



## การตรวจวัดระดับ Nitrofurans ในเนื้อกุ้งด้วยเทคนิค LC-MS/MS

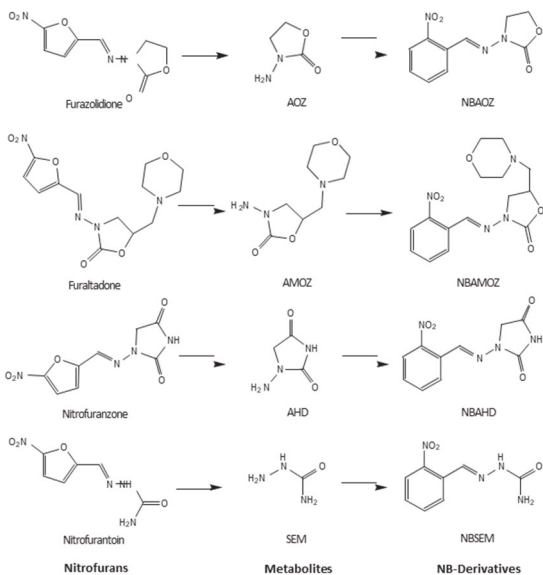
ผู้จัดทำ: ฤทธิชัย เจริญทรัพย์ยานันต์ , จิตนภา วรนิติกุล, ทศพล อนุกุลวิทยา

สารในกลุ่มไนโตรฟูแรน (Nitrofurans) ได้แก่ Furaldione, Furaltadone, Nitrofurazone และ Nitrofurantoin เป็นยาปฏิชีวนะในสัตว์ ซึ่งถูกห้ามใช้ในหลายประเทศเนื่องจากเป็นสารที่ตกค้างและเป็นอันตรายต่อมนุษย์ โดยเมื่อเข้าสู่ร่างกายของสัตว์จะเข้าสู่กระบวนการ Metabolism อย่างรวดเร็ว ดังนั้นการตรวจวิเคราะห์ Nitrofurans ในเนื้อสัตว์จึงอาศัยการตรวจสอบสาร Metabolites ที่พบในเนื้อเยื่อแทน ได้แก่

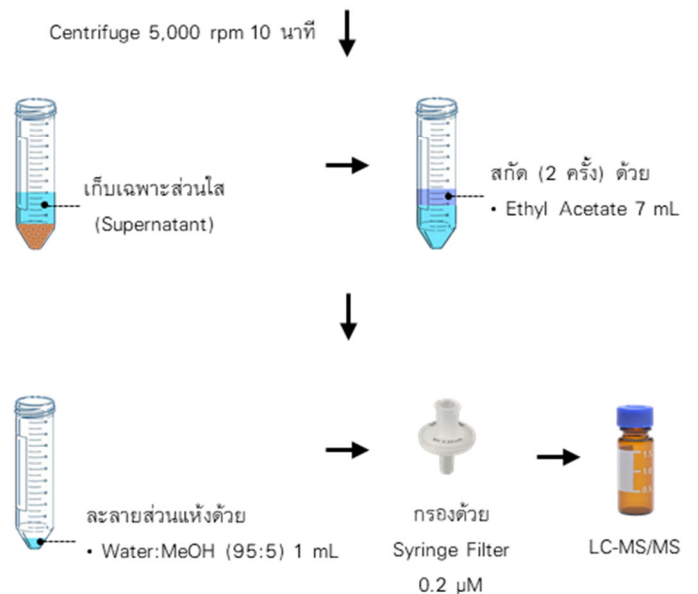
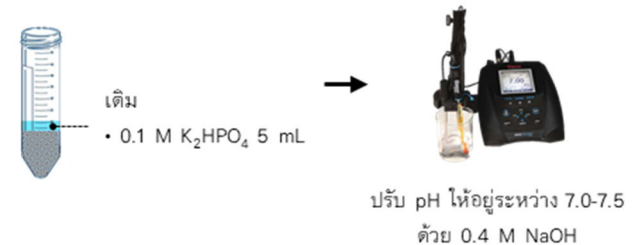
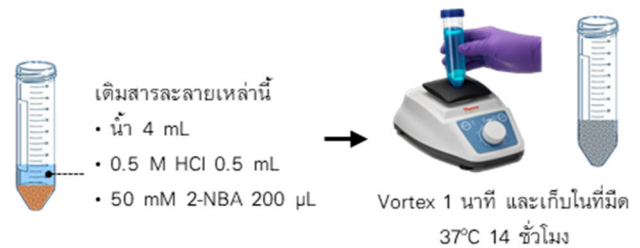
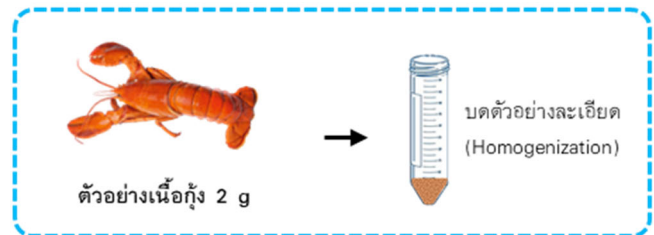
1. 3-Amino-2-oxazolidinone (AOZ),
2. 3-Amino-5-morpholinomethyl-2-oxazolidinone (AMOZ)
3. Semi-carbazide (SEM)
4. 1-Aminohydantoin (AHD)

สารเหล่านี้สามารถสกัดออกจากเนื้อสัตว์ได้ด้วยการทำไฮโดรไลซิสกับสารละลายกรด และ 2-Nitrobenzylaldehyde (2-NBA) ซึ่งจะก่อให้เกิดเป็นสารอนุพันธ์ในรูป Nitrobenzyl-(NB-) [รูปที่ 1] จากความเป็นพิษของสารนี้ ทำให้จำเป็นต้องมีการควบคุมปริมาณการปนเปื้อนเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค จึงนำมาสู่การพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์ ทหาระดับปริมาณสารตกค้างในเนื้อสัตว์ โดยในบทความนี้จะแสดงถึงการใช้นิเทศนิต LC-MS/MS ชนิด Triple Quadrupole ในการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ Nitrofurantoin Metabolites ในตัวอย่างเนื้อกุ้ง

### การเตรียมตัวอย่าง



รูปที่ 1 แสดงไนโตรฟูแรนส์และเมตาบอไลต์



## เครื่องมือและพารามิเตอร์ต่างๆ

- Thermo Scientific™ Ultimate 3000™ UHPLC
- Hypersil Gold™ (5 µm, 2.1 x 100 mm) Column
- Thermo Scientific™ TSQ Fortis™ Mass Spectrometer

<b>Column Temp.</b>	<b>Ambient</b>		
<b>Injection Vol.</b>	20 µL		
<b>Flow Rate</b>	250 µL/min		
<b>Mobile Phases</b>	A: 0.5 mM Ammonium Acetate in Water B: Methanol		
<b>Gradient</b>	Time(min)	%A	%B
	0.0	80	20
	8.5	50	50
	9.5	50	50
	10	80	20
	15	80	20

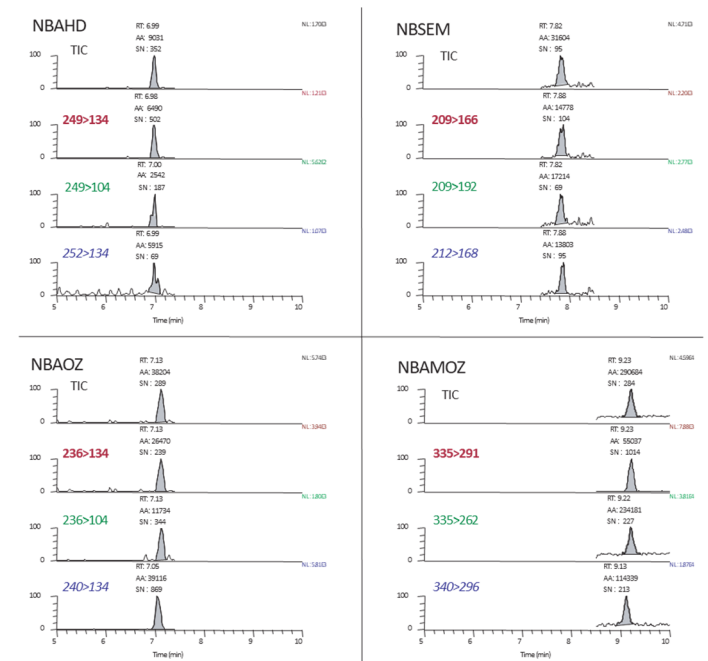
Compound	Precursor (m/z)	Targeted Ion (m/z)	Confirming Ion (m/z)
NBAOZ	236.05	104	134
d <sub>4</sub> -NBAOZ (IS)	240.04	134	-
NBAHD	249.04	104	134
<sup>13</sup> C <sub>3</sub> -NBAHD (IS)	252.04	134	-
NBSEM	209.00	166	192
( <sup>13</sup> C, <sup>15</sup> N <sub>2</sub> )-NBSEM (IS)	212.05	168	-
NBAMOZ	335.09	291	262
d <sub>5</sub> -NBAMOZ	340.13	296	-

## ผลการทดสอบ

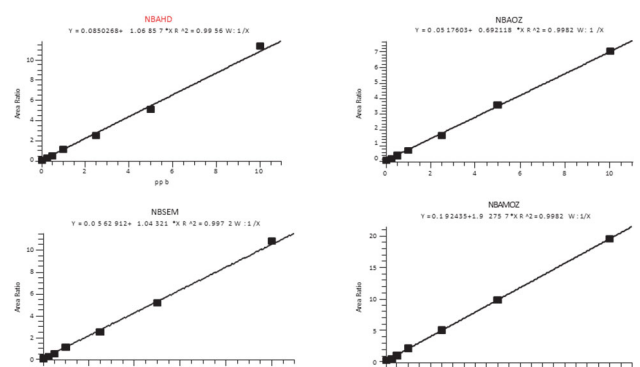
จากรูปที่ 2 แสดงถึง Chromatogram ของตัวอย่างเนื้อกุ้งแดงที่มี Nitrofurans Metabolites ความเข้มข้น 0.05 µg/kg แสดงให้เห็นว่า Nitrofurans Metabolites ทั้ง 4 ชนิดถูกตรวจพบนั้นมีคุณภาพของสัญญาณที่ดี มีค่า Signal-to-Noise Ratio ที่สูง นอกจากนี้ค่า Limit of Quantification (LOQ) ของ Nitrofurans Metabolites ที่วิเคราะห์โดย TSQ Fortis™ ยังอยู่ในช่วงที่ต่ำกว่าเกณฑ์การตกค้างที่กำหนดโดยกรมประมง (Residue Monitoring Plan, RMP) ที่ 0.5 µg/kg

รูปที่ 3 แสดงการสร้างกราฟมาตรฐาน โดยมีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.025 ถึง 10.0 ng/mL ซึ่งได้กราฟที่มีค่า Linearity ที่ดี โดย Nitrofurans Metabolites ทุกตัวมีค่า R<sup>2</sup> > 0.995

วิธีการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์นี้มีความถูกต้อง แม่นยำ และน่าเชื่อถือ โดยให้ค่า Recovery อยู่ในช่วง 79 ถึง 110% และมีค่า SD อยู่ที่ 3 ถึง 22%



รูปที่ 2 Chromatogram ของตัวอย่างเนื้อกุ้งแดงที่มี Nitrofurans Metabolites และ Internal Standard ความเข้มข้น 0.05 µg/kg



รูปที่ 3 กราฟมาตรฐานของสาร Nitrofurans Metabolites ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.025 ถึง 10 ng/mL

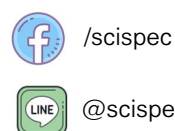
## เอกสารอ้างอิง

- [1] US FDA: Detection of Nitrofurans Metabolites in Shrimp, <http://www.cfsan.fda.gov/~comm/methnf.html>
- [2] A. Leitner et al., Journal of Chromatography A, 939 (2001) pp 49-58.

ติดตามแอปพลิเคชันอื่น ๆ ได้ที่ <https://www.scispec.co.th>



บริษัท ซายน์ สเปค จำกัด  
10 กาญจนภิเษก ซอย 0010 แยกสอง  
เขตบางแค กทม. 10160  
โทร 02-454-8533



**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC