

MULTIRESIDUE ANALYSIS OF BANNED SUBSTANCES IN LIVESTOCK DRINKING WATER BY HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY -MASS SPECTROMETRY**CHUSAK ARDSOONGNEARN 5136801 PYPP/ M****M.Sc. (PHARMACEUTICAL CHEMISTRY AND PHYTOCHEMISTRY)****THESIS ADVISORY COMMITTEE: LEENA SUNTORNSUK, Ph.D., NONGLUCK RUANGWISES, Ph.D.****ABSTRACT**

Residues from many classes of antimicrobial drugs have become food safety issue of public concern due to their potential to pose risks to consumers. Antimicrobial drugs such as nitrofurans (nitrofurazone (NFZ), nitrofurantoin (NFT), furazolidone (FZD) and furaltadone (FTD)); nitroimidazoles (metronidazole (MNZ), ronidazole (RNZ) and dimetridazole (DMZ)); and chloramphenicol (CAP) are strictly prohibited in the livestock industry. Nevertheless, misuses of these substances are still present in animal feed and drinking water. This work focused on development of liquid chromatography coupled to an ion trap mass spectrometer (LC-MS ion trap) for the simultaneous separation of these drugs in animal drinking water. The HPLC analysis was performed on a Prodigy ODS-3 column, 2.0×150 mm, 5 µm with a guard cartridge at a flow rate of 0.2 mL/min, column oven temperature 40°C, and injection volume 10 µL. Factors affecting HPLC separation (i.e. buffer pH and concentrations), solid phase extraction (SPE), and ion trap MS using electrospray ionization (ESI) in tandem mass spectrometry mode (MS/MS) were optimized. The eight antimicrobial agents were separated in 22 min using gradient elution of acidified water (pH 5.0) and acetonitrile, nebulizer gas at 35 psi, drying gas and dry temperature at 9 L/min and 325 °C, respectively. The linearity was acceptable ($r^2 = 0.979 - 0.999$) with the precision and accuracy range from 3.4 – 26.6% and 88.4 – 110.1%, respectively. Limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) for each compound was in a range of 0.002 – 0.06 µg/L and 0.005 - 0.25 µg/L, respectively. The validated method was applied to simultaneous determination of eight antimicrobial drugs in 40 animal drinking water samples collected from standard farms in Thailand. The prohibited drugs were not detected in any samples. This finding may reflected the efficiency of residue control measures in livestock production that have been strictly applied since 2002.

**KEY WORDS: NITROFURANS/ NITROIMIDAZOLES/CHLORAMPHENICOL/
LIVESTOCK DRINKING WATER/ HIGH-PERFORMANCE
LIQUID CHROMATOGRAPHY - MASS SPECTROMETRY**

99 pages

การวิเคราะห์สารต้องห้ามหลายชนิดในน้ำเลี้ยงปศุสัตว์โดยวิธีไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิกวิดโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี

MULTIRESIDUE ANALYSIS OF BANNED SUBSTANCES IN LIVESTOCK DRINKING WATER BY HIGH - PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY - MASS SPECTROMETRY

ชูศักดิ์ อางสูงเนิน 5136801 PYPP/ M

วท.ม. (เภสัชเคมีและพิษเคมี)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ถิณา สุนทรสุข, Ph.D., นงลักษณ์ เรืองวิเศษ, Ph.D.

บทคัดย่อ

สารตกค้างจากยาต้านจุลชีพหลายกลุ่มเป็นปัญหาด้านความปลอดภัยทางอาหารที่อยู่ในความสนใจของสาธารณชนเนื่องจากความเชื่อที่อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค ยกกลุ่มต้านจุลชีพเช่น กลุ่มไนโตรฟูแรนส์ (ไนโตรฟูราโซน (NFZ), ไนโตรฟูแรนโคอิน (NFT), ฟุราโซลิโดน (FZD) และฟูรัลตาโดน (FTD)), กลุ่มไนโตรอิมิดาโซล (เมโทนิดาโซล (MNZ), โรนิดาโซล (RNZ) และโดเมตรีดาโซล (DMZ)) และ คลอแรมเฟนิคอล (CAP) ถูกห้ามใช้ในการปศุสัตว์ อย่างไรก็ตาม ยังมีการลอบใช้ยาในกลุ่มดังกล่าวโดยผสมในอาหารหรือน้ำเลี้ยงสัตว์ ในการศึกษาที่มุ่งพัฒนาวิธีวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือลิกวิดโครมาโทกราฟีร่วมกับแมสสเปกโตรเมตรีชนิดกักไอออน (LC-MS ion trap) เพื่อวิเคราะห์สารเหล่านี้ในน้ำเลี้ยงปศุสัตว์ในการวิเคราะห์เดียว การวิเคราะห์ด้วย HPLC ใช้คอลัมน์ Prodigy ODS-3 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 2.0 มม. ยาว 150 มม. ขนาดอนุภาค 5 ไมครอน พร้อม guard cartridge โดยใช้อัตราการไหล 0.2 มล.ต่อนาที อุณหภูมิตู้บรรจุคอลัมน์ 40 องศาเซลเซียส ปริมาตรฉีด 10 ไมโครลิตร ทำการศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่ส่งผลต่อการแยกสารของ HPLC (เช่น ความเข้มข้น และค่าความเป็นกรด-เบสของบัฟเฟอร์) การสกัดแยกสารด้วยเฟสของแข็ง (SPE) การปรับแต่งค่าแมสสเปกโตรเมตรีโดยใช้วิธีอิเล็กโตรสเปย์ (ESI) และวิเคราะห์มวลแบบ tandem mass spectrometry (MS/MS) ยาต้านจุลชีพทั้งแปดชนิดสามารถแยกจากกันได้ภายในเวลา 22 นาที โดยใช้เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยน้ำ pH 5.0 และอะซิโตนไนโตรล์โดยเปลี่ยนแปลงสัดส่วนขณะแยกสาร (gradient elution) ใช้เนบิวไรเซอร์ก๊าซ 35 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อัตราเร็วและความดันของก๊าซที่ทำให้แห้งเท่ากับ 9 ลิตรต่อนาที และ 325 °ซ ตามลำดับ ความเป็นเส้นตรงของสมการ (r^2) อยู่ระหว่าง 0.979 – 0.999 ความเที่ยงและความแม่นยำอยู่ระหว่างร้อยละ 3.4 – 26.6 และ 88.4 – 110.1 ตามลำดับ ระดับต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ (LOD) และระดับต่ำสุดที่สามารถหาปริมาณได้ (LOQ) อยู่ในช่วง 0.002 – 0.06 และ 0.005 – 0.25 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อใช้วิธีที่ผ่านการทดสอบความใช้ได้ของวิธีนี้ทดสอบตัวอย่างน้ำจากฟาร์มมาตรฐานทั่วประเทศจำนวน 40 ตัวอย่าง ไม่พบการตกค้างของสารต้องห้ามทุกตัวอย่าง แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของมาตรการควบคุมสารตกค้างที่ดำเนินการมาตั้งแต่ปี 2002