วิธีสกัดด้วยอัลตราโซนิคสำหรับการหาปริมาณซัลโฟนาไมด์ในเนื้อไก่

The Ultrasonic Extraction Method for Determination of Sulfonamide in Chicken

อภิญญา นวคุณ[1]*, อรอุมา เพ็ชรเปลี่ยน[1] และ อนุรักษ์ จันทร์แก้ว[2]

Apinya Navakhun[1]*, On-u-ma Petplian[1] and Anurak Chankaew[2]

[1]ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

[2] โครงการบัณฑิตศึกษาสาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการสกัดซัลโฟนาไมด์ 5 ชนิดในเนื้อไก่ด้วยวิธีอัลตราโซนิค สารปริมาณสารซัลโฟนาไมด์จะถูกวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง สภาวะที่ศึกษาได้แก่ ชนิดตัวทำละลายอินทรีย์ เวลา ปริมาตรตัวทำละลายอินทรีย์และอุณหภูมิในการสกัด เพื่อให้ได้ร้อยละการสกัดที่ดีขึ้น ในการสกัดใช้เนื้อไก่สังเคราะห์ 2.0 กรัม สภาวะที่เหมาะสมใช้อะซิโตไนไตรล์ 5 มิลลิลิตรสกัดเป็นเวลา 30 นาทีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมขีดจำกัดการตรวจวัดและขีดจำกัดการหาปริมาณคือ 0.03-0.06 และ 0.20-0.40 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ช่วงความเป็นเส้นตรงคือ 0.20-2.40 มิลลิกรัมต่อลิตรซึ่งค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มีค่ามากกว่า 0.9917 สำหรับค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์และค่าร้อยละการกลับคืนมีค่า 0.41-19.92% และ 52.52-151.14% ตามลำดับ ค่าร้อยละการสกัดของวิธีการที่ได้มีค่ามากกว่า 90%

คำสำคัญ : การสกัดด้วยอัลตราโซนิค / ซัลโฟนาไมด์ / เนื้อไก่

Abstract

The ultrasonic extraction method for determination of 5 sulfonamides residues in chicken was studied. The amount of sulfonamides was analyzed by high performance liquid chromatographic technique. The extraction parameters such as type of organic solvent, extraction time, volume of organic solvent and extraction temperature were carried out in order to increase the extraction efficiency. In extraction process, the synthetic chicken of 2.0 g was used. The optimum solvent was 5 mL of acetonitrile. The extraction time and extraction temperature were 30 min and 30 ^{o}C, respectively. Under the optimum conditions, detection limit and quantification limit were 0.03-0.06 and 0.20-0.40 mg/L, respectively. The linear was in range of 0.20-2.40 mg/L with R^2 more than 0.9917. The %RSD and %recovery were 0.41-19.92% and 52.52-151.14%, respectively. The extraction efficiency of this method was more than 90%.

Keywords : Ultrasonic Extraction / Sulfonamide / Chicken

***Corresponding author.** E-mail: apinyan@buu.ac.th

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1. บทนำ

ซัลโฟนาไมด์เป็นยาปฏิชีวนะที่ใช้ทั่วไปในการป้องกันโรคที่เกิดขึ้นกับสัตว์ เนื่องจากมีราคาถูกและสามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพได้หลายชนิดทำให้มีการตกค้างในอาหาร (Thiele-Bruhn, 2003) เมื่อผู้บริโภคได้รับสารดังกล่าวเข้าไปทำให้ระบบหมุนเวียนโลหิตในร่างการผิดปกติ มีแผลหรือเลือดออกในกระเพาะอาหารและเมื่อได้รับเป็นเวลานานจะทำให้เกิดการดื้อยาได้ (National Veterinary Research and Quarantine Service, 2005) ปัจจุบันมีการกำหนดปริมาณสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์ในอาหารจากองค์กรอาหารของประเทศต่างๆ เช่น สหภาพยุโรป ซึ่งจะมีสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์ได้ไม่เกิน 100 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (European Council Regulation 2377/90/EC,1990) จึงมีผู้ทำการศึกษาการหาปริมาณสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์ในตัวอย่างเนื้อสัตว์ ดิน และน้ำธรรมชาติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเนื้อสัตว์ที่พบการปนเปื้อนของสารกลุ่มนี้ได้ง่าย โดยวิธีการหาปริมาณนิยมใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงในการแยกสารกลุ่มดังกล่าว และมีการพัฒนาการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิคต่างๆ เช่น การสกัดด้วยของเหลว (liquid extraction) (Stoev & Michailova, 2000) ซึ่งต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ปริมาณมาก ใช้แรงงานและเวลาในการสกัดนาน เทคนิคการสกัดด้วยไมโครเวฟช่วยในการสกัด (microwave-assisted extraction) (Förster *et al*., 2008 และ Raich *et al*., 2010) ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพในการสกัดสูงแต่ต้องอาศัยเครื่องมือที่มีราคาแพงในการสกัด นอกจากนี้ยังมีการใช้เทคนิคการสกัดด้วยเฟสของแข็ง (solid phase extraction) (Andrzej, Jan, & Kamila, 2005 และ Hela *et al*., 2003) หรือการใช้ร่วมกันของเทคนิคการสกัดด้วยไมโครเวฟร่วมกับการสกัดด้วยเฟสของแข็ง (Chen *et al*., 2009) ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายและสามารถทำความสะอาดตัวอย่างได้ด้วยแต่เฟสของแข็งที่ใช้ในการสกัดมีราคาแพง ผู้วิจัยจึงศึกษาเทคนิคการสกัดแบบอัลตราโซนิคซึ่งเป็นเทคนิคที่ให้ประสิทธิภาพการสกัดสูง ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ปริมาณน้อย สามารถสกัดสารหลายตัวอย่างพร้อมกัน และไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาแพง เพื่อวิธีการสกัดที่ง่าย รวดเร็ว ประหยัดและมีประสิทธิภาพสูงสำหรับการสกัดสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์ที่ตกค้างในเนื้อไก่

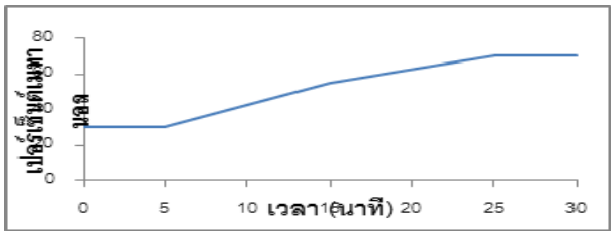
2. วิธีการ

2.1 อุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้

สารกลุ่มซัลโฟนาไมด์ในเนื้อไก่ถูกสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ และตรวจวัดด้วยเครื่อง HPLC รุ่น 1050 ต่อกับโฟโตไดโอดแอร์เรย์รุ่น 1050 ของบริษัท Hewlett Packard ประเทศสหรัฐอเมริกา คอลัมน์สำหรับแยกใช้ Hypersil Gold C_{18} (4.6 mm x 150 mm x 3 μm) ของบริษัท Thermo Electron ประเทศสหรัฐอเมริกา อ่างอัลตราโซนิคของบริษัท Crest ประเทศสหรัฐอเมริกา สารมาตรฐานซัลโฟนาไมด์ 5 ชนิด ได้แก่ซัลฟาเมอริซีนและซัลฟาคลอโรไพริดาซีนของบริษัท Fluka ประเทศสวิตเซอร์แลนด์ ซัลฟิโซซาโซลของบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา ซัลฟาไดเมธอกซีนของบริษัท TCI ประเทศญี่ปุ่น และซัลฟาควินอกซาลีนของบริษัท Supelco ประเทศสหรัฐอเมริกา โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตของบริษัท Carlo Erba ประเทศอิตาลี เมทานอลของบริษัท Burdick & Jackson ประเทศเกาหลีใต้ อะซิโตไนไตรล์ของบริษัท Qrëc ประเทศนิวซีแลนด์ น้ำที่ใช้ในการทดลองคือน้ำปราศจากไอออนโดยใช้เครื่องทำน้ำปราศจากไอออนของบริษัท Branstead ประเทศสหรัฐอเมริกา สารเคมีที่ใช้ทั้งหมดเป็นเกรดวิเคราะห์

2.2 วิธีการทดลอง

เนื้อไก่สังเคราะห์สำหรับการศึกษาประสิทธิภาพการสกัดเตรียมโดยสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์ 5 ชนิด ที่มีความเข้มข้นชนิดละ 0.002 mg/g ลงในเนื้อออกไก่บดละเอียด การสกัดศึกษาโดยชั่งเนื้อไก่สังเคราะห์บด 2.0 กรัมจากนั้นเติมตัวทำละลายอินทรีย์ 5 mL และนำไปสกัดในอ่างอัลตราโซนิค 30 นาที เมื่อสกัดเสร็จแล้วกรองสารละลายด้วยไนลอนเมมเบรนขนาดรูพรุน 45 μm แล้วนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 270 นาโนเมตร เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้คือฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 3.0 เข้มข้น 5.0 มิลลิโมลาร์และเมทานอลโดยใช้สภาวะเกรเดียนดังภาพที่ 1 ซึ่งอัตราการไหลคือ 0.80 มิลลิลิตรต่อนาที สภาวะที่ศึกษาได้แก่ ชนิดตัวทำละลายอินทรีย์ เวลาในการสกัด ปริมาตรตัวทำละลายอินทรีย์และอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแล้วศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์โดยการศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัด, ขีดจำกัดการหาปริมาณ, ช่วงความเป็นเส้นตรง, กราฟมาตรฐาน, ความเที่ยงและความแม่น



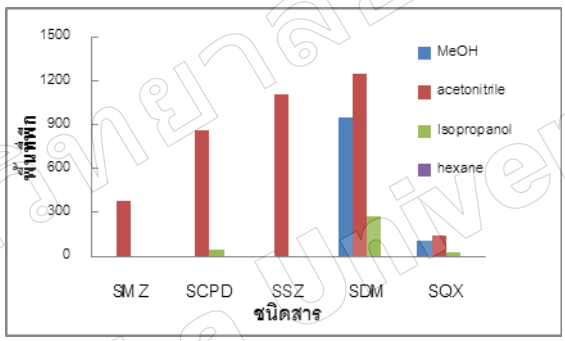
ภาพที่ 1 แสดงสภาวะของเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ในการวิเคราะห์สารกลุ่มซัลโฟนาไมด์หลังจากสกัดด้วยอัลตราโซนิค

3. ผลและอภิปราย

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์ในเนื้อไก่และวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง ที่ต่อกับไดโอดแอร์เรย์โดยจะพิจารณาจากค่าร้อยละการสกัดที่ได้

3.1 ชนิดตัวทำละลายอินทรีย์

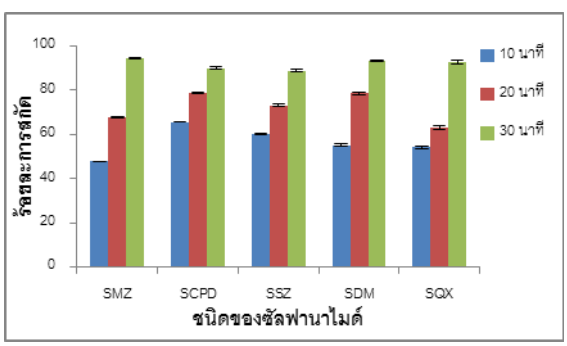
ศึกษาโดยใช้ เมทานอล อะซิโตไนไตรล์ ไอโซโพรพานอล และเฮกเซนชนิดละ 10 มิลลิลิตรในการสกัดเนื้อไก่สังเคราะห์ที่เตรียมขึ้นมา จากนั้นนำไปสกัดในอ่างอัลตราโซนิคเป็นเลา 30 นาทีแล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูงที่ต่อกับไดโอดแอร์เรย์ที่ความยาวคลื่น 270 นาโนเมตร ผลการทดลองพบว่าอะซิโตไนไตรล์สามารถสกัดสารทั้ง 5 ชนิดได้โดยพื้นที่พีกที่ได้มีค่าสูงสุดแสดงดังภาพที่ 2 ดังนั้นจึงเลือกอะซิโตรไนไตรล์เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมในการสกัด



ภาพที่ 2 แสดงพื้นที่พีกและชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์ทั้ง 5 ชนิด (n=3)

3.2 เวลาในการสกัด

ศึกษาโดยใช้อะซิโตรไนไตรล์ 10 มิลลิลิตรเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดและศึกษาเวลาในการสกัดที่ 10, 20 และ 30 นาที พบว่าที่เวลาในการสกัด 30 นาทีให้ค่าร้อยละการสกัดของสารทั้ง 5 ชนิดได้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ แสดงดังภาพที่ 3 ดังนั้นจึงไม่ศึกษาเวลาที่มากกว่า 30 นาทีและเลือกเวลาที่ใช้ในการสกัด 30 นาทีเป็นสภาวะที่เหมาะสม



ภาพที่ 3 แสดงค่าร้อยละการสกัดที่เวลาต่างๆ (n=3) เมื่อ SMZ = ซัลฟาเมอราซีน; SCPD = ซัลฟาคลอโรไพริดาซีน; SSZ = ซัลฟิโซซาโซล; SDM = ซัลฟาไดเมธอกซาลีน; SQX = ซัลฟาควินอกซาลีน

3.3 ปริมาตรตัวทำละลายอินทรีย์

ศึกษาโดยเลือกสภาวะที่เหมาะสมในข้อ 3.2 มาทำการทดลองต่อโดยปลี่ยนปริมาตรของอะซิโตไนไตรล์ที่ใช้เป็น 5, 10 และ 15 มิลลิลิตร พบว่าผลการทดลองที่ได้ให้ค่าร้อยละการสกัดคือ 95.97, 92.90 และ 88.95 ตามลำดับ ดังนั้นจึงเลือกอะซิโต-ไนไตรล์ 5 มิลลิลิตรเป็นสภาวะที่เหมาะสมเพราะให้ค่าร้อยละการสกัดสูงสุด

3.4 อุณหภูมิในการสกัด

ศึกษาโดยเลือกสภาวะที่เหมาะสมในข้อ 3.3 มาทำการทดลองต่อโดยควบคุมอุณหภูมิของอ่างอัลตราโซนิคในการสกัดเป็น 30, 40 และ 50 องศาเซลเซียส ผลการทดลองพบว่าพื้นที่พีกของสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์ทั้ง 5 ชนิดที่ได้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญดังตารางที่ 1 ดังนั้นจึงเลือกอุณภูมิที่ใช้ในการสกัดสารที่ 30 องศาเซลเซียสเป็นสภาวะที่เหมาะสมเพราะหากเลือกที่อุณหภูมิสูงกว่านี้อาจทำให้อะซิไนไตรล์ระเหยไปบางส่วนและจากข้อมูลจะเห็นว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ได้มีค่าต่ำกว่าเมื่อเทียบกับที่อุณหภูมิอื่น

ตารางที่ 1 แสดงพื้นที่พีกกับอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์ทั้ง 5 ชนิด (n=3)

อุณหภูมิ	พื้นที่พีก (mAU*min)				
(^{o}C)	ซัลฟาเมอราซีน	ซัลฟาคลอโรไพริดาซีน	ซัลฟิโซซาโซล	ซัลฟาไดเมธอกซีน	ซัลฟาควินอกซาลีน
30	648.52 ± 1.26	793.83 ± 2.30	1016.13 ± 1.11	1196.14 ± 2.23	118.09 ± 5.03
40	639.57 ± 1.14	779.50 ± 59.08	961.10 ± 74.39	1072.47 ± 42.07	113.00 ± 5.46
50	679.13 ± 4.68	812.67 ± 11.02	1086.73 ± 6.61	1126.29 ± 22.71	123.77 ± 2.84

ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์ทั้ง 5 ชนิดและวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูงที่ต่อกับไดโอดแอร์เรย์ที่ 270 นาโนเมตรพบว่าค่าร้อยละการสกัดที่ได้มีค่ามากกว่า 90%

3.5 ขีดจำกัดการตรวจวัดและขีดจำกัดการหาปริมาณ

นำสภาวะที่เหมาะสมมาหาขีดจำกัดการตรวจวัด และขีดจำกัดการหาปริมาณของสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์โดยพิจารณาจากความเข้มข้นที่ให้อัตราส่วนระหว่างสัญญาณของสารมาตรฐานและสัญญาณรบกวน (S/N) เท่ากับ 3 และ 10 สำหรับขีดจำกัดการตรวจวัดและขีดจำกัดการหาปริมาณตามลำดับ ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงขีดจำกัดการตรวจวัดและขีดจำกัดการหาปริมาณของสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์ทั้ง 5 ชนิด

ชนิดสาร	ขีดจำกัดการตรวจวัด (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ขีดจำกัดการหาปริมาณ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
ซัลฟาเมอราซีน	0.03	0.20
ซัลฟาคลอโรไพริดาซีน	0.03	0.20
ซัลฟิโซซาโซล	0.06	0.40
ซัลฟาไดเมธอกซีน	0.06	0.40
ซัลฟาควินอกซาลีน	0.06	0.40

3.6 ช่วงความเป็นเส้นตรง

ศึกษาโดยหาความเข้มข้นที่ให้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง โดยความเข้มข้นแรกที่ใช้คือค่าขีดจำกัดการหาปริมาณของสารมาตรฐานทุกชนิด จากการทดลองพบว่าช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.20-2.40 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ที่ได้มีค่ามากกว่า 0.9917 แสดงว่าให้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงที่ดี ในการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงจะศึกษาในช่วงแคบเพราะเนื่องจากมีการกำหนดปริมาณสารซัลโฟนาไมด์ที่ตกค้างในเนื้อไก่ได้ไม่เกิน 100 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม[3,4] แต่ถ้าศึกษาที่ความเข้มข้นมากขึ้นพื้นที่พีกที่ได้ก็มากขึ้นเช่นเดียวกัน

3.7 กราฟมาตรฐาน

ทำเช่นเดียวกับการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงแต่ความเข้มข้นสุดท้ายที่ใช้คือ 1.80 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการทดลอง พบว่าสารมาตรฐานทั้ง 5 ชนิดให้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงที่ดีโดยพิจารณาจากค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์ (R^2) ซึ่งแสดงดังตารางที่ 3

3.8 ความเที่ยงของการวิเคราะห์

ศึกษาการเลือกวิเคราะห์ 3 ความเข้มข้นได้แก่ความเข้มข้น 0.60, 1.00 และ 1.40 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) โดยการวิเคราะห์ซ้ำ 6 ครั้ง ผลการทดลองพบว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของรีเทนชั่นมีค่า 0.41-2.08% และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของพื้นที่พีกมีค่า 4.93-19.92% ซึ่งค่าที่ยอมรับได้ตามมาตรฐาน AOAC มีค่าไม่เกิน 11% (.AOAC International,1993) เนื่องจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของพื้นที่พีกบางค่ามากกว่าค่าที่ยอมรับเป็นเพราะขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกันทำได้ยากอาจทำให้สารมาตรฐานกระจายตัวในเนื้อไก่ได้ไม่ทั่วถึง

ตารางที่ 3 สรุปผลการศึกษากราฟมาตรฐานของสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์ทั้ง 5 ชนิด (n=3)

ชนิดสาร	ความเข้มข้นที่ศึกษา (มิลลิกรัมต่อลิตร)	สมการเส้นตรง	R^2
ซัลฟาเมอราซีน	0.20 – 1.80	y = 3.7674x – 1.3176	0.9959
ซัลฟาคลอโรไพริดาซีน	0.20 – 1.80	y = 46.9124x – 8.0568	0.9979
ซัลฟิโซซาโซล	0.40 – 1.80	y = 30.9857x – 7.2817	0.9919
ซัลฟาไดเมธอกซีน	0.40 – 1.80	y = 34.8212x + 18.5081	0.9958
ซัลฟาควินอกซาลีน	0.40 – 1.80	y = 32.0925x – 3.3645	0.9994

3.9 ความแม่นของการวิธีการวิเคราะห์

ศึกษาโดยนำสารมาตรฐานทั้ง 5 ชนิดที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน จากนั้นเติมสารมาตรฐาน 2 ความเข้มข้นได้แก่ 1.00 และ 1.40 มิลลิกรัมต่อลิตรจากนั้นคำนวณหาค่าร้อยละการกลับคืน (%recovery) จากการทดลองพบว่าค่าร้อยละการกลับคืนที่ได้อยู่ในช่วง 52.52 ถึง101.89% ซึ่งค่าที่ยอมรับได้อยู่ในช่วง 40-120%[10] ในการทดลองนี้ค่าร้อยละการกลับคืนของซัลฟา-ไดเมธอกซีนที่ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตรให้ร้อยละการกลับคืนมากกว่าค่าที่ยอมรับได้คือ 151.14% แสดงว่าวิธีที่นำเสนอนี้ยังไม่ดีพอที่จะสกัดสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์ ออกจากเมทริกซ์ที่มีจากเนื้อไก่ ซึ่งอาจต้องนำเทคนิคนี้ไปใช้ร่วมกับเทคนิคการสกัดหรือทำความสะอาดตัวอย่าง (cleanup) เช่นการสกัดด้วยเฟสของแข็ง (solid phase extraction) ก่อนนำไปวิเคราะห์ปริมาณด้วย HPLC ต่อไป

4. บทสรุป

สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารกลุ่มซัลโฟนาไมด์ 5 ชนิดได้แก่ ซัลฟาเมอราซีน, ซัลฟาคลอโรไพริดาซีน, ซัลฟิโซซาโซล, ซัลฟาไดเมธอกซีนและซัลฟาควินอกซาลีนในเนื้อไก่คือ ใช้อะซิโตรไนไตรล์ 5 มิลลิลิตรเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ สกัดด้วยอัลตราโซนิคเป็นเวลา 30 นาทีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสจากนั้นกรองสารละลายและนำไปวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูงต่อกับตัวตรวจวัดด้วยไดโอดแอร์เรย์ที่ 270 นาโนเมตร คอลัมน์ที่ใช้ในการแยกคือ Hypersil Gold C_{18} (4.6 mm X 150 mm) ใช้สารผสมระหว่างฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 3.0 เข้มข้น 5.0 มิลลิโมลาร์ (A) และเมทานอลเป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหล 0.80 มิลลิลิตรต่อนาที ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมขีดจำกัดการตรวจวัดและขีดจำกัดการหาปริมาณคือ 0.03-0.06 และ 0.20-0.40 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ช่วงความเป็นเส้นตรงศึกษาในช่วง 0.20-0.40 มิลลิกรัมต่อลิตรโดยให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) มากกว่า 0.9917 สำหรับความแม่นและความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์คือ 0.41-19.92% และ 52.52-151.14% ตามลำดับ ค่าร้อยละการสกัดที่ได้มีค่ามากกว่า 90%

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาที่ใช้ทำงานวิจัยและสนับสนุนทุนวิจัยบางส่วน

6. เอกสารอ้างอิง

Andrzej, P., Jan, Z., and Kamila M. (2005). Dispersive solid-phase extraction for the determination of sulfonamides in chicken muscle by liquid chromatography. Journal of Chromatography A. 1087, 259-264.

AOAC International. (1993). *AOAC® peer-verified method program: manual on policies and procedures*. United States of America.

Chen, L., Zeng, Q., Wang, H., Su R., Xu, Y., Zhang, X., et al. (2009). On-line coupling of dynamic microwave assisted extraction to solid-phase extraction for the determination of sulfonamide anitibiotics in soil. Analytica Chimica Acta. 648, 200-206.

European Council Regulation 2377/90/EC (1990). A community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin. 224.

Förster, M., Laabs, V., Lamshöft, M., Pütz, T. and Amelung ,W. (2008). Analysis of aged sulfadiazine residues in soils using microwave extraction and liquid chromatographytandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 391:1029-1038

Hela, W., Brandtner, M., Widek, R., Schuh, R. (2003). Determination of sulfonamides in animal tissues using cation exchange reversed phase sorbent of sample cleanup and HPLC-DAD for detection. *Food Chemsitry*. 83, 601-608.

National Veterinary Research and Quarantine Service (NVRQS)(2005). Establishment of control system of antibiotics for livestocks. Korea Food and Drug Administration.

Raich-Montiu, J., Beltrán, J. L., Prat, M. D, Granados, M. (2010). Studies on the extraction of sulfonamides from agricultural soils. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 397, 807-814.

Stoev, G., Michailova, A., (2000). Quantitative determination of sulfonamide residues in foods of animal origin by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. Journal of Chromatography A, 871, 37-42.

Thiele-Bruhn S. (2003) Pharmaceutical antibiotic compounds in soil—a review. *Journal of Plant Nutrition and soil Science*. 166, 145-67.

Burapha University มหาวิทยาลัยบูรพา