

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันได้มีการรณรงค์ในเรื่องการรักษาสุขภาพกันมากขึ้น ไม่ว่าจะเป็นการบริโภคอาหารให้ถูกหลักโภชนาการ การออกกำลังกาย การมีสุขภาพจิตที่ดี เป็นต้น ซึ่งสิ่งที่เราควรปฏิบัติทุกวันก็คือ การบริโภคอาหารให้ครบ 5 หมู่ แต่วิถีชีวิตในการบริโภคอาหารสำหรับคนไทยได้ปรับเปลี่ยนตามกระแสนิยมของการบริโภคของคนส่วนใหญ่ ที่มักนิยมเลือกซื้ออาหารที่มีสีสวยงามโดยไม่คำนึงถึงความปลอดภัยหรืออาจมองข้ามอันตราย ที่มีผลต่อสุขภาพ ซึ่งแฝงหรือปนเปื้อนมาในอาหาร

เนื้อสุกรเป็นอาหารสดที่คนส่วนใหญ่นิยมซื้อมารับประทาน เนื่องจากมีราคาถูกและสามารถนำมาปรุงเป็นอาหารสำเร็จที่มีรสชาติอร่อยถูกปาก แต่ในปัจจุบันวิธีการในการเลี้ยงสุกรของเกษตรกร เพื่อให้ได้ผลผลิตที่สามารถตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคที่นิยมเลือกซื้อเนื้อสุกรที่มีสีแดงหรือชมพูเข้มและมีไขมันน้อย ดังนั้นจึงได้มีการนำสารเคมีกลุ่มเบต้าอะโกนิสต์ ซึ่งปกติทางการแพทย์ใช้เป็นยาที่รักษาโรคหอบหืดในคนและสัตว์ มาใช้ในการผสมอาหารสำหรับเลี้ยงสุกร ซึ่งสารกลุ่มนี้จะไปกระตุ้นการเจริญเติบโตในสัตว์ทำให้ไขมันสลายตัว และทำให้กล้ามเนื้อขยายใหญ่ขึ้น เนื่องจากการสร้างโปรตีนเพิ่มขึ้น ทำให้เกิดการตกค้างในเนื้อสุกรเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ที่มีความไวต่อสารชนิดนี้ เมื่อสัตว์ได้รับสารเบต้าอะโกนิสต์แล้วจะถูกสะสมไว้ในเนื้อและตับประมาณ 25-30 วัน และแสดงอาการต่าง ๆ ประมาณ 70 วันหลังจากได้รับสารดังกล่าว ทั้งนี้สารที่นิยมใช้ในประเทศไทยคือ ซัลบูตามอล (Salbutamol) และคลินบูเทรอล (Clenbuterol) (โครงสร้างโมเลกุลดังภาพที่ 1-1) (สมชาย วงศ์สมุทร, 2545)

การตรวจวิเคราะห์สารเบต้าอะโกนิสต์ในเนื้อสัตว์ จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการตรวจที่มีประสิทธิภาพ ในปัจจุบันห้องปฏิบัติการของกรมปศุสัตว์ จะใช้วิธี Enzyme Immuno Assay (EIA) (Howell, Sauer, Sayer, & Clark, 1993) และวิธี Gas Chromatography – mass Spectrometry (GC-MS) (Leyssens, Driessen, Jacobs, Czech, & Raus, 1991). ซึ่งวิธี EIA เป็นวิธีที่ใช้สำหรับตรวจตัวอย่างเบื้องต้น เพื่อยืนยันว่าตัวอย่างนั้นปลอดภัยสำหรับการบริโภคหรือไม่ แต่ไม่สามารถบอกได้ว่ามีปริมาณตกค้างอยู่เท่าใด ส่วนวิธี GC-MS เป็นวิธีที่ใช้บอกปริมาณการตกค้างได้ด้วย แต่ใช้เวลานานกว่าเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี (High-performance Liquid Chromatography, HPLC) เป็นเทคนิคที่ใช้กันอย่างแพร่หลายมานานแล้ว เป็นวิธีวิเคราะห์ที่สะดวกและรวดเร็ว มีความแม่นยำ (Accuracy) และความเที่ยง (Precision) มาก ซึ่งยังไม่มีรายงาน

การวิเคราะห์สำหรับสารซัลบูตามอลและแคลนบูเทรอลในตัวอย่างเนื้อสุกรในงานวิจัยเรื่องเดียวกัน ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเป็นการศึกษาและพัฒนาการวิเคราะห์สารทั้ง 2 เพื่อให้เกิดประโยชน์ต่อไป

ไรโบฟลาวินหรือวิตามินบีสอง (Riboflavin, RF) บางคนรู้จักในชื่อของวิตามินจี (G) หรือแลคโตฟลาวิน (Lactoflavin) เรียกแตกต่างกันออกไป จัดอยู่ในประเภทของวิตามินที่ละลายในน้ำ (Water-soluble) เมื่อรับประทานเข้าไปแล้วจะดูดซึมได้ดีที่ลำไส้เล็กส่วนต้น โดย Active Process ในรูปของไรโบฟลาวินเสรี ซึ่งน้ำจะช่วยทำให้มีการดูดซึมได้ดีขึ้น ในเด็กที่ไม่มีน้ำดีมาแต่กำเนิด พบว่า มีการดูดซึมไรโบฟลาวินลดลง ไรโบฟลาวินในอาหารส่วนใหญ่จะอยู่ในสภาพ Coenzyme ของฟลาวินโมโนนิวคลีโอไทด์ (Flavin Mononucleotide, FMN) และฟลาวินอะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ (Flavin Adenine Dinucleotide, FAD) (โครงสร้างโมเลกุลดังภาพที่ 1-2) จับอยู่กับโปรตีน ดังนั้น การดูดซึมจึงขึ้นอยู่กับการสลายตัวของสารประกอบนี้ไปเป็นไรโบฟลาวินเสรีได้มากน้อยเพียงใด ไรโบฟลาวินเมื่อถูกดูดซึมเข้าไปแล้วจะมีการขนส่งไปในพลาสมาในรูปของ Free Riboflavin และ FMN ประมาณครึ่งหนึ่งของไรโบฟลาวินเสรี และ FMN จะจับอยู่กับอัลบูมินเป็นส่วนใหญ่ ส่วนน้อยจะจับกับโกลบูลินและไฟบริโนเจน ไรโบฟลาวินเสรีที่เข้าสู่เซลล์ของเนื้อเยื่อแล้วจะเปลี่ยนไปเป็น FMN ประมาณ 60-95% โดยส่วนที่เหลือเปลี่ยนไปเป็น FAD ทั้งคู่จะจับกับฟลาโวโปรตีน (สมทรง เลขากุล, 2542) ในปัจจุบันได้มีการศึกษาหาปริมาณไรโบฟลาวินมากขึ้น รวมทั้งในตัวอย่างเครื่องดื่มประเภทต่าง ๆ ซึ่งรวมทั้งตัวอย่างเบียร์และทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟีตรวจวัดด้วยเครื่องฟลูออเรสเซนซ์ ซึ่งงานวิจัยนี้ทำการตรวจวัดด้วยเครื่องยูวีและยังไม่มีรายงานการวิจัยด้วยวิธีนี้และเตรียมสารตัวอย่างด้วยวิธีที่ไม่ยุ่งยาก ดังนั้นผู้วิจัยมีความสนใจที่จะทำการศึกษาสารไรโบฟลาวิน ฟลาวินอะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ และฟลาวินโมโนนิวคลีโอไทด์ต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. การวิเคราะห์ปริมาณแคลนบูเทรอลและซัลบูตามอล
 - 1.1 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณสารแคลนบูเทรอลและซัลบูตามอลในเนื้อสุกร โดยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี
 - 1.2 ศึกษาวิธีการเตรียมตัวอย่างในการวิเคราะห์ปริมาณสารแคลนบูเทรอลและซัลบูตามอล ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างเนื้อสุกร
2. การวิเคราะห์ปริมาณไรโบฟลาวิน ฟลาวินอะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ และฟลาวินโมโนนิวคลีโอไทด์

2.1 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณสารไรโบฟลาวิน ฟลาวิน อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ และฟลาวินโมโนนิวคลีโอไทด์ในเบียร์ โดยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ ลิกวิดโครมาโทกราฟี

2.2 ศึกษาวิธีการเตรียมตัวอย่างในการวิเคราะห์ปริมาณสารไรโบฟลาวิน ฟลาวิน อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ และฟลาวินโมโนนิวคลีโอไทด์ ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ ตัวอย่างเบียร์

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย

1. รู้วิธีการหาปริมาณแคลนบูเทรอลและซัลบูตามอลในตัวอย่างเนื้อสุก
2. รู้วิธีการหาปริมาณไรโบฟลาวิน ฟลาวินอะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ และฟลาวินโมโนนิวคลีโอไทด์ในตัวอย่างเบียร์

ขอบเขตของการวิจัย

1. การวิเคราะห์ปริมาณแคลนบูเทรอลและซัลบูตามอล
 - 1.1 สารที่ทำการวิเคราะห์ในตัวอย่างเนื้อสุก คือ แคลนบูเทรอลและซัลบูตามอล
 - 1.2 ศึกษาผลของตัวแปรและหาสภาวะที่เหมาะสมในการหาปริมาณกลุ่มสารในข้อ 1.1 ด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิกวิดโครมาโทกราฟี โดยตัวแปรที่ทำการศึกษาได้แก่ อัตราส่วนของ เฟสเคลื่อนที่ ความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ ค่าพีเอชของสารละลายเฟสเคลื่อนที่ ระบบการขับเคลื่อน
 - 1.3 ตรวจสอบความถูกต้องของวิธีที่ทำการวิเคราะห์ (Method Validation) ได้แก่ ขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of Detection, LOD) ขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ) ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) การหาความเที่ยง (Precision) และการหาความแม่นยำ (Accuracy) ของการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิกวิดโครมาโทกราฟี
 - 1.4 หาปริมาณสารในข้อ 1.1 ในตัวอย่างเนื้อสุก 2 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิกวิดโครมาโทกราฟี
2. การวิเคราะห์ปริมาณไรโบฟลาวิน ฟลาวินอะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ และฟลาวินโมโนนิวคลีโอไทด์
 - 2.1 สารที่ทำการวิเคราะห์ในตัวอย่างเบียร์ คือ ไรโบฟลาวิน ฟลาวินอะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ และฟลาวินโมโนนิวคลีโอไทด์

2.2 ศึกษาผลของตัวแปรและหาสถานะที่เหมาะสมในการหาปริมาณกลุ่มสารในข้อ

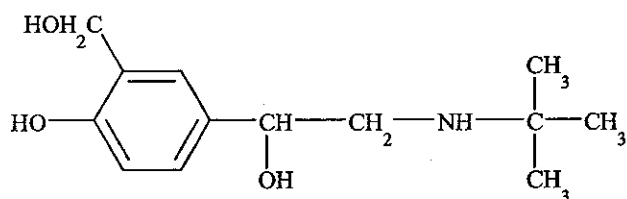
2.1 ด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี โดยตัวแปรที่ทำการศึกษาได้แก่ อัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ ความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ ค่าพีเอชของสารละลายเฟสเคลื่อนที่ ระบบการชะแบบเกรเดียน

2.3 ตรวจสอบความถูกต้องของวิธีที่ทำการวิเคราะห์ (Method Validation) ได้แก่ ขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of Detection) ขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณ (Limit of Quantitation) ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity) การหาความเที่ยง (Precision) และการหาความแม่นยำ (Accuracy) ของการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี

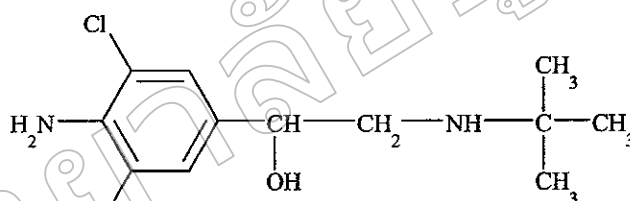
2.4 หาปริมาณสารในข้อ 2.1 ในตัวอย่างเบียร์ 3 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี

สถานที่ทำการวิจัย

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

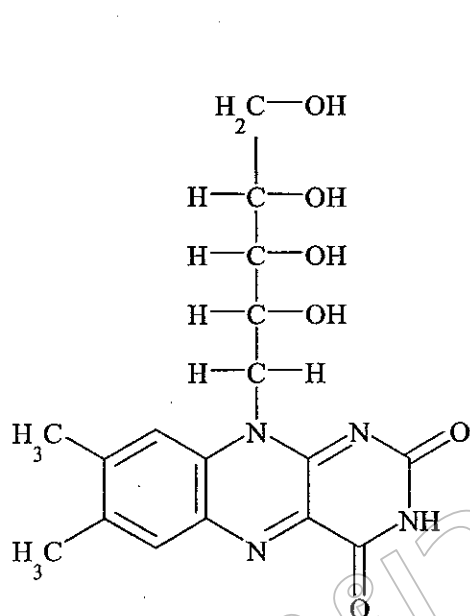


Salbutamol (SB), $pK_a = 10.3$



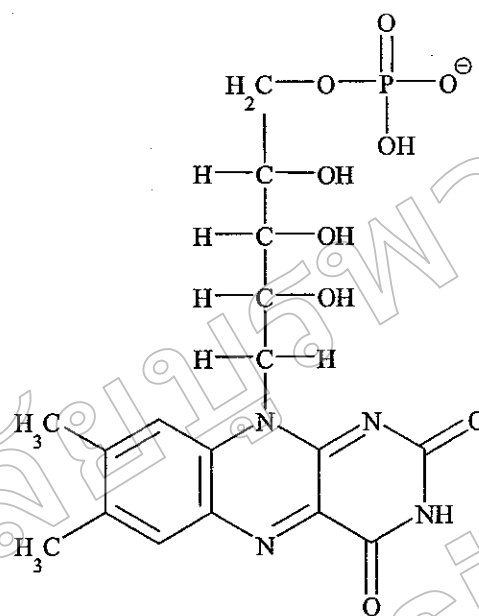
Clenbuterol (CB), $pK_a = 9.6$

ภาพที่ 1-1 โครงสร้างโมเลกุลของสารขับหลอดลมและเคदनบูเทรอล

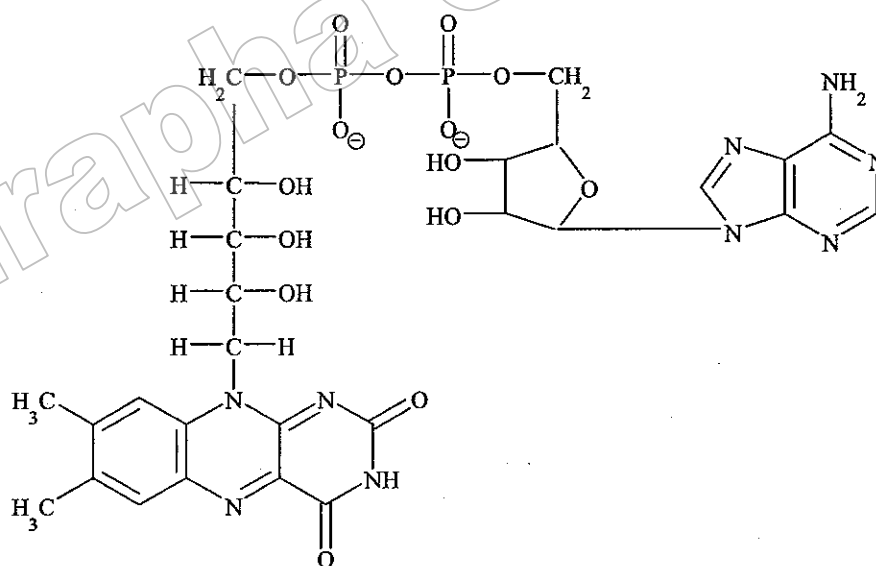


Riboflavin (RF)

$pK_{a1} = 1.9, pK_{a2} = 9.69, pK_{a3} = 10.2$



Flavin Mononucleotide (FMN)



Flavin Adenine Dinucleotide (FAD)

ภาพที่ 1-2 โครงสร้างโมเลกุลของสารไรโบฟลาวิน ฟลาวิน โมโนนิวคลีโอไทด์ และฟลาวิน อะดีนีน ไดนิวคลีโอไทด์