

การวิเคราะห์

การสำรวจนี้ได้วิเคราะห์หาปริมาณสาร bifuran ซึ่งประกอบด้วย nitrofurazone และ furazolidone ที่ตกค้างอยู่ในไข่ไก่ ไข่เป็ด ไข่นกกระทา และไข่เป็ดเค็มสุก

เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. เครื่องชั่ง (Mettler analytical balance)
2. เครื่องบด (blender)
3. Column chromatography ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 20 มิลลิเมตร
4. เครื่องระเหยแบบหมุนที่ความดันต่ำ (Buchi rotary vacuum evaporator)
5. เครื่องดูดอากาศ (pressure pump)
6. Spectrophotometer (Pye Unicam SP 1800)

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. Nitrofurazone และ furazolidone ได้รับความอนุเคราะห์จาก บริษัทสหแพทย์เภสัช
2. Phenylhydrazine hydrochloride เป็น laboratory reagent ผลิตโดย BDH chemicals Ltd Poole, England.
3. Ethyl acetate เป็น analytical reagent ผลิตโดย BDH chemicals Ltd Poole, England.
4. Toluene เป็น analytical reagent ผลิตโดย Mallinckrodt, Inc. Paris, Kentucky 40361.
5. Dimethyl formamide (DMF) เป็น laboratory reagent ผลิตโดย BDH Chemicals Ltd Poole, England.

6. Hydrochloric acid เป็น analytical reagent ผลิตโดย  
May & Baker Ltd. Dagenham, England.
7. Sodium hydrosulphite เป็น laboratory chemical ผลิตโดย  
May & Baker Ltd. Dagenham, England.
8. Aluminium oxide เป็น chromatography reagent  
ผลิตโดยบริษัท E. Merk.
9. Magnesium hydroxide เป็น laboratory chemical ผลิตโดย  
May & Baker Ltd. Dagenham, England.

#### ตัวอย่าง

ลุ่มตัวอย่างไขไก่ ไข่เป็ด ไข่นกกระทา และไข่เป็ดเค็มสุก จากตลาดต่าง ๆ  
ทั่วกรุงเทพมหานคร อย่างละ 30 ตัวอย่าง และทำการวิเคราะห์สองซ้ำ

#### สารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. น้ำยามาตรฐาน nitrofurazone (0.56 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร)  
เตรียมโดยชั่ง nitrofurazone 56 มิลลิกรัม ละลายด้วย DMF ให้ครบ 100 มิลลิลิตร  
สารละลายนี้เก็บไว้ไม่ให้ถูกแสงจะเก็บไว้ได้หลายเดือน
2. น้ำยามาตรฐาน furazolidone (0.55 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร) เตรียม  
โดยชั่ง furazolidone 55 มิลลิกรัม ละลายด้วย DMF ให้ครบ 100 มิลลิลิตร สาร  
ละลายนี้เก็บไว้ไม่ให้ถูกแสง จะเก็บไว้ได้นานหลายเดือน
3. น้ำยามาตรฐาน bifuran (0.1285 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร) เตรียม  
โดยชั่งน้ำยามาตรฐาน nitrofurazone มา 20 มิลลิลิตร และน้ำยามาตรฐาน  
furazolidone มา 3 มิลลิลิตร และทำให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วย DMF
4. สารละลาย dimethyl formamide (DMF solution) เตรียมน้ำยานี้  
ให้มีความเข้มข้นร้อยละ 50 ในน้ำกลั่น
5. สารละลาย sodium hydrosulphite เตรียมน้ำยานี้ให้มีความเข้มข้น  
ร้อยละ 2 ในน้ำกลั่น

6. สารละลาย phenylhydrazine hydrochloride เตรียมน้ำยานี้ให้มีความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยชั่งสาร phenylhydrazine hydrochloride 1 กรัม ละลายใน 5 N hydrochloric acid 20 มิลลิลิตร เขย่า แล้วเติมน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร

วิธีวิเคราะห์ (17,18,19)

จากตัวอย่างไขแต่ละชนิด นำมาแยกเป็นไขขาว และไขแดง ตีให้เป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งตัวอย่างละ 100 กรัม สองตัวอย่าง สำหรับไขเปิดเค็มสูงต้องนำมาบดก่อนโดยใช้เครื่องบดนาน 1 นาที เติม 2.5 N hydrochloric acid จำนวน 100 มิลลิลิตรลงไปในทุกตัวอย่าง นำมาปั่นนาน 2 นาที แล้วจึงกรองผ่านผ้ากรอง และใช้ ethyl acetate จำนวน 100 มิลลิลิตร ล้างบนผ้ากรองโดยแบ่ง ethyl acetate ออกเป็นหลาย ๆ ส่วน นำส่วนที่กรองได้มาใส่กรวยแยกเอาชั้น ethyl acetate ออกเก็บไว้ ส่วนที่เหลือสกัดต่อด้วย ethyl acetate ครั้งละ 50 มิลลิลิตร 5 ครั้ง แต่ละครั้งเขย่าเบา ๆ นาน 2 นาที เก็บชั้นของ ethyl acetate รวมกัน นำไประเหยจนเกือบแห้งโดยใช้เครื่องระเหยแบบหมุนที่ความดันต่ำ ที่อุณหภูมิ 35°C นำสารที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์โดยการผ่าน column chromatography

เตรียม column chromatography ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 20 มิลลิเมตรใส่ตัวดูดซับ (adsorbent) โดยใช้ aluminium oxide 100 ส่วน ผสมกับ magnesium hydroxide 4 ส่วน และเติมน้ำกลั่น 5 ส่วน ใส่ให้สูง 5 เซนติเมตร แล้วล้าง column ด้วยสารละลาย dimethyl formamide จำนวน 5 มิลลิลิตร ผ่านสารตัวอย่างลงใน column และชะล้างสารตัวอย่างด้วย สารละลาย dimethyl formamide จำนวน 10 มิลลิลิตร ทั้งสารละลายที่ผ่าน column 3 มิลลิลิตรแรกไปแล้วชะล้าง column อีกครั้งหนึ่งด้วยสารละลาย dimethyl formamide จำนวน 5 มิลลิลิตร เก็บสารละลายที่ผ่าน column ทั้งหมดจะได้ประมาณ 10 มิลลิลิตร ดูดสารละลายนี้จำนวน 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดแก้วที่หนึ่ง ส่วนที่เหลือใส่หลอดแก้วที่สองหลอดหนึ่งเติมสารละลาย sodium hydrosulphite ซึ่งเตรียมใหม่ ๆ จำนวน 10หยด แล้วเขย่าทุก ๆ 5 นาที จนครบ 20 นาที เพื่อให้ sodium hydrosulphite ไปทำลาย bifuran จะเหลือเฉพาะสีที่ติดมา ส่วนหลอดที่สองให้ใช้กระดาษตะกั่วท่อน้ำหนักชด เพื่อป้องกันการถูกแสง เติมสารละลาย phenylhydrazine

hydrochloride ที่เตรียมขึ้นใหม่ ๆ จำนวน 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทั้งสอง เขย่าแล้วนำไปแช่ในเครื่องอังน้ำที่อุณหภูมิ 70°C นาน 25 นาที เพื่อให้ phenylhydrazine hydrochloride ทำปฏิกิริยากับ bifuran เกิดสีขึ้น เมื่อครบเวลาแล้ว จึงนำมาแช่ในน้ำเย็นที่อุณหภูมิ 15°C นาน 5 นาที ตูด toluene จำนวน 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดแก้วทั้งสอง ปิดจุกและเขย่าแรง ๆ 40 ครั้ง แยกชั้นของ toluene ซึ่งมีสีเหลืองออกมา และนำมากรองด้วยกระดาษกรอง (Whatman เบอร์ 42) นำสารละลายที่กรองได้ ไปวัดความเข้มข้นของสี โดยใช้เครื่อง spectrophotometer ที่ช่วงคลื่น 440 nm โดยใช้หลอดที่หึ่งเป็น blank

ทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐาน bifuran เช่นเดียวกับตัวอย่างทุกประการ โดยเริ่มต้นจากเดิม 2.5 N hydrochloric acid และต้องทำ blank ของสารละลายมาตรฐาน เช่นเดียวกัน นำค่าที่วัดได้มาคำนวณดังนี้

$$\text{ปริมาณ bifuran ทั้งหมด} = \frac{(A \text{ sample} - A \text{ reduce sample}) \times \text{Concentration standard}}{(A \text{ standard} - A \text{ reduce standard})}$$

A sample คือ Absorbance ของสารตัวอย่างที่ 440 nm.

A reduce sample คือ Absorbance ของ blank ที่ 440 nm.

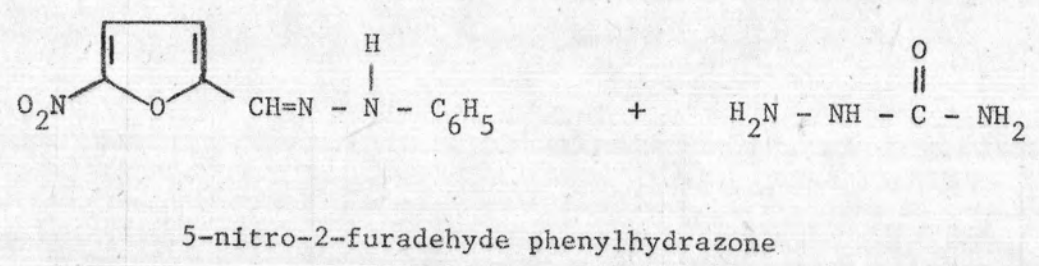
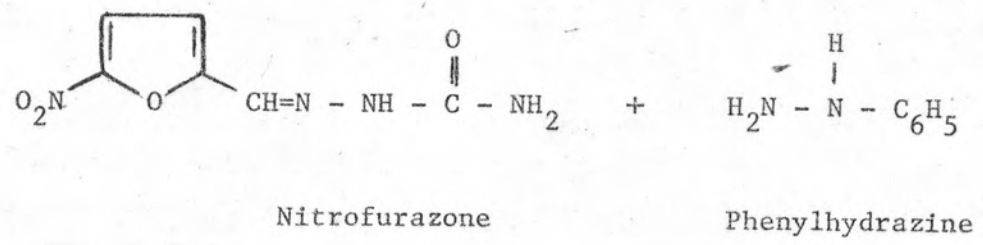
(ได้จากการนำตัวอย่างมา reduce ด้วย sodium hydrosulphite)

A standard คือ Absorbance ของ standard ที่ 440 nm.

A reduce standard คือ Absorbance ของ blank ที่ 440 nm.

(ได้จากการนำ standard มา reduce ด้วย sodium hydrosulphite)

ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นมีดังนี้



(สีเหลืองใน toluene)

ภาพที่ 3 ปฏิกิริยาของ nitrofurazone กับ phenylhydrazine



### วิธีหาเปอร์เซ็นต์ recovery

นำตัวอย่างไข่จากตลาดเดียวกัน มาแยกไข่ขาว และไข่แดง ตีไข่ที่แยกไว้แต่ละพวกให้ทั่วแล้วนำไปชั่ง ไข่ขาวตัวอย่างละ 100 กรัม 4 ตัวอย่าง ไข่แดงตัวอย่างละ 100 กรัม 4 ตัวอย่าง อุดสารละลายมาตรฐาน bifuran จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในตัวอย่างไข่ขาว 2 ตัวอย่าง และตัวอย่างไข่แดง 2 ตัวอย่าง จากนั้นเติม 2.5 N hydrochloric acid จำนวน 100 มิลลิลิตร ลงไปในทุกตัวอย่าง แล้วนำไปปั่นนาน 2 นาที ต่อจากนี้ทำการวิเคราะห์ เช่นเดียวกับที่กล่าวไว้ในวิธีวิเคราะห์ นำค่าที่วัดได้ มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ recovery

หาเปอร์เซ็นต์ recovery ในไข่แต่ละชนิด ชนิดละ 5 ตลาด