فصلنامه اعتیاد پژوهی سوءمصرف مواد، سال نهم، شماره سی و سوم، بهار ۱۳۹۴
Quarterly Journal of Research on Addiction, Vol. 9, No. 33, Spring 2015

مقاله
پژوهشی
Research

اندازه گیری و تعیین مقدار مرفین در ادرار انسان با سنین مختلف و ماده مخدر استعمال شده متفاوت، به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

سعید شهابی[۱]، علی مراد کرمی[۲]، محمدرضا با عزت[۳]، علی اصغر امیری[۴]،

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۹/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۵/۱۱

چکیده

هدف: مرفین از جمله مواد مخدر است که از آلکالوئیدها و اجزای مهم تریاک می‌باشد. اگر این ماده به صورت ناقص تهیه شود به رنگ‌های متفاوتی ظاهر می‌شود. لذا از روی رنگ آن نمی‌شود این ماده را شناسایی کرد. **روش:** در این مطالعه از افردی که به مواد مخدر اعتیاد داشتند و دارای شرایط لازم جهت اخذ نمونه ادراری بودند دعوت به‌عمل آمد. پس از استخراج مرفین از نمونه‌ها به روش سم کروم، غلظت‌های استاندارد مختلفی از آن به دستگاه HPLC تزریق گردید و نمودارهای به‌دست آمده مورد تحلیل قرار گرفتند. در این مطالعه تغییراتی در روش کارجهت بهینگی فرایند اندازه‌گیری و تعیین مرفین در ادرار انسان صورت گردید. **یافته‌ها:** مشخص شد میزان مرفین موجود در نمونه‌ها به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا قابل اندازه‌گیری بوده و همچنین می‌توان میزان ناخالصی‌های موجود در مواد مخدر که ممکن است از خود مرفین خطرناک‌تر باشد را تعیین کرد. **نتیجه‌گیری:** از این روش می‌توان برای تشخیص استفاده کرد.

کلیدواژه‌ها: مواد مخدر، مرفین، کروماتوگرافی، اعتیاد

۱. نویسنده مسئول: دانشجوی دکتری زیست شناسی ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، ارسنجان، پست الکترونیک: shahabi1391@yahoo.com
۲. کارشناسی ارشد شیمی تجزیه ،ستاد مبارزه با مواد مخدر استان فارس، شیراز، ایران
۳. دکتری شیمی تجزیه، دانشکده علوم، دانشگاه آزاداسلامی واحد فیروزآباد، فیروزآباد
۴. دکتری شیمی تجزیه، دانشکده علوم، دانشگاه آزاداسلامی واحد فیروزآباد، فیروزآباد

مقدمه

امروزه پدیده مواد مخدر و اعتیاد، دیگر یک آسیب اجتماعی تلقی نمی‌گردد، بلکه به یک معضل تهدید کننده امنیت جهانی تبدیل شده است. تولید مواد شیمیایی و تغییر تدریجی الگوی مصرف مواد مخدر ازحالت طبیعی به شیمیایی نیز یک خطر بزرگ است. بی‌شک شکسته شدن مرزهای جغرافیایی و مرزهای دانش بشری علیرغم تمام فواید و محاسن، در حوزه مواد مخدر باعث تنوع و تکثیر کمی و کیفی آن شده است تا جایی که علاوه برکشت خشخاش و تولید هروئین در افغانستان، مواد مخدر صنعتی نیز در سایر نقاط جهان تولید می‌شود (طاهری نخست، ۱۳۷۸؛ احسان منش و کریمی، ۱۳۷۸). مرفین از آلکالوئیدها و اجزای مهم تریاک بوده و ۷ تا ۱۴ درصد آن را تشکیل می‌دهد. این ماده شیمیایی درآب غیرحلال بوده و به صورت پودر کریستالی به رنگ سفید مایل به کرم و گاهی نیز قهوه‌ای کم رنگ است. اگر این ماده به صورت ناقص تهیه شود رنگ‌های متفاوتی خواهد داشت. لذا از روی رنگ آن نمی‌توان این ماده را شناسایی کرد. هروئین ماده مخدر دیگری است که با عمل تقطیر از مرفین استخراج می‌شود. از هریک کیلو مرفین ۹۰۰ گرم هروئین بدست می‌آید که ۳ تا ۵ برابر قویتر از مرفین است (اخترمحققی، ۱۳۸۵).

در این مطالعه روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا جهت استخراج مرفین از نمونه‌های ادراری با یک سری تغییرات در روش کار مورد آزمایش قرار گرفت. این روش مشکلات مربوط به آنالیز نمونه‌ها توسط کروماتوگرافی گازی مانند تخریب نمونه‌ها در دمای بالا و مشکل آنالیز در روش‌های تعیین پروفایل ناخالصی را حل نموده است. پیشرفت موفقیت آمیز کروماتوگرافی مایع با کارائی بالا از ابتدای سال ۱۹۸۰ شروع شد و متقاضیان زیادی پیدا کرد به طوری که کاربران خواهان جداسازی ای خوب بودند. اکثر ستون‌های کروماتوگرافی مایع با کارائی بالا از فولاد زنگ نزن نوع ۳۱۶ ساخته شده‌اند که فولاد اوستیتی کروم - نیکل- مولیبدن می‌باشد و در برابر فشار معمولی کروماتوگرافی

سال نهم، شماره ۳۳، بهار ۱۳۹۴
Vol. 9, No. 33, Spring 2015

مایع با کارائی بالا مقاوم و همچنین نسبت به خوردگی شیمیایی نسبتاً بی اثر است (اسکوگ، نیمن و هالر[1]، ۱۹۹۸؛ روساک[2] و روساک، ۲۰۰۷؛ شفیعی، ۱۳۷۳).

تاکنون روش‌های زیادی برای استخراج مرفین و کدئین از خون و ادرار انسان صورت گرفته است (یامادا و اگوری[3]، ۲۰۰۵). تقوی و همکاران در سال ۱۳۸۱ روش فاز مایع – مایع با بازیافت بالا را برای استخراج کدئین از ادرار انسان به کار بردند و از لحاظ کمی توسط گاز کروماتوگرافی مورد بررسی قرار دادند (تقوی، ناظری، سبزواری، فکری و افشار، ۱۳۸۱). آن‌ها به این نتیجه رسیدند که با توجه به بازیافت بالا و حساسیت قابل قبول، می‌توان از این روش برای استخراج کدئین (و مرفین) سود جست. تقوی و همکاران در سال ۱۳۸۲ روش‌های مایع –مایع و فاز جامد را برای استخراج مرفین از ادرار انسان به کار بردند و توسط دانسیتومتر اسکنر لیزری مورد مقایسه قرار دادند. در هر دو روش غلظت به دست آمده در مورد مرفین در حالت هیدرولیز شده بیشتر از حالت هیدرولیز نشده بود(تقوی، ناظری، سبزواری، فکری و افشار، ۱۳۸۲). امروزه روش کروماتوگرافی مایع با کاری بالا با تغییرات جزئی و همراه با روش‌های جانبی جهت تشخیص و اندازه گیری مرفین به کار می‌رود (روزیلاواتی، یوسفی، راملی، حسین و رسول[4]، ۱۹۹۴؛ اسکانبرگ، گروبوچ، لمپ و لوفت[5]، ۲۰۰۶).

در مطالعه حاضر میزان مرفین در نمونه‌های به دست آمده از افراد معتاد به مواد مخدر، و همچنین طول عمر ترکیبات مرفین پس از مصرف به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا اندازه‌گیری و متابولیزاسیون حاصل از مصرف تریاک و هروئین مورد مقایسه قرار گرفت. همچنین میزان مرفین موجود در نمونه با توجه به گذشت زمان (تخمین زمان مصرف) و نوع ماده مخدر مصرفی نیز مورد مطالعه قرار گرفت. در واقع هدف از این تحقیق بررسی و آزمودن روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا جهت استخراج مرفین از ادرار انسان با توجه به ماده مخدر مصرفی و سن افراد بود. هدف دیگر، بررسی و آزمودن این روش جهت تشخیص نوع ماده مصرفی و ناخالصی‌های ماده مصرفی در افراد

سال نهم، شماره ۳۳، بهار ۱۳۹۴
Vol. 9, No. 33, Spring 2015

1. Skoog, Holler &Nieman 2 . Rouessac 3. Yamada & Oguri
4. Ruzilawati, Yusuf, Ramli, Hussain & Rasool
5. Schönberg , Grobosch, Lampe, Kloft

معتاد به مواد مخدر و در کل کاربرد آن از جنبه پلیسی در صحنه‌های کشف مواد مخدر و ارتباط بین نمونه‌های مختلف کشف شده و فرد دستگیر شده بود.

روش

جامعه، نمونه و روش نمونه‌گیری

استاندارد مرفین و کدئین و حلال‌های متانول استونیتریل با درجه خلوص بالا از شرکت مرک خریداری شدند. وحلال‌های دیگرمانند الکل متیلیک، استون بدون هیچ خالص-سازی مورد استفاده قرار گرفتند. تمامی آزمایشات با استفاده از آب مقطر بدون یون (دو بار تقطیر) انجام شد.

دستگاه‌های مورد استفاده عبارت بودند از: سیستم کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا دارای سیستم گاززدایی با گاز هلیم، یک شیر تزریق شش قستی مدل با لوپ ۱۰ میکرولیتری، یک آشکار ساز فلوئورسانسی چند طول موجی و یک ستون تجزیه‌ای (60Å, 4µm, 9mm.150×3) باستون محافظ (۶۰ آنگستروم و ۲۰ × ۳ میلی‌متر). سیستم فیلتراسیون تمام شیشه‌ای به منظور فیلترکردن حلال‌های فاز متحرک به‌کار رفت. از فیلتر غشایی[1] برای فیلترکردن حلال‌ها و فیلتر سرنگی ۰/۴۵ میکرو متر برای فیلترکردن نمونه‌ها استفاده شد.

از آنجایی‌که در این مطالعه تهیه نمونه جهت آزمایشات کار بسیار مشکلی بود ولی با استقبال و همکاری پلیس مبارزه با مواد مخدر استان فارس مجوز تحقیق از بین مددجویان حاضر درآن مرکز صادر و تحقیق آغاز گردید. این افراد از موضوع تحقیق کاملاً مطلع و با رضایت کامل آن‌ها نمونه اخذ شد. لازم به توضیح است که هیجگونه مواد مخدری در اختیار این افراد قرار نگرفت بلکه این افراد از افرادی بودند که خود قبلاً مواد مخدر مصرف نموده بودند و به طرق مختلف تحت نظر پلیس مبارزه با مواد مخدر قرار گرفته بودند که انتخاب آنها حدود سه ماه به طول انجامید و در این سه ماه از کل افرادی که به مرکز منتقل می‌شدند تحقیق به عمل می‌آمد.

سال نهم، شماره ۳۳، بهار ۱۳۹۴
Vol. 9, No. 33, Spring 2015

1. PTEFE-SUPER- 450

در این تحقیق از برخی افراد با شرایط لازم جهت اخذ نمونه دعوت به‌عمل آمد که به دلایل مختلفی از قبیل: میزان مصرف مواد مخدر، نوع مواد مصرفی، زمان مصرف، سن افراد وغیره، از بین آنها فقط پنج نفر با سنین ۲۴ ، ۲۶ ، ۳۰ ، ۵۰ و ۵۲ سال انتخاب شدند. فردی که ۳۰ سال سن داشت به ترتیب ۵، ۱۲، ۲۴ و۳۶ ساعت بعد از مصرف مواد مخدر، از ادرار او نمونه‌گیری شد. از فرد ۲۴ ساله حدودا ۷۶ ساعت بعد از مصرف هروئین، فرد ۲۶ ساله ۳۶ ساعت بعد از مصرف تریاک، فرد ۵۲ ساله ۳۶ ساعت بعد از مصرف هروئین و فردی که ۵۰ سال سن داشت ۲۴ ساعت پس از مصرف تریاک از ادرار آن‌ها نمونه‌برداری انجام گردید.

مقدار نمونه ادراری جهت هر بار آزمایش، ۱۰میلی‌لیتر بود. دمای نمونه صرفاً در آزمایشگاه‌های تشخیص اعتیاد مساله‌ای بسیار مهم تلقی می‌شود و دمای نمونه بایستی با دمای بدن انسان تقریباً برابر باشد. بایستی نمونه‌گیر از عاری بودن نمونه از رنگ‌های اضافی (مخلوط شده با نمونه) مطلع باشد و نمونه عاری از هرگونه رنگ و یا مواد افزوده باشد. دراین تحقیق نمونه با PH های مختلف مورد آزمایش قرار گرفت که مطلوب‌ترین آن، بین ۸/۵ – ۴/۵ انتخاب گردید. وزن مخصوص نمونه نبایستی کمتر از ۱/۰۰۴ باشد و غلظت کراتنین آن نبایستی از ۲۰ دسی‌لیتر/میلی‌گرم تجاوز نماید.

در این مطالعه از روش سم کروم (کیت تشخیص مرفین-کدئین) استفاده شد که در آن داروهای زیرمورد بررسی قرار گرفت و درهیچ‌یک از آنها تداخل دارویی مشاهده نشد. این داروها عبارت بودند از: ادالت کلد[1]، کلودیازپوکساید[2]، دیکلوفناک سدیم[3]، آنتی هیستامین[4]، دکونژستانت[5]، آمی تریپتیلین[6]. استامینوفن کدئین[7]، ایمی پرامین[8]، کوکائین[9]، حشیش[10]، فلوکسیتین[11]، پرفنازین[12]. دیازپام[13]، آتنولول[14]، تئوفیلین[15]، پنتازوسین[16]،

1 .Adult cold
2 .Chlordiazepoxide
3 .Diclofenac sodium
4 .Antihistamine
5.Decongestant
6.Amitriptyline
7.Acetaminophen y codeine
8.Imipramine
9. Kokain
10.Hashish
11.Fluoxetine
12. Perphenazine
13 .Diazepam
14 .Atenolol
15 .Theophylline
16 .Pentazocine

فنوباربیتال[1]، سایمتیدین[2]، رانیتیدین[3]، دیفنوکسیلات[4]، اسپیرینولاکتون[5]، متادون[6]، کافئین[7]، فنیل بوتازون[8]. درمورد سایمتدین در غلظت بالا (حدود۲۰ml/µg) در نزدیکی بالای مرفین لکه‌ای ایجاد می‌شود که ممکن است روی مرفین را نیز بپوشاند. البته رنگ این لکه-ها کاملا زرد بوده و متفاوت با مرفین است. درصورت مشاهده چنین لکه‌هایی برای اطمینان از صحت جواب‌ها بهتر است آزمایش تکمیلی دیگری نیز با استفاده از فاز اتیل استات، متانول، آمونیاک (۸۵ :۱۰ :۵) استفاده شود.

برای استخراج مرفین از نمونه بایستی نمونه با یکسری محلول‌های شمیایی که در زیر به آنها اشاره می‌شود وارد ستون کروماتوگرافی شده و از آن عبور داده شود. در این تحقیق از ستون‌های کروماتوگرافی سم کروم (کیت تشخیص مرفین-کدئین) استفاده شد. هر بسته کیت سم کروم تشخیص مرفین حاوی پودر A_1، A_2 به عنوان فعال‌ساز و پودر B به عنوان ماده ثبوت می‌باشد. برای تهیه بافر A، می‌بایستی یک ویال از پودرA_1 در ۱۰۰میلی-لیتر آب مقطر در دمای اتاق حل می‌شد. محلول A_2نیز به همین ترتیب درست می‌شد. سپس۱۰میلی‌لیتر از محلول A_1 و ۹۰ میلی‌لیتر از محلول A_2 را با هم مخلوط کرده و به هم می‌زدیم تا بافر A آماده شود. برای تهیه بافر B، یک ویال از پودرB موجود در بسته سم کروم در۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل می‌شد. بافرها بایستی یک ساعت قبل از شروع آزمایش تهیه شوند. این بافرها در شرایط آزمایشگاهی ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک هفته پایدارند. ستون‌های کروماتوگرافی در حفره‌های دریچه‌ی محفظه خلاء قرار داده می‌شدند. فشار پمپ تا حدود۰/۳-۰/۲ بار تنظیم و سپس پمپ خاموش می‌شد. فاصله بین پنبه و رزین داخل ستون به آرامی توسط یک میله شیشه‌ای از بین برده می‌شد (استفاده از میله‌ی شیشه‌ای به خاطر عدم ایجاد بار الکتریکی بود). مقدار ۳ میلی‌لیتر بافرA تهیه شده با PH حدودا ۸/۵ به ستون استخراج اضافه می‌شد. پس از حدود ۲ دقیقه دوباره پمپ خلاء را روشن کرده و فشار آن در ۱/۰bar تنظیم می‌شد. سپس مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه‌های

سال نهم، شماره ۳۳، بهار ۱۳۹۴
Vol. 9, No. 33, Spring 2015

1. Phenobarbital
2 . Cimetidine
3 .Ranitidine
4 .Diphenoxylate
5 .Spironolactone
6 .Methadone
7 .Caffeine
8 .Phenylbutazone

موجود (نمونه‌ها به صورت کد گذاری شده) را به هر یک از ستون‌ها اضافه کرده و فشار پمپ خلاء نیز تا تخلیه‌ی کامل نمونه برای مقدار قبل ثابت می‌شد (۱/۰bar). پس از تخلیه‌ی کامل، پنبه‌ی درون هر ستون برداشته شده و به هر ستون استخراج مقدار ۵ میلی-لیتر بافر B با PH حدودا هشت اضافه می‌شد تا تخلیه‌ی کامل صورت گیرد (فشار برای مقدار قبل ثابت بود). پس از تخلیه‌ی بافرها، فشار پمپ خلاء را تا ۳/۰bar افزایش داده و حدود ۱۵ دقیقه انتظار می‌کشیدیم تا عمل تخلیه و خشک شدن به‌خوبی انجام گیرد. ستون‌های استخراج را در جا لوله‌ای مخصوص قرار داده و نوک آن‌ها را در بشرهای انگشتانه‌ای که بر روی هات پلیت چیده شده بودند تنظیم می‌کردیم. به هر ستون مقدار سه میلی‌لیتر حلال الکل متلیک اضافه کرده تا عمل استخراج صورت گیرد. عمل استخراج که با تبخیر صورت می‌گرفت حدود ۱۵ دقیقه به طول می‌انجامید و پس از عمل استخراج و تبخیر، بشرها از روی هات‌پلیت بر داشته می‌شدند. حاصل استخراج با چند قطره الکل متلیک مخلوط و به دستگاه اچ پی ال سی تزریق می‌شد.

همه جداسازی‌ها و اندازه‌گیری‌ها روی ستون نواک سی ۱۸، در دمای اتاق انجام گرفت. مد شویشی ایزوکراتیک با فاز متحرک استونیتریل-آب (35-65٪ V/V) با سرعت جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه به کار گرفته شد. همه فازهای متحرک از طریق فیلترهای غشایی[1] مناسب فیلتر شدند. طول موج تحریکی و نشری به ترتیب ۲۳۵ و ۳۵۰ نانومتر انتخاب شد. همه نمونه‌ها قبل از تزریق به HPLC از فیلترهای سرنگی µm۴۵ عبور داده شدند.

رایج‌ترین حلال‌های مورد استفاده در کروماتوگرافی مایع باکارائی بالا در فاز معکوس، آب، استونیتریل، متانول، تتراهیدروفوران بودند که معمولاً به‌صورت دوتائی یا سه‌تائی بعنوان فازمتحرک استفاده می‌شوند. درهمین راستا جهت دستیابی به زمان آنالیز کمتر و تفکیک خوب بین پیک‌ها، فازهای متحرک متفاوتی متشکل ازنسبت‌های حجمی مختلف آب- استونیتریل وآب- متانول مورد بررسی قرارگرفت. نسبت‌های حجمی ۳۰-۸۰، ۳۰-۷۵، ۳۵-۶۵، ۵۰-۵۰، ۴۰-۶۰(v/v٪) ازمخلوط های دوتائی آب-استونیتریل و آب-متانول

سال نهم، شماره ۳۳، بهار ۱۳۹۴
Vol. 9, No. 33, Spring 2015

1 . membrane filtration

با برنامه‌ریزی پمپ‌های دستگاه به ستون تجزیه‌ای، تزریق و کروماتوگرام‌های حاصله از محصول استاندارد ترکیبات مرفین در آنها بررسی شد.

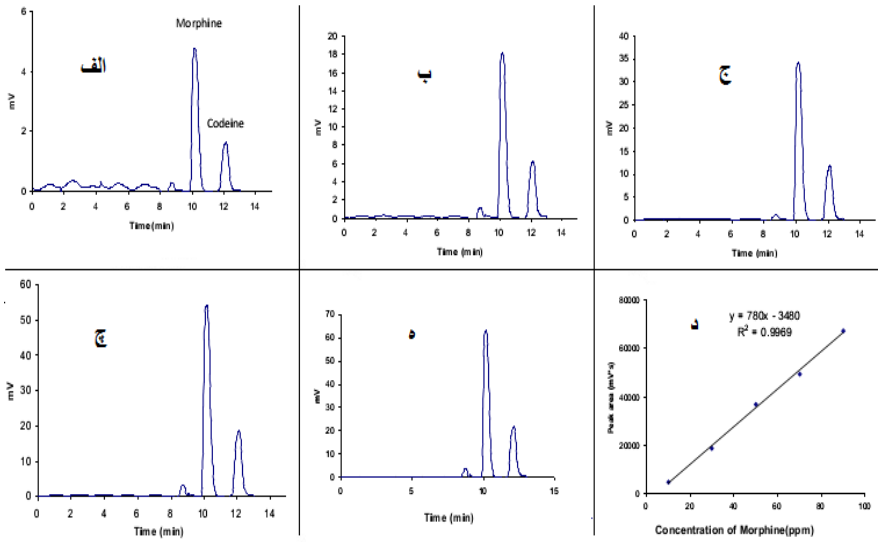
یافته‌ها

نتایج نشان داد فازمتحرک آب-استونیتریل با نسبت حجمی (٪v/v) ۶۵-۳۵، بهترین تفکیک بین پیک‌ها رانتیجه می‌دهد. ازطرفی پلاریته فاز متحرک درحدی است که ترکیبات مزاحم قطبی سریع ازستون شسته شده و با پیک آنالیت‌ها همپوشانی نمی‌کنند. بنابراین با وجود گران‌تر بودن حلال استونیتریل نسبت به متانول، حلال استونیتریل به‌عنوان اصلاح کننده آلی فاز متحرک انتخاب شد. حلال تتراهیدروفوران به‌علت خصوصیات سمی زیاد، مورد استفاده قرارنگرفت. درفازهای متحرک که مقدار آب بیش‌تر از ۴۰ درصد حجمی است جداسازی و تفکیک بین پیک‌ها بیشترمی‌شود ولی چون زمان آنالیز طولانی‌تر و پیک‌ها تحت تاثیر پهن‌شدگی قرار می‌گیرند همان ۳۵٪ آب انتخاب شد. سرعت جریان فاز متحرک نیز یکی ازپارامترهای مهم در دستیابی به شرایط جداسازی بهتر می‌باشد لذا سرعت جریان‌های ۰/۸، ۰/۹، ۱/۱و۱/۲ میلی‌لیتر بر دقیقه مورد ارزیابی قرارگرفت و سرعت جریان یک میلی‌لیتر بردقیقه که در اکثر آنالیزهای کروماتوگرافی مایع باکارائی بالا به‌کارمی‌رود، به‌عنوان سرعت جریان بهینه انتخاب شد. در سرعت جریان‌های بالاتر پیک‌ها باهم همپوشانی می‌کنند و در سرعت جریان‌های پایین‌تر، تفکیک بین پیک‌ها بهتر می‌شود ولی چون زمان آنالیز طولانی‌تر شده مورد استفاده قرار نمی‌گیرد. نتایج حاصل از تزریق مرفین استخراج شده از نمونه‌های مختلف به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱: نتایج تزریق مرفین استخراج شده از نمونه‌های مختلف به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

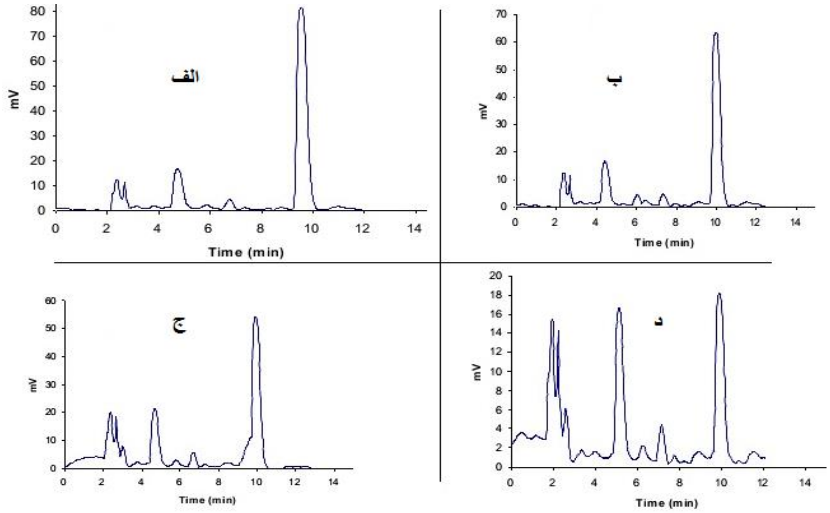
نمونه	سن	ماده مصرفی /زمان سپری شده پس از مصرف-ساعت	تکرار اول		تکرار دوم		تکرار سوم		RSD%		مقدار مرفین برحسب ppm
			سطح پیک مرفین	زمان بازداری-دقیقه	سطح زیر پیک مرفین	زمان بازداری-دقیقه	سطح پیک مرفین	زمان بازداری-دقیقه	سطح پیک مرفین	زمان بازداری-دقیقه	
A	۳۰	۵ ساعت-تریاک	۵۸۹۲۰	۹/۸۹	۵۸۲۹۰	۹/۹۱	۵۷۹۴۱	۹/۷۱	۰/۸۵	۱/۱۲	۷۹/۳۱
B	۳۰	۱۲ساعت-تریاک	۴۴۸۸۰	۹/۸۵	۴۴۹۸۶	۱۳/۱۰	۴۳۹۹۹	۱۰/۰۷	۱/۲۱	۱/۴۷	۶۷/۶۱
C	۳۰	تریاک-۲۴ساعت	۳۷۸۶۰	۹/۹۸	۳۷۰۱۵	۹/۹۰	۳۷۹۸۶	۱۰/۲۰	۱/۴۰	۱/۵۵	۵۲/۶۹
D	۳۰	۳۶ساعت -تریاک	۱۰۷۶۰	۹/۹۳	۱۰۴۱۰	۹/۷۷	۱۰۲۲۸	۹/۹۷	۲/۵۸	۱/۰۷	۱۷/۸۸
E	۲۶	۴۸ساعت -تریاک	۹۷۸۰	۱۰/۱۱	۹۱۰۰	۹/۸۷	۹۶۹۰	۹/۷۹	۳/۸۸	۱/۶۸	۱۶/۶۷
F	۲۴	۷۶ساعت -هروئین	۲۰۳۹۵	۱۰/۰۵	۱۹۵۹۱	۹/۶۶	۲۰۱۳۰	۹/۷۸	۲/۱۵	۲/۰۳	۳۰/۱۴
G	۵۰	۳۶ساعت -تریاک	۲۲۲۶۰	۹/۸۳	۲۲۸۴۹	۹/۷۱	۲۱۸۸۲	۹/۹۲	۲/۱۸	۱/۰۷	۳۳/۰۹
H	۵۲	۳۶ساعت -هروئین	۳۱۸۴۰	۹/۸۴	۳۱۲۳۱	۹/۹۱	۳۲۲۵۲	۱۰/۱۲	۱/۵۲	۱/۴۶	۴۵/۲۰

ابتدا غلظت‌های مختلفی از نمونه استاندارد مرفین به دستگاه اچ پی ال سی تزریق شد به طوری‌که در غلظت‌های ۱۰ ppm، ۳۰ ppm، ۵۰ ppm، ۷۰ ppm و ۹۰ ppm و در زمان ۱۰ دقیقه نمودارهای ۱-الف، ۱-ب، ۱-ج، ۱-چ و ۱-۵ به‌دست آمد که بعد از آن با استفاده از مساحت زیر پیک منحنی بر حسب غلظت مرفین نمودار شکل ۱-د به‌دست آمد که به منحنی کالیبراسیون معروف است. در این منحنی محور y بر اساس میلی‌ولت و محور x آن بر اساس غلظت مرفین رسم شد و خط راستی به دست آمد که معادله خط آن به صورت $y = -۳۴۸۰ \times ۷۸۰$ می‌باشد که در آن y منحنی زیر پیک به دست آمده در غلظت‌های مختلف مرفین تزریق شده به دستگاه می‌باشد که با محاسبه منحنی زیر پیک به دست می‌آید و با قرار دادن آن در معادله منحنی کالیبراسیون، x که همان غلظت مرفین است به‌دست می‌آید.



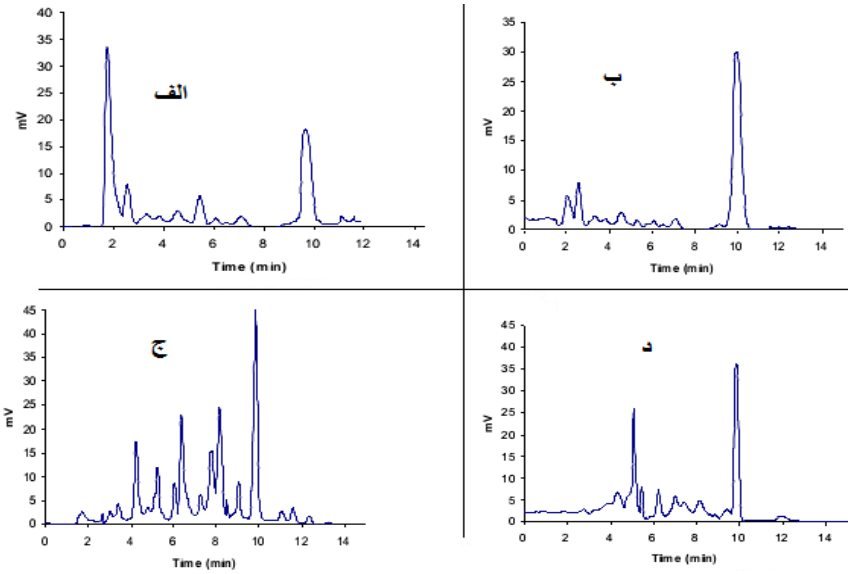
نمودار ۱: الف)کروماتوگرام محلول استاندارد ۱۰ppm مرفین ب)۳۰ ppm مرفین، ج)۵۰ppm مرفین، چ)۷۰ppm مرفین، ه) ۹۰ppm مرفین، و د) منحنی کالیبراسیون (سرعت جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه، فاز متحرک ۶۵ : ۳۵ آب-استونیتریل، ستون نواک[1] c_{18})

سال نهم، شماره ۳۳، بهار ۱۳۹۴
Vol. 9, No. 33, Spring 2015



نمودار۲: کروماتوگرام فرد۳۰ ساله الف) پنج ساعت، ب)۱۲ ساعت، ج) ۲۴ ساعت، و د) ۳۶ ساعت بعد از مصرف تریاک (سرعت جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه، فاز متحرک ۶۵ : ۳۵ آب-استونیتریل، ستون نواکc_{18})

1. Novapak



نمودار۳: کروماتوگرام فرد ۲۴ ساله ۷۲ ساعت بعد از مصرف تریاک، ب) کروماتوگرام فرد ۲۶ ساله ۴۸ ساعت بعد از مصرف هروئین، ج)کروماتوگرام فرد ۵۲ ساله ۳۶ ساعت بعد از مصرف هروئین، و د) کروماتوگرام فرد ۵۰ ساله ۳۶ ساعت بعد از مصرف تریاک (سرعت جریان یک میلی لیتر بر دقیقه، فاز متحرک ۶۵ : ۳۵ آب - استونیتریل، ستون نواک C_{18})

همان‌گونه که از نمودارهای به‌دست آمده هویداست تاثیر مواد خوراکی مصرف شده (با توجه به متفاوت بودن افراد) در نمونه کمترین تاثیر را در محصول استخراج داشته است. نمودار ۲-الف، ۲-ب، ۲-ج و ۲-د، کروماتوگرام حاصل از تزریق مرفین به دستگاه اچ پی ال سی در نمونه‌های استخراج شده از افراد ۳۰ ساله را به ترتیب ۵، ۱۲، ۲۴ و ۳۶ ساعت بعد از مصرف تریاک را نشان می‌دهند. نمودار ۳ کروماتوگرام افراد ۲۴، ۲۶، ۵۰ و۵۲ ساله را نشان می‌دهد.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که میزان مرفین موجود در نمونه با این روش تنظیم شده کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا قابل اندازه گیری است. همچنین نتایج به خوبی نشان داد که در راستای اهداف تحقیق میزان ناخالصی‌های موجود در مواد مخدر، میزان ماندن مرفین در بدن افراد مصرف کننده ماده مخدر در فاصله‌های زمانی معین قابل تخمین است.

همچنین می‌توان رابطه میزان مرفین و سن افراد در یک بازه زمانی پس از مصرف مواد مخدر را بدست آورد. در بررسی نتایج به دست آمده از میزان مرفین موجود در نمونه چنین استنباط گردید که رابطه مستقیمی بین گذشت زمان از مصرف مرفین و میزان ماندن مرفین در بدن وجود دارد. از این رو میزان مرفین استخراج شده در فواصل زمانی پس از مصرف، سیر نزولی داشته است. به طوری‌که بعد از گذشت پنج ساعت از زمان مصرف مقدار مرفین به ppm ۷۹/۳۱، بعد از گذشت ۱۲ساعت از زمان مصرف تریاک مقدار مرفین استخراج شده در نمونه به ppm ۶۱/۶۷، بعد از گذشت ۲۴ساعت از زمان مصرف مقدار مرفین استخراج شده در نمونه به ۵۲/۶۹pm و بعد از گذشت ۳۶ ساعت از زمان مصرف تریاک مقدار مرفین استخراج شده در نمونه به ppm ۱۷/۸۸ رسیده است. این نتایج مربوط به فردی ۳۰ ساله بود که مواد مخدر مصرفی وی از نوع تریاک بوده است که بر این اساس در چهار زمان مختلف نتیجه به دست آمده نموداری منظم را نمایش می‌دهد. شکل ۳ کروماتوگرام مرفین استخراج شده در دو فرد ۵۲ و ۵۰ ساله را نشان می‌دهد که فاصله سنی آن‌ها نزدیک به هم است با این تفاوت که فرد ۵۲ ساله هروئین مصرف کرده بود و بعد از ۳۶ ساعت نمونه او مورد آزمایش قرار گرفت و مرفین آن استخراج گردید که پس از محاسبه به میزان ppm ۴۵/۲۰ رسید. ولی فرد ۵۰ ساله تریاک مصرف کرده بود و بعد از ۳۶ ساعت میزان مرفین استخراج شده از نمونه وی محاسبه و به میزان ۳۳/۰۹ppm رسیده بود. لذا با وجود اینکه هر دو نفر در مدت زمانی برابر پس از مصرف، نمونه داده‌اند و فاصله سنی نزدیک به هم داشته‌اند ولی میزان مرفین موجود در فرد ۵۲ ساله حدود ۱۲ppm بیشتر بوده است و علت آن در میزان مرفین موجود در مواد مصرفی بوده که مواد مصرفی در فرد ۵۲ ساله هروئین ولی در فرد ۵۰ ساله مواد مصرف شده تریاک بوده است. میزان مرفین موجود در هروئین بیشتر از میزان مرفین موجود در تریاک و متابولیزه شدن هروئین در بدن نسبت به تریاک سریع‌تر است.

ازجنبه پلیسی با تجزیه و تحلیل داده‌ها می‌توان نتایجی را درصحنه‌های کشف مواد مخدر و ارتباط بین نمونه‌های مختلف کشف شده و فرد دستگیر شده به دست آورد. نتایج حاصل از چنین تحقیقی می‌تواند در تشخیص مالکیت مواد مخدر کشف شده در مکان-

های مختلف، تخمین مکان جغرافیایی تولید یا توزیع مواد مخدر بر اساس آنالیز ترکیبات مواد مکشوفه، اولویت بندی اخذ نمونه از افراد در شرایط خاص، اثبات اظهارات مجرمین در مصرف مواد روانگردان و حالت غیر طبیعی در زمان ارتکاب به جرم، تشخیص نوع مواد مصرفی و ارتباط مظنونین با صحنه جنایی، کمک کننده و مفید واقع شود. تریاک و مشتقات آن مانند هرویین، مرفین، و کدئین از صمغ خشخاش به دست می‌آید، هرویین به سرعت متابولیزه شده و به مرفین تبدیل می‌شود. از این رو می‌توان هر دو ترکیب مرفین و گلیکواورونید مرفین را در نمونه ادراری افراد مصرف کننده هرویین یافت. بدین ترتیب وجود مرفین و یا متابولیت آن در نمونه اخذ شده از افراد بیانگر استفاده از هرویین و مرفین است. با آغاز علم شیمی، بشر استفاده‌های متفاوتی از آن داشته که یکی از آن‌ها در شناخت آلکالوئیدهای تریاک به خصوص مرفین در نمونه‌های بیولوژیک بوده است. دفع مرفین توسط قسمت‌های مختلف بدن با افزایش سن کاهش می‌یابد یعنی با افزایش سن، متابولیسم قسمت‌های مختلف بدن سیر نزولی داشته و عملکرد آن کاهش می‌یابد از این رو دفع مرفین نیز کاهش پیدا می‌کند که دلیل آن به کاهش عملکرد اجزای بدن با افزایش سن بر می‌گردد. با بررسی میزان مرفین دفع شده در افراد چنین استنباط می‌شود که در یک فرد با گذشت زمان میزان دفع مرفین کاهش پیدا می‌کند و این موضوع به تجزیه مرفین در بدن به مواد دیگر و کاهش میزان اولیه موجود در بدن بر می‌گردد. در مقایسه میزان مرفین دفع شده در افراد با سنین تقریباً برابر ولی با نوع مواد اولیه مصرفی متفاوت، چنین استنباط می‌شود که هر اندازه میزان مرفین مواد اولیه مصرفی بیشتر باشد به همان میزان مقدار دفع مرفین در نمونه بیولوژیک خارج شده از بدن بیشتر خواهد بود. بنابراین، می‌توان تا حدودی نوع مواد اولیه مصرفی در افراد را حدس زد. با بررسی نوع و میزان مرفین موجود در نمونه بیولوژیک می‌توان رابطه بین افراد مختلف در صحنه‌های جنایی مجهول و جرائم مجهول پلیسی را رقم زد. انجام تحقیقات مشابه در افراد دارای بیماری-های خاص، بررسی میزان مرفین با گذشت زمان براساس جنسیت نمونه، و همچنین انجام تحقیق مشابه در شرایط محیطی متفاوت و با نمونه اخذ شده ازخون یا بزاق افراد پیشنهاد می‌شود.

منابع

طاهری نخست، حمیدرضا (۱۳۷۸). روند جهانی سوء مصرف مواد مخدر، *فصلنامه تازه‌های علوم شناختی*، ۱(۲)، ۳۰-۲۲

تقوی، سید عباس؛ ناظری، سید علی، سبزواری، امید؛ فکری، منیره و افشار، مهشید (۱۳۸۱). استخراج کدئین از ادرار انسان به کمک فاز مایع-مایع با بازیافت بالا و بررسی کمی آن توسط گاز کروموتوگرافی، *پژوهش در پزشکی*، ۲۶(۴)، ۲۹۰-۲۸۷

تقوی، سید عباس؛ ناظری، سید علی، سبزواری، امید؛ فکری، منیره و افشار، مهشید (۱۳۸۲). استخراج مرفین از ادرار انسان به کمک روش‌های مایع-مایع و فاز جامد و مقایسه آن‌ها توسط دانسیتومیتراسکنر لیزری، *پژوهش در پزشکی*، ۲۷(۱)، ۲۷-۲۳

شفیعی، عباس (۱۳۷۳). *کروماتوگرافی و طیف سنجی*. تهران: انتشارات دانشگاه تهران،

احسان منش، مجتبی و کریمی، عیسی (۱۳۷۸). نگاهی به تاریخچه و برخی پژوهش های انجام گرفته در زمینه اعتیاد در ایران، *فصلنامه اندیشه و رفتار*، ۵(۳)، ۱۰۰-۶۲

اخترمحققی، مهدی (۱۳۸۵). جامعه شناسی اعتیاد. تهران: نشر مولف

Skoog, D. A., Holler, F. J., & Nieman, T. A. (1998). *Principles of Instrumental Analysis*. Philadelphia: Saunders College Pub

Rouessac, F & Rouessac, A. (2007). "*Chemical Analysis Modern Instrumentation Methods and Techniques"* 2nd Edition, England, John Wiley & Sons Ltd.

Yamada, H and Oguri. K. (2005). "*Morphine and its analogues." Drugs and Poisons in Humans.* Springer Berlin Heidelberg, 195-206.

Ruzilawati, A. B., Yusuf, W. W., Ramli, N., Hussain, Z., & Rasool, A. H. G. (2013). Determination of Morphine in Human Urine by A Simple Reverse Phase High-Performance Liquid Chromatography Method with UV Detection. *International journal of pharmaceutical Sciences and Drug Research*.5 (1), 18-22.

Schönberg L, Grobosch T, Lampe D, Kloft C. (2006). New screening method for basic compounds in urine by on-line extraction–highperformance liquid chromatography with photodiode array detection. *Journal of Chromatography A*, 1134 (1–2), 177–85