใช้ MS ตัวถัดไปวัด Product ion 1, 2 ที่เป็นเอกลักษณ์ของสารนั้นๆ ดังนั้นจึงมีความไว, ความถูกต้องและความแม่นยำในการตรวจวัดสาร และความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวิเคราะห์สารสูงมาก

ผลการพัฒนาคุณภาพ

ตารางที่ 1: ตารางสรุปตัวอย่างสาร 20 สารจาก 60 สาร ในกลุ่ม สารเสพติด ยาขับปัสสาวะ และยาเบต้าบล็อกเกอร์ โดยใช้เครื่อง LC/MS/MS

สารเสพติด	RT(min)*	Precursor ion	Product ion1	Product ion2	LOD** (ng/ml)
Buprenorphine	3.830	468.3	396.3	187.1	0.6
Fentanyl	2.736	337.1	188.1	105.5	0.6
Methadone	7.291	310.1	265.1	211.0	0.6
Oxycodone	0.850	316.0	298.0	256.0	0.6
Oxymorphone	0.788	302.0	284.0	227.0	12.5
Pentazocine	1.919	286.1	218.2	173.1	6.3
Pethidine	1.533	248.2	220.2	174.2	6.3

ยาขับปัสสาวะ	RT(min)*	Precursor ion	Product ion1	Product ion2	LOD** (ng/ml)
Amiloride	0.859	230.0	171.0	132.0	100.0
Bumetanide	8.824	365.0	240.0	184.0	25.0
Chlorothiazide	1.282	293.9	214.0	179.1	25.0
Chlorthalidone	1.968	337.0	190.1	319.0	50.0
Furosemide	5.337	328.9	285.0	205.1	25.0
Metolazone	5.225	364.0	231.0	256.9	25.0

เบต้าบล็อกเกอร์	RT(min)*	Precursor ion	Product ion1	Product ion2	LOD** (ng/ml)
Acebutolol	1.191	337.1	260.0	116.1	12.5
Alprenolol	2.770	250.1	116.0	145.0	12.5
Atenolol	0.799	267.1	190.0	145.0	12.5
Betaxolol	3.025	308.1	161.0	116.0	12.5
Bisoprolol	2.019	326.2	116.1	74.0	12.5
Sotalol	0.849	273.0	255.0	213.0	12.5
Timolol	1.151	317.1	261.0	244.0	12.5

* คือ เวลาที่สารแต่ละชนิดใช้ในการเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ นับจากเวลาเริ่มต้นของการวิเคราะห์ถึงตำแหน่งเวลาที่ detector อ่านค่าสัญญาณสูงสุด

** คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้

ข้อเสนอแนะ

สารต้องห้ามในนักกีฬายังมีอีกหลายกลุ่ม หากสามารถใช้ LC/MS/MS ในการตรวจวัดได้ จะสามารถลดกระบวนการในการวิเคราะห์แต่ยังคงมีความไว, ความถูกต้องและความแม่นยำในการตรวจวัดสาร และความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวิเคราะห์สาร