

**การวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้าของซัลโฟนาไมด์ด้วย
ระบบ FIA/HPLC ควบคู่กับการตรวจวัดทางแอม
เพอร์โรเมตริกโดยใช้ขั้วไฟฟ้าโดมอนด์เจือโบรอน
Electroanalysis of sulfonamides by flow injection
system/high-performance liquid chromatography coupled
with amperometric detection using
boron-doped diamond electrode**

แปลโดย

อัญชนา ปรีชาวรพันธ์

คณะผู้วิจัย

อัญชนา ปรีชาวรพันธ์

ศุชาดา จูอนุวัฒนกุล

ยาชีกิ อินากา

เกตุ กรุดพันธ์

โชจิ โมโตมิชิ

อรวรรณ ชัดภากุล

บทคัดย่อ

การตรวจวัดซัลโฟนาไมด์ทางเคมีไฟฟ้าโดยใช้เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีบนขั้วไฟฟ้าโดมอนด์เจือโบรอน (boron doped diamond; BDD) เปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้าแกรสตีคาร์บอน (glassy carbon; GC) พบว่าขั้วไฟฟ้า BDD ในระบบโฟลว์อินเจกชัน (FI) ควบคู่กับการตรวจวัดแอมเพอร์โรเมตริกได้แสดงศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมจากไฮโดรไดนามิกโวลแทมโมแกรมเป็น 1100 mV เทียบกับซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ และศักย์ไฟฟ้านี้จะนำไปใช้ในระบบไฮเพอร์แมนลิควิดโครมาโทกราฟี (HPLC) ร่วมกับแอมเพอร์โรเมตริก

ผลของช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงและขีดจำกัดในการตรวจวัดได้รับผลการทดลองเป็นอย่างดี วิธีการนี้ใช้สำหรับการตรวจวัดซัลโฟนาไมด์ในตัวอย่างไข่ สารละลายมาตรฐานที่ 5 10 และ 15 ppm ได้เติมในตัวอย่างไข่จึงพบว่าได้รับเปอร์เซ็นต์การกลับคืนอยู่ระหว่าง 90.0 ถึง 107.7

คำสำคัญ: ซัลโฟนาไมด์; ขั้วไฟฟ้าเพชรเจือโบรอน; โซลิกโวลแทมเมทรี; ระบบฟลอสอินเจกชัน HPLC; การตรวจวัดแอมเพอร์โรเมตริก

ABSTRACT

Sulfonamides (SAs) were electrochemically investigated using cyclic voltammetry at a boron-doped diamond (BDD) electrode. Comparison experiments were carried out using a glassy carbon electrode. The BDD electrode provided well-resolved oxidation, irreversible cyclic voltammograms and higher current signals when compared to the glassy carbon electrode. Results obtained from using the BDD electrode in a flow injection system coupled with amperometric detection were illustrated. The optimum potential from a hydrodynamic voltammogram was found to be 1100 mV versus Ag/AgCl, which was chosen for the HPLC-amperometric system. Excellent results of linear range and detection limit were obtained. This method was also used for determination of sulfonamides in egg samples. The standard solutions of 5, 10, and 15 ppm were spiked in a real sample, and percentage of recoveries was found to be between 90.0 and 107.7.

Keywords: Sulfonamides; Boron-doped diamond thin film electrode; Cyclic voltammetry; Flow injection system; HPLC; Amperometric detection

บทนำ

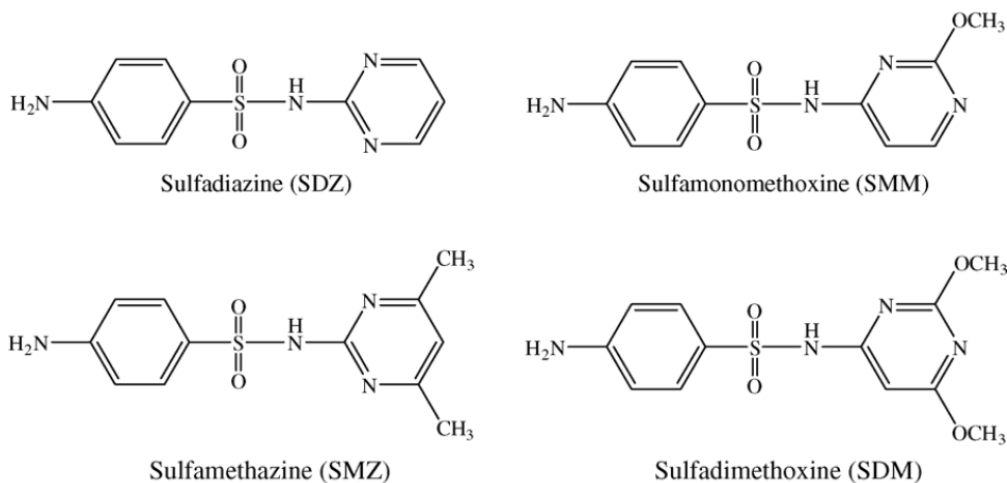
ซัลโฟนาไมด์ (SAs) เป็นสารต่อต้านแบคทีเรียมาเป็นเวลานานกว่า 60 ปี สารนี้จะใช้สำหรับรักษาโรคเลิวโคซัยโตซูโนซิส (leucocytozoonosis) และ โรคบิด (coccidiosis) ในไก่ และโดยทั่วไปจะใส่รวมในอาหาร European Union (EU) ได้กำหนดค่าตกค้างสูงสุด (MRL, 100 ng g^{-1}) สำหรับ SAs ในอาหารสัตว์เช่น เนื้อ นม และไข่ ดังนั้นการตรวจวัดสารตกค้างในเนื้อและผลิตภัณฑ์รวม (นม และ ไข่) สำหรับการบริโภคจึงเป็นสิ่งที่มีความสำคัญอย่างมาก

การยืนยันผลการตกค้างของซัลโฟนาไมด์ในผลิตภัณฑ์ที่เป็นอาหารของสัตว์ตรวจวัดได้ด้วยเทคนิคอิมมูโนแอสเส ทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (TLC) แก๊สโครมาโทกราฟี และแก๊สโครมาโทกราฟีต่อ

กับแมสสเปกโตรเมตรี และไฮเพอร์ฟอร์แมนลิกวิดโครมาโทกราฟี (HPLC) และ HPLC ต่อกับแมสสเปกโตรเมตรี (HPLC-MS) HPLC กับตัวตรวจวัด UV และฟลูออโรเมตรีจะเป็นวิธีทั่วไปสำหรับตรวจวัดทางยาทางเลือกใหม่สำหรับการตรวจวัด SAs คือ HPLC ร่วมกับตัวตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า (HPLC-EC) โดยใช้เทคนิคแอมเพอร์โรเมตรี HPLC-EC จัดได้ว่าช่วยเพิ่มความไวและช่วยลดต้นทุนในการวิเคราะห์

โดมอนต์จัดว่าเป็นฉนวนแต่เมื่อเราทำการเจือด้วยโบรอนจะพบว่าวัสดุนั้นมีคุณสมบัติเป็นวัสดุกึ่งตัวนำไฟฟ้า ซึ่งขึ้นอยู่กับปริมาณการเจือ ดังนั้นขั้วไฟฟ้า BDD จึงแสดงคุณสมบัติจำเพาะที่น่าสนใจในการนำไปประยุกต์ใช้ทางเคมีไฟฟ้าดังนี้ (1) ให้กระแสพื้นหลังที่เสถียรและต่ำ ซึ่งส่งผลในการเพิ่มสัดส่วนของสัญญาณต่อพื้นหลัง (2) มีการตอบสนองที่เสถียรต่อรีดอกซ์สปีชีส์ (3) มีความไวต่อออกซิเจนต่ำ (4) ให้ช่วงของศักย์ไฟฟ้าทำงานที่กว้างในสารละลายที่มีน้ำเป็นตัวทำละลาย (5) มีการดูดซับโมเลกุลของสารอินทรีย์ที่มีขั้วเพียงเล็กน้อย และ (6) ยากต่อการเสียสภาพ จากคุณสมบัติที่น่าสนใจเหล่านี้จึงทำให้คณะผู้วิจัยได้ศึกษาและพัฒนาเป็นขั้วไฟฟ้าโดมอนต์สำหรับประยุกต์ใช้ทางเคมีไฟฟ้า ได้มีผลงานวิจัยที่นำวัสดุนี้ไปใช้ทางเคมีไฟฟ้าเพื่อวิเคราะห์ในเชิงปริมาณที่หลากหลายด้วยกัน เช่น การวิเคราะห์ในระบบโพลินเจกชัน (FIA) และลิควิดโครมาโทกราฟี (LC) ยิ่งไปกว่านั้นได้มีการนำไปใช้สำหรับการบำบัดน้ำเสียด้วย

ในงานวิจัยนี้ได้ใช้ขั้วไฟฟ้า BDD สำหรับตรวจวัด 4 SAs นั่นคือ ซัลฟาไดอะซีน (SDZ) ซัลฟาเมทาซีน (SMZ) ซัลฟาโมโนเมทอกซีน (SMM) และซัลฟาไดเมทอกซีน (SDM) โครงสร้างสำหรับสารประกอบทั้ง 4 นี้แสดงดังรูปที่ 1 ได้ศึกษาถึงเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี การวิเคราะห์ด้วย FIA และ HPLC ที่มีแอมเพอร์โรเมตริกเป็นตัวตรวจวัด และนำวิธีการนี้ไปประยุกต์ในการวิเคราะห์หาซัลฟาทั้ง 4 SAs ในตัวอย่างไข่



รูปที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของ 4 SAs ที่ศึกษาในงานวิจัยนี้

วิธีดำเนินงานวิจัย

เครื่องมือ

ระบบ FIA และ HPLC ใช้ในการศึกษานี้ประกอบไปด้วยระบบนำพาสารละลายด้วยปั๊ม Water Model 510 (Water Associates Inc, Milford, MA, USA) ระบบอินเจกเตอร์ (Rheodyne no.7125) พร้อมหลอดขนาด 20 μ L คอลัมน์แบบ Inertsil C4 (GL Science, 150mm $\times$ 4.6 mm i.d.; particle size, 5 μ m) โฟลว์เซลล์ (Science Inc.) และตัวตรวจวัดแอมเพอร์โรเมตริก (Autolab Potentiostat 30; Metrohm, Switzerland) เครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างประกอบด้วยเครื่องไมโครเซนติฟิว (Cole Parmer, USA) เครื่องผสมสารให้เป็นเนื้อเดียวกัน (Ney Dental, USA) เครื่องมิกเซอร์ (Mixer; National, Matsushita Electric industrial Co. Ltd., Japan) และหลอดไมโครเซนติฟิว (Ultrafree-MC/PL, regenerated cellulose ultra-filtration membrane, nominal molecular mass limit = 5000, capacity $\leq$ 0.5 μ L, Millipore, Bedford, MA, USA)

สารเคมี

อะซิโตนไนไตร (ACN; Acetonitrile) และ กรดออร์โธฟอสฟอริก (ortho-phosphoric acid) ในเกรดของ HPLC ซื้อจากบริษัทเมอร์ก (Darmstadt, Germany) น้ำปราศจากไอออนจาก Milli-Q-gradient system (Millipore, $R \geq 18.2 M\Omega \cdot cm$) โซเดียมไดไฮโดรเจนออร์โธฟอสเฟต 1-ไฮเดรต (Sodium dihydrogen orthophosphate 1-hydrate) และไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (disodium hydrogen phosphate) ซื้อจาก BDH (VWR international Ltd., England) สารมาตรฐาน SMM SDM SMZ และ SDZ ได้รับจากบริษัทซิกมา (St. Louis, MO, USA) สารละลายมาตรฐานสต็อกเตรียมที่ 500 ppm ของแต่ละ SA โดยเตรียมใน ACN : น้ำปราศจากไอออน (50:50, v/v) จากนั้นเก็บที่ 4 °C สารละลายมาตรฐานผสมที่ใช้งานทั้ง 4 SAs เตรียมจากการเจือจางสารละลายมาตรฐานสต็อกใน 0.1 M สารละลายฟอสเฟต

ขั้วไฟฟ้า

ขั้วไฟฟ้า BDD ที่ปลูกขึ้นบนฐาน Si (1 0 0) โดยใช้ระบบของเครื่อง microwave plasma-assisted chemical vapor deposition (MPCVD) ได้รับจากแลปของ รศ.ดร.ยาซึกิ อินากา (Associate Professor Yasuaki Einaga's laboratory) สารผสมของอะซิโตนและเมทานอลที่อัตราส่วน 9:1 (v/v) ใช้สำหรับเป็นแหล่งของการ์บอน โบรอนไดรอกไซด์ (B_2O_3) ใช้เป็นแหล่งโบรอนละลายอยู่ในสารละลายของอะซิโตนและเมทานอลที่สัดส่วนของอะตอม B/C 1:100 ขั้วไฟฟ้า BDD ล้างด้วยไอโซโพรพานอล และน้ำปราศจากไอออนตามลำดับก่อนนำไปใช้

ขั้วไฟฟ้าเกลตลิคาร์บอน (GC) ซื้อจาก Bioanalytical System Inc. (พื้นที่ 0.07 cm^2) ก่อนใช้จะขัดผิวหน้าบนแผ่นขัดที่มีสเตอริ่งของ 1 และ 0.3 μ m อะลูมินา/น้ำ จากนั้นล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน

การตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า

ไซคลิกโวลแทมเมทรี

การตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าประกอบไปด้วยเซลล์แก้วสามคอปริมาตร 50 mL มีขั้วไฟฟ้า BDD จะติดอยู่ที่ด้านล่างของเซลล์ และแยกด้วย O-ring (พื้นที่ 0.07 cm^2) ตัวเชื่อมต่อสัญญาณไฟฟ้าจะต่อที่ด้านหลังของฐาน Si บนแผ่นทองเหลือง อีกขั้วหนึ่งของขั้วไฟฟ้าทำงานคือ GC ที่ใช้ศึกษาเปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้า BDD ลวดแพลทินัมและซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ร่วมกับสะพานเกลือใช้เป็นขั้วไฟฟ้าช่วยและขั้วไฟฟ้าอ้างอิงตามลำดับ ไซคลิกโวลแทมเมทรีใช้เครื่อง Autolab Potentiostat 30 และมีกล่องฟาราเดย์สำหรับลดสัญญาณไฟฟ้าภายนอกที่รบกวน

FIA และ HPLC ร่วมกับการตรวจวัดแอมเพอร์โรเมทริก

การตรวจวัด FIA ใช้ขั้วไฟฟ้า BDD เป็นแอมเพอร์โรเมทริกเซนเซอร์ที่มี 0.1 M สารละลายฟอสเฟต (pH 3.0) เป็นตัวนำพาตรวจวัดที่ศักย์ไฟฟ้า 1100 mV เทียบกับซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ ระบบ FIA และ HPLC ใช้ในการศึกษานั้นจะประกอบด้วยระบบนำพาสารละลายเป็นปั๊มของ Water Model 510 ร่วมกับอัตราการไหลที่ 1.0 mL min^{-1} มีสายท่อต่อไปยังอินเจกเตอร์และตัวตรวจวัดในระบบ FIA เป็น 20 cm ระบบนี้จะ เป็นรูปขนาด $20 \mu\text{L}$ มีโพลีเซลล์ และตัวตรวจวัดแอมเพอร์โรเมทริก ศักย์ไฟฟ้าของตัวตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าจะตั้งค่าด้วยคอมพิวเตอร์ควบคุมโพเทนชิโอสเตต ระบบโพลีเซลล์จะประกอบด้วยขั้วไฟฟ้าอ้างอิงซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ และมีขั้วไฟฟ้าช่วยเป็นสแตนเลสสตีล มียางซิลิโคนหนา 1 mm เป็นช่องว่างในเซลล์ พื้นที่ของขั้วไฟฟ้าในเซลล์ประมาณ 0.6 cm^2 ระหว่างการตรวจวัดโพลีเซลล์จะอยู่ที่อุณหภูมิห้อง ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) คอลัมน์ Intertsil C4 ใช้สำหรับการแยก SAs 0.1 M สารละลายฟอสเฟต (pH 3.0) : ACN (80:20; v/v) ใช้เป็นเฟดเคลื่อนที่สำหรับการทดลอง FIA และตัวชะในระบบ HPLC

การเตรียมไข่ตัวอย่าง

วิธีการนี้มีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่น้อยมาก ซึ่งตัวอย่าง 0.2 g ใส่ในหลอดไมโครเซนติฟิวขนาด 1.5 mL และทำให้เป็นเนื้อเดียวกันกับ 0.4 mL ของ 10% (v/v) สารละลายกรดเพอคลอริก (ในน้ำ) ด้วยเครื่องผสมสารให้เป็นเนื้อเดียวกันเป็นเวลา 1 นาที หลอดไมโครเซนติฟิวนี้จะนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 6000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 3 นาที แบ่งสารละลายในส่วนที่ใสมา 0.3 mL ใส่ลงในหลอดกรองของ Ultrafree-MC/PL จากนั้นเซนติฟิวที่ 6000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที สารละลาย $20 \mu\text{L}$ ที่ได้จากการกรองจะฉีดเข้าสู่ระบบ HPLC

การหาค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืน

การกลับคืนของ SAs ตรวจวัดจากไข่ที่เป็นแบล็ก (ไข่ที่ได้รับจากชาวบ้านที่ไม่ได้ฉีดยาปฏิชีวนะให้กับไก่) 3 ตัวอย่าง ซึ่งตัวอย่างไข่ให้น้ำหนัก 1.0 g และเดิมสารมาตรฐานผสมความเข้มข้น 5 10 และ

15 ppm ตามลำดับ จากนั้นแบ่งไข่อ้อยอย่างน้ำหนัก 0.2 g ที่ผ่านการผสมให้เข้ากันแล้วใส่ลงในหลอดไมโครเซนติฟิวขนาด 1.5 mL และผสมให้เข้ากับ 0.4 mL ของ 10% (v/v) สารละลายกรดเพอคลอริก (ในน้ำ) ด้วยเครื่องผสมแบบพิเศษเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นทำการเตรียมตามขั้นตอนการเตรียมไข่อ้อย

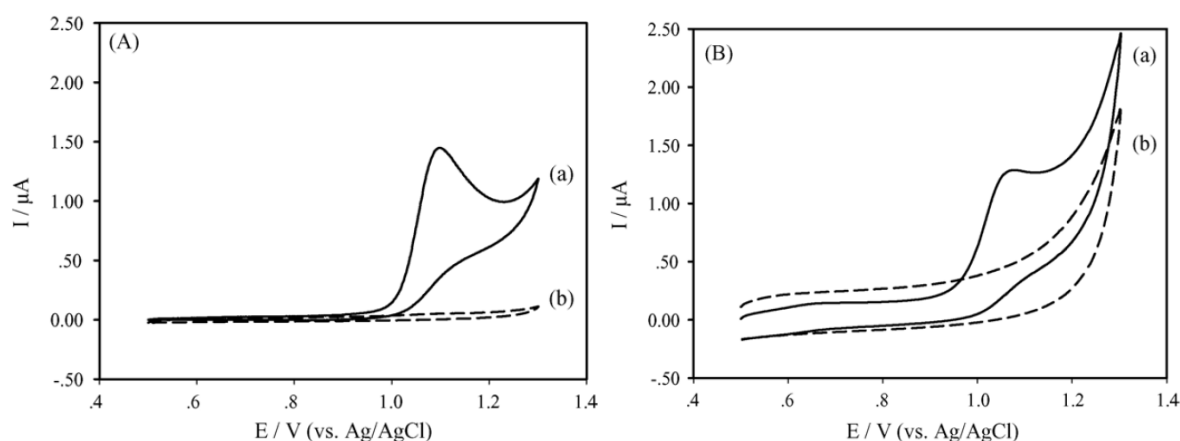
ผลการทดลองและการวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาผลกระทบจาก pH

การทดลองเบื้องต้นของพฤติกรรมทางเคมีไฟฟ้าของทั้ง 4 SAs ได้รับการตรวจวัดบนขั้วไฟฟ้า BDD ใน 0.1 M สารละลายฟอสเฟต จาก 2.0 ถึง 7.0 ด้วยไซคลิกโวลแทมโมแกรมพบว่าการเปลี่ยนแปลง pH ของฟอสเฟตมีผลต่อกระแสออกซิเดชันฟิค สัญญาณสูงสุดของแอนดิก SAs ได้รับที่ pH 3 ดังนั้น pH 3 จะได้รับเลือกเป็น pH ที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดต่อไป

ไซคลิกโวลแทมเมทรี

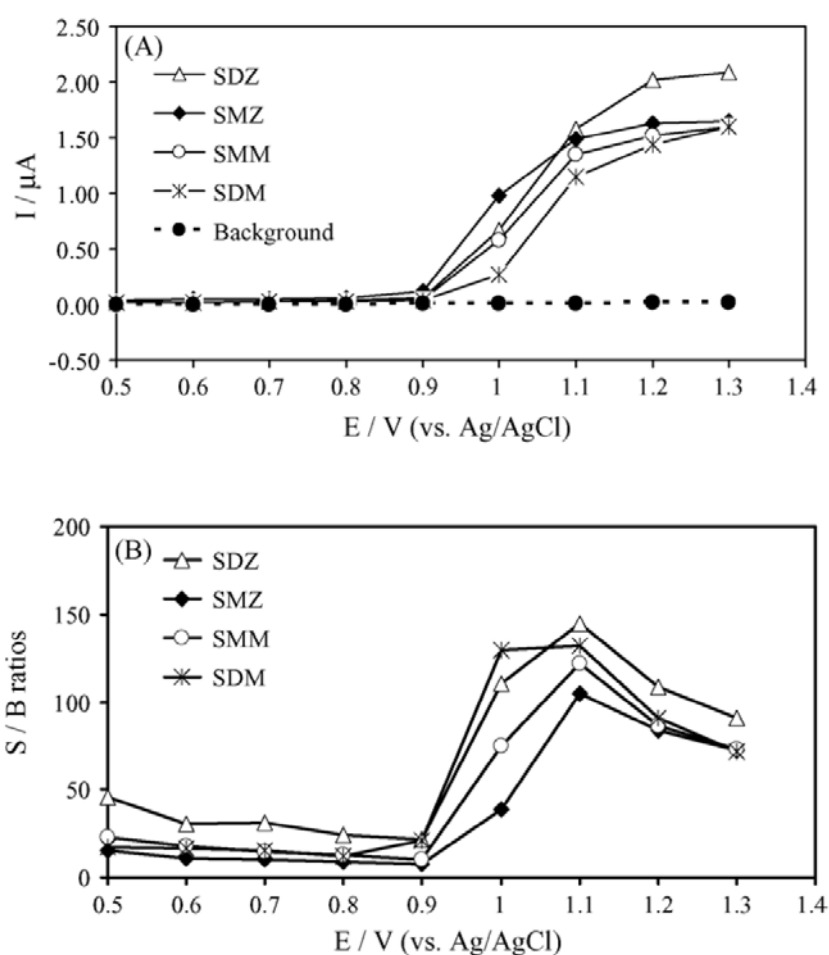
รูปที่ 2A และ B แสดงไซคลิกโวลแทมโมแกรมสำหรับ 50 μM SDM ร่วมกันกับโวลแทมโมแกรมของการตอบสนองพื้นหลังใน 0.1 M สารละลายฟอสเฟต (pH 3.0) ที่ขั้วไฟฟ้า BDD และ GC พบว่ากระแสพื้นหลังของขั้วไฟฟ้า GC สูงกว่าถึง 10 เท่าจากขั้วไฟฟ้า BDD และขั้วไฟฟ้า BDD ได้แสดงฟิสิกออกซิเดชันอย่างชัดเจนกว่าขั้วไฟฟ้า GC ที่ 1100 mV เทียบกับซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ และไม่พบฟิสิกแคโทดิกภายในช่วงศักย์ไฟฟ้าที่แสกน (+500 ถึง +1300 mV)



รูปที่ 2 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมสำหรับขั้วไฟฟ้า (A) BDD และ (B) GC เทียบกับซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ใน 50 mM SDM ใน 0.1 M สารละลายฟอสเฟต pH 3.0 (a) และ 0.1 M สารละลายฟอสเฟต pH 3.0 (b) ที่อัตราการสแกน 50 mV s⁻¹ พื้นที่ขั้วไฟฟ้าอยู่ที่ 0.07 cm²

FIA ร่วมกับการตรวจวัดแอมเพอร์โรเมตริก

ศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดแอมเพอร์โรเมตริกใน FIA ศึกษาจากผลไฮโดรไดนามิกของ SAs รูปที่ 3 ได้แสดงไฮโดรไดนามิกโวลแทมเมตริก I-E เคอร์ฟที่ได้รับบนขั้วไฟฟ้า BDD ด้วยการฉีด 20 μL ของ 10 ppm ในแต่ละ SA ใน 0.1 M สารละลายเฟสเฟด (pH 3.0) : ACN (80:20; v/v) เป็นสารละลายนำพา แต่ละข้อมูลได้จากค่าเฉลี่ยในการฉีด 4 ครั้ง สัดส่วน S/B ที่คำนวณจากรูป 3A ของในแต่ละศักย์ไฟฟ้าได้แสดงผลในรูปที่ 3B พบว่าสัดส่วน S/B สูงสุดอยู่ที่ 1100 mV ดังนั้นศักย์ไฟฟ้านี้จะใช้สำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยการตรวจวัดทางแอมเพอร์โรเมตริกในระบบ HPLC

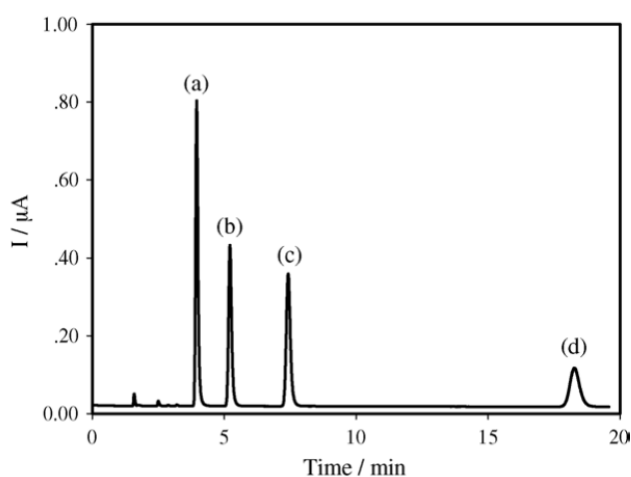


รูปที่ 3 ผลไฮโดรไดนามิกโวลแทมเมตริกของ 10 ppm แต่ละ SA กระแสที่เฉลี่ยได้จากการฉีด ($n=4$) ของ (A) พื้นหลัง (0.1M สารละลายฟอสเฟต (pH 3.0) : ACN (80:20; v/v)) SDZ, SMZ, SMM และ SDM สารละลายฟอสเฟตใช้เป็นตัวพา อัตราการไหลเป็น 1 mL min^{-1} ไฮโดรไดนามิกโวลแทมโมแกรมของอัตราส่วนสัญญาณต่อพื้นหลัง

การวิเคราะห์ HPLC ด้วยการตรวจวัดแอมเพอร์โรเมตริก

มีงานวิจัยที่ตีพิมพ์ก่อนหน้านี้ได้ใช้ระบบ HPLC แบบรีเวอร์สเฟสสำหรับวิเคราะห์ SAs ด้วยคอลัมน์ C18 หรือ C8 ทั้ง C18 and C8 ต้องการปริมาตรของตัวชะที่เป็นเฟสเคลื่อนที่ในปริมาณมาก การแยกในงานวิจัยนี้ได้นำคอลัมน์ C4 มาใช้ ซึ่งจะช่วยลดปริมาตรตัวชะ และจัดได้ว่าให้สัญญาณที่สูงและสามารถแยกได้อย่างชัดเจน

ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ควบคู่กับการตรวจวัดแอมเพอร์โรเมตริกบนขั้วไฟฟ้า BDD เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้เลือกที่ pH 3.0 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานของทั้ง 4 SAs ใน 0.1 M สารละลายฟอสเฟต (pH 3.0) : ACN (80:20; v/v) ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 4 เวลาที่เรตินของทั้ง 4 SAs; SDZ SMZ SMM และ SDM ที่ความเข้มข้น $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ เป็น 4.0 5.2 7.5 และ 18.0 นาที ตามลำดับ ดังนั้น 20 นาที ที่ต้องการสำหรับการแยกที่สมบูรณ์ของทั้ง 4 SAs



รูปที่ 4 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานผสมที่ประกอบด้วย 10 ppm ของ (a) SDZ; (b) SMZ; (c) SMM; และ (d) SDM บนขั้วไฟฟ้า BDD เฟสเคลื่อนที่ที่เป็น 0.1 M สารละลายฟอสเฟต (pH 3.0) : ACN (80:20; v/v) ปริมาตรที่ฉีด $20 \mu\text{L}$ และอัตราการไหลที่ 1 mL min^{-1}

คุณลักษณะในวิธีการวิเคราะห์

ลักษณะช่วงที่เป็นเส้นตรงของ SAs บนขั้วไฟฟ้า BDD ได้แสดงดังในตารางที่ 1 ชัดจำกัดในการตรวจวัด (DL) และขีดจำกัดเชิงปริมาณ (QL) สำหรับ 4 SAs ภายใต้สภาวะนี้จะได้ $DL = 3 S_B/b$ และ $QL = 10 S_B/b$ เมื่อ S_B คือส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากค่ากลางใน 10 สัญญาณของแบล็ก และ b คือความชันของเส้นตรงในเคอร์ฟที่วิเคราะห์ได้ จากส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S_B) ความชันเส้นตรงของเคอร์ฟที่วิเคราะห์ (b) สามารถคำนวณค่า DL และ QL แสดงผลในตารางที่ 1 การตอบสนองของกระแส SAs ในช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงของ SDZ SMZ และ SMM อยู่ที่ 0.05–100 ppm ส่วน SDM เป็น 0.1–300 ppm ผลที่ได้นี้ชี้ให้เห็นว่าวิธีการวิเคราะห์นี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้สำหรับตรวจวัด 4 SAs ในไข่ตัวอย่างได้

ตารางที่ 1

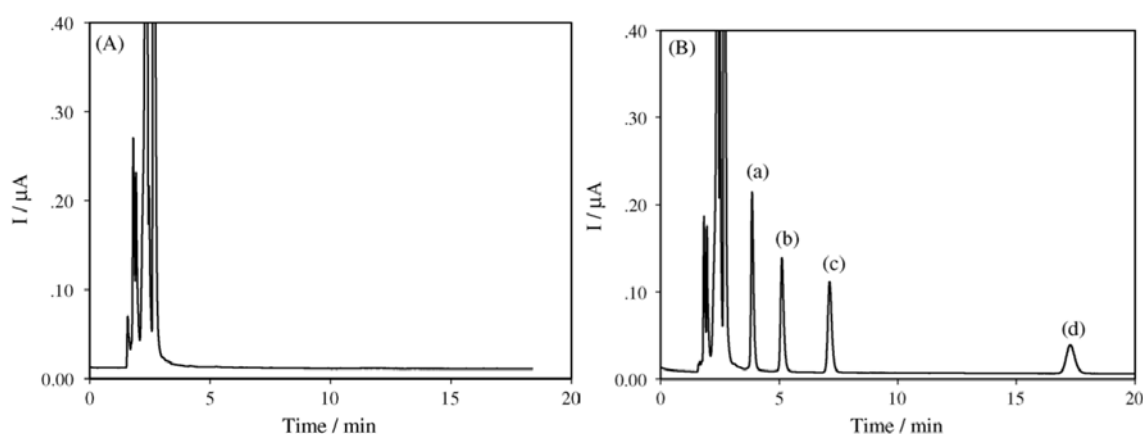
Linear range (LR), detection limit (DL), slope (b), and quantitative limit (QL) of SDZ, SMZ, SMM, and SDM

SAs	LR (ppm)	Equation $y = bx + a$	R^2	DL (ppm)	QL (ppm)
SDZ	0.050–100	$y = 0.2922x + 0.6232$	0.9905	0.011	0.037
SMZ	0.050–100	$y = 0.2915x + 0.1610$	0.9974	0.012	0.040
SMM	0.050–100	$y = 0.2939x + 0.3084$	0.9959	0.011	0.037
SDM	0.100–300	$y = 0.2898x + 0.6433$	0.9910	0.032	0.107

การประยุกต์ในการวิเคราะห์

ไข่ตัวอย่างได้รับการวิเคราะห์ด้วยระบบ HPLC/EC ผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 5 พบว่าโครมาโทแกรมที่ได้จากคอลัมน์ C4 ปรากฏพีคที่สามารถแยกอย่างชัดเจน ใช้เวลาในการวิเคราะห์ที่สั้นด้วยเฟสเคลื่อนที่เป็น 0.1 M สารละลายฟอสเฟต (pH 3.0) : ACN (80:20; v/v) ในการทดลองของตัวอย่างจริงได้ทำซ้ำ 3 ครั้ง ค่าการกลับคืนของ 4 SAs ตรวจสอบได้โดยฉีดไข่ตัวอย่างแบบลบล้างที่ได้รับการเติมสารมาตรฐาน ค่าการกลับคืนและ %RSD ที่ 3 ความต่างของความเข้มข้น SDZ SMD SMM และ SDM ได้แสดงผลดังตารางที่ 2 วิธีการนี้จัดได้ว่าใช้น้ำน้อยและมีประสิทธิภาพต่อการทำให้ SAs บริสุทธิ์สูงส่งผลให้ได้ผลของการกลับคืนสูง (ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การกลับคืนพบได้ระหว่าง 90.0 - 107.7) และค่าการวัดซ้ำ (%R.S.D. < 4.9% and S.D. < ± 4.7)

24



รูปที่ 5 โครมาโทแกรมของ HPLC-EC ที่ได้จากไข่ตัวอย่าง: (A) ไข่ตัวอย่างแบบลบล้าง และ (B) ตัวอย่างไข่ที่เติม 10 ppm ของ (a) SDZ; (b) SMZ; (c) SMM และ (d) SDM ที่ฉีดไฟฟ้า SDD เฟสเคลื่อนที่เป็น 0.1 M สารละลายฟอสเฟต (pH 3.0) : ACN (80:20; v/v) ปริมาตรที่ฉีด 20 μ L และอัตราการไหลที่ 1 mL min^{-1}

ตารางที่ 2

Analysis four SAs in egg samples ($n = 3$)

SAs	Mean of percentage recovery ($\bar{x} \pm S.D.$)			%R.S.D.		
	5 ppm	10 ppm	15 ppm	5 ppm	10 ppm	15 ppm
SDZ	103.0 $\pm$ 4.7	96.9 $\pm$ 1.9	93.3 $\pm$ 1.6	4.5	2.0	1.7
SMZ	107.7 $\pm$ 3.8	98.8 $\pm$ 2.3	95.3 $\pm$ 2.1	3.5	2.3	2.2
SMM	103.2 $\pm$ 2.9	94.9 $\pm$ 2.3	91.3 $\pm$ 1.9	2.8	2.4	2.1
SDM	94.7 $\pm$ 1.2	90.0 $\pm$ 2.5	95.0 $\pm$ 4.7	1.3	2.8	4.9

สรุปผลการวิจัย

ขั้วไฟฟ้า BDD ได้แสดงประสิทธิภาพที่ดีเยี่ยมสำหรับการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าของ SAs (SDZ SMZ SMM และ SDM) ในไข่ตัวอย่าง สักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมจากไฮโดรไดนามิกโวลแทมโมแกรมพบที่ 1100 mV เทียบกับซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ที่เลือกสำหรับระบบ HPLC-แอมเพอร์โรเมตริก ช่วงเส้นตรง และขีดต่ำสุดในการตรวจวัดและขีดต่ำสุดในการตรวจวัดเชิงปริมาณ ได้รับผลอย่างดียิ่ง วิธีกรณีนี้อย่างสามารถประยุกต์นำไปใช้ตรวจวัด SAs ในตัวอย่างไข่จริงได้ และพบว่าได้เปอร์เซ็นต์การกลับคืนอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้

เอกสารอ้างอิง

Anchana Preechaworapun, Suchada Chuanuwatanakul, Yasuaki Einaga, Kate Grudpan, Shoji Motomizu, and Orawon Chailapakul, "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.