

รายงานการวิจัย

การพัฒนาเทคนิคการตรวจวัดและอุปกรณ์ปฏิบัติการ
บนชิพสำหรับตรวจวัดสารตกค้างประเภทยาปฏิชีวนะ
และโลหะปนเปื้อนในอาหาร

METHOD AND LAB ON A CHIP DEVELOPMENT
FOR THE ANTIBAETERIAL AND METAL
DETERMINATION IN FOOD

รศ.ดร. อรรวรรณ ชัยลภากุล

รศ.ดร. นาทยา งามโรจนวณิชย์

รศ.ดร. ธรรมบุญ หนูจักร

รศ.ดร. นงนุช เหมืองสิน

อ.ดร. ลักษณา ลิ้มสวรรค์

ภาควิชา เคมี

คณะ วิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน
ประจำปีงบประมาณ 2550

คณะผู้วิจัย



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ใช้เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ลิควิดโครมาโทกราฟีร่วมกับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าด้วยวิธีแอมเพอโรเมทรีเพื่อตรวจวัดซัลโฟนาไมด์ 7 ชนิด (sulfaguanidine (SG), sulfadiazine (SDZ), sulfamethazine (SMZ), sulfamethoxazole (SMX), sulfadimethoxine (SDM), sulfaquinoxaline (SQ), sulfaguanidine (SG), และ sulfamethazine (SMM)) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โดปด้วยโบรอน คอลลัมน์ที่เลือกใช้ในเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ลิควิดโครมาโทกราฟีคือ โมโนลิทริกคอลลัมน์ C_{18} ซึ่งคอลลัมน์ชนิดนี้มีข้อดีหลายประการดังนี้ ความดันต้านกลับของคอลลัมน์ต่ำ แยกสารที่วิเคราะห์ได้เร็วและมีประสิทธิภาพการแยกสารสูงเมื่อเทียบกับแพคคอลลัมน์ในงานวิจัยนี้ใช้เฟสเคลื่อนที่ในอัตราส่วนของสารละลายฟอสเฟต (0.05 โมลาร์, พีเอช 3) : อะซีโตนไนไตรด์ : เอทานอล (80: 15: 5; v/v/v) อัตราการไหลเท่ากับ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที จากการศึกษาด้วยเทคนิคไฮโดรไดนามิกโวลแทมเมตรีค่าศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดคือ 1.2 โวลต์เทียบกับ ขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์ เทคนิคการตรวจวัดนี้ให้ช่วงความเข้มข้นของซัลโฟนาไมด์ที่เป็นเส้นตรงระหว่าง 0.01 ถึง 120 ส่วนในล้านส่วน และช่วงความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ของซัลโฟนามายด์ 0.0012 ถึง 0.0033 ส่วนในล้านส่วน ซึ่งวิธีการวิเคราะห์ที่ได้นี้สามารถประยุกต์หาปริมาณซัลโฟนาไมด์ในกึ่ง ด้ร้อยละการคืนกลับ 82.7 ถึง 92.8 ที่ระดับความเข้มข้น 5 ส่วนในล้านส่วน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Abstract

High-performance liquid chromatography (HPLC) coupled with amperometric detector has been used for the determination of seven sulfonamides (sulfaguanidine (SG), sulfadiazine (SDZ), sulfamethazine (SMZ), sulfamethoxazole (SMX), sulfadimethoxine (SDM), sulfaquinoxaline (SQ) and sulfamethazine (SMM)) at the boron doped diamond (BDD) electrode. Monolithic column was used to separate sulfonamides. There are several advantages, such as low back pressure, fast separation, and high efficiency separation when compared to pack column. In this work, the analyses were carried out using the phosphate buffer as mobile phase (0.05 M, pH 3) : acetonitrile: methanol (80: 15: 5; v/v/v) with a flow rate of 1.5 mL min⁻¹. The optimum potential using hydrodynamic voltammogram was found to be 1.2 V versus Ag/AgCl. The linear dynamic range for sulfonamides concentration from 0.01 to 100 ppm and detection limit from 0.0012 to 0.0033 ppm were obtained. The proposed method was also applied to the determination of sulfonamides in shrimp. Recoveries of analytes in spiked shrimp samples were in the range from 82.7 to 92.8 % at 5 ppm.



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญเรื่อง	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ซ
คำอธิบายสัญลักษณ์	ฐ
บทนำ	
1.1 บทนำ	1
1.2 วัตถุประสงค์งานวิจัย	4
1.3 ขอบเขตการวิจัย	4
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัยนี้	4
ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	
2.1 High Performance Liquid Chromatography	5
2.1.1 ลักษณะตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์	5
2.1.2 องค์ประกอบของเครื่อง HPLC	7
2.2 เทคนิคทางเคมีไฟฟ้า	9
2.2.1 ไชคลิกโวลแทมเมตรี	9
2.2.2 แอมเพอโรเมตรี	12
วิธีดำเนินงานวิจัย	
3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์	13
3.2 สารเคมี	13
3.3 วิธีการทดลอง	14
3.3.1 ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวิเคราะห์ซัลโฟนาไมด์ เบื้องต้นใช้เทคนิคไชคลิกโวลแทมเมตรี	14

3.3.1.1	ศึกษาช่วงศักย์ไฟฟ้าใช้งานของปฏิกิริยาออกซิเดชันของซัลโฟนาไมด์โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โคปด้วยโบรอนและซั้วกลาสคาร์บอนเป็นขั้วไฟฟ้าใช้งาน	14
3.3.1.2	ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง scan rate กับสัญญาณการตรวจวัด	14
3.3.1.3	ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์กับสัญญาณการตรวจวัด	
3.3.1.4	ศึกษาพีเอชของสารละลายที่เหมาะสม	14
3.3.2	ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวิเคราะห์ซัลโฟนาไมด์โดยใช้เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟีร่วมกับเทคนิคแอมเพอโรเมตรี	14
3.3.2.1	ศึกษาอัตราส่วนของ mobile phase	14
3.3.2.2	วิเคราะห์ชนิดของสารในกลุ่มซัลโฟนาไมด์ทั้ง 7 ชนิด	14
3.3.2.3	ศึกษาหาสภาวะของศักย์ใช้งานที่เหมาะสม	15
3.3.2.4	ศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารกับค่ากระแสไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัด (Linearity)	15
3.3.2.5	ศึกษาหาค่าขีดความสามารถต่ำสุดในการวิเคราะห์ (LOD) และ ค่าขีดความสามารถต่ำสุดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ (LOQ)	15
3.3.3	หาปริมาณซัลโฟนาไมด์ในเนื้อกุ้ง	15
ผลการวิจัยและวิจารณ์		
4.1	ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวิเคราะห์ซัลโฟนาไมด์เบื้องต้นโดยใช้เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี	16
4.1.1	ช่วงศักย์ไฟฟ้าใช้งานของปฏิกิริยาออกซิเดชันของซัลโฟนาไมด์	16
4.1.2	ความสัมพันธ์ระหว่าง scan rate กับสัญญาณการตรวจวัด	16
4.1.3	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์กับสัญญาณการตรวจวัด	24
4.1.4	พีเอชของสารละลายที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดสัญญาณด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โคปด้วยโบรอน ช่วงพีเอชที่ทำการศึกษา 2.5 – 7.5	31
4.2	ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวิเคราะห์ซัลโฟนาไมด์โดยใช้เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟีร่วมกับเทคนิคแอมเพอโรเมตรี	32
4.2.1	อัตราส่วนของ mobile phase ที่เหมาะสม	32

	หน้า
4.2.2 หาสมภาวะของศักย์ใช้งานที่เหมาะสมโดยใช้เทคนิคแอมเพอโรเมตรี โดยวิเคราะห์สารใน mobile phase วัดที่ศักย์ต่างๆ จาก 1.0 -1.3 V	33
4.2.3 หา Linearity , LOD และ LOQ	34
4.3 หาร้อยละการคืนกลับ (% recovery) โดยใช้เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ ลิกวิดโครมาโทกราฟีร่วมกับเทคนิคแอมเพอโรเมตรี	35
สรุปผลการวิจัย	37
บรรณานุกรม	38



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
4.1 แสดง Linearity, LOD และ LOQ	34
4.2 แสดงร้อยละการคืนกลับ (%recovery) ของสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์	36



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูปภาพ

รูปที่	หน้า
2.1	9
2.2	10
2.3	12
4.1	16
4.2	17
4.3	17
4.4	18
4.5	18
4.6	19

- 4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของ scan rate กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีของ sulfamethazine (SMZ) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โอบด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้าที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 19
- 4.8 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ sulfamonomethoxine (SMM) ที่ความเข้มข้น 0.1 mM โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โอบด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ scan rate 25, 50, 100, 150 และ 200 mV/s 20
- 4.9 ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของ scan rate กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีของ sulfamonomethoxine (SMM) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โอบด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้าที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 20
- 4.10 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ sulfamethoxazole (SMX) ที่ความเข้มข้น 0.1 mM โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โอบด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ scan rate 25, 50, 100, 150 และ 200 mV/s 21
- 4.11 ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของ scan rate กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีของ sulfamethoxazole (SMX) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โอบด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้าที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 21
- 4.12 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ sulfadimethoxine (SDM) ที่ความเข้มข้น 0.1 mM โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โอบด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ scan rate 25, 50, 100, 150 และ 200 mV/s 22
- 4.13 ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของ scan rate กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีของ sulfadimethoxine (SDM) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โอบด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้าที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 22

- 4.14 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมของ sulfaquinoxaline (SQ) ที่ความเข้มข้น 0.1 mM โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โอบด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ scan rate 25, 50, 100, 150 และ 200 mV/s 23
- 4.15 ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของ scan rate กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไชคลิกโวลแทมเมตรีของ sulfaquinoxaline (SQ) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โอบด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้าที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 23
- 4.16 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมของ sulfaguanidine (SG) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โอบด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ความเข้มข้น 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 mM 24
- 4.17 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ sulfaguanidine (SG) ที่ 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 มิลลิโมลาร์ กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไชคลิกโวลแทมเมตรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โอบด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ scan rate 50 mV/s 24
- 4.18 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมของ sulfadiazine (SDZ) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โอบด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ความเข้มข้น 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 mM 25
- 4.19 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ sulfadiazine (SDZ) ที่ 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 มิลลิโมลาร์ กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไชคลิกโวลแทมเมตรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โอบด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ scan rate 50 mV/s 25
- 4.20 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมของ sulfamethazine (SMZ) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โอบด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ความเข้มข้น 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 mM 26

- 4.21 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ sulfamethazine (SMZ) ที่ 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 มิลลิโมลาร์ กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีโดยใช้หัวไฟฟ้าเพชรที่โคปด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ scan rate 50 mV/s 26
- 4.22 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ sulfamonomethoxine (SMM) โดยใช้หัวไฟฟ้าเพชรที่โคปด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ความเข้มข้น 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 mM 27
- 4.23 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ sulfamonomethoxine (SMM) ที่ 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 มิลลิโมลาร์ กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีโดยใช้หัวไฟฟ้าเพชรที่โคปด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้าที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ scan rate 50 mV/s 27
- 4.24 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ sulfamethoxazole (SMX) โดยใช้หัวไฟฟ้าเพชรที่โคปด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ความเข้มข้น 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 mM 28
- 4.25 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ sulfamethoxazole (SMX) ที่ 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 มิลลิโมลาร์ กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีโดยใช้หัวไฟฟ้าเพชรที่โคปด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้าที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ scan rate 50 mV/s 28
- 4.26 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ sulfadimethoxine (SDM) โดยใช้หัวไฟฟ้าเพชรที่โคปด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ความเข้มข้น 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 mM 29

- 4.27 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ sulfadimethoxine (SDM) ที่ 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 มิลลิโมลาร์ กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โอบด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้าที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ scan rate 50 mV/s 29
- 4.28 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ sulfaquinoxaline (SQ) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โอบด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ความเข้มข้น 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 mM 30
- 4.29 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ sulfaquinoxaline (SQ) ที่ 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 มิลลิโมลาร์ กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โอบด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้าที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ scan rate 50 mV/s 30
- 4.30 พีเอชต่อสัญญาณการตรวจวัดของสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์ทั้ง 7 ชนิด โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โอบด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้าที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ที่ scan rate 50 mV/s 31
- 4.31 HPLC-EC โคโรมาโทแกรมของสารซัลโฟนาไมด์ทั้ง 7 ชนิดที่ความเข้มข้น 10 ppm โดยตรวจวัดที่ 1.2 โวลต์ 32
- 4.32 โวลแทมโมแกรมของซัลโฟนาไมด์ทั้ง 7 ชนิดในช่วงศักย์ไฟฟ้า 1-1.3 V โดยใช้เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์มันซ์ลิควิดโครมาโทกราฟีร่วมกับเทคนิคแอมเพอโรเมตรีด้วยขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางโบรอนโอบไปโตมอนด์เป็นขั้วไฟฟ้าใช้งาน 33
- 4.33 HPLC-EC โคโรมาโทแกรมของตัวอย่างกึ่ง 35

คำอธิบายสัญลักษณ์

i_{pa}	:	anodic peak current
i_{pc}	:	cathodic peak current
E_{pa}	:	anodic peak potential
E_{pc}	:	cathodic peak current
E_i	:	initial potential
E°	:	formal potential
i_p	:	peak current
n	:	electron stoichiometry
A	:	electrode area
D	:	diffusion coefficient
C	:	concentration
v	:	scan rate
α	:	transfer coefficient
k°	:	standard rate constant
R	:	gas constant
C_d	:	differential capacitance of the double layer
K_x	:	Distribution coefficient ของสาร X
$[X_s]$:	ความเข้มข้นของสาร X ใน Stationary
$[X_m]$:	ความเข้มข้นของสาร X ใน Mobile phase
k'	:	capacity factor
V_s	:	ปริมาตรของเฟสคงที่ในคอลัมน์
V_m	:	ปริมาตรของเฟสเคลื่อนที่ในคอลัมน์
t_r	:	retention time
t_0	:	void time

บทนำ

1.1 บทนำ

ในปัจจุบันพบปัญหาการตกค้างสารต้านจุลชีพ (antibacterial) ในผลิตภัณฑ์ที่มาจากสัตว์ เช่น เนื้อ นม ไข่มากขึ้น เนื่องจากมีการนำสารต้านจุลชีพมาใช้ เพื่อป้องกันการติดเชื้อและรักษาโรคในสัตว์ หรือนำมาเป็นส่วนผสมในอาหารเลี้ยงสัตว์เพื่อเร่งการเจริญเติบโต จากการใช้ยาต้านจุลชีพในระหว่างการเลี้ยงสัตว์ทำให้สัตว์มีโอกาสได้รับสารต้านจุลชีพเข้าสู่ร่างกายจำนวนมากเป็นผลทำให้เกิดการตกค้างของสารเหล่านี้และสารตกค้างเหล่านี้ก็สามารถส่งผ่านจากสัตว์มาสู่มนุษย์ได้ตามห่วงโซ่อาหาร สาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการตกค้างของสารต้านจุลชีพนั้นมาจากผู้เลี้ยงสัตว์ไม่ได้คำนึงถึงชนิดของยา ปริมาณของยาที่ใช้ และระยะเวลาที่เหมาะสม อีกทั้งมีการใช้ยาต้านจุลชีพเกินความจำเป็น สาเหตุเหล่านี้ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพอนามัยของผู้บริโภคเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ เช่น ก่อให้เกิดอาการแพ้ยา (allergy) หรือเจ็บป่วย นอกจากนี้ยังมีผลทำให้แบคทีเรียเกิดการดื้อยา ทำให้การรักษาโรคยากยิ่งขึ้น และเมื่อมีการสะสมของสารต้านจุลชีพเป็นระยะเวลานานอาจมีแนวโน้มทำให้เกิดโรคมะเร็งได้ [1,2] ประการต่อมาคือ ผลกระทบต่อระบบเศรษฐกิจของประเทศเนื่องจากมีปริมาณสารต้านจุลชีพเกินมาตรฐานที่กำหนดทำให้ไม่สามารถส่งเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ไปจำหน่ายยังต่างประเทศได้

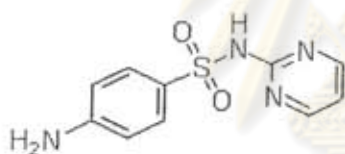
ซัลโฟนาไมด์ (sulfonamides) เป็นสารต้านจุลชีพที่ตกค้างในสัตว์และผลิตภัณฑ์ที่มาจากสัตว์ สารชนิดนี้นิยมใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อทางเดินปัสสาวะโดยเฉพาะจากเชื้ออีโคไล รักษาอาการท้องร่วงในหมู่วัวและม้า รักษาอาการติดเชื้อในกุ่มและไก่ นอกจากนี้ ซัลโฟนาไมด์ยังนำมาผลิตเป็นยารักษาามนุษย์ โดยใช้รักษาอาการอักเสบ โรคติดเชื้อดวงตา กามโรค รวมทั้งใช้ระงับเชื้อในทางเดินอาหาร [3] แต่อย่างไรก็ตาม ซัลโฟนาไมด์เป็นสารที่ก่อให้เกิดมะเร็งและเป็นอันตรายต่อไตของมนุษย์ ดังนั้นสหภาพยุโรป (European Union, EU) ได้กำหนดปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (maximum residue limits) ของซัลโฟนาไมด์ไว้ที่ 100 นาโนกรัม/กรัม ของอาหารที่ได้มาจากสัตว์ เช่น เนื้อ นม และไข่ [4] จากอันตรายที่พบจากการใช้สารซัลโฟนาไมด์ทำให้ทั้งภาครัฐและเอกชนให้ความสนใจในการวิเคราะห์หาปริมาณซัลโฟนาไมด์ที่ตกค้างในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ โดยมีมาตรการในการควบคุมคุณภาพสินค้าทั้งภายในประเทศและต่างประเทศเพื่อคุ้มครองสุขภาพอนามัยของผู้บริโภค ดังนั้นวิธีที่ใช้วิเคราะห์หาปริมาณซัลโฟนาไมด์ จึงต้องเป็นวิธีวิเคราะห์ที่รวดเร็ว ประหยัด เหมาะสมกับการตรวจวัดตัวอย่างจำนวนมากและสามารถวิเคราะห์สารปนเปื้อนในปริมาณต่ำได้ เทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์สารซัลโฟนาไมด์ส่วนใหญ่ คือ เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซิลิควิดโครมาโทกราฟี จากวิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารซัลโฟนาไมด์แบบเดิมที่ใช้แพคคอลัมน์สำหรับการแยกสารนั้นใช้ระยะเวลาในการตรวจวัดนาน

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้เสนอวิธีการพัฒนาการตรวจวัดสารซัลโฟนาไมด์ทั้ง 7 ชนิด (sulfadiazine, sulfamethazine, sulfamethoxazole, sulfadimethoxine, sulfaquinoxaline, sulfaguanidine and sulfamonomethoxine) ที่มีความถูกต้อง แม่นยำ และรวดเร็ว โดยใช้เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี ร่วมกับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าแบบแอมเพอโรเมตรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่เคลือบด้วยโบรอน คอลัมน์ที่เลือกใช้ คือ คอลัมน์มอนอลิธ C_{18} (monolithic column C_{18}) ซึ่งคอลัมน์ชนิดนี้มีข้อดีหลายประการคือ ความดันต้านกลับ (back pressure) ของคอลัมน์ต่ำ แยกสารที่วิเคราะห์ได้เร็ว และมีประสิทธิภาพการแยกสารสูงเมื่อเทียบกับแพคคอลัมน์ (pack column) [5] ที่นิยมใช้ทั่วไป

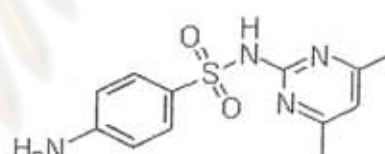
ซัลโฟนาไมด์ : เป็นสารต้านจุลชีพซึ่งนำมาใช้รักษาอาการติดเชื้อ ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียของทางเดินอาหารทั้งมนุษย์และสัตว์ สูตรโครงสร้างหลักประกอบด้วย ซัลโฟนิล ($R-SO_2-R$) และหมู่เอมิโน (NH_2) เชื่อมกับวงเบนซีน (benzene ring)

สูตรโครงสร้างซัลโฟนาไมด์ทั้ง 7 ชนิดที่นิยมใช้ในสัตว์

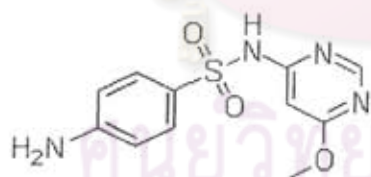
sulfadiazine (SDZ)



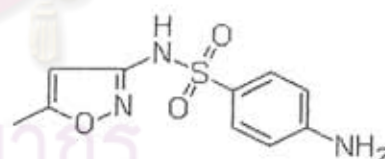
sulfamethazine (SMZ)



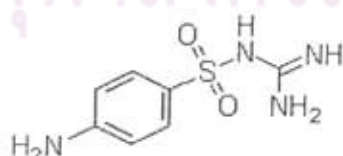
sulfamethoxazole (SMX)



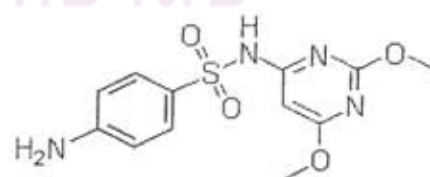
sulfamonomethoxine (SMM)



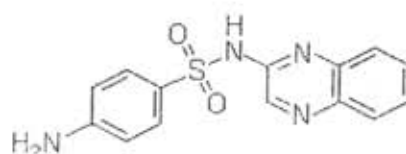
sulfaguanidine (SG)



sulfadimethoxine (SDM)



sulfaquinoxaline (SQ)



งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์สารซัลโฟนาไมด์โดยส่วนใหญ่จะใช้เทคนิคโครมาโทกราฟี [6,7] Kishida และคณะ [8] ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณการตกค้างของซัลโฟนาไมด์ในเนื้อไก่โดยใช้วิธีสกัดแบบ matrix solid-phase dispersion ใช้คอลัมน์ C_{18} และตัวตรวจวัดเป็นโฟโตไดโอดอาร์เรย์ (photodiode array detector) ใช้เวลาในการตรวจวัด 1.5 ชั่วโมง Fuh และคณะ [9] หาปริมาณซัลโฟนาไมด์ 8 ชนิดในเนื้อสัตว์โดยใช้วิธีการสกัดแบบ solid-phase extraction ร่วมกับเทคนิคคัพิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส (capillary electrophoresis) หาขีดความสามารถต่ำสุดในการตรวจวัดได้ในช่วง 5-10 ไมโครกรัม/กรัม และตัวตรวจวัดเป็นโฟโตไดโอดอาร์เรย์ ซึ่งวิธีการวิเคราะห์นี้ให้ความไวในการตรวจวัดได้ดี แต่ใช้ระยะเวลาแยกสารถึง 17 นาที Cubarsi และคณะ [4] ทำการเปรียบเทียบคอลัมน์ C_{12} กับ C_{18} เพื่อศึกษาความเหมาะสมสำหรับการแยกซัลโฟนาไมด์ 3 ชนิด (SDZ, SMR, SMZ) ผลที่ได้พบว่าคอลัมน์ C_{12} เหมาะสมสำหรับการแยกซัลโฟนาไมด์ทั้ง 3 ชนิด ภายหลังจากมีการพัฒนาโดยนำเทคนิคโครมาโทกราฟีมาใช้ร่วมกับเทคนิคอื่น ได้แก่ เทคนิคแมสสเปกโตรเมตรี [2,10-11] ซึ่งมีผลทำให้ขีดความสามารถต่ำสุดในการตรวจวัดได้ (limit of detection) มีค่าต่ำมาก เนื่องจากเทคนิคแมสสเปกโตรเมตรีมีความไวในการตรวจวัดสูง งานวิจัยที่เกี่ยวข้องได้แก่ Li และคณะ [12] วิเคราะห์หาสารตกค้างซัลโฟนาไมด์ในเนื้อกุ้ง หาขีดความสามารถต่ำสุดในการตรวจวัดได้ที่ 20 นาโนกรัม/กรัม ต่อมามีการนำเทคนิคทางเคมีไฟฟ้ามาใช้ตรวจวัดหาซัลโฟนาไมด์ เช่น Preechaworapun และคณะ [3] วิเคราะห์หาซัลโฟนาไมด์ด้วยเทคนิคแอมเพโรเมตรีใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โดปด้วยโบรอน โดยใช้คอลัมน์ C_4 วิเคราะห์ซัลโฟนาไมด์ 4 ชนิด (SDZ, SMM, SMZ, SDM) ซึ่งใช้เวลาในการตรวจวัดถึง 18 นาที และนอกจากนี้ยังมีเทคนิคที่สามารถตรวจวัดซัลโฟนาไมด์โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาที่จำเพาะเจาะจงกันระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี (immunoassay) Wang และคณะ [13] ตรวจหาซัลโฟนาไมด์ด้วยวิธี immunochromatography ในเนื้อไก่และไข่ ภายในเวลา 15 นาที จากข้อมูลงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า วิธีการวิเคราะห์ซัลโฟนาไมด์ด้วยเทคนิคที่กล่าวมาแล้วแต่ใช้ระยะเวลาในการวิเคราะห์นาน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้พัฒนาเทคนิคสำหรับการแยกและการตรวจวัดซัลโฟนาไมด์เพื่อให้สามารถวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว ถูกต้องและสามารถวิเคราะห์หาสารในปริมาณต่ำได้

1.2 วัตถุประสงค์งานวิจัย

1. พัฒนาเทคนิคสำหรับการแยกและตรวจวัดสารซัลโฟนาไมด์ 7 ชนิด โดยใช้คอลัมน์มอโนลิต์ร่วมกับการตรวจวัดแบบแอมเพอโรเมตรีเพื่อได้วิธีการวิเคราะห์สารที่รวดเร็ว ถูกต้องและสามารถวิเคราะห์สารในปริมาณต่ำ

2. ประยุกต์เทคนิคที่พัฒนาแล้วสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารซัลโฟนาไมด์ที่ตกค้างในอาหาร

1.3 ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกและวิเคราะห์สารซัลโฟนาไมด์ทั้ง 7 ชนิด (sulfadiazine, sulfamethazine, sulfamethoxazole, sulfadimethoxine, sulfaquinoxaline, sulfaguanidine and sulfamonomethoxine) พร้อมทั้งหาปริมาณสารซัลโฟนาไมด์ที่ตกค้างในอาหารประเภทเนื้อสัตว์ โดยใช้คอลัมน์มอโนลิต์ร่วมกับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าแบบแอมเพอโรเมตรี ซึ่งใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โคปด้วยโบรอนเป็นขั้วไฟฟ้าใช้งาน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัยนี้

ได้วิธีวิเคราะห์ที่มีความเที่ยง แม่นยำ และรวดเร็วในการตรวจวัดสารซัลโฟนาไมด์ทั้ง 7 ชนิด ที่ตกค้างในอาหารประเภทเนื้อสัตว์



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

HPLC เป็นเทคนิคการแยกสารประกอบ (Substances) โดยอาศัยหลักการความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของสารประกอบใน Stationary Phase ของคอลัมน์ โดยมี Mobile Phase เป็นตัวพาไป เมื่อต่อเข้ากับ Detector จะสามารถตรวจวัดสารที่ออกมาจากคอลัมน์ได้อย่างต่อเนื่องสามารถตรวจวัดทั้งเชิงคุณภาพ (Qualitative Analysis) และเชิงปริมาณ (Quantitative Analysis) ส่วนใหญ่นิยมใช้วิเคราะห์สารประกอบที่ระเหยยาก (Low Volatile Substation) หรือน้ำหนักโมเลกุลสูง (High Molecular Weight Compounds)

2.1.1 ลักษณะตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์

HPLC สามารถวิเคราะห์สารได้หลายชนิด เช่น สารอินทรีย์ สารประกอบทางชีวภาพ โพลีเมอร์ คูอิแนนทิโอเมอร์ สารประกอบที่เสถียรได้ง่าย สารประกอบที่ระเหยยาก ไอออนขนาดเล็ก ไมโครโมเลกุล ตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ต้องเป็นของแข็งหรือของเหลว ต้องละลายได้ 100 % (ผ่านการกรอง) การแยกสารจะประสบความสำเร็จได้ก็ต่อเมื่อสารมีอัตราการเคลื่อนที่ที่แตกต่างกันภายในคอลัมน์ สารประกอบที่ถูกแยกนั้นจะเคลื่อนที่ไปตามความยาวทั้งหมดของคอลัมน์ โดยมี Mobile Phase เป็นตัวพาไป

สารสามารถแยกออกจากกันได้เนื่องจากมีค่า Distribution coefficient ที่ต่างกัน เช่น สารประกอบ X มีการกระจายอยู่ระหว่างเฟสที่อยู่กับที่ (Stationary phase) และเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) เมื่อผ่านไปตามคอลัมน์ ดังสมการ



$$K_x = [X_s]/[X_m]$$

K_x = Distribution coefficient ของสาร X

$[X_s]$ = ความเข้มข้นของสาร X ใน Stationary phase

$[X_m]$ = ความเข้มข้นของสาร X ใน Mobile phase

จากนิยามของ Distribution coefficient (K_x) คือ การวัดลำดับของสาร X ที่จะยึดหรือทำให้เคลื่อนที่ได้ช้าลง ในทางปฏิบัติแล้วค่า capacity factor (k') จะเป็นค่าที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้มากกว่า และสามารถที่จะหาได้โดยตรงจากโครมาโทแกรม ซึ่งสมการของค่า k' เป็นดังนี้

$$k' = \frac{\text{จำนวนโมลทั้งหมดของสาร X ในเฟสคงที่}}{\text{จำนวนโมลทั้งหมดของสาร X ในเฟสเคลื่อนที่}}$$

$$k' = \frac{V_s[X]_s}{V_m[X]_m} = \frac{V_s}{V_m} K_x$$

เมื่อ V_s = ปริมาตรของเฟสคงที่ในคอลัมน์

V_m = ปริมาตรของเฟสเคลื่อนที่ในคอลัมน์

และ

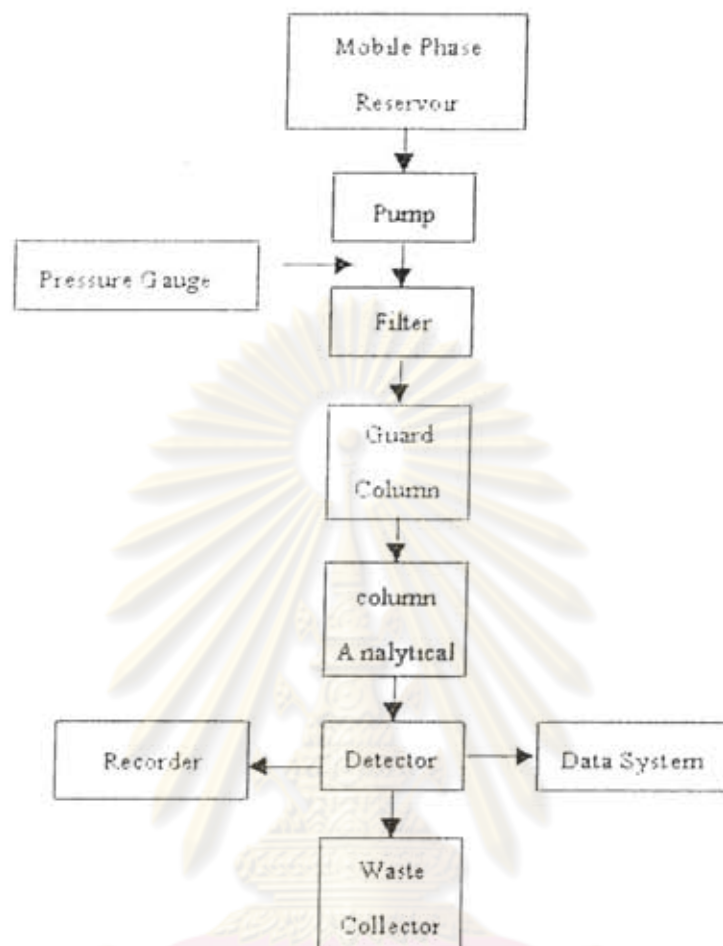
$$k' = \frac{t_r - t_0}{t_0}$$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

t_r = retention time

t_0 = void time

2.1.2 องค์ประกอบของเครื่อง HPLC



ภาชนะที่บรรจุเฟสเคลื่อนที่ (Mobile Phase reservoir)

เป็นขวดสำหรับใส่ตัวทำละลายที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ ความจุประมาณ 1 ลิตร มีอุปกรณ์ที่ใช้ในการไล่อากาศที่ละลายอยู่ จุดประสงค์ของการไล่อากาศ คือ ต้องการกำจัดแก๊สออกซิเจนซึ่งอาจจะทำปฏิกิริยากับเฟสเคลื่อนที่บางชนิดได้และมีผลต่อค่า retention time ด้วย

ระบบของปั๊ม (Pumping System)

ในคอลัมน์มีความต้านทานการไหลของเฟสเคลื่อนที่เนื่องจากภายในคอลัมน์มีอนุภาคขนาดเล็กบรรจุอยู่ ความต้านทานการไหลที่วุ่นนี้จะมากเมื่อใช้อนุภาคเล็กๆ และคอลัมน์มีขนาดเล็กอีกด้วย จึงจำเป็นต้องใช้ความดันที่สูงดันเฟสเคลื่อนที่ให้ไหล

ปั๊มแบ่งออกเป็น 2 ชนิด

1. Mechanical pump เป็นปั๊มที่ควบคุมให้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่มีค่าคงที่
2. Pneumatic pump เป็นปั๊มที่ควบคุมให้ความดันของการไหลของเฟสเคลื่อนที่มีค่าคงที่
 - Mechanical pump หรือ Constant – flow pump ปั๊มประเภทนี้แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ
 - (1) Syringe pump ปั๊มชนิดนี้มีลักษณะเป็นกระบอกสูบ (cylinder) ซึ่งบรรจุตัวทำละลายไว้แล้ว มีก้านสูบ (plunger) ซึ่งจะเคลื่อนที่เป็นแบบสกรู (screw) ผ่านกล่องเกียร์ (gear box) โดยมี stepping motor เป็นตัวควบคุมอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่โดยจะไปทำให้ก้านสูบเคลื่อนที่เร็วหรือช้าลง
 - (2) Reciprocating pumps ปั๊มชนิดนี้นิยมใช้กันมาก ก้านสูบของปั๊มเคลื่อนที่เข้าออกตลอดเวลาการทำงาน เมื่อลูกสูบเคลื่อนที่เข้าจะเป็นการดันเฟสเคลื่อนที่ให้เข้าสู่คอลัมน์ และเมื่อเคลื่อนออกจะดึงเอาเฟสเคลื่อนที่จาก reservoir เข้าสู่ลูกสูบผ่าน check valve การควบคุมอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่กระทำได้โดยปรับอัตราเร็วของการชักลูกสูบผ่านมอเตอร์

Guard column

เหมือนกับ Column จึงดักสารที่ไม่ elute หรืออนุภาคเล็ก ๆ เพื่อยืดอายุของ Column

Column .

คอลัมน์แบบเดิมที่ใช้เป็นแบบแพค (pack column) แบ่งตามกลไกการแยก

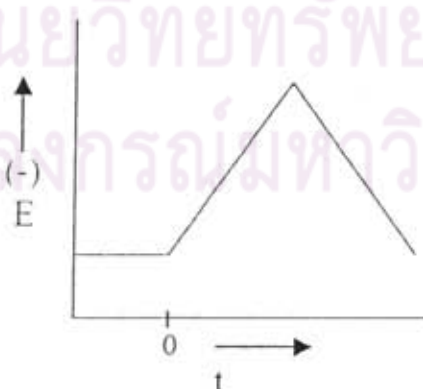
1. Adsorption อาศัยหลักการเกิด interaction ที่แตกต่างกันระหว่าง Solute กับตำแหน่ง Active บนผิวของ Adsorbent ที่ใช้เป็น Stationary phase
2. Partition อาศัยหลักการที่ Solute มีการกระจายตัวระหว่าง Phase ทั้งสอง ที่ไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกัน phase ทั้งสองจะต้องเลือกจากการของเหลวที่มี Polarity ต่างกันมาก ๆ
 - Stationary phase มีขั้ว Mobile phase ไม่มีขั้ว เรียกว่า Normal phase
 - Stationary phase ไม่มีขั้ว Mobile phase มีขั้ว เรียกว่า Reverse phase
3. Ion Exchange อาศัยหลักการเกิด Interaction ของ Ion solute กับ Ion ที่มีประจุตรงกันข้ามซึ่งอยู่บนพื้นผิวของ Stationary phase
4. Size Exclusion อาศัยหลักการที่ solute จะถูกเลือกให้แพร่ผ่านรูพรุนของ packing โดย solute ขนาดเล็กจะสามารถแพร่ผ่านเข้าไปในรูพรุนได้จะถูกยึดในคอลัมน์ได้นานกว่าขนาดใหญ่

ปัจจุบันคอลัมน์ HPLC มีการพัฒนามากขึ้น คอลัมน์มอนอลิธ(monolithic column) เป็นคอลัมน์อีกชนิดหนึ่งที่มีความสนใจอย่างมาก เนื่องจากคอลัมน์มอนอลิธถูกออกแบบให้มีโครงสร้างเป็นระบบเครือข่ายมีรูพรุนสูง จึงมีประสิทธิภาพสูงกว่าแพคคอลัมน์แบบดั้งเดิม [5] ข้อดีของคอลัมน์มอนอลิธ คือ สามารถวิเคราะห์สารตัวอย่างได้เร็วขึ้น โดยสามารถปรับอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ได้ตั้งแต่ 1-9 มิลลิลิตร/นาที ช่วยยืดอายุการใช้งานปั๊มและเครื่องวิเคราะห์ด้วยสมบัติที่เป็นรูพรุน (porosity) มากกว่า 80% จึงช่วยให้ระบบลำเลียงสารตัวอย่างมีประสิทธิภาพความดันต้านกลับต่ำ (น้อยกว่า 150 bar) จึงเป็นคอลัมน์ที่เหมาะสมทั้งกับงานด้านเภสัชกรรม การแพทย์ อาหารและเครื่องดื่ม เทคโนโลยีชีวภาพ และพืชวิทยา

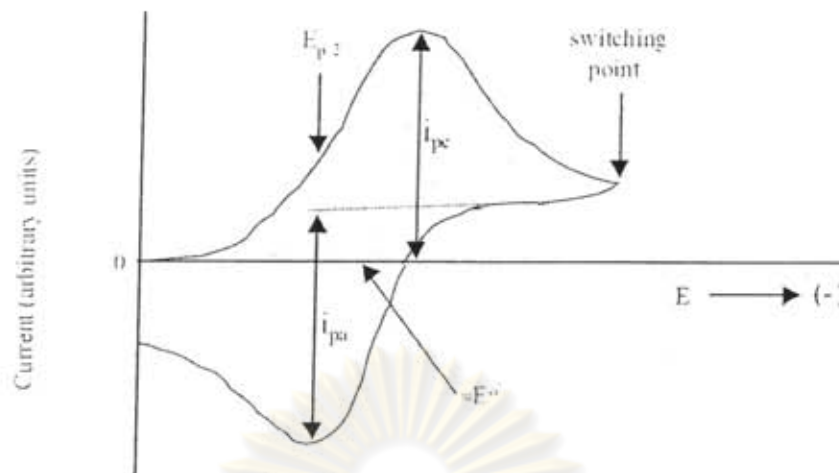
2.2 เทคนิคทางเคมีไฟฟ้า (electrochemical technique)

2.2.1 ไชคคลิกโวลแทมเมตรี (cyclic voltammetry)

เครื่องมือและเทคนิคต่าง ๆ ของการทำไชคคลิกโวลแทมเมตรีเหมือนกับลิเนียร์สวิตช์โพลารอกราฟี โวลเทจโมแกรมมีลักษณะเป็นสามเหลี่ยมเช่นกัน แต่แตกต่างจากสามเหลี่ยมของลิเนียร์สวิตช์โพลารอกราฟี คือ เมื่อเวลาเพิ่มมากขึ้นศักย์ไฟฟ้าจะเพิ่มขึ้นจนถึงมากที่สุด จากนั้นค่อย ๆ ลดลงด้วยอัตราเร็วเท่ากัน โวลเทจโมแกรมที่ได้จึงมีลักษณะเป็นสามเหลี่ยมหน้าจั่วดังรูปที่ 2.1 เมื่อเริ่มสแกนโวลเทจก็เริ่มมีกระแสเกิดขึ้น เมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าสูงสุด (ถึงยอดของสามเหลี่ยม) ก็จะมีกระแสเนื่องจากเกิดปฏิกิริยารีดักชันเกิดขึ้นสูงสุดมีลักษณะเป็นพีกและเมื่อลดศักย์ไฟฟ้าด้วยอัตราเร็วเท่าเดิมกระแสก็จะค่อย ๆ ลดลงจนถึงต่ำสุดเพราะเกิดปฏิกิริยาในทิศทางตรงกันข้าม (ผันกลับได้) มีลักษณะเป็นพีกเช่นกัน แต่กลับทิศทางกับพีกแรก ซึ่งมีลักษณะที่สมมาตรกัน แต่ถ้าปฏิกิริยาผันกลับไม่ได้จะไม่เกิดพีก เมื่อสแกนให้ศักย์ไฟฟ้าลดลง และถ้าปฏิกิริยาผันกลับได้ไม่สมบูรณ์ ลักษณะพีกที่เกิดขึ้นจะไม่สมมาตรกัน ดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.1 โวลแทมโมแกรมของไชคคลิกโวลแทมเมตรี



รูปที่ 2.2 ไชคติกโวลแทมโมแกรม

พารามิเตอร์ที่สำคัญของไชคติกโวลแทมโมแกรม ได้แก่ กระแสที่ยอดแอโนดิก (anodic peak current, i_{pa}) กระแสที่ยอดแคโทดิก (cathodic peak current, i_{pc}) ศักย์ไฟฟ้าที่ยอดแอโนดิก (anodic peak potential, E_{pa}) ศักย์ไฟฟ้าที่ยอดแคโทดิก (cathodic peak potential, E_{pc}) ศักย์ไฟฟ้าเริ่มต้นการสแกน (initial potential, E) และ formal potential (E^0)

จากเทคนิคไชคติกโวลแทมโมแกรมสามารถศึกษาปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นได้ว่าเป็นแบบใด reversible, quasireversible และ irreversible

- ระบบ reversible กระแสที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน และ รีดักชัน จะที่ค่าเท่ากัน ซึ่งกระแสที่เกิดขึ้นนี้เป็นกระแสจากการ diffusion และได้พิกที่สมมาตร สมการที่เกี่ยวข้องของในระบบนี้

$$i_p = (2.69 \times 10^5) n^{3/2} A D^{1/2} C v^{1/2}$$

i_p = peak current, A

n = electron stoichiometry, eq/mol

A = electrode area, cm²

D = diffusion coefficient, cm²/s

C = concentration, mol/cm³

v = scan rate, V/s

จากสมการดังกล่าวจะเห็นว่ากระแสที่เกิดขึ้นจะแปรผันตาม $C \cdot v^{1/2}$ แต่ค่า E_p จะไม่ขึ้นอยู่กับ v

- ระบบ irreversible

กระแสที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน และรีดักชัน จะที่ค่าเท่ากันและได้เพื่อที่ไม่สมมาตรสมการที่เกี่ยวข้องในระบบนี้

$$i_p = (2.99 \times 10^5) \alpha^{1/2} A C D^{1/2} v^{1/2}$$

$$E_p = E^0 - \frac{RT}{\alpha F} \left[0.780 + \ln k^0 + \ln (\alpha F v)^{1/2} \right]$$

α = transfer coefficient

k^0 = standard rate constant

R = gas constant

จากสมการดังกล่าวจะเห็นว่ากระแสที่เกิดขึ้นจะแปรผันตาม $C_d v^{1/2}$ แต่ค่า E_p ขึ้นอยู่กับ $v^{1/2}$

- นอกจากกระแสที่เกิดจากการ diffusion แล้วยังมีกระแสที่เกิดจาก electroactive species อื่นๆ ที่ทำหน้าที่คล้าย capacitor เรียกว่า charging current (i_c) มีสมการที่เกี่ยวข้อง

$$i_c = A C_d v$$

C_d = differential capacitance of the double layer

จากสมการดังกล่าวจะเห็นว่ากระแสที่เกิดขึ้นจะแปรผันตาม $v^{1/2}$

เครื่องมือที่ใช้สำหรับไซคลิกโวลแทมเมตรี ประกอบด้วย

- 1) เซลล์อิเล็กโทรไลติก โดยทั่วไปเป็นเซลล์ชนิดสามอิเล็กโทรด อิเล็กโทรดทำงานส่วนใหญ่เป็น solid disk electrode นิยมใช้ชนิด แพลทินัม กลาสซีคาร์บอน
- 2) แหล่งกำเนิดสัญญาณ หน้าที่ให้สัญญาณศักย์ไฟฟ้าแบบรอบกับเซลล์ที่ศึกษา
- 3) โปเทนชิออสแตท เป็นวงจรควบคุมศักย์ไฟฟ้าให้คงที่ในช่วงของศักย์ไฟฟ้าที่ต้องการ
- 4) แอมมิเตอร์ ทำหน้าที่วัดกระแสที่เกิดขึ้นซึ่งเปลี่ยนแปลงขณะเกิดปฏิกิริยา
- 5) เครื่องบันทึก ทำหน้าที่บันทึกโวลแทมโมแกรม

2.2.2 แอมเพอโรเมตรี (amperometry) : เป็นเทคนิคที่ประยุกต์โดยใช้หลักการของโวลแทมเมตรี ด้วยการให้ศักย์ไฟฟ้าที่คงที่แก่ขั้วไฟฟ้าทำงาน ที่เพียงพอในการทำให้เกิดปฏิกิริยาของสารตัวอย่างที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าและวัดค่ากระแสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ [14] ขั้วไฟฟ้าทำงานที่ได้รับความนิยมในปัจจุบันคือ ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โด๊ปด้วยโบรอน เนื่องจากมีสมบัติพิเศษหลายประการได้แก่ มีช่วงศักย์ไฟฟ้าใช้งาน (electrochemical window) กว้าง เกิดการดูดซับสารบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าทำงานน้อย ให้กระแสพื้นหลัง (background current) ต่ำ [15]



รูปที่ 2.3 โวลแทมโมแกรมของแอมเพอโรเมตรี

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 3.1.1 pH meter (Metrohm)
- 3.1.2 Milli-Q water system, model Millipore ZMQS 5 VOOY, Millipore, USA.
- 3.1.3 เครื่องชั่ง (Mettler)
- 3.1.4 Sonicator (USA)
- 3.1.5 0.45 μm Nylon membrane syringe filter with polypropylene (PP) housing (Orange Scientific filter)
- 3.1.6 Autolab Potentiostat (PG-100, Methrom)
- 3.1.7 Auto pipette และ tips (Eppendorf, Germany)
- 3.1.8 A Rhedynne injection valve, Model 5100 (Altech), with a 20 μL stainless steel injection loop (0.5 mm. i.d.)
- 3.1.9 Centrifuge (Cole Parmer)
- 3.1.10 Stainless steel electrode
- 3.1.11 A silver/silver chloride (Ag/AgCl) electrode (Bioanalytical System Inc.)
- 3.1.12 Boron-doped diamond electrode (BDD)
- 3.1.13 A thin layer flow cell (Bioanalytical System Inc.)
- 3.1.14 A Teflon cell gasket (Bioanalytical System Inc.)
- 3.1.15 Solid phase extraction (SPE)
- 3.1.16 Monolithic column (silica base C_{18})

3.2 สารเคมี

- 3.2.1 Sulfadiazine (SDZ)
- 3.2.2 Sulfamethazine (SMZ)
- 3.2.3 Sulfamethoxazole (SMX)
- 3.2.4 Sulfadimethoxine (SDM)
- 3.2.5 Sulfaquinoxaline (SQ)
- 3.2.6 Sulfaguanidine (SG)
- 3.2.7 Sulfamethazine (SMM)
- 3.2.8 Acetonitrile (ACN)

- 3.2.9 Ethanol
- 3.2.10 Methanol
- 3.2.11 Potassium dihydrogen phosphate
- 3.3.12 Disodium hydrogen phosphate
- 3.3.13 Citric acid

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวิเคราะห์ซัลโฟนาไมด์เบื้องต้นโดยใช้เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

3.3.1.1 ศึกษาช่วงศักย์ไฟฟ้าใช้งานของปฏิกิริยาออกซิเดชันของ ซัลโฟนาไมด์โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โดปด้วยโบรอนและขั้วกลาสคาร์บอนเป็นขั้วไฟฟ้าใช้งาน ช่วงศักย์ไฟฟ้าที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3

3.3.1.2 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง scan rate กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โดปด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้าที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3

3.3.1.3 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โดปด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3

3.3.1.4 ศึกษาพีเอชของสารละลายที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดสัญญาณด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โดปด้วยโบรอน ช่วงพีเอชที่ทำการศึกษา 2.5 – 7.5

3.3.2 ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวิเคราะห์ซัลโฟนาไมด์โดยใช้เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟีร่วมกับเทคนิคแอมเพอโรเมตรี

3.3.2.1 ศึกษาอัตราส่วนของ mobile phase ที่เหมาะสมต่อการแยกของสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์ทั้ง 7 ชนิดโดยใช้อัตราส่วนของสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ต่ออะซีโตนไนไตรด์ และสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ ต่ออะซีโตนไนไตรด์ ต่อเอทานอลในอัตราส่วนต่างๆ

3.3.2.2 วิเคราะห์ชนิดของสารในกลุ่มซัลโฟนาไมด์ทั้ง 7 ชนิดโดยนำค่า retention time ของสารแต่ละชนิดมาเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานซัลโฟนาไมด์และระบุชนิดของสารแต่ละชนิด

3.3.2.3 ศึกษาหาสภาวะของศักย์ใช้งานที่เหมาะสมโดยใช้เทคนิคแอมเพอโรเมตรี โดยวิเคราะห์สารใน mobile phase ที่เลือกได้จากข้อ 3.3.2.1 และวัดที่ศักย์ต่างๆ จาก 1.0 -1.3 V

3.3.2.4 ศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารกับค่ากระแสไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัด (Linearity)

3.3.2.5 ศึกษาหาค่าขีดความสามารถต่ำสุดในการวิเคราะห์ (Limit of Determination; LOD) และ ค่าขีดความสามารถต่ำสุดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ (Limit of Quantitative ; LOQ)

3.3.3 วิเคราะห์หาปริมาณซัลโฟนาไมด์ ในเนื้อกุ้งด้วยวิธี Standard addition พร้อมทั้งหาร้อยละการคืนกลับ (% recovery) โดยใช้เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟีร่วมกับเทคนิคแอมเพอโรเมตรี

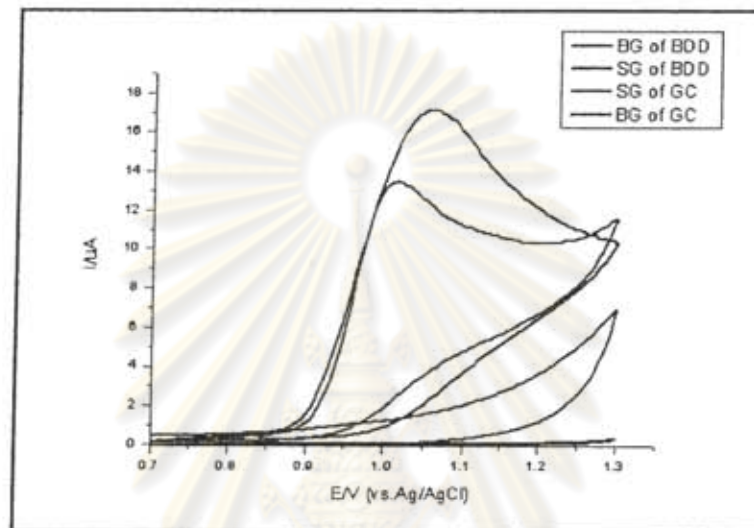
ชั่งเนื้อกุ้ง 2 กรัมใส่ centrifuge tube เติมสารละลาย Na_2EDTA McIlvaine buffer ที่พีเอช 4 (citric acid 0.1 M และ disodium hydrogen phosphate 0.2 M) 10 mL ทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง Vortex 5 นาที sonicate 10 นาที หลังจากนั้นนำไป centrifuged 10 นาที ที่ 3,500 rpm นำส่วนใสทำการ preconcentration และ กำจัด matrix ด้วย SPE ในขั้นตอน elute ของ SPE ใช้ methanol 7 mL นำส่วนที่ผ่านการ elute ไป dry N_2 หลังจากนั้นปรับปริมาตร 10 mL ด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 แล้ว inject HPLC-EC 20 μL

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการวิจัยและวิจารณ์

4.1 ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวิเคราะห์ซัลโฟนาไมด์เบื้องต้น โดยใช้เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี

4.1.1 ช่วงศักย์ไฟฟ้าใช้งานของปฏิกิริยาออกซิเดชันของ ซัลโฟนาไมด์โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โดปด้วยโบรอนและขั้วฟลักลาสติคาร์บอนเป็นขั้วไฟฟ้าใช้งานที่ 0.7-1.3 V



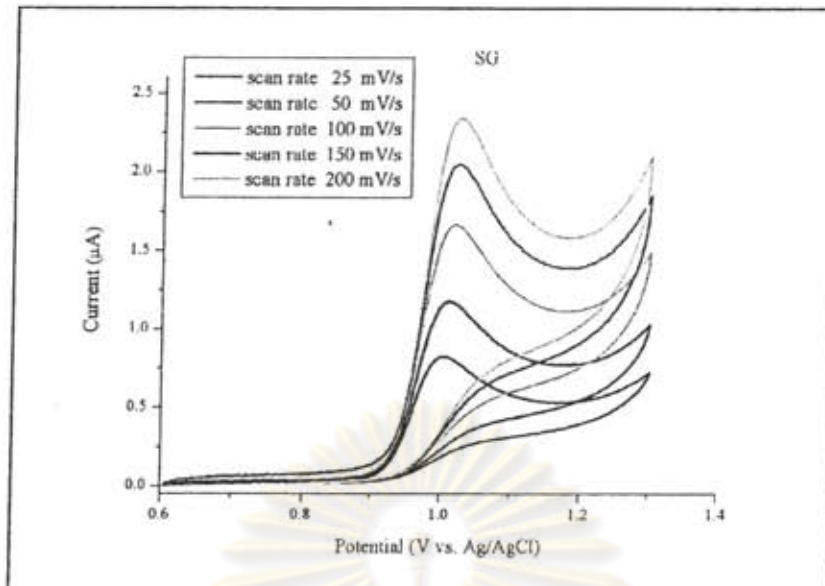
รูปที่ 4.1 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของสาร Sulfaguanidine (SG) ที่ความเข้มข้น 1 mM โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โดปด้วยโบรอนและขั้วไฟฟ้าฟลักลาสติคาร์บอนเป็นขั้วไฟฟ้าใช้งาน ในสารละลาย 0.05 M PBS (pH3) ที่ scan rate 50 mV/s

- 1mM ของ Sulfaguanidine (SG) ที่ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางโบรอนโดปไดมอนด์
- 1mM ของ Sulfaguanidine (SG) ที่ขั้วไฟฟ้าฟลักลาสติคาร์บอน
- Background ที่ขั้วไฟฟ้าฟลักลาสติคาร์บอน
- Background ที่ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โดปด้วยโบรอน

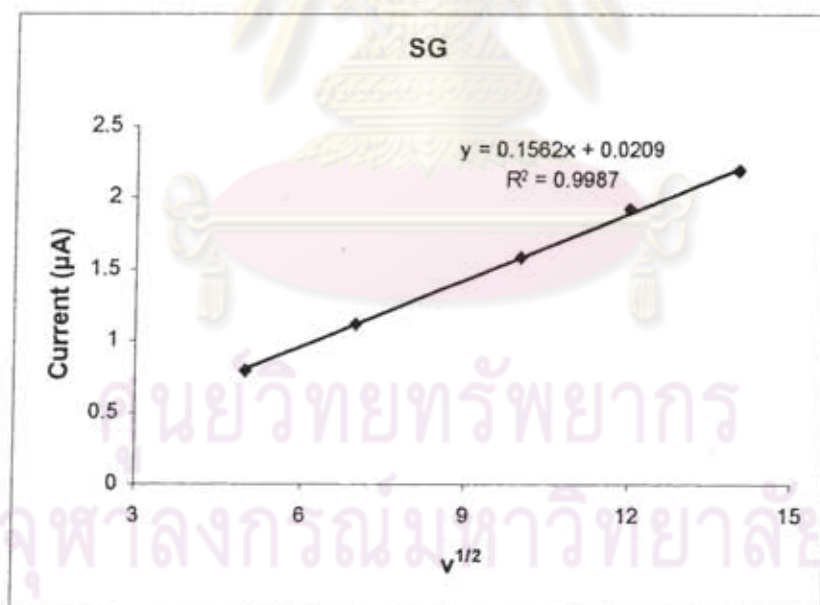
4.1.2 ความสัมพันธ์ระหว่าง scan rate กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โดปด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้าที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ทีเอช 3

$$i_p = (2.69 \times 10^5) n^{3/2} A D^{1/2} C v^{1/2}$$

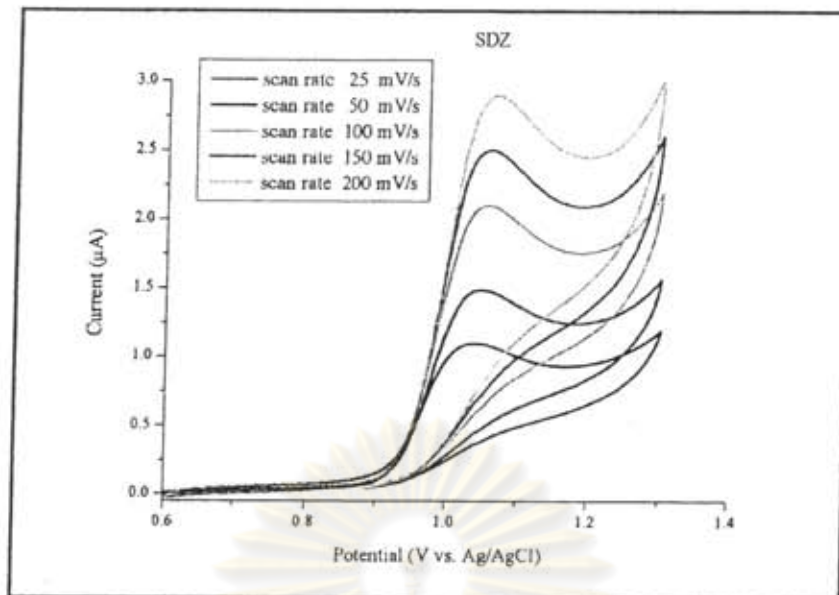
จากสมการกระแสไฟฟ้าที่เกิดแปรผันตามรากที่สองของ scan rate ($v^{1/2}$) นั้นหมายถึง กระแสที่เกิดขึ้นเป็นกระแสจากการ diffusion



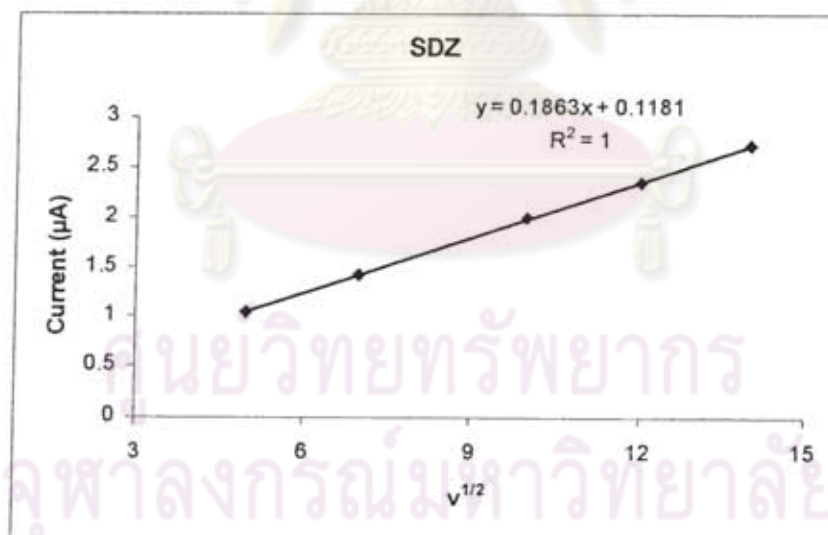
รูปที่ 4.2 โครดิกโวลแทมโมแกรมของ sulfaguanidine (SG) ที่ความเข้มข้น 0.1 mM โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โคปด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ scan rate 25, 50, 100, 150 และ 200 mV/s



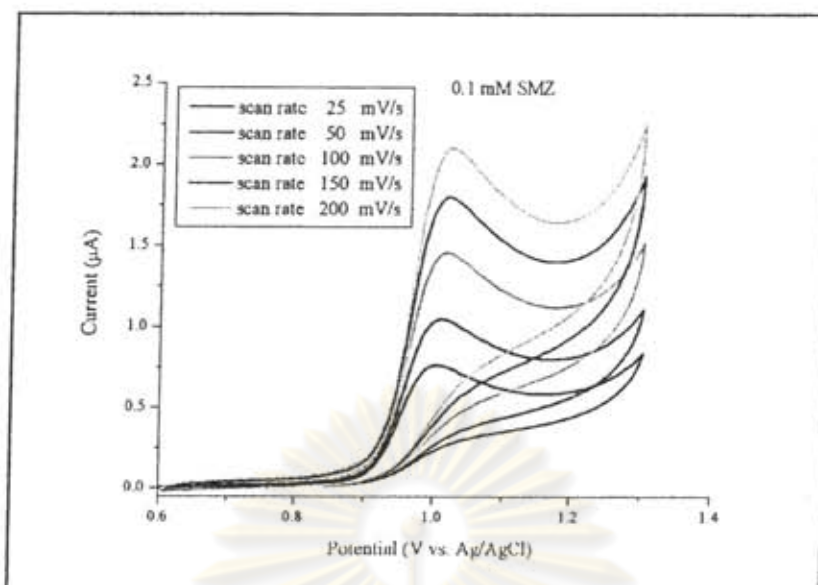
รูปที่ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของ scan rate กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคโครดิกโวลแทมเมตรีของ sulfaguanidine (SG) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โคปด้วยโบรอนช่วง ศักย์ไฟฟ้าที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3



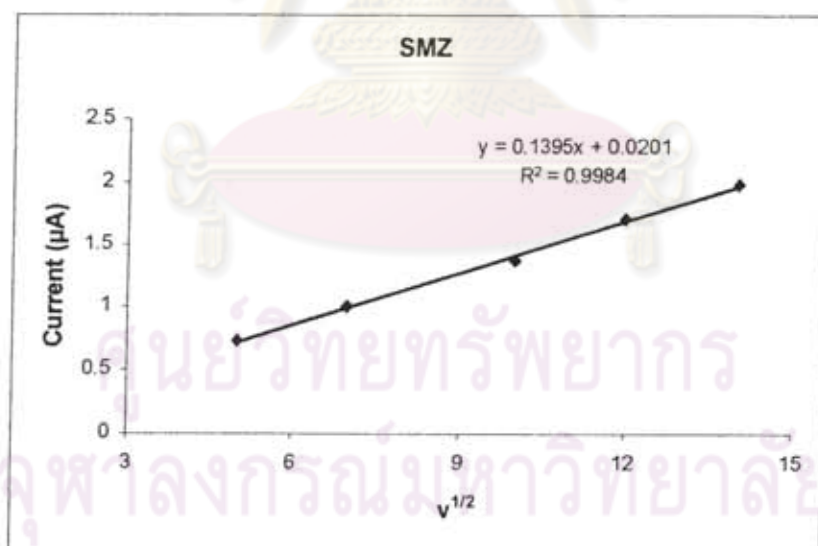
รูปที่ 4.4 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ sulfadiazine (SDZ) ที่ความเข้มข้น 0.1 mM โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โอบด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ scan rate 25, 50, 100, 150 และ 200 mV/s



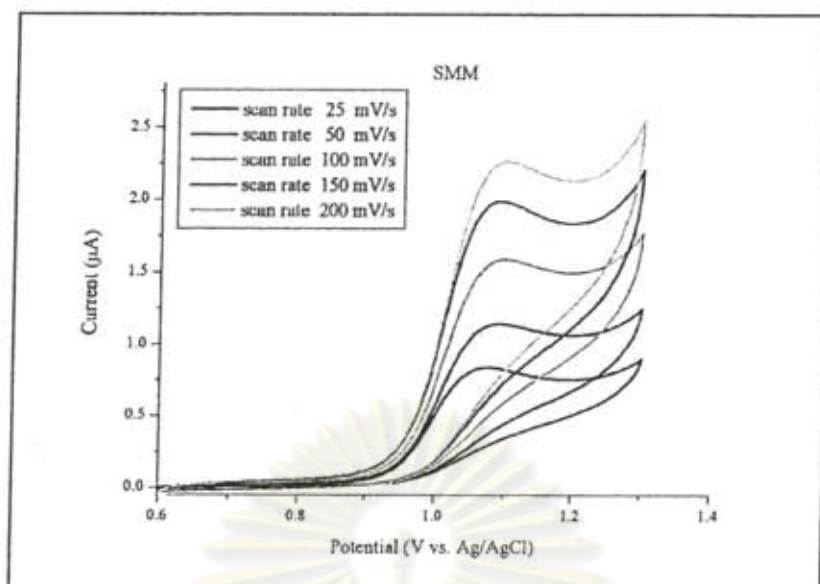
รูปที่ 4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของ scan rate กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีของ sulfadiazine (SDZ) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โอบด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้าที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3



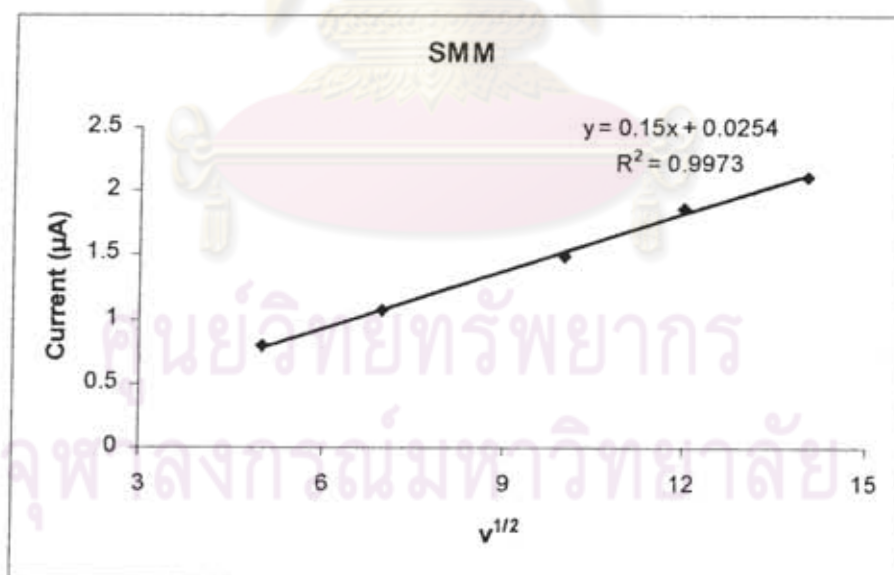
รูปที่ 4.6 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ sulfamethazine (SMZ) ที่ความเข้มข้น 0.1 mM โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โดปด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ scan rate 25, 50, 100, 150 และ 200 mV/s



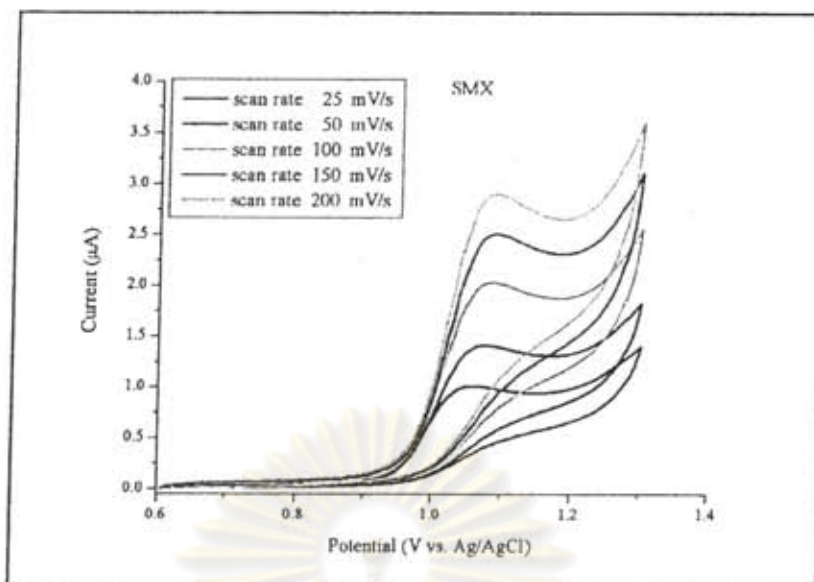
รูปที่ 4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของ scan rate กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิก โวลแทมเมตรีของ sulfamethazine (SMZ) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โดปด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้าที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3



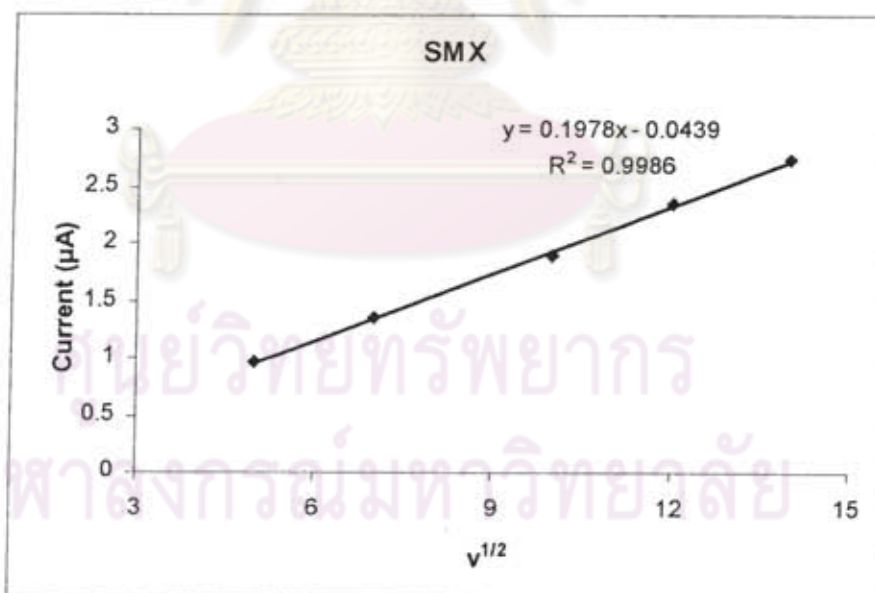
รูปที่ 4.8 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ sulfamonomethoxine (SMM) ที่ความเข้มข้น 0.1 mM โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โอบด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ scan rate 25, 50, 100, 150 และ 200 mV/s



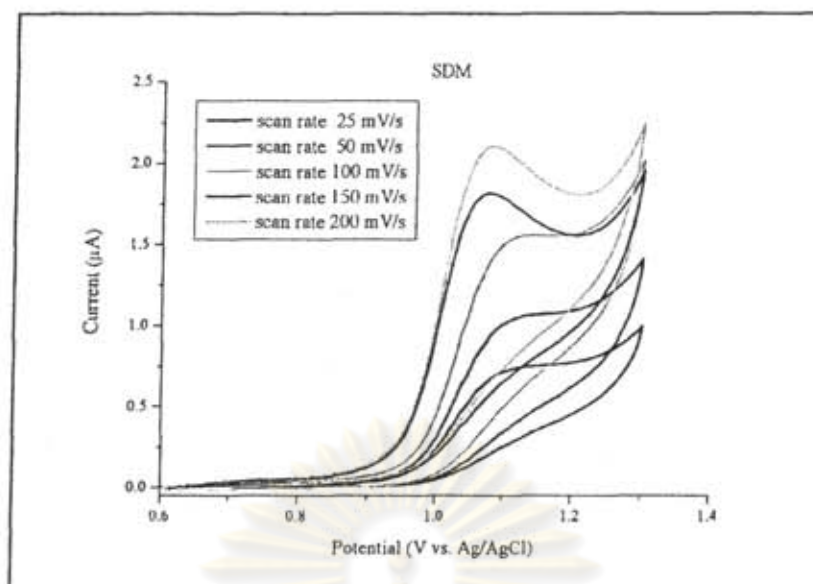
รูปที่ 4.9 ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของ scan rate กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิก โวลแทมเมตรีของ sulfamonomethoxine (SMM) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โอบด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้าที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3



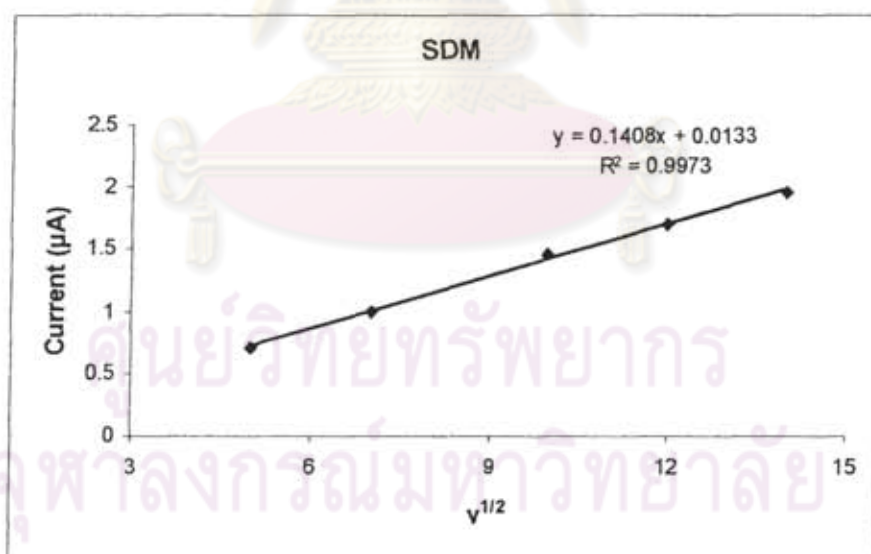
รูปที่ 4.10 ไชคคลิกโวลแทมโมแกรมของ sulfamethoxazole (SMX) ที่ความเข้มข้น 0.1 mM โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โดปด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ scan rate 25, 50, 100, 150 และ 200 mV/s



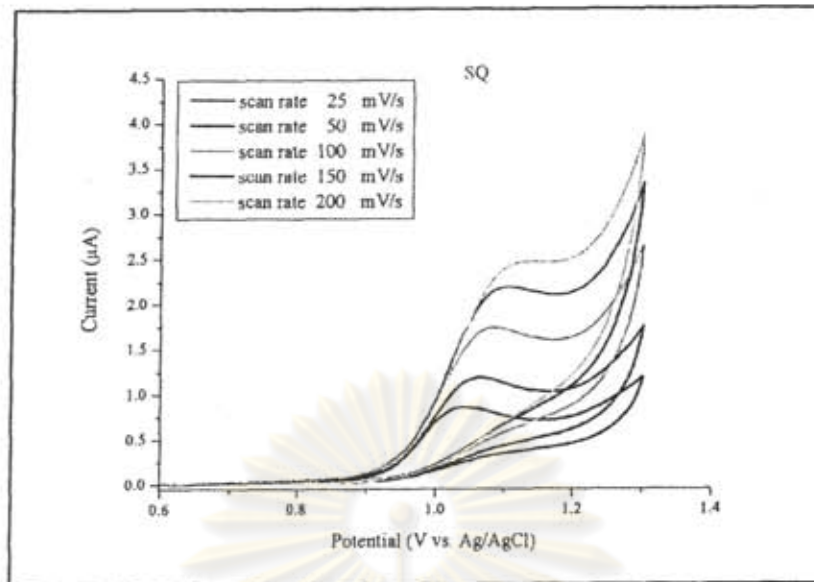
รูปที่ 4.11 ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของ scan rate กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิก โวลแทมเมตรีของ sulfamethoxazole (SMX) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โดปด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้าที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3



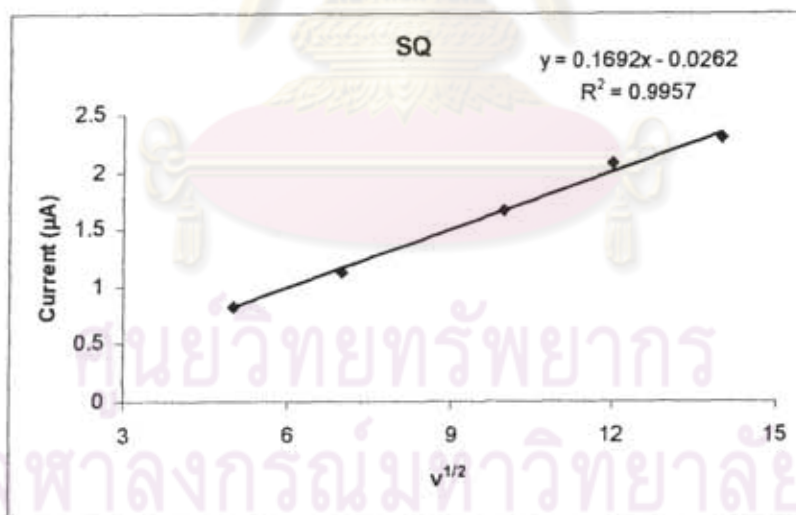
รูปที่ 4.12 ไชคติกโวลแทมโมแกรมของ sulfadimethoxine (SDM) ที่ความเข้มข้น 0.1 mM โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โคปกด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ scan rate 25, 50, 100, 150 และ 200 mV/s



รูปที่ 4.13 ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของ scan rate กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิก โวลแทมเมตรีของ sulfadimethoxine (SDM) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โคปกด้วยโบรอน ช่วงศักย์ไฟฟ้าที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3

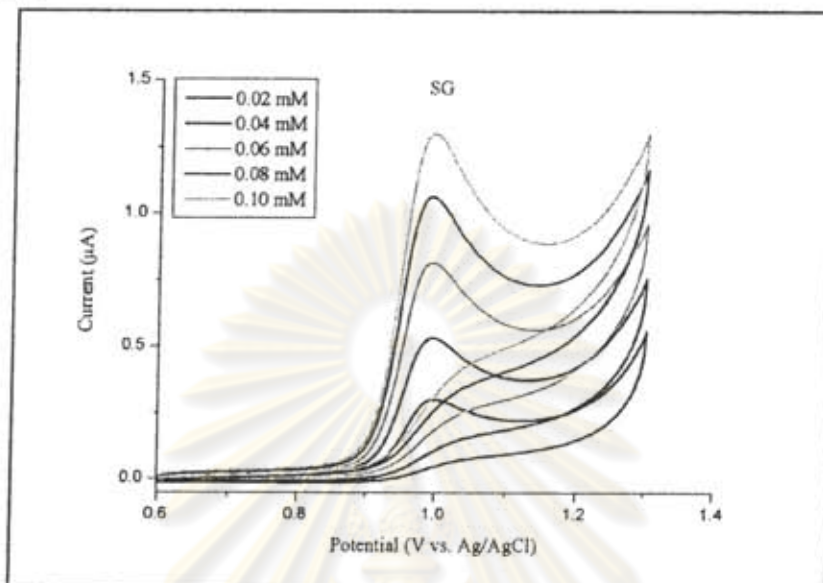


รูปที่ 4.14 ไชคติกโวลแทมโมแกรมของ sulfaquinoxaline (SQ) ที่ความเข้มข้น 0.1 mM โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โปกด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ scan rate 25, 50, 100, 150 และ 200 mV/s

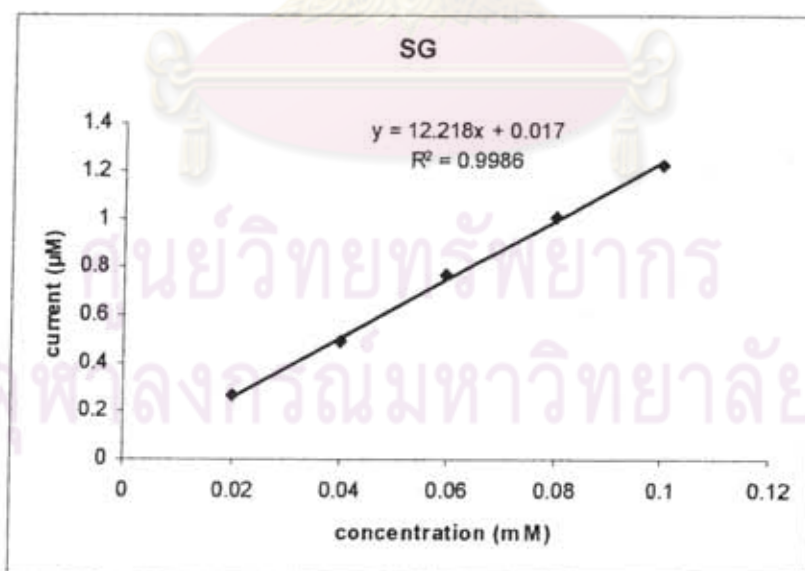


รูปที่ 4.15 ความสัมพันธ์ระหว่างรากที่สองของ scan rate กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิก โวลแทมเมตรีของ sulfaquinoxaline (SQ) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โปกด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้าที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3

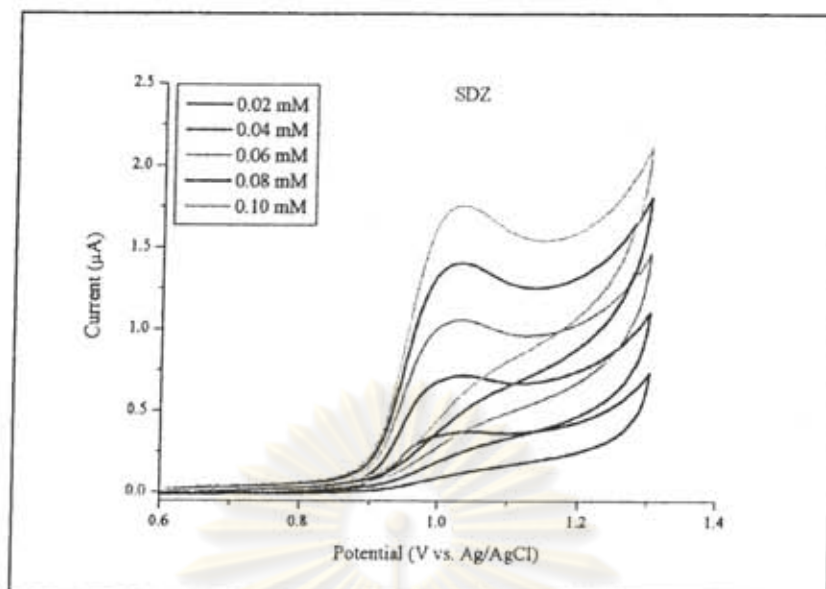
4.1.3 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โอบด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3



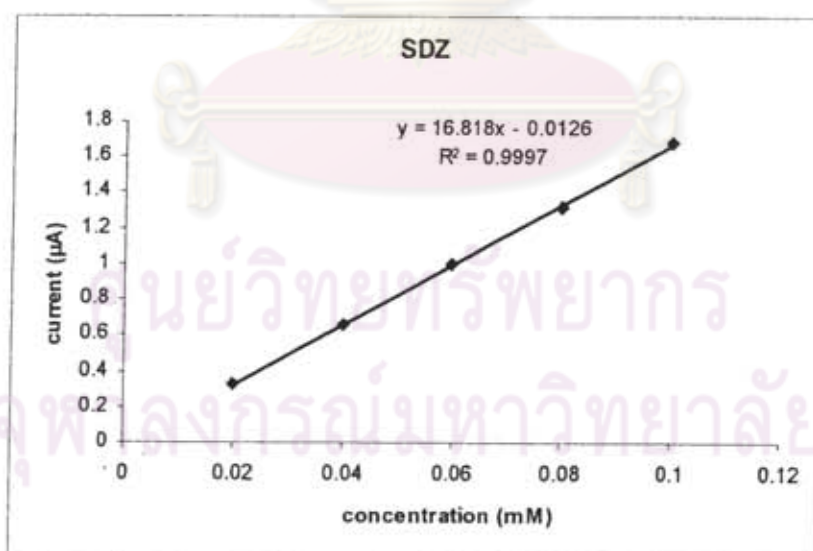
รูปที่ 4.16 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ sulfaguanidine (SG) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โอบด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ความเข้มข้น 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 mM



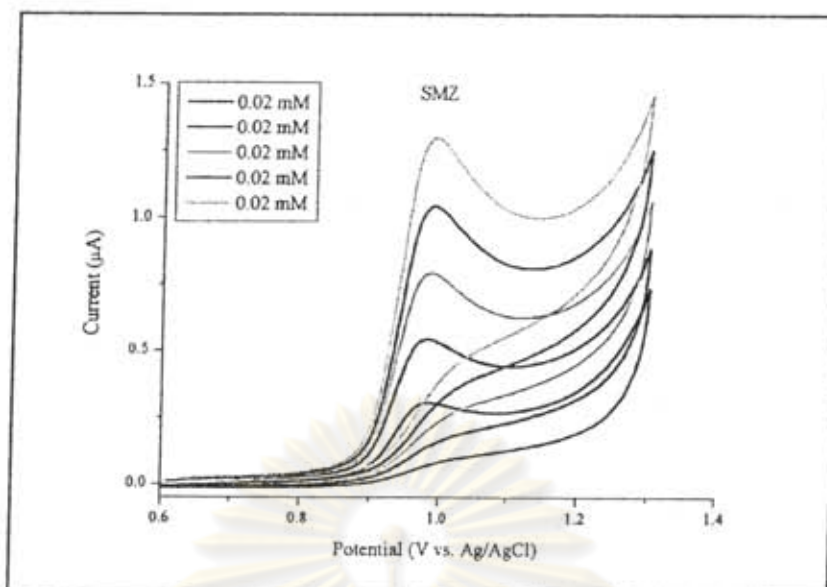
รูปที่ 4.17 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ sulfaguanidine (SG) ที่ 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 มิลลิโมลาร์ กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โอบด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ scan rate 50 mV/s



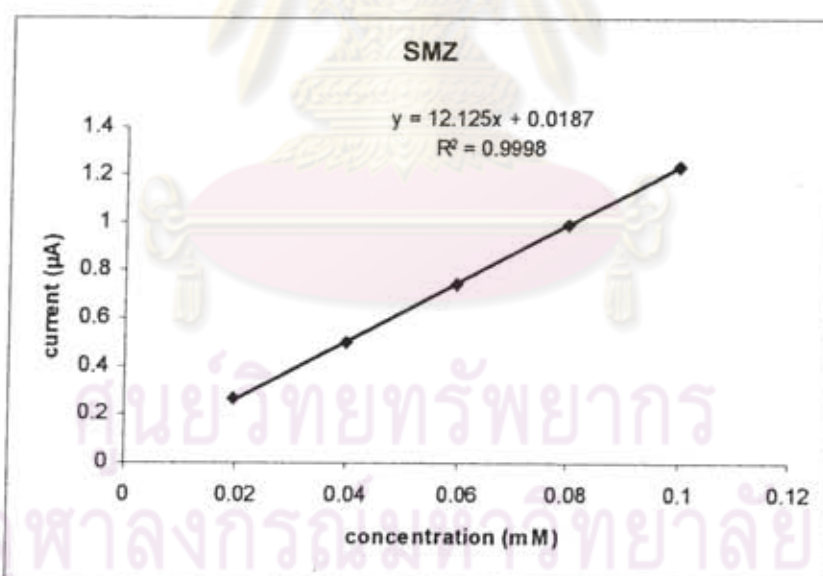
รูปที่ 4.18 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ sulfadiazine (SDZ) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โปกด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ความเข้มข้น 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 mM



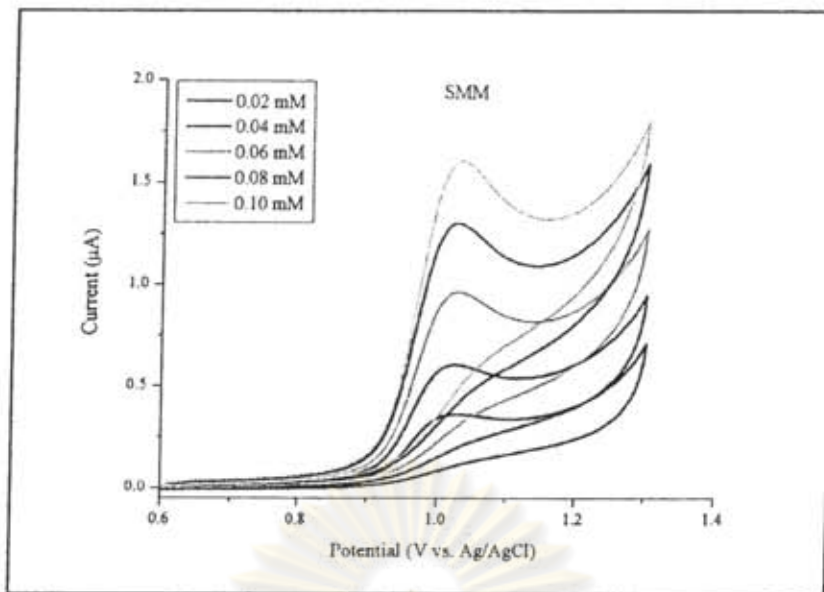
รูปที่ 4.19 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ sulfadiazine (SDZ) ที่ 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 มิลลิโมลาร์ กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โปกด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ scan rate 50 mV/s



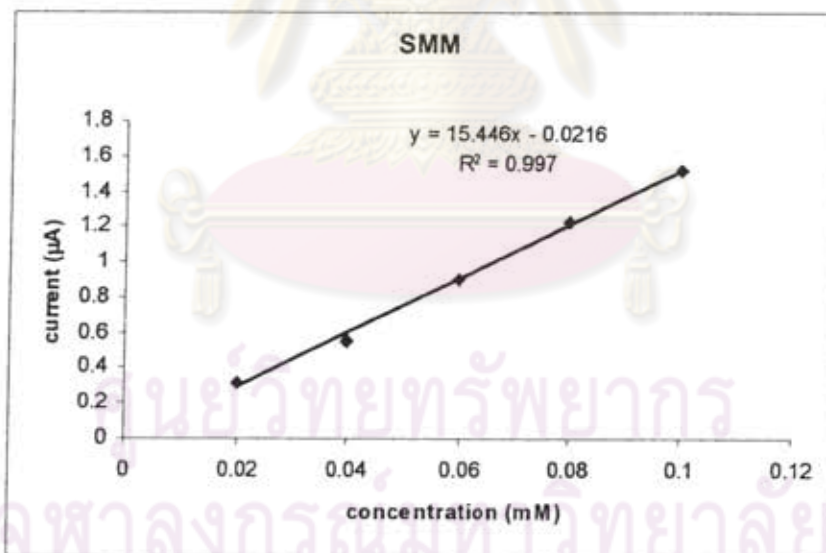
รูปที่ 4.20 ไชคติกโวลแทมโมแกรมของ sulfamethazine (SMZ) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โคปด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ความเข้มข้น 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 mM



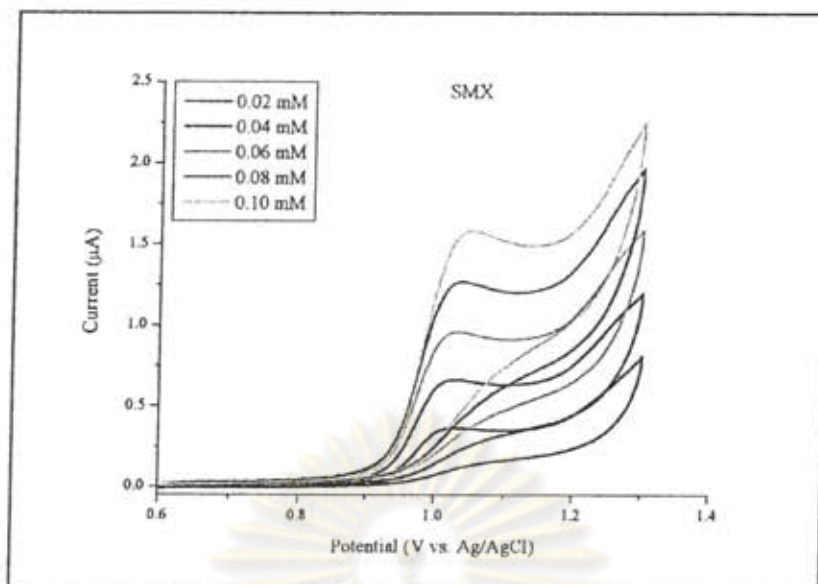
รูปที่ 4.21 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ sulfamethazine (SMZ) ที่ 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 มิลลิโมลาร์ กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไชคติกโวลแทมเมตรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โคปด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ scan rate 50 mV/s



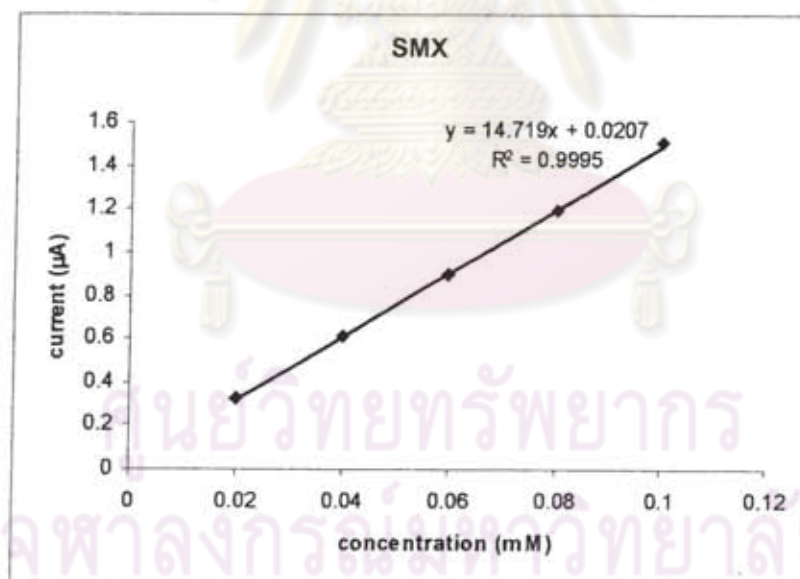
รูปที่ 4.22 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมของ sulfamonomethoxine (SMM) โดยใช้ ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โดปด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟต บัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ที่เลข 3 ที่ความเข้มข้น 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 mM



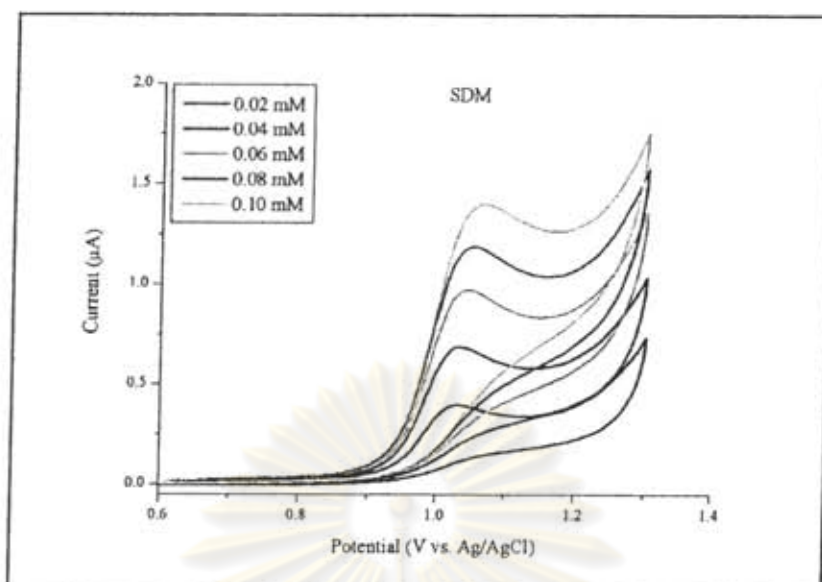
รูปที่ 4.23 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ sulfamonomethoxine (SMM) ที่ 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 มิลลิโมลาร์ กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โดปด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ที่เลข 3 ที่ scan rate 50 mV/s



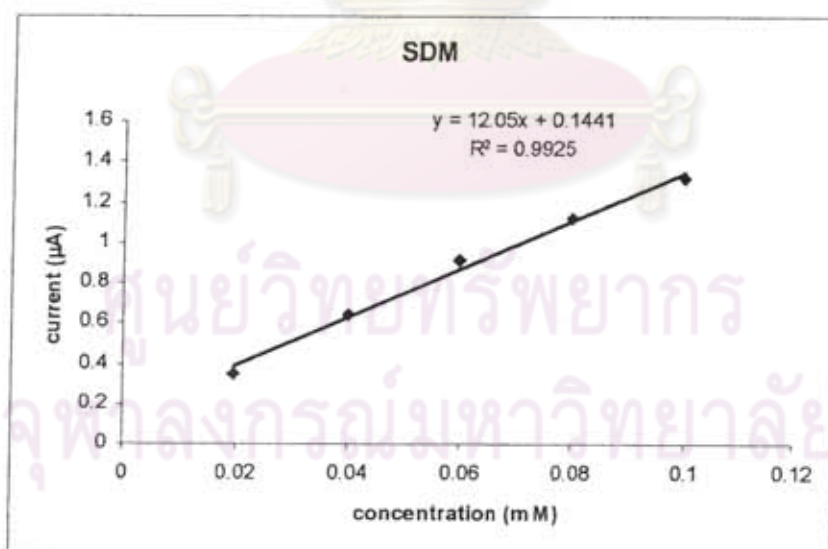
รูปที่ 4.24 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ sulfamethoxazole (SMX) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โดปด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ที่เฮซ 3 ที่ความเข้มข้น 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 mM



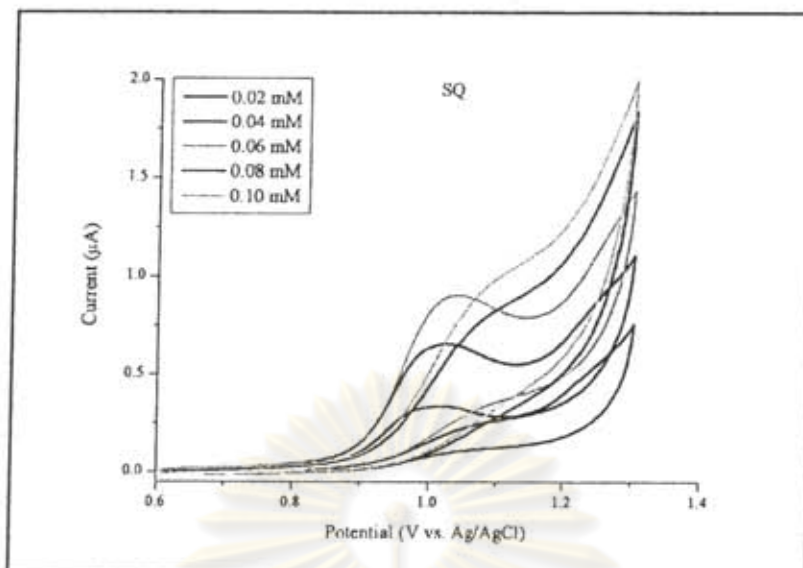
รูปที่ 4.25 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ sulfamethoxazole (SMX) ที่ 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 มิลลิโมลาร์ กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โดปด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ที่เฮซ 3 ที่ scan rate 50 mV/s



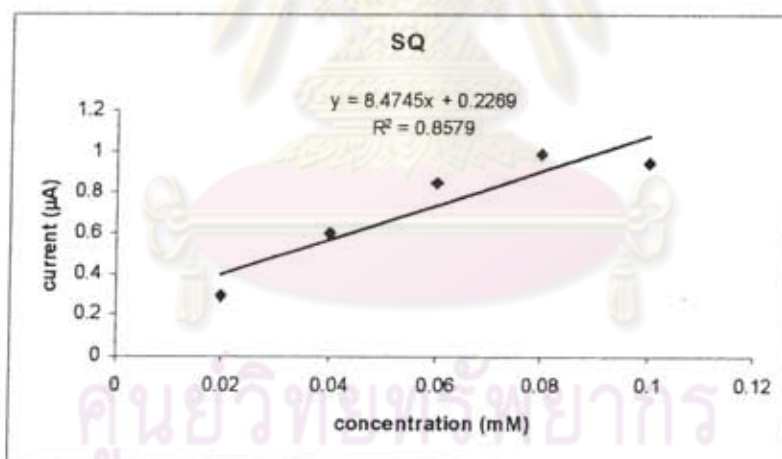
รูปที่ 4.26 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ sulfadimethoxine (SDM) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โคปด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ทีเอช 3 ที่ความเข้มข้น 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 mM



รูปที่ 4.27 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ sulfadimethoxine (SDM) ที่ 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 มิลลิโมลาร์ กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โคปด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ทีเอช 3 ที่ scan rate 50 mV/s



รูปที่ 4.28 ไชคลิกโวลแทมโมแกรมของ sulfaquinoxaline (SQ) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โดปด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ความเข้มข้น 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 mM

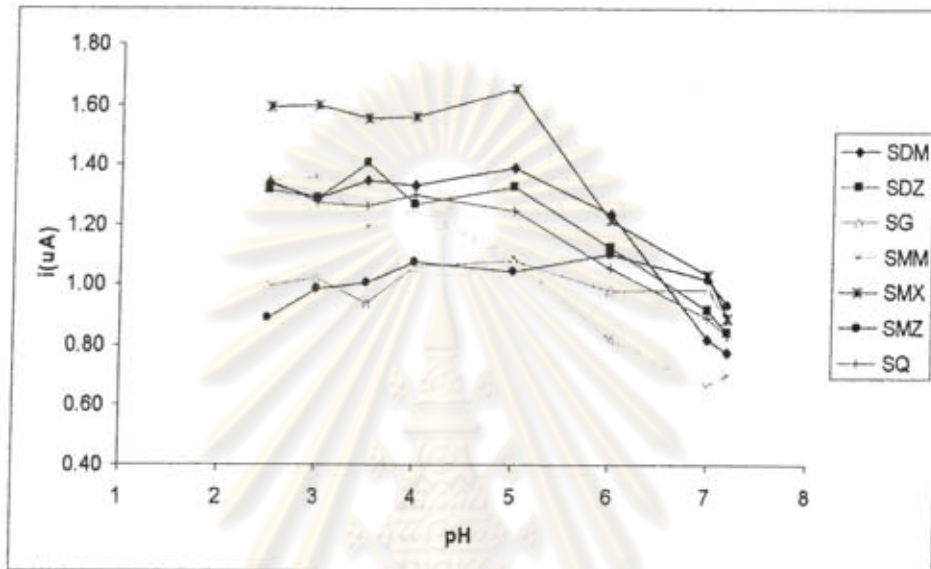


รูปที่ 4.29 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ sulfaquinoxaline (SQ) ที่ 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 มิลลิโมลาร์ กับสัญญาณการตรวจวัดด้วยเทคนิคไชคลิกโวลแทมเมตรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โดปด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้า ที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 ที่ scan rate 50 mV/s

จากรูปที่ 4.29 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ sulfaquinoxaline (SQ) กับสัญญาณการตรวจวัดได้ $R^2 = 0.8579$ เนื่องจากความสามารถในการตรวจวัดด้วยเทคนิคไชคลิกโวลแทมเมตรีของ SQ ต่ำ นั่นคือ เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นค่าสัญญาณการตรวจวัดต่ำลง

4.1.4 พีเอชของสารละลายที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดสัญญาณด้วยเทคนิค
ไซคลิกโวลแทมเมตรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โดปด้วยโบรอนช่วงพีเอชที่ทำการศึกษา
2.5 – 7.5

พีเอชที่เหมาะสมและให้ค่าสัญญาณการตรวจวัดสารซัลโฟนาไมด์ทั้ง 7 ชนิดมากที่สุดคือ พีเอช 3



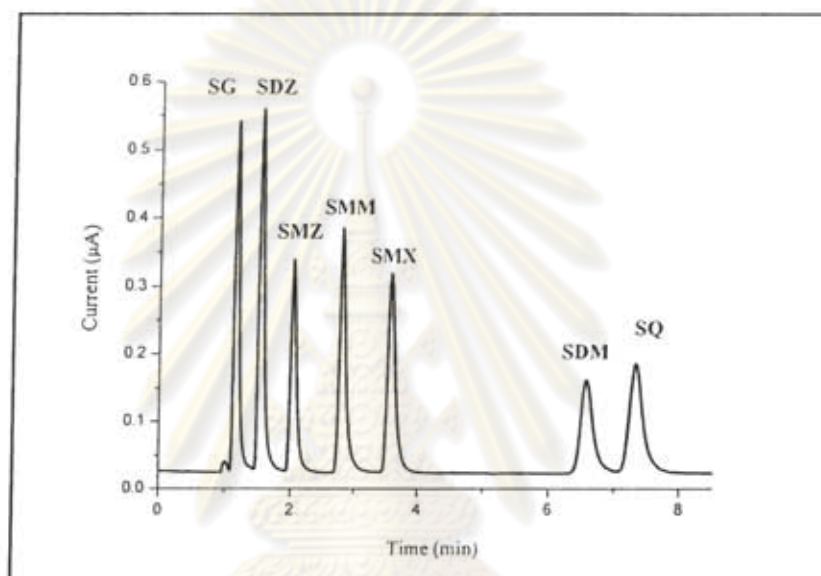
รูปที่ 4.30 พีเอชต่อสัญญาณการตรวจวัดของสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์ทั้ง 7 ชนิดโดยใช้
ขั้วไฟฟ้าเพชรที่โดปด้วยโบรอนช่วงศักย์ไฟฟ้าที่ศึกษา 0.7 – 1.3 โวลต์ ในสารละลายฟอสเฟต
บัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ที่ scan rate 50 mV/s

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.2 ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวิเคราะห์ซัลโฟนาไมด์โดยใช้เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟีร่วมกับเทคนิคแอมเพอโรเมตรี

4.2.1 อัตราส่วนของ mobile phase ที่เหมาะสมต่อการแยกของสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์ทั้ง 7 ชนิด

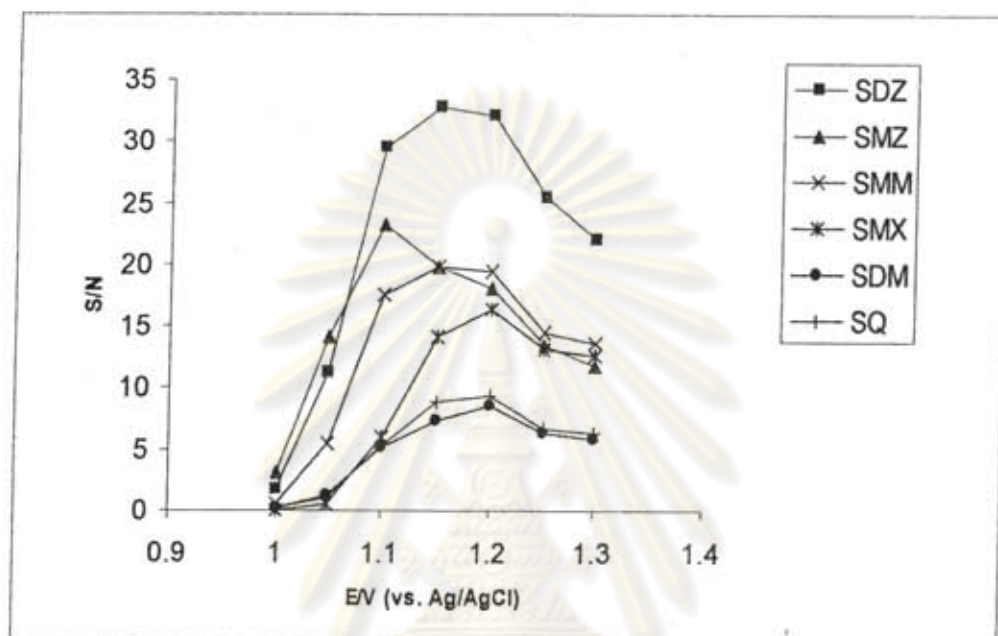
อัตราส่วนของ mobile phase ที่เหมาะสมต่อการแยกของสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์ทั้ง 7 ชนิด คือ สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ต่ออะซิโตนไนไตรด์ ต่อเอทานอล (80:15:5)



รูปที่ 4.31 HPLC-EC โครมาโทแกรมของสารซัลโฟนาไมด์ทั้ง 7 ชนิดที่ความเข้มข้น 10 ppm โดยตรวจวัดที่ 1.2 โวลต์ ด้วยขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางโบรอนโดปไดมอนด์เป็นขั้วไฟฟ้าใช้งาน, Ag/AgCl เป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิง และ stainless steel เป็นขั้วไฟฟ้าช่วย ซึ่ง mobile phase ที่ใช้คือ 0.05 M PBS (pH3): ACN: Ethanol (80:15:5) ที่อัตราการไหล 1.5 mL/min

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.2.2 หาสภาวะของศักย์ใช้งานที่เหมาะสมโดยใช้เทคนิคแอมเพอโรเมตรีโดยวิเคราะห์สารใน mobile phase วัดที่ศักย์ต่างๆ จาก 1.0 -1.3 V ศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์ที่ 1.2 V



รูปที่ 4.32 โวลแทมโมแกรมของซัลโฟนาไมด์ทั้ง 7 ชนิดในช่วงศักย์ไฟฟ้า 1-1.3 V โดยใช้เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟีร่วมกับเทคนิคแอมเพอโรเมตรีด้วยขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางโบรอนโดปโดมอนด์เป็นขั้วไฟฟ้าใช้งาน, Ag/AgCl เป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิง และ stainless steel เป็นขั้วไฟฟ้าช่วย ซึ่ง mobile phase ที่ใช้คือ 0.05 M PBS (pH3): ACN: Ethanol (80:15:5) ที่อัตราการไหล 1.5 mL/min

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.2.3 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารกับค่ากระแสไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัด (Linearity) ,หาค่าขีดความสามารถต่ำสุดในการวิเคราะห์ (Limit of Determination; LOD) และ ค่าขีดความสามารถต่ำสุดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ (Limit of Quantitative ; LOQ)

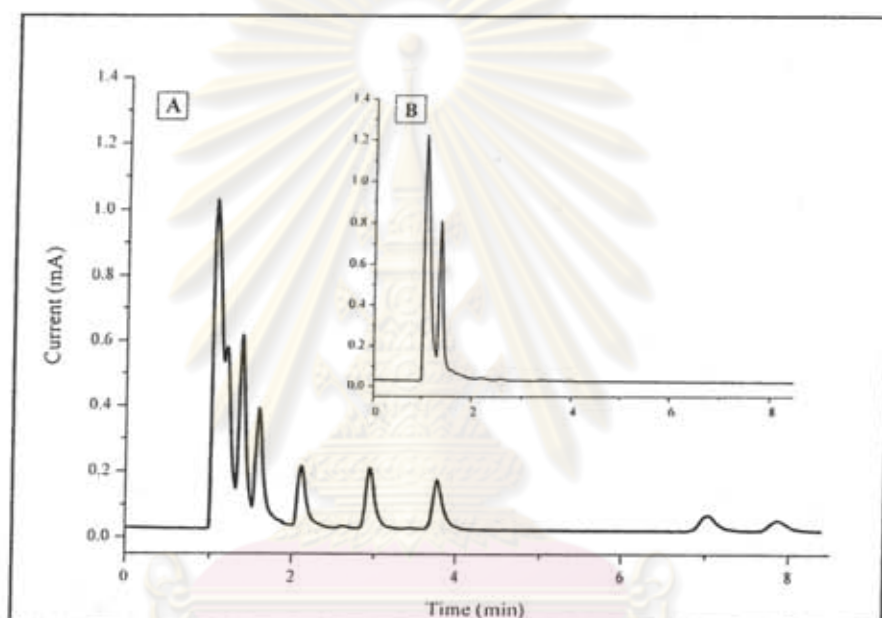
ตารางที่ 4.1 แสดง Linearity, LOD และ LOQ

SAs	Linear range (ppm)	Equation $Y = mx + C$	R^2	LOD (ppb)	LOQ (ppb)
SDZ	0.01-50	$Y = 0.2616x + 0.0659$	0.9988	1.86	6.19
SMZ	0.01-100	$Y = 0.1761x + 0.1348$	0.9977	2.19	7.31
SMM	0.01-100	$Y = 0.2239x + 0.2375$	0.9961	1.38	4.61
SMX	0.01-50	$Y = 0.2285x + 0.0448$	0.9995	1.25	4.15
SDM	0.01-120	$Y = 0.1582x + 0.1413$	0.9985	2.04	6.79
SQ	0.01-120	$Y = 0.1925x + 0.2244$	0.9980	1.92	6.38

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.3 หาปริมาณซัลโฟนาไมด์ ในเนื้อกุ้งด้วยวิธี Standard addition พร้อมทั้งหาร้อยละการคืนกลับ (% recovery) โดยใช้เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ลิควิดโครมาโทกราฟีร่วมกับเทคนิคแอมเพอโรเมตรี

จากการสกัดสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์ทั้ง 7 ชนิดในเนื้อกุ้งพบว่าสามารถสกัดซัลโฟนาไมด์ได้ 6 ชนิดนั้นคือ sulfamethazine, sulfamethoxazole, sulfadimethoxine, sulfaquinoxaline และ sulfamonomethoxine ส่วน sulfaguanidine ไม่สามารถสกัดได้จากเนื้อกุ้งเนื่องจากเกิด matrix ที่เป็น interference บดบังพิก sulfaguanidine



รูปที่ 4.33 HPLC-EC โครมาโทแกรมของตัวอย่างกุ้ง (A) กุ้งที่ spiked สารมาตรฐานซัลโฟนาไมด์ที่ความเข้มข้น 10 ppm (B) กุ้งที่ไม่ spiked สารมาตรฐานซัลโฟนาไมด์ โดยตรวจวัดที่ 1.2 โวลต์ ด้วยขั้วไฟฟ้าเพชรที่โคปด้วยโบรอน เป็นขั้วไฟฟ้าใช้งาน, Ag/AgCl เป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิง และ stainless steel เป็นขั้วไฟฟ้าช่วย ซึ่ง mobile phase ที่ใช้คือ 0.05 M PBS (pH3): ACN: Ethanol (80:15:5) ที่อัตราการไหล 1.5 mL/min

ตารางที่ 4.2 แสดงร้อยละการคืนกลับ (%recovery) ของสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์

Sulfonamides	% Recovery at 5 ppm	% Recovery at 10 ppm
Sulfadiazine (SDZ)	82.7	96.2
Sulfamethazine (SMZ)	84.1	93.2
Sulfamonomethoxine (SMM)	87.1	96.3
Sulfamethoxazole (SMX)	92.8	98.2
Sulfadimethoxine (SDM)	86.8	91.8
Sulfaquinoxaline (SQ)	82.7	90.9

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สรุปผลการวิจัย

ในงานวิจัยนี้มีการพัฒนาการตรวจวัดสารในกลุ่มซัลโฟนาไมด์ด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟลูออเรสเซนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟีร่วมกับเทคนิคแอมเพอโรเมตรีโดยใช้คอลัมน์มอนอลิตที่ศักย์ไฟฟ้า 1.2 โวลต์ สามารถวิเคราะห์สารกลุ่มซัลโฟนาไมด์ทั้ง 7 ชนิด ภายในเวลา 9 นาที ซึ่งใช้เวลาที่สั้นมากอันเนื่องมาจากข้อดีของการใช้คอลัมน์มอนอลิตที่ถูกออกแบบให้มีโครงสร้างเป็นระบบเครือข่ายมีรูพรุนสูงจึงมีประสิทธิภาพสูงกว่าแพคคอลัมน์แบบดั้งเดิม สามารถใช้อัตราการไหลสูงๆ ได้ และงานวิจัยชิ้นนี้ยังประยุกต์ใช้กับการสกัดหาปริมาณซัลโฟนาไมด์ในเนื้อกุ้งได้และได้ร้อยละการกลับคืนเป็นที่ยอมรับอยู่ในช่วง 82.7 ถึง 92.8 ที่ระดับความเข้มข้น 5 ส่วนในล้านส่วนและ 90.9 ถึง 98.2 ที่ระดับความเข้มข้น 10 ส่วนในล้านส่วน ซึ่งความสามารถต่ำสุดสำหรับการวิเคราะห์ในงานวิจัยนี้ต่ำกว่าค่าที่องค์การอนามัยโลกกำหนดแสดงให้เห็นว่าเทคนิคในงานวิจัยนี้สามารถนำมาวิเคราะห์หาปริมาณซัลโฟนาไมด์ในสินค้าประเภทเนื้อสัตว์ได้



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บรรณานุกรม

- [14] ลาวัลย์ ศรีพงษ์, "การวิเคราะห์เชิงเคมีไฟฟ้า", โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยศิลปากร, กรุงเทพฯ, พิมพ์ครั้งที่ 1, (2543).
- [1] Roybal, J. E., Pfenning, A. P., Turnipseed, S. B., Gonzales, S. A., "Application of size-exclusion chromatography to the analysis of shrimp for sulfonamide residues", *Analytica Chimica Acta*, 483. (2003) : 147-152.
- [2] Shao, B., Dong, D., Wu, Y., Hu, J., Meng, J., Tu, X., Xu, S., "Simultaneous determination of 17 sulfonamide residues in porcine meat kidney and liver by solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry", *Analytica Chimica Acta*, 546. (2005) : 174-181.
- [3] Preechaworapun, A., Chuanwatanakul, S., Einaga, Y., Grudpan, K., Motomizu, S., Chailapakul, O., "Electroanalysis of sulfonamides by flow injection system/high-performance liquid chromatography coupled with amperometric detection using boron-doped diamond electrode", *Talanta*, 68 . (2006) : 1726-1731.
- [4] Cubarsi, M. G., Castellari, M., Valero, A., Regueiro, J. A., "A simplified LC-DAD method with an RP-C₁₂ column for routine monitoring of three sulfonamides in edible calf and pig tissue" *Analytical Bioanalytical Chemistry*, 385. (2006) : 1218-1224.
- [5] Tanaka, N., Kobayashi, H., "Monolithic column for liquid chromatography", *Analytical Bioanalytical Chemistry*, 76. (2003) : 298-301.
- [6] Posyniak, A., Zmudzki, J., Mitrowska, K., "Dispersive solid-phase extraction for the Determination of sulfonamides in chicken muscle by liquid chromatography", *Journal of Chromatography A*, 1087. (2005) : 259-264.
- [7] Gehring, T. A., Griffin, B., Williams, R., Geiseker, C., Rushing, L. G., Siitonen, P. H., "Multiresidue determination of sulfonamides in edible catfish shrimp and salmon tissues by high-performance liquid chromatography with postcolumn derivatization and fluorescence detection", *Journal of Chromatography B*, 840. (2006) : 132-138.
- [8] Kishida, K., Furusawa, N., "Matrix solid-phase dispersion extraction and high-performance liquid chromatographic determination of residual sulfonamides in chicken", *Journal of Chromatography A*, 937. (2001) : 49-55.

- [9] Fuh, M. S., Chu, S., "Quantitative determination of sulfonamide in meat by solid-phase extraction and capillary electrophoresis", Analytica Chimica Acta, 499. (2003) : 215-221.
- [10] Thompson, T. S., Noot, D. K., "Determination of sulfonamides in honey by liquid chromatography–tandem mass spectrometry", Analytica Chimica Acta, 551. (2005) : 168-176.
- [11] Cavaliere, C., Curini, R., Corcia, D. A., Nazzari, M., Samperi, R., "A simple and sensitive liquid chromatography-mass spectrometry confirmatory method for analyzing sulfonamide antibacterials in milk and egg", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51. (2003) : 558-566.
- [12] Li, H., Kijak, P. J., Turnipseed, S. B., Cui, W., "Analysis of veterinary drug residues in shrimp a multi- class method by liquid chromatography-quadrupole ion trap mass spectrometry", Journal of Chromatography B, 836. (2006) : 22-38.
- [13] Wang, X., Li, K., Shi, D., Xiong, N., Jin, X., Yi, J., Bi, D., "Development of an immunochromatographic lateral-flow test strip for rapid detection of sulfonamides in eggs and chicken muscles", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55. (2007) : 2072-2078.
- [15] Fujishima, A., Einaga, Y., Rao, T. N., Tryk, D. A., "Diamond electrochemistry", BKC, Tokyo, (2005).

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สัญญาเลขที่ GRB_๒๖_๕๐_๒๓_๐๒

โครงการวิจัยเรื่อง แผนงานวิจัยนวัตกรรมเพื่อยกระดับคุณภาพ และความปลอดภัยทางอาหาร

สู่โครงสร้างเศรษฐกิจยุคใหม่

การรายงานความก้าวหน้าผลการดำเนินงาน (ครั้งที่)

.....เรื่อง การพัฒนาเทคนิคการตรวจวัดและอุปกรณ์ปฏิบัติการบนชิปสำหรับตรวจวัดสาร
ตกค้างประเภทยาปฏิชีวนะและโลหะปนเปื้อนในอาหาร.....

รายงานช่วงระยะตั้งแต่วันที่..... ถึงวันที่.....

ชื่อหัวหน้าโครงการ.....รศ.ดร. อรวรรณ ชัยลภากุล.....

หน่วยงาน :.....ภาควิชา เคมี.....จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.....

๑. การดำเนินงาน : ได้ดำเนินงานตามแผนงานที่ได้วางไว้ทุกประการ
 ได้เปลี่ยนแปลงแผนงานที่ได้วางไว้ดังนี้คือ

.....
.....
.....

๒. สรุปผลการดำเนินงาน

.....การศึกษายาปฏิชีวนะในกลุ่มซัลโฟนาไมด์โดยใช้คอลัมน์มอนอลิตร่วมกับการตรวจวัด
แบบแอมเพอโรเมตรีทำให้สามารถแยกสารทั้ง 7 ชนิดได้ภายในเวลา 9 นาที และวิธีการ
ตรวจวัดนี้มีความไวสูง และสามารถตรวจวัดได้ขีดความสามารถต่ำสุดซึ่งต่ำกว่าที่องค์การ
อนามัยโลกกำหนด.....

๓. การดำเนินงานในช่วงต่อไป

.....ศึกษายาปฏิชีวนะโดยใช้ไมโครชิพคะพิลลารีอิลิกโทรฟอริซิสสำหรับการวิเคราะห์การ
ตกค้างของยาปฏิชีวนะในอาหาร.....

๔. อุปสรรคในการดำเนินงาน และแนวทางแก้ไข

.....
.....

.....
.....

(หัวหน้าโครงการวิจัย)

7, กพ, 2557