บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ไรโบฟลาวิน (Riboflavin, RF) หรือวิตามินบี 2 มีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็ม สีเหลืองแสด ไม่มีกลิ่น มีรสขมเล็กน้อย ละลายน้ำได้น้อย ทนต่อความร้อนและกรด แต่สลายตัวง่ายเมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นด่าง แสงสว่าง และแสงอัลตราไวโอเลต ไรโบฟลาวินพบในอาหารทั่วๆไป เช่น ไข่ น้ำนม ตับ ยีสต์ และผักใบเขียว แต่มีปริมาณไม่มาก เมื่อร่างกายได้รับไรโบฟลาวิน จะดูดซึมได้ดีที่ลำไส้เล็กส่วนต้น แล้วถูกเปลี่ยนเป็น ฟลาวิน อะดีนีน ไดนิวคลีโอไทด์ (Flavin adenine dinucleotide, FAD) และฟลาวิน โมโนนิวคลีโอไทด์ (Flavin mononucleotide, FMN) ที่เยื่อบุลำไส้เล็ก ไรโบฟลาวินทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ ที่สำคัญคือ FAD และ FMN ทำหน้าที่ในการรับหรือให้อิเล็คตรอน ในปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับวัฏจักรเครบส์ และยังเกี่ยวข้องกับการสร้างพลังงานให้กับเซลล์ในปฏิกิริยาที่เกี่ยวกับการแตกตัวของกรดไขมัน ไรโบฟลาวินมีความสำคัญต่อเมตาบอลิสมของโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน โดยทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ ทำให้ปฏิกิริยาต่างๆในร่างกายดำเนินได้อย่างสมบูรณ์ ช่วยในการเจริญเติบโต สร้างเนื้อเยื่อต่างๆ ในผู้ที่มีภาวะขาดไรโบฟลาวินจะมีอาการ คือ ริมฝีปากและมุมปากแห้งแตกเป็นร่อง (Cheilosis) ปากนกกระจอก (Angular stomatitis) ลิ้นอักเสบ (Glossitis) ผิวหนังมันเยิ้ม (Seborrheic dermatitis) เคืองตาเมื่อถูกแสง ไม่กล้าสู้แสง (Photophobia) ซีดเนื่องจากการสร้างเม็ดเลือดแดงลดลง (Normochromic normocytic anemia) ความต้องการไรโบฟลาวินในแต่ละวัน เกี่ยวข้องกับอัตราการเจริญเติบโตและขนาดของร่างกายดังนี้ ผู้ใหญ่ 1.0-1.4 มิลลิกรัมต่อวัน เด็กกำลังเจริญเติบโต 0.8-1.6 มิลลิกรัมต่อวัน และหญิงตั้งครรภ์หรือระยะให้นมบุตร 1.3-1.8 มิลลิกรัมต่อวัน (สมทรง เลขะกุล, 2542)

สารซาลบูทามอล (Salbutamol) และเคลนบูเทอรอล (Clenbuterol) เป็นสารกลุ่มเบต้าอะโกนิสต์ (β-agonist) มีสมบัติในการขยายหลอดลมจึงนำมาใช้ในการผลิตยาสำหรับรักษาโรคหอบหืด และช่วยให้กล้ามเนื้อมดลูกคลายตัว จะออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลาง โดยเน้นการกระตุ้นที่ตำแหน่งเบต้า (β-site) ของเซลเนื้อเยื่อหรืออวัยวะ นอกจากนี้ยังทำให้เกิดขบวนการเผาผลาญไขมัน (Lipolysis) ทั้งยังมีการสะสมไนโตรเจน (Nitrogen retention) ในร่างกายเพิ่มขึ้น ซึ่งส่งผลทำให้มีการสลายตัวของไขมันและนำเอาไขมันไปใช้ เพิ่มอัตราการสร้างโปรตีนในกล้ามเนื้อและทำให้มีปริมาณเนื้อแดงเพิ่มขึ้น แต่ผลข้างเคียงคือ ทำให้มีอาการกล้ามเนื้อสั่น หัวใจเต้นเร็วกว่าปกติ กระวนกระวาย วิงเวียน ปวดศีรษะ และนอนไม่หลับ เป็นต้น ผลของ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ซาลบูทามอลต่อระบบการทำงานของร่างกายคนหรือสัตว์จะเกิดอย่างรวดเร็วภายใน 15 นาที หลังจากได้รับสารโดยการกิน โดยจะถูกดูดซึมที่กระเพาะและลำไส้ทันที ใน 4 ชั่วโมงแรกปริมาณสารร้อยละ 50 สามารถถูกขับออกจากร่างกายโดยทางปัสสาวะ แต่หากมีการได้รับสารนี้อย่างต่อเนื่องจะทำให้เกิดมีการสะสมและอาจเกิดการดื้อยาได้ ซึ่งเมื่อคนหรือสัตว์ได้รับสารนี้เกินขนาดหรือมีอาการแพ้ จะมีอาการดังที่กล่าวไว้ข้างต้น ซึ่งปัจจุบันมีผู้เลี้ยงสัตว์บางคน ได้นำสารกลุ่มนี้ผสมในอาหารสัตว์ โดยเฉพาะในอาหารที่ใช้สำหรับเลี้ยงสุกร เพื่อให้สุกรมีเนื้อแดงเพิ่มมากขึ้น ลดไขมันในกล้ามเนื้อ ทำให้เนื้อสุกรมีสีแดงสด ทำให้ผู้บริโภครู้สึกต้องการซื้อมากขึ้น ซึ่งสารนี้จะไปสะสมที่ตับและเนื้อของสุกร ทำให้ผู้บริโภคเกิดอาการข้างเคียง และอาจเป็นอันตรายอย่างมากต่อผู้ที่เป็นโรคหัวใจ โรคความดันโลหิตสูง ผู้ป่วยเบาหวาน และผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษ (Hyperthyroidism)

ในเนื้อแดงของสุกร อาจมีสารกลุ่มเบต้าอะโกนิสต์ปนเปื้อนเป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค จึงได้มีการศึกษาและพัฒนาการวิเคราะห์สารกลุ่มเบต้าอะโกนิสต์ในเนื้อแดงของสุกร โดยใช้เทคนิคแคปิลารีโซนอิเลคโทรโฟรีซีส (Capillary zone electrophoresis, CZE)

แคปิลารีอิเลคโทรโฟรีซีสเป็นเทคนิคที่อาศัยความสามารถในการเคลื่อนที่ภายใต้สนามไฟฟ้าที่แตกต่างกันของสาร จึงสามารถใช้วิเคราะห์สารได้หลายประเภท ตั้งแต่แร่ธาตุอะตอมเดี่ยวจนถึงสารโพลิเมอร์ (Polymers) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลถึงสองล้านดาลตัน ตลอดจนสารเอมีน (Amine) ประจุบวก กรดอะมิโน (Amino acids) ประจุลบ สารฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) โพลีฟีนอล (Polyphenol) วิตามิน และสารกันบูด ลักษณะเด่นของแคปิลารีอิเลคโทรโฟรีซีส คือ สามารถตรวจวัดสารมีประจุหรือกรดอินทรีย์ปริมาณต่ำในระดับพีพีบี (Part per billion, ppb) (ลีณา ลีณาศวัฒนกิจ, 2542) สามารถวิเคราะห์โมเลกุลชนิดต่าง ๆ ได้ในเวลาเดียวกัน ส่วนในด้านของวิตามินนั้น โดยทั่วไปวิตามินแต่ละชนิดจะใช้เทคนิคในการวิเคราะห์ที่แตกต่างกันไป แต่แคปิลารีอิเลคโทรโฟรีซีสเป็นเทคนิคที่สามารถวิเคราะห์วิตามินที่แตกต่างชนิดกัน โดยเฉพาะวิตามินที่ละลายในน้ำและสามารถดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลต แคปิลารีอิเลคโทรโฟรีซีสเป็นวิธีวิเคราะห์ที่กำลังได้รับความสนใจเป็นอย่างสูง เนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว ประหยัด และขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่างไม่ยุ่งยาก เมื่อเปรียบเทียบกับเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี (High performance liquid chromatography, HPLC) หรือแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatography, GC) นั้นจะต้องเลือกชนิดของคอลัมน์ให้เหมาะสมกับประเภทของตัวอย่าง ในการวิเคราะห์ตัวอย่างแต่ละประเภทจะต้องเปลี่ยนคอลัมน์และปรับสมดุลของคอลัมน์ แต่แคปิลารีอิเลคโทรโฟรีซีสสามารถแยกสารประเภทต่าง ๆ ได้บนคอลัมน์เดียวกันจึงลดขั้นตอนการวิเคราะห์ ในด้านของการลดเวลาในการเปลี่ยนคอลัมน์และการปรับสมดุลของคอลัมน์

โดยทั่วไปการวิเคราะห์โดย แคปิลารีอิเลคโทรโฟรีซีสยังเป็นวิธีการวิเคราะห์ที่ประหยัด เพราะใช้สารตัวอย่างและบัฟเฟอร์ปริมาณน้อยในระดับนาโนลิตร รวมถึงใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยเมื่อเทียบกับเทคนิคที่กล่าวมาข้างต้น

อาหารเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องควบคุมคุณภาพเพื่อให้ได้มาตรฐาน เพื่อประโยชน์ในการแข่งขันทางการตลาด และความปลอดภัยของผู้บริโภค การพัฒนาเทคนิคแคปิลารีอิเลคโทรโฟรีซีสสำหรับวิเคราะห์อาหาร จึงเป็นวิธีที่ช่วยให้การตรวจวิเคราะห์อาหารมีประสิทธิภาพ มีความแม่นและความเที่ยงมากขึ้น

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหาปริมาณสารไรโบฟลาวิน, ฟลาวิน อะดินีน ไดนิวคลีโอไทด์, ฟลาวิน โมโนนิวคลีโอไทด์, เคลนบูเทอรอล และซาลบูทามอลด้วยแคปิลารีโซนอิเลคโทรโฟรีซีส

2. เพื่อศึกษาวิธีการเตรียมตัวอย่างในการวิเคราะห์สารไรโบฟลาวิน, ฟลาวิน อะดินีน ไดนิวคลีโอไทด์, ฟลาวิน โมโนนิวคลีโอไทด์, เคลนบูเทอรอล และซาลบูทามอลโดยวิธี Solid–phase extraction

3. ประยุกต์ใช้กับการหาปริมาณสารไรโบฟลาวิน, ฟลาวิน อะดินีน ไดนิวคลีโอไทด์ และฟลาวิน โมโนนิวคลีโอไทด์ในตัวอย่างเบียร์ สารเคลนบูเทอรอลและซาลบูทามอลในตัวอย่างเนื้อแดงสุกร ด้วยแคปิลารีโซนอิเลคโทรโฟรีซีส

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. ทราบถึงผลของตัวแปรในการวิเคราะห์ และสภาวะที่เหมาะสมในการหาปริมาณสารไรโบฟลาวิน, ฟลาวิน อะดินีน ไดนิวคลีโอไทด์, ฟลาวิน โมโนนิวคลีโอไทด์, เคลนบูเทอรอล และซาลบูทามอลด้วยแคปิลารีอิเลคโทรโฟรีซีส

2. ได้วิธีการที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างสำหรับสารไรโบฟลาวิน, ฟลาวิน อะดินีน ไดนิวคลีโอไทด์, ฟลาวิน โมโนนิวคลีโอไทด์, เคลนบูเทอรอล และซาลบูทามอล โดยวิธี Solid – phase extraction

3. สามารถหาปริมาณไรโบฟลาวิน, ฟลาวิน อะดินีน ไดนิวคลีโอไทด์, ฟลาวิน โมโนนิวคลีโอไทด์ในตัวอย่างเบียร์ สารเคลนบูเทอรอลและซาลบูทามอลในตัวอย่างเนื้อแดงสุกร ด้วยเทคนิคแคปิลารีโซนอิเลคโทรโฟรีซีส

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

4. สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างอื่นสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแคปิลารีโซน อิเลคโทรโฟรีซีส

ขอบเขตของการวิจัย

1. กลุ่มสารที่ทำการวิเคราะห์ ในตัวอย่างเบียร์ คือ ไรโบฟลาวิน, ฟลาวิน อะดีนีน ไดนิวคลีโอไทด์ และฟลาวิน โมโนนิวคลีโอไทด์

2. กลุ่มสารที่ทำการวิเคราะห์ในตัวอย่างเนื้อแดงสุกรคือ สารซาลบูทามอลและเคลนบูเทอรอล

3. ศึกษาผลของตัวแปรและหาสภาวะที่เหมาะสมในการหาปริมาณกลุ่มสารในข้อ 1 และ 2 ด้วยเทคนิคแคปิลารีอิเลคโทรโฟรีซีส โดยตัวแปรที่ทำการศึกษา ได้แก่ ชนิดของสารละลายบัฟเฟอร์ ค่าพีเอช (pH) ของสารละลายบัฟเฟอร์ ความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ เวลาในการฉีดสารเข้าสู่แคปิลารี (Injection time) อุณหภูมิของแคปิลลารีที่ใช้ในการแยกและขั้นตอนในการปรับสภาพผิว (Precondition) ภายในแคปิลลารี

4. ศึกษาความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์ (Method validation) ได้แก่ ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ) ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) ของการวิเคราะห์ ความแม่น (Accuracy) และความเที่ยง (Precision) ของการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแคปิลารีโซนอิเลคโทรโฟรีซีส

5. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างในการหาปริมาณสารไรโบฟลาวิน, ฟลาวิน อะดีนีน ไดนิวคลีโอไทด์ และฟลาวิน โมโนนิวคลีโอไทด์, ซาลบูทามอลและเคลนบูเทอรอล โดยวิธี Solid-phase extraction โดยศึกษาเปอร์เซ็นต์และปริมาตรเมทานอลที่เหมาะสมในการชะ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สถานที่ทำงานวิจัย

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ช่วงระยะเวลาในการทำงานวิจัย

8 สิงหาคม พ.ศ. 2546-30 มิถุนายน พ.ศ. 2548

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University