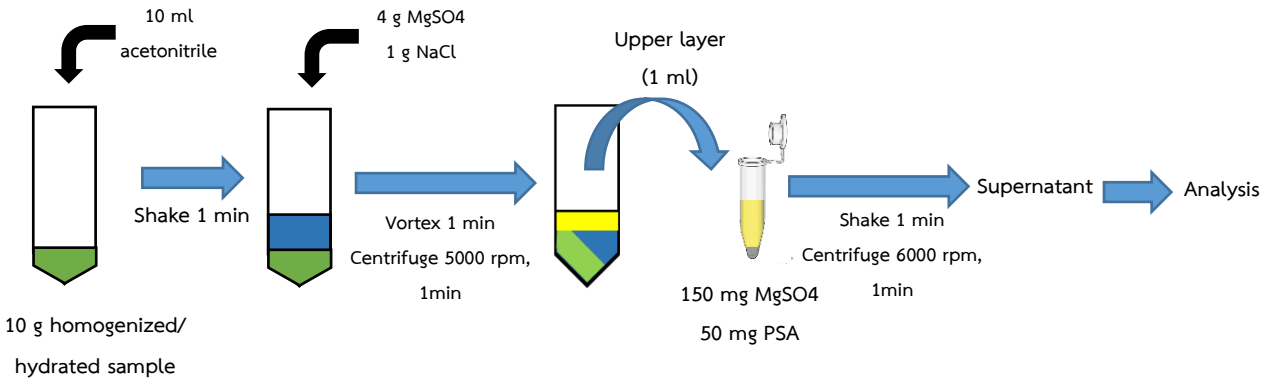
การเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค QuEChERS

ธนภูมิ มณีบุญ
นักวิจัย ชำนาญการพิเศษ
ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์
สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่ง มก.

การเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe' sample cleanup method) พัฒนาครั้งแรกโดย Anastasssiades สำหรับการสกัดยาปฏิชีวนะจากเนื้อเยื่อของสัตว์ และต่อมาได้นำมาใช้ในการสกัดสารฆ่าแมลงในพืชผัก (Anastassiades *et al*., 2003) ปัจจุบันได้มีการนำเทคนิค QuEChERS ไปใช้ในการสกัดสารฆ่าแมลง สารพิษจากเชื้อรา สารปนเปื้อนอินทรีย์อื่นๆ เช่น สารระเหยอินทรีย์ และสารประกอบ Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHS) รวมทั้งยาปฏิชีวนะ ฮอร์โมน และสเตียรอยด์ มีข้อดี คือ ทำได้รวดเร็ว สะดวก และปลอดภัย เนื่องจากใช้ตัวทำละลายที่สารอินทรีย์ที่ไม่มีสารเฮโลเจนผสมอยู่ (Non-halogenated solvent)

หลักการของการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค QuEChERS อาศัยวิธีการสกัดสารด้วย Liquid-liquid extraction (LLE) และกำจัดสิ่งรบกวนออกจากสารสกัดตัวอย่างด้วยวิธี Dispersive solid phase extraction (d-SPE) (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 หลักการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค QuEChERS

ตัวทำละลายอินทรีย์ที่นิยมใช้ในขั้นตอนการสกัดด้วย Liquid-liquid extraction ได้แก่ อะซิโตไนไตรล์ เอทิลอะซิเตท และ อะซิโตน เนื่องจากมีความปลอดภัยมากกว่าตัวทำละลายที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบ ส่วนใหญ่นิยมใช้อะซิโตไนไตรล์มากที่สุด เพราะสามารถสกัดสารที่ต้องการวิเคราะห์ได้กว้าง แต่ในขณะเดียวกันสารสกัดที่ได้ยังมีสิ่งรบกวนการวิเคราะห์ในปริมาณน้อย สำหรับเกลือที่เติมลงไปในขั้นตอนนี้จะทำให้สารที่ต้องการวิเคราะห์ละลายในเฟสของตัวทำละลายอินทรีย์ได้มากขึ้น โดยสารที่มีขั้วจะเกิดการแยกชั้น เนื่องจากเกลือจะไปเพิ่มความแรงของไอออน ส่งผลให้เกิด Salting in หรือ Salting out ขึ้นกับประเภทของสารและตัว

ทำละลาย นอกจากนี้จะทำให้ความมีขั้วของตัวทำละลายเพิ่มขึ้น เป็นผลให้สารที่มีขั้วในตัวอย่างละลายในตัวทำละลายได้มากขึ้น สำหรับ NaCl จะลดปริมาณของสิ่งปนเปื้อนที่มีขั้วในสารสกัดสกัดตัวอย่าง ช่วยเพิ่มความจำเพาะของการวิเคราะห์ ส่วน $MgSO_4$ จะทำให้การแยกชั้นของสารเกิดได้ดี และเพิ่มประสิทธิภาพการวิเคราะห์สารตัวอย่างประเภทมีขั้ว สำหรับเกลือชนิดอื่นที่นิยมใช้ ได้แก่ sodium citrate dibasic sesquihydrate ($Na_2HCitr\text{-}1.5H_2O$) และ sodium citrate tribasic dehydrate ($Na_3Citr\text{-}2H_2O$) (Garcia and Gotah, 2017)

ในการกำจัดสิ่งรบกวนของเทคนิค QuEChERS นิยมใช้วิธี Dispersive solid-phase extraction (d-SPE) โดยใช้วัสดุดูดซับ เช่น Primary-secondary amine (PSA) เพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อนที่มีขั้วออกจากสารสกัดตัวอย่าง เช่น น้ำตาล ไขมัน กรดอินทรีย์ และ รงควัตถุ ในขณะที่ $MgSO_4$ ที่ใช้ในขั้นตอนนี้กำจัดโมเลกุลของน้ำที่หลงเหลือในเฟสของตัวทำละลายอินทรีย์ นอกจากนี้ยังมีวัสดุดูดซับชนิดอื่นที่นิยมใช้ เช่น end-capped C18 สามารถกำจัดไขมันและสิ่งรบกวนประเภทไม่มีขั้ว วัสดุดูดซับชนิด Graphitized carbon black (GCB) สำหรับใช้กำจัดสิ่งรบกวนที่มีโครงสร้างแบบแบนราบ และรงควัตถุ คล้ายกับวัสดุดูดซับชนิด PSA แต่ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการวิเคราะห์ประเภทที่ว่องไวต่อด่าง โดยการเลือกใช้วัสดุดูดซับชนิดต่างๆ ขึ้นกับประเภทของสารที่ต้องการวิเคราะห์ รวมถึงการใช้กำจัดสิ่งรบกวนโดยใช้วัสดุดูดซับมากกว่าสองชนิด (Townsend *et al*., 2020) ทำให้ได้สารสกัดตัวอย่างที่สะอาด จากนั้นจึงนำสารสกัดที่ได้ไปแยกและวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟฟี เช่น LC หรือ GC

เอกสารอ้างอิง

Anastassiades, M., S. J. Lehotay, D. Štajnbaher and F.J. Schenck. 2003. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “Dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of AOAC International.** 86(2): 412–431.

Garcia, C. V., and A. Gotah. 2017. Application of QuEChERS for determining xenobiotics in foods of animal origin. **Journal of Analytical Methods in Chemistry.** 2603067.

Townsend, R., G. van Keulen, C. Desbrow and A. R. Godfrey. 2020. An investigation of the utility of QuEChERS for extracting acid, base, neutral and amphiphilic species from example environmental and clinical matrices. **Analytical Science Advances**. 1: 152– 160.