

การวิเคราะห์สารพิษเชื้อราด้วยการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวกระจาย

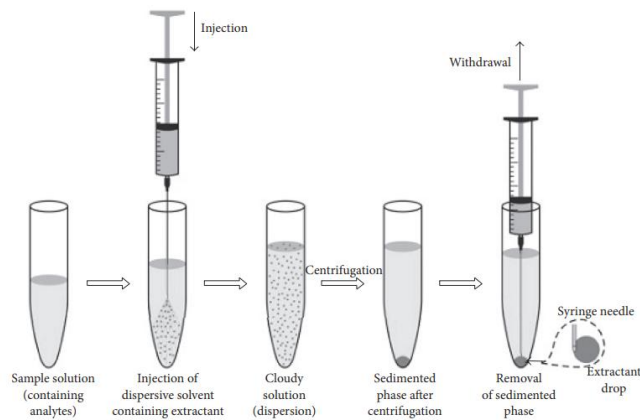
ชนัญญา ช่วยศรีนวล

นักวิจัย ชำนาญการ

ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่ง มก.

วิธีการสกัดสารพิษเชื้อราซึ่งมีการเปื้อนในระดับต่ำมาก (ส่วนในพันล้านส่วน) การเตรียมตัวอย่าง (Sample pre-treatment) เป็นขั้นตอนที่สำคัญ โดยต้องสกัดสารที่ต้องการวิเคราะห์ให้ออกมาจากเมทริกซ์ตัวอย่างที่มีความซับซ้อน และต้องสามารถเพิ่มความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์ให้สูงขึ้นได้ด้วย อย่างไรก็ตาม เทคนิคการเตรียมตัวอย่างแบบดั้งเดิม เช่น การสกัดด้วยของเหลว-ของเหลว (Liquid-liquid extraction, LLE) การสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง (Solid phase extraction, SPE) มีข้อเสียหลายประการ เช่น ขั้นตอนการสกัดที่ยุ่งยาก ใช้เวลานาน และใช้ปริมาณตัวอย่างมาก นอกจากนี้ยังใช้สารเคมีและตัวทำละลายอินทรีย์ที่เป็นพิษในปริมาณมากก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมเป็นพิษ ปัญหาสุขภาพของผู้ทำการทดลอง และมีค่าใช้จ่ายสูงในการกำจัดของเสีย ปัจจุบันเทคนิคการเตรียมตัวอย่างได้รับความสนใจและมีการพัฒนาการเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์สารพิษเชื้อราออกมาอย่างต่อเนื่อง โดยปรับปรุงให้มีขั้นตอนน้อยลง สามารถรวมขั้นตอนหลายๆขั้นตอนไว้ในขั้นตอนเดียว สามารถวิเคราะห์สารหลายๆชนิด ได้พร้อมกัน ใช้สารเคมีน้อย เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ใช้เวลาน้อย ประหยัด เมื่อต้องการนำไปใช้กับตัวอย่างจำนวนมาก ลดการสัมผัสสารเคมีที่เป็นพิษของผู้วิเคราะห์ และลดการเกิดสารเคมีที่เป็นของเสียจากห้องปฏิบัติการ

การสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวกระจาย หรือ Dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) เป็นเทคนิคหนึ่งที่มีความสนใจและพัฒนาสำหรับสกัดสารพิษเชื้อรา เป็นเทคนิคการสกัดด้วยของเหลวที่ได้มีการพัฒนาวิธีการโดยลดขนาดของการสกัดลง โดยในกระบวนการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวกระจายของเหลวที่ใช้สกัดจะกระจายตัวแต่ไม่ละลายอยู่ในสารละลายตัวอย่าง ทำให้มีพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างเฟสสูง ประกอบด้วย ตัวทำละลายในการสกัด ตัวทำละลายช่วยการกระจายตัว และสารละลายน้ำตัวอย่าง เมื่อฉีดตัวทำละลายที่ใช้สกัดและตัวทำละลายช่วยการกระจายตัวในอัตราส่วนที่เหมาะสม ลงในน้ำตัวอย่างที่มีสารที่ต้องการวิเคราะห์ ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดเกิดการกระจายตัวเป็นหยดเล็กๆ แต่ไม่ละลายในสารละลายตัวอย่าง ทำให้เกิดเป็นสารละลายขุ่น ซึ่งหมายถึงพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างตัวทำละลายในการสกัดและสารละลายน้ำตัวอย่างมีมาก เมื่อนำสารละลายขุ่นนี้ไปปั่นเหวี่ยงจะเกิดการแยกชั้น (อรพินท์, 2564) กรณีใช้ตัวทำละลายที่ใช้สกัดมีความหนาแน่นมากกว่าน้ำ ตัวทำละลายที่ตั้งกล่าวจะแยกชั้นที่ก้นหลอด หากตัวทำละลายที่ใช้สกัดมีความหนาแน่นน้อยกว่าน้ำจะลอยตัวอยู่ชั้นบน จากนั้นนำส่วนของสารละลายที่ใช้สกัดที่มีสารที่ต้องการวิเคราะห์ ไปแยกและตรวจวัดปริมาณด้วยเครื่องมือวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป ขั้นตอนของเทคนิค DLLME แสดงดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ขั้นตอนการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวกระจาย

ที่มา: Quigley *et al.* (2016)

สำหรับเทคนิคการเตรียมตัวอย่างการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวกระจาย ได้รวบรวมแสดงดังนี้

ตารางที่ 1 การสกัดสารพิษเชื้อราในอาหารด้วยเทคนิคการสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวกระจาย

วิธีการสกัด	อาหาร	ชนิดสารพิษ	เครื่องมือวิเคราะห์	LODs ($\mu\text{g/kg}$)	LOQs ($\mu\text{g/kg}$)	อ้างอิง
pH-controlled DLLME	ธัญพืช	OTA	HPLC-FLD	0.019	0.062	Compagne <i>et al.</i> (2011)
DLLME	ธัญพืช	AFB1,B2, OTA	HPLC-FLD	0.06-0.5	0.02-0.30	Lai <i>et al.</i> (2014)
DLLME	ธัญพืช	AFs, DON	HPLC-FLD	0.03-16.2	0.10-49.3	Skendi <i>et al.</i> (2016)
DLLME	ผลไม้	OTA, Citrinin	HPLC-FLD	0.06-0.16	0.50	Ruan <i>et al.</i> (2016)
QuEChERS- DLLME	ธัญพืช ถั่ว และ น้ำมัน	AFs, OTA, ZEN	HPLC-FLD	0.03-11	0.1-38	Zhou <i>et al.</i> (2016)
DLLME	ถั่วลิสง	AFs, OTA, ZEN	HPLC-FLD	0.03-1.0	0.15-2.0	Chen <i>et al.</i> (2017)
DES-DLLME	น้ำมัน	AFM1	UV-VIS		6.1 ng/L	Gursoy <i>et al.</i> (2020)
DLLME	สมุนไพร	AFs	HPLC-FLD	0.7-1.25	2.13-3.84	Maneeboon <i>et al.</i> (2023)

หมายเหตุ DLLME= Dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME), DES= Deep eutectic solvent

เอกสารอ้างอิง

- อรพินท์ เจียรถาวร. 2564. **เทคนิคการสกัดสารในการวิเคราะห์ทางเคมี**. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- Antep, H. M., and M. Merdivan. 2012. Development of new dispersive liquid–liquid microextraction technique for the identification of zearalenone in beer. **Anal. Methods** 4: 4129–4134.
- Chen, F., C. Luan, L. Wang, S. Wang and L. Shao. 2017. Simultaneous determination of six mycotoxins in peanut by high-performance liquid chromatography with a fluorescence **J Sci Food Agric**. 97(6):1805-1810.
- Lai, X., R. Liu, C. Ruan, H. Zhang and C Liu. 2014. Occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in rice samples from six provinces in China. **Food Control** 50:401–404.
- Maneeboon., C. Chuaysrinule and W. Mahakarnchanakul. 2023. Optimization and Validation of Dispersive Liquid – Liquid Microextraction for Simultaneous Determination of Aflatoxins B1, B2, G1, and G2 in Senna Leaves and Pods Using HPLC-FLD with Pre-column Derivatization. **Toxins**. 15, 277.
- Quigley, A., W. Cummins and D. Connolly 2016. Dispersive Liquid-Liquid Microextraction in the Analysis of Milk and Dairy Products: A Review. **Journal of Chemistry**. 4040165.
- Ruan, C., X. Diao, N. Li, H. Zhang, Y. Pang and C. Liu. 2016. Determination of ochratoxin A and citrinin in fruits using ultrasound assisted solvent extraction followed by dispersive liquid-liquid microextraction with HPLC with fluorescence detection. **Anal. Methods**. 8:1586–1594.
- Skendi, A., M. N. Irakli and M. D. Papageorgiou. 2016. Optimized and validated high-performance liquid chromatography method for the determination of deoxynivalenol and aflatoxins in cereals. **Journal of Separation science** 39:1425–1432
- Zhang, L., A. Dai, Y. Runzhong and L. Qian. 2020. Modified QuEChERS Based on Mixed Adsorbent Cleanup of Mycotoxins in Corn. **Journal of Chemistry**. 2020:7
- Zhou, J., J. J. Xu, B. F. Huang, Z. X. Cai, R. Yi-Ping. 2016. High-performance liquid chromatographic determination of multi-mycotoxin in cereals and bean foodstuffs using interference removal solid-phase extraction combined with optimized dispersive liquid–liquid microextraction. **Journal of Separation Science**. 40(10):2081-2314.