

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG5480135

ชื่อโครงการ: การพัฒนาวิธีเตรียมตัวอย่างและเพิ่มความเข้มข้นด้วยสารลดแรงตึงผิวร่วมกับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงสำหรับการวิเคราะห์ยา
รักษาสัตว์ตกค้างในอาหาร

ชื่อนักวิจัย: ดร.ญานวรรณ แสนตลาดชัยกิตติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน
รศ.ดร.ศุภลักษณ์ ศรีจรรย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

อีเมล: sanyanawa@yahoo.com; sanyanawa@gmail.com

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี (15 มิถุนายน 2554 ถึง 15 มิถุนายน 2556)

โครงการวิจัยนี้ ได้พัฒนาวิธีการสกัดแบบจุดขึ้นด้วยอัลตราซาวด์ (UA-CPE) และเทคนิคการสกัดระดับไมโครด้วยอัลตราซาวด์ และสารลดแรงตึงผิวช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเกิดอิมัลชัน (UASEME) สำหรับการเพิ่มความเข้มข้น และวิเคราะห์ยาถ่ายพยาธิกลุ่มเบนซิมาดาโซลจำนวน 5 ชนิด (ได้แก่ ไทอะเบนดาโซล ออกเฟนดาโซล มีเบนดาโซล อัลเบนดาโซล และเฟนเบนดาโซล) ในตัวอย่างนม ศึกษาและหาสภาวะที่เหมาะสมของพารามิเตอร์ที่มีผลต่อประสิทธิภาพการสกัดของวิธีการสกัด และเพิ่มความเข้มข้นทั้งสองวิธี โดยศึกษาภายใต้การแยกสารเป้าหมายโดยใช้การชะแบบเกรเดียนต์ของกรดอะซิติกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร และเมทานอล ใช้อัตราการไหลเป็น 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที และการตรวจวัดแบบโพโตไดโอดแอร์เรย์ที่ความยาวคลื่น 296 นาโนเมตร ภายใต้สภาวะการแยกนี้ สามารถแยกสารเป้าหมายได้สมบูรณ์ภายใน 14 นาที ซึ่งสภาวะการสกัดที่เหมาะสมและผลการวิเคราะห์ที่ได้จากวิธี UA-CPE และ UASEME แสดงดังรายละเอียดต่อไปนี้

สภาวะที่เหมาะสมของวิธี UA-CPE คือ ไทรทอนเอกซ์-114 เข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โซเดียมอะซิเตตเข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และเวลาการอัลตราโซนิก 2 นาที ภายใต้สภาวะดังกล่าวนี้ ความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 10 – 200 ไมโครกรัมต่อลิตร และให้สัมประสิทธิ์การกำหนด (Coefficient of determination หรือ R^2) มากกว่า 0.995 แพลตฟอร์มเพิ่มความเข้มข้นได้สูงถึง 164 เท่า และสอดคล้องกับค่าขีดจำกัดการตรวจวัดในช่วง 1 – 5 ไมโครกรัมต่อลิตร ความเที่ยงของการวิเคราะห์ในวันเดียวกัน ($n=5$) และหลายวัน ($n=3 \times 3$) โดยให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์สำหรับเวลาการคงที่ของสาร และพื้นที่ใต้พีค ต่ำกว่า 2.0 และ 7.0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนค่าการกลับคืนของสารเป้าหมายที่ความเข้มข้นต่างๆ (นั่นคือ 20 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อลิตร) ในตัวอย่างนม ซึ่งพบว่าอยู่ในช่วง 75.3 – 111.4 เปอร์เซ็นต์

ส่วนในเทคนิคการสกัดและเพิ่มความเข้มข้นแบบ UASEME ได้ใช้ไดคลอโรมีเทน (เป็นตัวสกัด) และไทรทอนเอกซ์-114 (อิมัลซิฟายเออร์) สำหรับการสกัดสารเป้าหมาย ซึ่งสภาวะการสกัดเป็น

ดังนี้ ไทรทอนเอกซ์-114 เข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร กลีโกลีเซียมอะซิเตทเข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ไดคลอโรมีเทน 100 ไมโครลิตร และเวลาการอัลตราโซนิก 4 นาที ภายใต้สภาวะดังกล่าวนี้ ได้ความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 10 – 150 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งให้ค่า R^2 ที่ดีมากกว่า 0.994 แพลกเตอร์การเพิ่มความเข้มข้นอยู่ในช่วง 45 – 60 เท่า และสอดคล้องกับค่า LODs อยู่ในช่วง 1.8 – 3.6 ไมโครกรัมต่อลิตร ความเที่ยงของการวิเคราะห์ในวันเดียว ($n=5$) และหลายวัน ($n=4 \times 3$) ให้ร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของค่าเวลาการคงอยู่ของสาร และพื้นที่ใต้พีคต่ำกว่า 0.8 และ 9.2 ตามลำดับ นอกจากนี้ ยังให้ร้อยละการกลับคืนที่ดีสำหรับการวิเคราะห์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (20 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อลิตร) ในตัวอย่างนม อยู่ในช่วง 72.5 – 113.5

กล่าวโดยสรุป วิธีที่นำเสนอทั้งวิธีการสกัดแบบ UA-CPE และ UASEME ควบคู่กับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง และการตรวจวัดแบบโฟโตไดโอดแอร์เรย์ ได้แสดงให้เห็นว่า เป็นวิธีที่ง่าย มีประสิทธิภาพ และเชื่อถือได้สำหรับการสกัดและเพิ่มความเข้มข้น และวิเคราะห์พร้อมกันของสารยาถ่ายพยาธิกลุ่มเบนซิมิดาโซลในตัวอย่างนมชนิดต่างๆ

คำสำคัญ: ยาถ่ายพยาธิกลุ่มเบนซิมิดาโซล วิธีการเพิ่มความเข้มข้น โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ตัวอย่างนม

Abstract

Project Code: MRG5480135

Project Title: Development of sample preparation and preconcentration method using surfactants coupled to high performance liquid chromatography for veterinary drug residue analysis in foods

Investigators: 1) Dr. Yanawath Santaladchaiyakit, Rajamangala University of Technology Isan
2) Assoc. Prof. Dr. Supalax Srijaranai, Khon Kaen University

E-mail Address: sanyanawa@yahoo.com; sanyanawa@gmail.com

Project Period: 2 years (15 June 2011 to 15 June 2013)

In this research project, ultrasound-assisted cloud-point extraction (UA-CPE) and ultrasound-assisted surfactant-enhanced emulsification microextraction (UASEME) coupled with high performance liquid chromatography-photodiode array detection (HPLC-PDA) have been developed for the preconcentration and analysis of five benzimidazole anthelmintics (i.e., thiabendazole, oxfendazole, mebendazole, albendazole, and fenbendazole) in milk samples. Parameters affecting on the extraction performance of both extraction methods were also investigated and optimized. The separation of target analytes was carried out using gradient condition of 1% (v/v) acetic acid and methanol, a flow rate of 1.0 mL/min, and photodiode array detection at 296 nm. Under this separation conditions, the target benzimidazoles was completely separated within 14 min. The optimum conditions and analytical results obtained from UA-CPE and UASEME are described follow.

The optimum conditions of UA-CPE were 0.75% (w/v) Triton X-114, 7% (w/v) sodium acetate, and 2-min ultrasonication. Under these conditions, linearity was obtained in the range of 10 – 200 µg/L with the determination coefficients (R^2) higher than 0.995. A high preconcentration factor of up to 164 was obtained, corresponding to limits of detection (LODs) in the range of 1 – 5 µg/L. Intra-day (n=5) and inter-day (n=3×3) precisions were obtained with relative standard deviation (RSD) for retention time and peak area lower than 2.0 and 7.0%, respectively. The recoveries for the spiked target anthelmintics at different concentrations (i.e., 20, 50 and 100 µg/L) in milk samples were in the range of 75.3 – 111.4%.

In UASEME, dichloromethane (extraction solvent) and Triton X-114 (emulsifier) were used for extraction of the target analytes. The extraction conditions were 0.5% (w/v) Triton X-114, 6% (w/v) sodium acetate, 100 µL of dichloromethane and 4-min ultrasonication. Under the optimum conditions, linearity was in the range from 10 to 150 µg/L with good R^2 higher than 0.994. Pre-

concentration factors were obtained in the range of 45 – 60, corresponding to LODs in the range of 1.8 – 3.6 µg/L. Intra-day (n=5) and inter-day (n=4×3) precisions were obtained with RSD of retention time and peak area below 0.8 and 9.2%, respectively. Good recoveries for the spiked target anthelmintics at various concentrations (i.e., 20, 50, and 100 µg/L) milk samples were obtained in the 72.5 – 113.5%.

In summary, the proposed UA-CPE and UASEME coupled with HPLC-PDA method have been demonstrated to be simple, effective, and reliable for the preconcentration and simultaneous analysis of target benzimidazole anthelmintics in the milk samples studied.

Keywords: Benzimidazole anthelmintic, preconcentration method, high-performance liquid chromatography, milk sample