

การออกแบบและสร้างเซลล์ตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าสำหรับการวิเคราะห์ยาปฏิชีวนะ
กลุ่มเตตราซัยคลินด้วยเทคนิคโพลินิเจกชันอะนาไลซิสร่วมกับเทคนิคแอมเพอโรเมทรี
ปริญา มาสวัสดิ์

**Design and Fabrication of Electrochemical Flow-Through Cell for
the Determination of Tetracycline Antibiotics Using FIA-Amperometry**

Prinya Masawat

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40000

Corresponding author. E-mail: prinyam@nu.ac.th

บทคัดย่อ

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ออกแบบและสร้างเซลล์ตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า สำหรับการวิเคราะห์ยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลิน (เตตราซัยคลิน คลอเตตราซัยคลิน คอกซีซัยคลิน) ด้วยเทคนิคโพลินิเจกชันอะนาไลซิสร่วมกับเทคนิคแอมเพอโรเมทรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้าใช้งานเป็นทอง (Au) ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงเป็นซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์ (Ag/AgCl) และใช้ขั้วไฟฟ้าช่วยเป็นแพลทินัม (Pt) ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลิน คือการให้ศักย์ไฟฟ้าคงที่ที่ 840 มิลลิโวลต์ เทียบกับขั้วไฟฟ้าอ้างอิงและใช้อัตราการไหลเป็น 0.4 มิลลิลิตรต่อนาที โดยมีสารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วยเป็น 0.1 โมลาร์ KH_2PO_4 ที่มี pH = 2 จากการทดลองพบว่าช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงอยู่ระหว่าง 10-30 มิลลิกรัมต่อลิตรสำหรับเตตราซัยคลินและคอกซีซัยคลิน 10-60 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับคลอเตตราซัยคลิน โดยมีค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเป็น 6.6-9.0 มิลลิกรัมต่อลิตร วิธีการนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้สำหรับการตรวจวัดยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลิน ในตัวอย่างยาเตรียมโดยมีร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 92.2-106.0

คำสำคัญ: เซลล์ตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า ยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลิน โพลินิเจกชันอะนาไลซิส
แอมเพอโรเมทรี

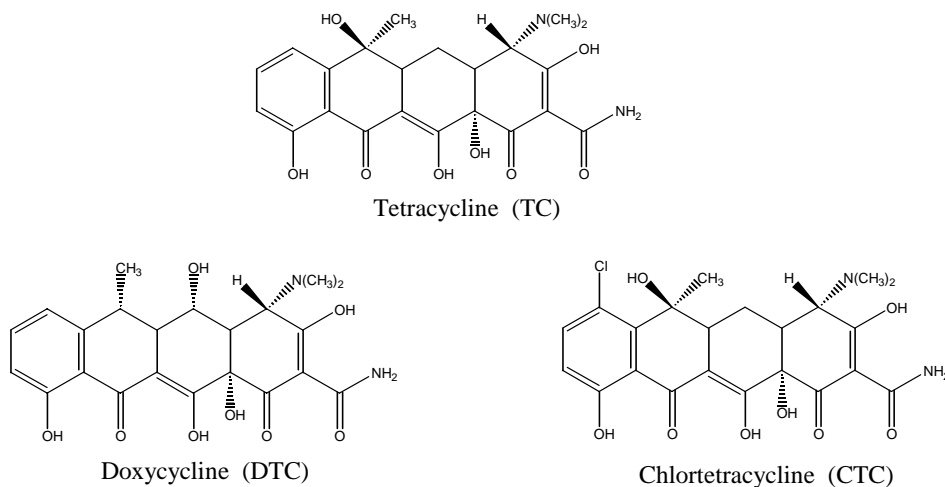
Abstract

The home-made electrochemical flow-through cell was designed and fabricated for the determination of tetracycline antibiotics (tetracycline, chlortetracycline, and doxycycline) in pharmaceutical preparation using FIA-amperometry. A gold disc electrode, a Ag/AgCl electrode and a platinum electrode were used as the working, reference and auxiliary electrodes, respectively. The optimum conditions used potassium dihydrogen phosphate solution, pH = 2, as a supporting electrolyte, were the flow rate of 0.4 mL/min and the constant applied potential of 840 mV versus Ag/AgCl. The linear calibration curves over the range of 10-30 mg/L for tetracycline and doxycycline, 10-60 mg/L for chlortetracycline were obtained. The detection limit was 6.6-9.0 mg/L. The proposed method has been successfully applied to the determination of tetracycline, chlortetracycline, and doxycycline in commercial pharmaceutical formulations and the percentage recoveries were found to be 92.2-106.0.

Keywords: Electrochemical flow-through cell, Tetracycline antibiotics, FIA-amperometry

บทนำ

เตตราซัยคลินและอนุพันธ์เช่น คลอเตตราซัยคลินและดอกซีซัยคลินเป็นยาปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ยาปฏิชีวนะดังกล่าวมีโครงสร้างตามรูป 1



รูป 1 โครงสร้างทางเคมีของเตตราซัยคลิน คลอเตตราซัยคลินและดอกซีซัยคลิน (Yang *et al.*, 2005)

ในปัจจุบันมีการใช้ยาปฏิชีวนะกลุ่มนี้กันอย่างแพร่หลายในวงการแพทย์ โดยจะใช้เพื่อรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับแบคทีเรียต่าง ๆ และใช้เพื่อชะลอการเน่าเปื่อยของเนื้อสัตว์ ซึ่งปริมาณยาที่ตกค้างอยู่ในกล้ามเนื้อหรือนมของสัตว์ อาจทำให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพของมนุษย์ได้ถ้าได้รับเข้าสู่ร่างกาย ในปริมาณที่มากกว่าเกณฑ์ที่กำหนด ซึ่งอาจมีพิษและฤทธิ์แทรกซ้อนเกี่ยวกับระบบต่าง ๆ ของร่างกาย (บุญเจือ ธรณินทร์, 2522) เช่น ระบบทางเดินอาหาร มีผลต่อกระดูและฟัน และเกิดผลกระทบต่อตับและไตได้ จึงมีการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์หายาปฏิชีวนะดังกล่าวด้วยเทคนิคต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็น UV-visible spectro-photometry (Gong, Z. and Zhang, Z. 1997; Liu *et al.*, 1997; Poiger, H. and Schlatter, C. 1976), chemiluminometry (Goicoechea, H.C. and Olivieri, A.C. 1999; Halvatzis *et al.*, 1993), liquid-chromatography (Croubels *et al.*, 1995) และ electrochemistry (Paraham *et al.*, 2003; Townshend *et al.*, 2005; Wangfuengkanagul *et al.*, 2004) ซึ่งเทคนิคทางเคมีไฟฟ้านี้มีจุดเด่นกว่าเทคนิคอื่น ๆ ในเรื่องของความง่ายในการวิเคราะห์ที่ค่อนข้างต่ำ วิธีการวิเคราะห์ไม่ยุ่งยากซับซ้อน และเมื่อประยุกต์ใช้ร่วมกับเทคนิค FIA ทำให้วิเคราะห์ตัวอย่างได้รวดเร็ว แม่นยำและต่อเนื่อง รวมทั้งใช้ปริมาณสารตัวอย่างและรีเอเจนต์ในปริมาณที่น้อย ในการศึกษานี้จึงสนใจการวิเคราะห์ยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลินในยาแคปซูลตัวอย่างด้วยเทคนิค FIA-amperometry โดยใช้ Electrochemical Flow-Through Cell ที่ออกแบบและสร้างขึ้นเอง ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการวิเคราะห์ยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลินด้วยเทคนิคอื่น พบว่าวิธีการทดลองนี้มีค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ที่ต่ำกว่า เนื่องจากไม่ต้องนำขั้วไฟฟ้าไปโคปด้วยโบรอนหรือผ่านการแอนโอดซ์ (Wangfuengkanagul *et al.*, 2004) อีกทั้งวัสดุต่าง ๆ ที่ใช้ในการสร้าง Electrochemical Flow-Through Cell เป็นวัสดุที่หาง่ายและมีราคาถูก

อุปกรณ์ สารเคมีและวิธีการทดลอง

1. สารเคมีและอุปกรณ์

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้สารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วยเป็น 0.1 M KH_2PO_4 ที่มี pH=2 เตรียมได้โดยการชั่ง KH_2PO_4 มา 13.609 กรัม ละลายและปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร ในน้ำปราศจากไอออน หลังจากนั้นปรับให้มี pH =2 ด้วย 85% H_3PO_4

การเตรียมสต็อกของสารละลายมาตรฐานเตตราซัยคลิน คลอเตตราซัยคลินและดอกซีซัยคลิน ให้มีความเข้มข้น 500 มิลลิลิตรเตรียมโดยการชั่งเตตราซัยคลิน 0.025 กรัม มาละลายและปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วย

การศึกษากิจกรรมของค่าศักย์ไฟฟ้าที่มีผลต่อสัญญาณการวิเคราะห์ยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลิน จะใช้สารละลายมาตรฐานเตตราซัยคลินที่มีความเข้มข้น 60, 90, 120, 150 และ 180 มิลลิกรัม

ต่อลิตร โดยการปิเปตจากสต็อกของสารละลายมาตรฐานเตตราซัยคลินมา 1.2, 1.8, 2.4, 3.0 และ 3.6 มิลลิกรัม แล้วปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิกรัม ด้วยสารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วย

การศึกษาอิทธิพลของอัตราการไหลที่มีผลต่อสัญญาณการวิเคราะห์ยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลิน ได้ใช้สารละลายมาตรฐานเตตราซัยคลินที่มีความเข้มข้น 60, 90, 120, 150 และ 180 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยการปิเปตจากสต็อกของสารละลายมาตรฐานเตตราซัยคลินมา 1.2, 1.8, 2.4, 3.0 และ 3.6 มิลลิกรัม แล้วปรับปริมาตรเป็น 10.0 มิลลิกรัม ด้วยสารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วย

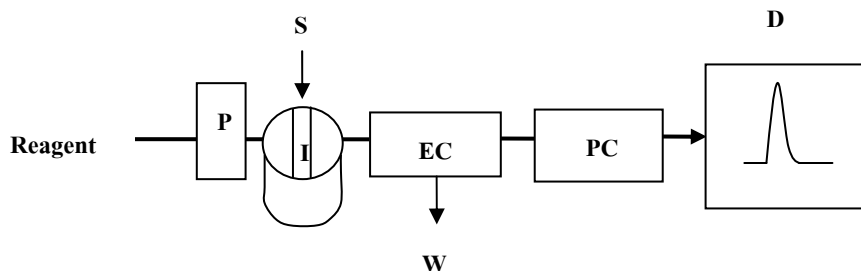
การศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงและค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด ได้ใช้สารละลายมาตรฐานเตตราซัยคลินที่มีความเข้มข้น 10, 20, 30, 60, 90, 120, 150, 300, 400 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยการปิเปตจากสต็อกของสารละลายมาตรฐานเตตราซัยคลินมา 0.2, 0.4, 0.6, 1.2, 1.8, 2.4, 3.0, 6.0, 8.0 และ 10.0 มิลลิกรัม แล้วปรับปริมาตรเป็น 10.0 มิลลิกรัม ด้วยสารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วย (ทำการทดลองเช่นเดียวกันกับสารละลายมาตรฐานคลอเตตราซัยคลินและดอกซีซัยคลิน)

การศึกษาหาปริมาณยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลินในยาตัวอย่างนั้นจะละลายยาตัวอย่างในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วยและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิกรัม หลังจากนั้นปิเปตมา 0.1, 0.2 และ 0.3 มิลลิกรัม สำหรับยาเตตราซัยคลิน คลอเตตราซัยคลินและดอกซีซัยคลินตามลำดับ แล้วปรับปริมาตรเป็น 10.0 มิลลิกรัม ด้วยสารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วย โดยทำการทดลองตัวอย่างละ 3 แคลปซูลและแคลปซูลละ 3 ครั้ง

ในการทดลองครั้งนี้จะเก็บสารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด ในขวดสีชาและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เนื่องจากสารกลุ่มเตตราซัยคลินจะสลายตัวอย่างรวดเร็วและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลคล้ำ ถ้าถูกแสงมาก

2. ระบบ FIA-amperometry

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการวิเคราะห์ยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลินโดยใช้ระบบ FIA-amperometry ร่วมกับ Electrochemical flow-through cell ที่ได้ออกแบบและสร้างขึ้น ซึ่งระบบตามรูป 2 จะประกอบไปด้วย Peristaltic pump (Masterflex C/L™, USA) Injection valve ที่มี Sample loop เป็น 100 ไมโครลิตร (UPCHURCH SCIENTIFIC V-451, Oak Harbor, WA) Thin-layer Electrochemical Flow-Through Cell และ Electrochemical detector ที่ออกแบบและสร้างขึ้นเอง โดยมี 0.1 M KH_2PO_4 ที่มี pH=2 เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วย ซึ่งไหลภายในท่อที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.0559 และ 0.0310 นิ้ว (Tygon tubing : COLE-PARMER, USA) โดยกำหนดให้มีอัตราการไหล 0.4 มิลลิกรัมต่อนาที



รูป 2 FIA manifold: P, peristaltic pump; S, sample or standard ; I, injection valve ; EC, home-made electrochemical flow-through cell ; W, waste ; PC, personal computer ; D, displaying / print out device

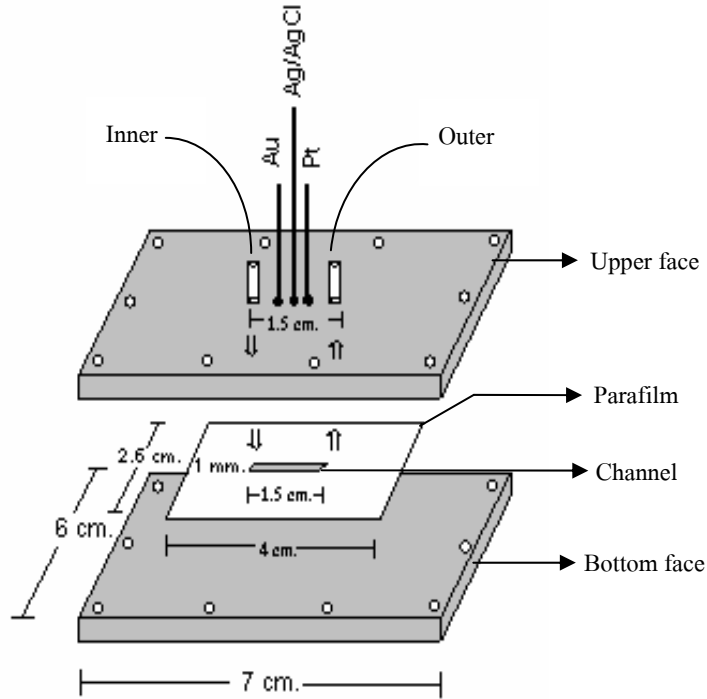
ในการทดลองครั้งนี้ได้ออกแบบและสร้าง Electrochemical flow-through cell ขึ้นเอง โดยใช้แผ่นอะกลิกขนาด 7 x 6 เซนติเมตร หนา 0.5 เซนติเมตร จำนวน 2 แผ่น และใช้แผ่นพาราฟิล์ม (Parafilm) ขนาด 4 x 2.5 เซนติเมตร ที่ออกแบบให้มีช่องสำหรับทางเดินของสาร (Flow channel) ขนาด 1.5 x 0.1 เซนติเมตร อยู่ภายใน Electrochemical flow-through cell สำหรับแผ่นอะกลิกแผ่นบนจะประกอบไปด้วยช่องสำหรับฝังขั้วไฟฟ้าใช้งาน ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงและขั้วไฟฟ้าช่วย ซึ่งจะอยู่ระหว่างช่องสำหรับสารไหล เข้า-ออกตามรูป 3 ขั้วไฟฟ้าทั้งหมดจะเป็นขั้วไฟฟ้าแบบดิสก์ (Disc electrode) ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.1 เซนติเมตร ฝังตรึงไว้กับแผ่นอะกลิก ซึ่งใช้ขั้วทอง (Au) เป็นขั้วไฟฟ้าใช้งาน ซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์ (Ag/AgCl) เป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิงและแพลทินัม (Pt) เป็นขั้วไฟฟ้าช่วย สำหรับขั้วไฟฟ้าอ้างอิงนั้นจะใช้แท่งโลหะเงิน (Ag) แล้วนำ 1 M H₂SO₄ ผสมกับ 1 M FeCl₃ หยดลงบริเวณผิวหน้าของอิเล็กโทรด ก็จะได้ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงเป็น Ag/AgCl

เมื่อนำแผ่นอะกลิกแผ่นบนและล่างมาประกบกันโดยยึดติดกันด้วยน็อตและสกรู ซึ่งมีแผ่นพาราฟิล์ม (Parafilm) เป็นฟิล์มบาง ๆ ที่มีการออกแบบให้มีช่องสำหรับการไหลของสารคั่นอยู่ระหว่างแผ่นอะกลิกบนและล่าง ในลักษณะของแซนด์วิช ตามลักษณะของ Thin - layer cell ก็จะได้ electrochemical flow-through cell ที่ใช้ในการทดลอง

3. วิธีการทดลอง

จัดเครื่องมือ FIA-amperometry ดังรูป 2 โดยกำหนดให้มีค่าศักย์ไฟฟ้า 840 มิลลิโวลต์ อัตราการไหล 0.4 มิลลิลิตรต่อนาทีและใช้สารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วยเป็น 0.1 M KH₂PO₄ ที่มี pH=2 ฉีด

สารละลายตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐานที่ประกอบไปด้วยยาปฏิชีวนะแต่ละชนิดปริมาณ 100 ไมโครลิตร เข้าสู่ระบบ FIA-amperometry จนกระทั่ง ได้ฟิคโดยสังเขป



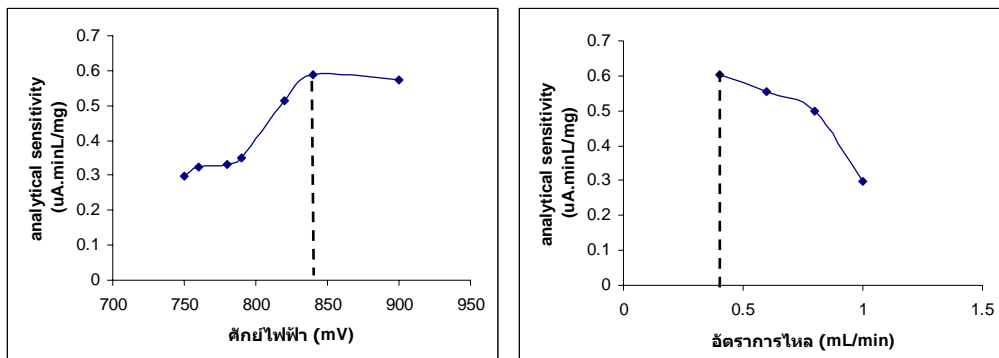
รูป 3 Home-made electrochemical flow – through cell ที่ได้ออกแบบและสร้างขึ้นเอง

ผลการทดลองและการวิจารณ์

1. การหาสถานะที่เหมาะสม

ทำการศึกษาอิทธิพลของค่าศักย์ไฟฟ้าและอัตราการไหลที่มีผลต่อสัญญาณการวิเคราะห์ยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลิน โดยการฉีดสารละลายมาตรฐานเตตราซัยคลินที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ เข้าไปในเครื่องที่ได้พัฒนาขึ้นหลังจากการวัดสัญญาณและคำนวณหาความชันจากกราฟมาตรฐาน แล้วพล็อตกราฟระหว่าง Analytical sensitivity หรือค่าความชัน (slope) กับค่าศักย์ไฟฟ้าที่ทำการศึกษา ได้ผลดังรูป 4 (ก) และเมื่อพล็อตกราฟระหว่าง Analytical sensitivity กับอัตราการไหลที่ทำการศึกษา ได้ผลดังรูป 4 (ข)

จากรูป 4 พบว่าสถานะที่เหมาะสมคือการใช้ศักย์ไฟฟ้าคงที่ที่ 840 มิลลิโวลต์ และกำหนดอัตราการไหลเป็น 0.4 มิลลิกรัมต่อนาที เนื่องจากมี Analytical sensitivity ที่สูงที่สุด



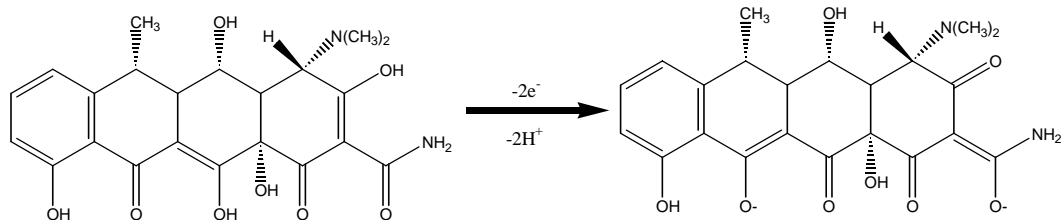
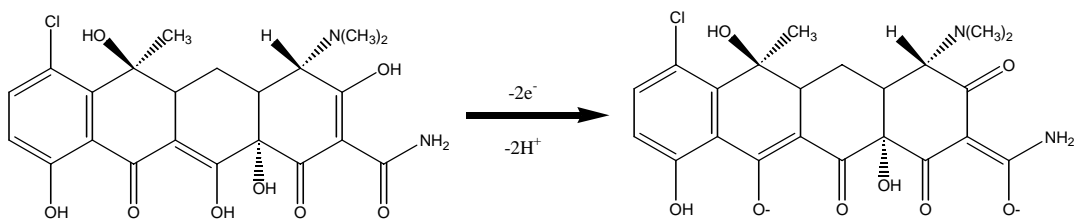
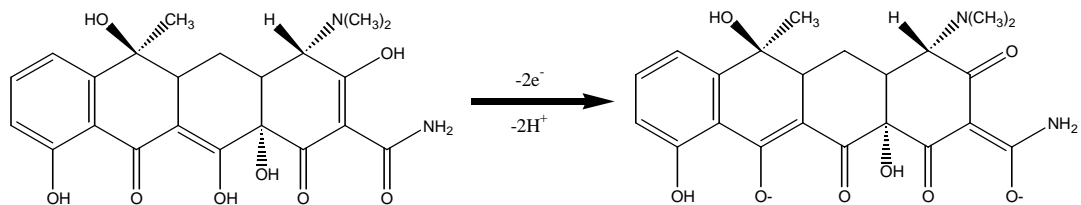
(ก)

(ข)

รูป 4 ผลจากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลิน :

(ก) การศึกษาอิทธิพลของค่าศักย์ไฟฟ้า (ข) การศึกษาอิทธิพลของอัตราการไหล

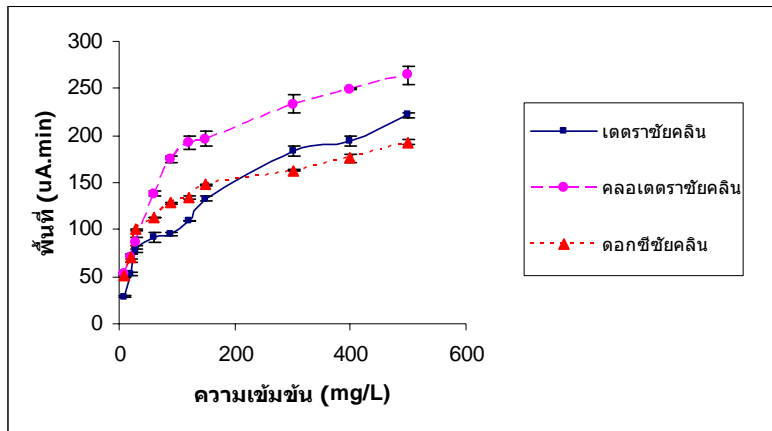
เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองดังกล่าวกับไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการศึกษา ยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินด้วยเทคนิคโวลแทมเมตรี (Palaharn *et al.*, 2003) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าใช้งานเป็นทองที่มีลักษณะเป็นขั้วไฟฟ้าหมุน (gold rotating disc electrode : Au RDE) ใช้ซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์ (Ag/AgCl) และแพลทินัม (Pt) เป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิงและขั้วไฟฟ้าช่วยตามลำดับ โดยมี 0.1 M KH_2PO_4 ที่มี pH=2 เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วย พบว่าค่าศักย์ไฟฟ้าที่ให้แก่ขั้วไฟฟ้าใช้งานทั้ง 2 เทคนิค มีความแตกต่างกัน โดยจากการทดลองด้วยเทคนิคโวลแทมเมตรีพบว่าเกิดแอนอดิกพีคซึ่งเป็นปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารละลายมาตรฐานเตตราซัยคลินที่มีกระแสสูงที่สุดที่ศักย์ไฟฟ้า 1.15 โวลต์ เมื่อเทียบกับขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl แต่ในการศึกษา ยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลินด้วยระบบแบบ FIA-amperometry จะมีค่าศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมที่ให้กับขั้วไฟฟ้าใช้งานที่ 840 มิลลิโวลต์ เมื่อเทียบกับขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl เหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากในระบบของ cyclic voltammetry เป็นระบบแบบ static cell ซึ่งสารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วยและสารตัวอย่างไม่มีการไหลอย่างต่อเนื่อง แต่การวิเคราะห์ยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลินด้วยระบบแบบ FIA-amperometry นั้น สารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วยและสารตัวอย่างมีการไหลอย่างต่อเนื่องภายในท่อขนาดเล็กผ่าน Electrochemical flow-through cell ที่ออกแบบและสร้างขึ้นเอง จึงทำให้มีค่าศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมกับการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารละลายมาตรฐานกลุ่มเตตราซัยคลินแตกต่างกันออกไป ปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารละลายมาตรฐานเตตราซัยคลิน คลอเตตราซัยคลินและดอกซีซัยคลิน จะมีการถ่ายโอนอิเล็กตรอนในปฏิกิริยา 2 ตัว ดังจะเห็นได้จากกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังรูป 5



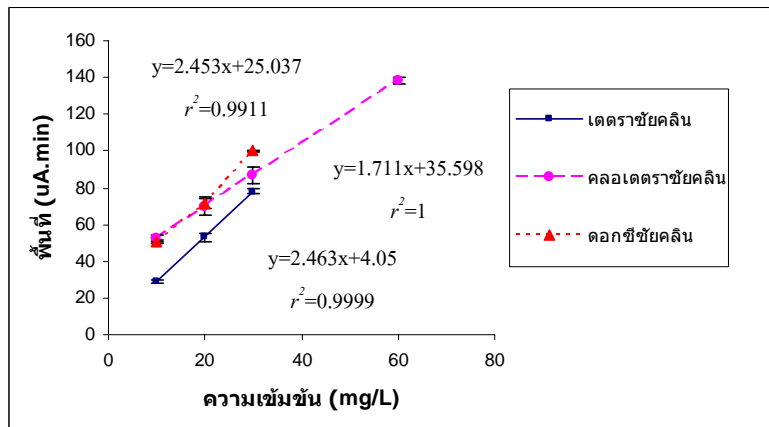
รูป 5 กลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราไซคลิกลิน (ก) เตตราไซคลิกลิน

(ข) คลอเตตราไซคลิกลิน (ค) ดอกซีไซคลิกลิน

2. การศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงและค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด



(ก)



(ข)

รูป 6 ผลการศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงของยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน คลอเตตราซัยคลิน และด็อกซีซัยคลิน (ก) ทำการทดลองที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (ข) กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานทั้ง 3 ชนิดที่ช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง

จากกราฟรูป 6 จะพบว่าช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงมีค่าอยู่ระหว่าง 10-30 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับเตตราซัยคลินและด็อกซีซัยคลิน และ 10-60 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับคลอเตตราซัยคลิน ซึ่งผลจากการศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงของเตตราซัยคลิน คลอเตตราซัยคลินและด็อกซีซัยคลิน มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เป็น 0.9999, 1.0000 และ 0.9911 ตามลำดับ โดยมีค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดดังแสดงในตาราง 1

ตาราง 1 คุณลักษณะของการวิเคราะห์ยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลิน

คุณลักษณะของการวิเคราะห์	เตตราซัยคลิน	คลอเตตราซัยคลิน	ดอกซีซัยคลิน
Linear range (mg/L)	10-30	10-60	10-30
Analytical sensitivity (slope)	2.463	1.711	2.453
Correlation coefficient (r^2)	0.9999	1.0000	0.9911
Reproducibility (%RSD)	2.4	2.0	5.0
Recovery (%)	105.5	106.0	92.2
Detection limit (mg/L)	9.0	6.6	6.9
Speed (peak/h)	50	50	50

3. การวิเคราะห์หาปริมาณยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลินในตัวอย่างยาเตรียม

เมื่อกำหนดสภาวะและค่าศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสม ในการวิเคราะห์ยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลินแล้วนำมาวิเคราะห์ในตัวอย่างยาแคปซูลได้ผลดังตาราง 2

ตาราง 2 การวิเคราะห์หาปริมาณยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลินในตัวอย่างยาแคปซูล

ชื่อยาตัวอย่าง	ปริมาณยา (mg/capsule)		ร้อยละการกลับคืน	
	ที่ระบุ	ที่พบ (n=3)	ค่าเฉลี่ย (n=3)	%RSD
เตตราซัยคลิน	250	263.9	105.5	2.4
คลอเตตราซัยคลิน	250	265.1	106.0	2.0
ดอกซีซัยคลิน	100	92.2	92.2	5.0

จากตาราง 2 แสดงผลจากการวิเคราะห์หาปริมาณยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลินในตัวอย่างยาแคปซูล ซึ่งในการทดลองดังกล่าวจะทำการทดลองในยาแคปซูลชนิดละ 3 แคปซูลและทำการทดลองซ้ำแคปซูลละ 3 ครั้ง พบว่ามีค่าเฉลี่ยของร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้คือ 92.2-106.0 และมีค่า RSD อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานนั่นคืออยู่ในช่วงไม่เกิน เปอร์เซ็นต์ นั่นแสดงว่าการวิเคราะห์ยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลินด้วยระบบแบบ FIA-amperometry ร่วมกับ Electrochemical flow-through cell ที่ได้ออกแบบและสร้างขึ้นสามารถให้ผลในเรื่องของความถูกต้องและความแม่นยำได้เป็นอย่างดี

หมายเหตุ : สำหรับการทดลองในครั้งนี้ได้ใช้ยาแคปซูลชนิดละ 3 แคปซูล ทั้งนี้เพราะในทางเคมีวิเคราะห์ถือว่าผลการทดลองที่ได้เป็นที่ยอมรับและเชื่อถือได้ และการทดลองนี้ทำเพื่อทดสอบว่าระบบ FIA-amperometry ร่วมกับ electrochemical flow – through cell ที่ออกแบบและสร้างขึ้นเอง สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์ได้จริง

สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองพบว่าการใช้เทคนิค FIA-amperometry ร่วมกับ electrochemical flow – through cell ที่ออกแบบและสร้างขึ้นเอง สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลิน (เตตราซัยคลิน คลอเตตราซัยคลินและดอกซีซัยคลิน) ได้ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของการใช้ขั้วไฟฟ้าใช้งานเป็นทอง ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงเป็นซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์ และขั้วไฟฟ้าช่วยเป็นแพลทินัมคือ การกำหนดศักย์ไฟฟ้าคงที่ที่ 840 มิลลิโวลต์ มีอัตราการไหล 0.4 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้สารละลาย อเล็กโทโรไลต์ช่วยเป็น 0.1 M KH_2PO_4 ที่มี pH=2 พบว่ามีค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเป็น 6.6-9.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อใช้สภาวะและค่าศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมมาวิเคราะห์หาปริมาณยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราซัยคลินในตัวอย่างยาแคปซูลพบว่ามีความหนาแน่น 263.9-265.1 มิลลิกรัมต่อแคปซูล จากปริมาณยาที่ระบุ 250 มิลลิกรัมแคปซูล และมีร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 92.2-106.0 ทำให้เป็นที่มั่นใจได้ว่าระบบที่ได้นำเสนอแนะจะสามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณยาในกลุ่มนี้ในตัวอย่างอื่น ๆ ได้ โดยอาจต้องอาศัยเทคนิคในการเตรียมตัวอย่างที่เหมาะสมขึ้นแล้วนำมาฉีดเข้าสู่ระบบต่อไป ก็จะได้ผลเป็นที่น่าเชื่อถือได้เช่นกัน นอกจากนี้ยังสามารถใช้ระบบที่ได้พัฒนาขึ้นในการวิเคราะห์สารกลุ่มอื่น ๆ ได้ เพียงแต่ต้องมีการหาสภาวะที่เหมาะสมคือค่าศักย์ไฟฟ้าที่ให้แก่ขั้วไฟฟ้าและอัตราการไหลเป็นต้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นายศุภโชค อุปาลี ที่ให้ความอนุเคราะห์ทางด้านโปรแกรมคอมพิวเตอร์และอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ และขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยธนบุรีที่ให้ความอนุเคราะห์ทางด้านเครื่องมือและอุปกรณ์รวมทั้งเงินทุนสนับสนุนงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

- บุญเจือ ธรณินทร์. (2522). ตำราเภสัชวิทยา. คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล.
กรุงเทพมหานคร.
- Croubels, S., Baeyens, W. and Peteghem, C. (1995). Post-column zirconium chelation and fluorescence detection for the liquid Chromatographic determination of tetracyclines. *Analytica Chimica Acta.*, 303, 11-16.
- Goicoechea, H.C. and Olivieri, A.C. (1999). Enhanced synchronous spectrofluorometric determination of tetracycline in blood serum by chemometric analysis. Comparison of partial least-squares and hybrid linear analysis calibrations. *Entrez PubMed.*, 71(19), 4361-4368.
- Gong, Z. and Zhang, Z. (1997). Determination of tetracyclines with a modified β - cyclodextrin based fluorosensor. *Analytica Chimica Acta.*, 351, 205-210.
- Halvatzis, S.A., Timotheou-Potamia, M.M. and Calokerinos, A.C. (1993). Continuous-flow chemiluminometric determination of tetracyclines in pharmaceutical preparations and honey by oxidation with N-bromosuccinimide. *Entrez PubMed.*, 118(6), 633-637.
- Liu, X.J., Li, Y.Z. and Ci, Y.X. (1997). Time-resolved fluorescence studies of the interaction of the Eu^{3+} complexes of tetracycline analogues with DNA. *Analytica Chimica Acta.*, 315, 213-217.
- Palaharn, S., Charoenraks, T., Wangfuengkanagul, N., Grudpan, K. and Chailapakul, O. (2003). Flow injection analysis of tetracycline in pharmaceutical formulation with pulsed amperometric detection. *Analytica Chimica Acta.*, 499, 191-197.
- Poiger, H. and Schlatter, C. (1976). Fluorimetric determination of tetracyclines in biological materials. *Entrez PubMed.*, 101(1207), 808-814.
- Townshend, A., Ruengsitagoon, W., Thongpoon, C. and Liawruangrath, S. (2005). Flow injection chemiluminescence determination of tetracycline. *Analytica Chimica Acta.*, 541, 103-109.
- Wangfuengkanagul, N., Siangproh, W. and Chailapakul, O. (2004). A flow injection method for the analysis of tetracycline antibiotics in pharmaceutical formulations using electrochemical detection at anodized boron-doped diamond thin film electrode. *Talanta.*, 64, 1183-1188.

Yang, S., Cha, J. and Carlson, K. (2005). Simultaneous extraction and analysis of 11 tetracycline and sulfonamide antibiotics in influent and effluent domestic wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A.*, 1097, 40-53.