

การพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์กลุ่มยาต้านจุลชีพตกค้างในเนื้อสัตว์ โดย LC-MS/MS

Method development of multiclass analysis of antimicrobial residue in animal meat by LC-MS/MS

ลัดดา แก้วกล้าปัญญาเจริญ * นฤมล อธิฐรัตน์ และจิราภา อุณหเลขกะ

Ladda Kaewklapanpanyacharoen*, Narumol Ittarat and Jirapa Unahalekhaka

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

Bureau of Quality and Safety of Food, Department of Medical Sciences

บทคัดย่อ

ยาต้านจุลชีพหลายกลุ่มและหลายชนิดที่ถูกนำมาใช้ในการปศุสัตว์ มีวิธีวิเคราะห์ที่ต้องแยกกันในแต่ละกลุ่ม ดังนั้นจึงพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์กลุ่มยาต้านจุลชีพตกค้าง 6 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มแอมเพนิคอล คิวโนโลน ซัลโฟนาไมด์ เบต้า-แลคแตม แมคโครไลด์ และเตตราไซคลิน จำนวน 41 ชนิดยา ในตัวอย่างเนื้อสัตว์ในคราวเดียวกัน โดยใช้เครื่อง LC-MS/MS เทคนิค electrospray ionization และ multiple-reaction monitoring mode ตัวอย่างถูกสกัดด้วย acetonitrile แล้วกำจัดไขมันด้วย n-hexane ผลทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ พบว่ามีช่วงการเป็นเส้นตรง matrix-matched calibration curves อยู่ในช่วง 0.3 - 200 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) มากกว่า 0.95 ขีดจำกัดของการตรวจพบอยู่ระหว่าง 0.1 ถึง 30 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณอยู่ระหว่าง 0.3 ถึง 50 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับชนิดกลุ่มยา จากการเติมสารมาตรฐานทั้ง 41 ชนิด ที่ 3 ระดับความเข้มข้นในเนื้อไก่ และเนื้อปลา มีความแม่นยำแสดงด้วยค่าร้อยละการกลับคืนเฉลี่ย อยู่ในช่วง 71.9 – 106.9% และความเที่ยงแสดงด้วยค่าร้อยละเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ น้อยกว่า 20% และการเข้าร่วมโปรแกรมทดสอบความชำนาญมีค่า z-score น้อยกว่า 2 ในกลุ่มแอมเพนิคอล คิวโนโลน และเตตราไซคลิน วิธีนี้จึงมีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการ ตามข้อกำหนดของประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 303) พ.ศ.2550

คำสำคัญ: เนื้อสัตว์, ยาต้านจุลชีพ, LC-MS/MS

Abstract

Many groups and many types of antimicrobial drugs used in livestock have to be analyzed separately. A multiclass analysis method for 6 classes of antimicrobial residues (amphenicol, quinolone, sulfonamide, beta-lactam, macrolide and tetracycline) has been developed for the simultaneous analysis by using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) which was operated under the multiple-reaction monitoring mode using electrospray ionization. These residues were extracted from sample by acetonitrile and defatted by n-hexane. The results of method validation showed that the linearity of matrix-matched calibration curves were in the range of 0.3 – 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ with the coefficient of determination (R^2) was greater than 0.95. The limit of detection (LOD) and the limit of quantitation (LOQ) were in the range of 0.1 to 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 0.3 to 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively. By spiking 41 standards at 3 concentrations in chicken and fish, the accuracy expressed by the average recovery varied from 71.9 to 106.9% with the method precision shown by percent of relative standard deviation (%RSD) lower than 20%. Moreover, the results of participation in Fapas proficiency testing program in group of amphenicol, quinolone and tetracycline demonstrated that z-scores were less than 2. Consequently, the characteristics of this method were appropriate for intended use in testing laboratory for requirement of the notification of Ministry of Public Health (Vol.303) B.E. 2550.

Keywords: animal tissues, antimicrobial, LC-MS/MS

*Corresponding author

E-mail: ladda.k@dmsc.mail.go.th