การวิเคราะห์ 3-MCPD ด้วย GC-MS/MS ร่วมกับระบบเตรียมตัวอย่างอัตโนมัติ

ผู้จัดทำ : ผู้จัดทำ : ชิณาริญ เลิศอมรี, รติมาศ บุญล้อม

บทนำ

สาร 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) เป็นสารปนเปื้อนที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการผลิตอาหาร โดยเฉพาะกระบวนการที่ใช้ความร้อนสูงและผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบของไขมัน เช่น ผลิตภัณฑ์ซอสถั่วเหลือง ผลิตภัณฑ์น้ำมันพืช และอาหารแปรรูปต่าง ๆ สาร 3-MCPD เป็นสารที่อาจก่อให้เกิดผลเสียต่อสุขภาพของมนุษย์ โดยมีรายงานว่าสามารถก่อพิษต่อไต ระบบสืบพันธุ์ และระบบประสาท อีกทั้งหากสะสมในร่างกายเป็นระยะเวลานาน อาจมีความเสี่ยงในการก่อมะเร็งได้

ดังนั้น การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสาร 3-MCPD จึงมีความสำคัญต่อการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ให้ปลอดภัยต่อผู้บริโภค โดยค่ามาตรฐานของสาร 3-MCPD ในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ กำหนดไว้ในระดับความเข้มข้นหน่วย µg/kg หรือ ng/g ขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์ ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นที่ค่อนข้างต่ำ การตรวจวิเคราะห์จึงจำเป็นต้องใช้เทคนิคและเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพ มีความไว และมีความจำเพาะสูง เพื่อให้สามารถตรวจวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้องแม่นยำ เช่น เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ (GC-MS) ซึ่งสามารถแยกสารผสมและตรวจวัดมวลต่อประจุ (mass-to-charge ratio) ที่จำเพาะของสารแต่ละชนิดได้ ทำให้สามารถตรวจวัดสาร 3-MCPD ในระดับความเข้มข้นต่ำได้

การวิเคราะห์สาร 3-MCPD ด้วยเทคนิค GC-MS จำเป็นต้องมีการเตรียมตัวอย่างให้เหมาะสมก่อนการวิเคราะห์ ซึ่งเป็นกระบวนการที่มีความซับซ้อนและหลายขั้นตอน ปัจจุบันจึงมีการพัฒนาระบบเตรียมตัวอย่างอัตโนมัติเพื่อช่วยให้การเตรียมตัวอย่างมีความถูกต้องและมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น โดยการออกแบบระบบเตรียมตัวอย่างอัตโนมัติผ่านเครื่องฉีดสารตัวอย่างอัตโนมัติแบบแขนกล ทำให้เมื่อเตรียมตัวอย่างเสร็จสิ้นแล้ว สามารถวิเคราะห์ต่อด้วย GC-MS ได้อย่างต่อเนื่อง ช่วยลดขั้นตอนการทำงาน ลดระยะเวลา และลดความเสี่ยงจากการสัมผัสสารเคมีของผู้ปฏิบัติงานได้อีกด้วย ตัวอย่างขั้นตอนการเตรียมด้วยเครื่องฉีดสารตัวอย่างอัตโนมัติแสดงดังรูปที่ 1

ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่างไขมัน 100-120 มิลลิกรัม
2. เติม tBME, toluene และ Internal standard
3. อุ่นที่อุณหภูมิ 80 °C 2 นาที และเขย่าให้เข้ากัน
4. แช่เย็นที่อุณหภูมิ 10 °C 4 นาที จากนั้นเติม 0.35 M $NaOcH_3$ /MeOH
5. เติม 600 g/l acidified NaBr เขย่าให้เข้ากัน
6. เติม iso-octane เขย่าให้เข้ากัน จากนั้น อุ่นที่อุณหภูมิ 80 °C 4.5 นาที
7. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแยกส่วนตัวทำละลายอินทรีย์ออก
8. ทำซ้ำข้อ 6-7 อีกครั้ง
9. เติม 2.4 g/20 mL PBA 19:1 acetone: water เขย่าให้เข้ากัน
10. เติม iso-octane เขย่าให้เข้ากัน
11. นำสารละลายส่วนชั้นสารอินทรีย์ไปวิเคราะห์ด้วย GC-MS

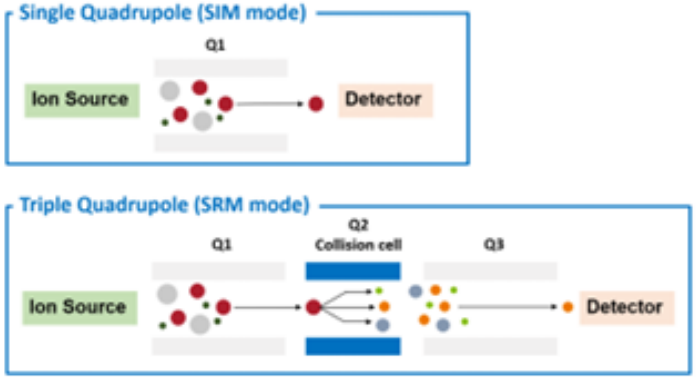
รูปที่ 1 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างด้วยเครื่องฉีดสารอัตโนมัติและเครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างอัตโนมัติ

GC-MS และ GC-MS/MS

การตรวจวัดสารที่มีระดับความเข้มข้นต่ำจำเป็นต้องใช้เทคนิคที่มีความจำเพาะเจาะจงสูง เพื่อหลีกเลี่ยงสัญญาณรบกวนจากสารอื่นที่อยู่ในตัวอย่าง และเพิ่มขีดความสามารถในการตรวจวัดให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น โดยทั่วไป เทคนิค GC-MS สามารถเลือกใช้โหมดการวิเคราะห์แบบ Selected Ion Monitoring (SIM) ซึ่งเป็นการเลือกตรวจวัดมวลต่อประจุที่จำเพาะต่อสารเป้าหมาย

อย่างไรก็ตาม ในกรณีที่ตัวอย่างมีความซับซ้อนสูง เช่น ตัวอย่างที่มีปริมาณไขมันสูง สารรบกวนอาจส่งผลให้การวิเคราะห์ด้วยโหมด SIM ไม่เพียงพอต่อความต้องการ จึงได้มีการพัฒนาเทคนิค GC-MS/MS เพื่อเพิ่มความจำเพาะเจาะจงในการวิเคราะห์ รวมถึงช่วยเพิ่มความไวและประสิทธิภาพในการตรวจวัดให้ดียิ่งขึ้น

เทคนิค GC-MS/MS มีโหมดการทำงานแบบ Selected Reaction Monitoring (SRM) หรือ Multiple Reaction Monitoring (MRM) ซึ่งเริ่มจากการเลือกมวลต่อประจุของสารเป้าหมาย (ลักษณะคล้ายกับโหมด SIM) จากนั้นทำให้ไอออนดังกล่าวเกิดการแตกตัว (fragmentation) และตรวจวัดเฉพาะมวลต่อประจุของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการแตกตัวในขั้นที่สอง ส่งผลให้การตรวจวัดมีความจำเพาะต่อสารเป้าหมายมากยิ่งขึ้น



รูปที่ 2 เปรียบเทียบการทำงานของ GC-MS (SIM mode) และ GC-MS/MS (SRM mode)

สำหรับการเลือกใช้ GC-MS หรือ GC-MS/MS ในการวิเคราะห์สาร 3-MCPD ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่าง ความซับซ้อนของสารรบกวน และค่าต่ำสุดที่ต้องการตรวจวัด (limit of detection/quantification) ทั้งนี้สามารถเลือกใช้เทคนิคได้ตามความเหมาะสม

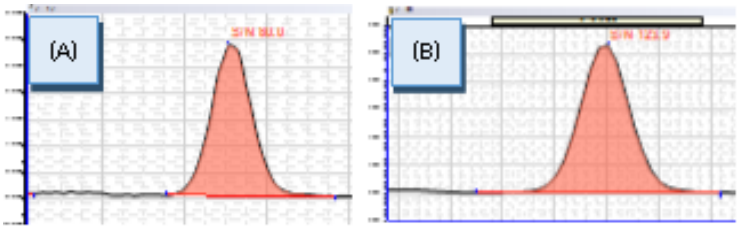
GC-MS/MS สามารถทำงานได้เช่นเดียวกับ GC-MS แต่มีข้อได้เปรียบจากโหมด Selected Reaction Monitoring (SRM) ซึ่งช่วยเพิ่มความจำเพาะเจาะจงต่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ ส่งผลให้มีความไวและความถูกต้องในการตรวจวัดสูงขึ้น ดังนั้น GC-MS/MS จึงเป็นเทคนิคที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์สารตกค้างในระดับความเข้มข้นต่ำ โดยสามารถประยุกต์ใช้ได้ทั้งในรูปแบบ Target Quantitative และ Targeted Screening ในบทความนี้เลือกใช้เทคนิค GC-MS/MS สำหรับการวิเคราะห์ เนื่องจากตัวอย่างน้ำมันพืชมีองค์ประกอบที่ซับซ้อน ซึ่งอาจก่อให้เกิดการรบกวนในการวิเคราะห์ การใช้ GC-MS/MS จึงช่วยเพิ่มประสิทธิภาพและความน่าเชื่อถือของผลการวิเคราะห์ได้มากยิ่งขึ้น

ตารางที่ 1 พารามิเตอร์สำหรับการวิเคราะห์

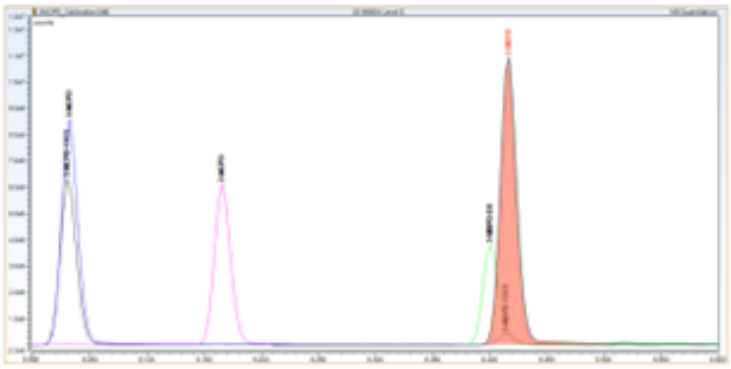
GC Column	TraceGOLD TG-5SilMS GC Column, 30 m* 0.25mmID* 0.25µm
GC Oven	70 °C hold 1 min, ramp 15 °C min to 120 °C hold 0.5 min , ramp 40 °C /min to 350 °C hold 2.5 min
GC Inlet	350 °C, Splitless
MS (SRM)	3-MCPD 196>147 @8eV, 198>147 @8eV 3-MCPD-13C3 (Quan) 199>148 @8eV 2-MCPD 196>104 @14eV,198>104 @14eV 3-MBPD 240>147 @8eV,242>147 @8eV 3-MBPD-13C3 (Quan) 243>149 @8eV 3-MBPD-d5 245>150 @8eV, 247>150 @8eV
Autosampler	TriPlus RSH Automate Sample Preparation and Injection

ผลการวิเคราะห์

ผลการเปรียบเทียบการวิเคราะห์ด้วยโหมด SIM และ SRM พบว่า ค่า signal-to-noise ratio ของโหมด SRM สูงกว่าโหมด SIM แสดงให้เห็นว่าโหมด SRM มีความไวในการวิเคราะห์และความสามารถในการตรวจวัดในระดับความเข้มข้นต่ำได้ดีกว่า ดังแสดงในรูปที่ 3 นอกจากนี้ เมื่อพิจารณาสัญญาณของสารที่ความเข้มข้น 250 µg/kg ไม่พบพีกของสารรบกวน ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความจำเพาะและความไวในการตรวจวัดของโหมด SRM ในเทคนิค GC-MS/MS ดังแสดงในรูปที่ 4



รูปที่ 3 เปรียบเทียบขนาดสัญญาณของสารที่ตรวจวัดได้ด้วย GC-MS (SIM mode) (A) และ และ GC-MS/MS (SRM mode) (B)



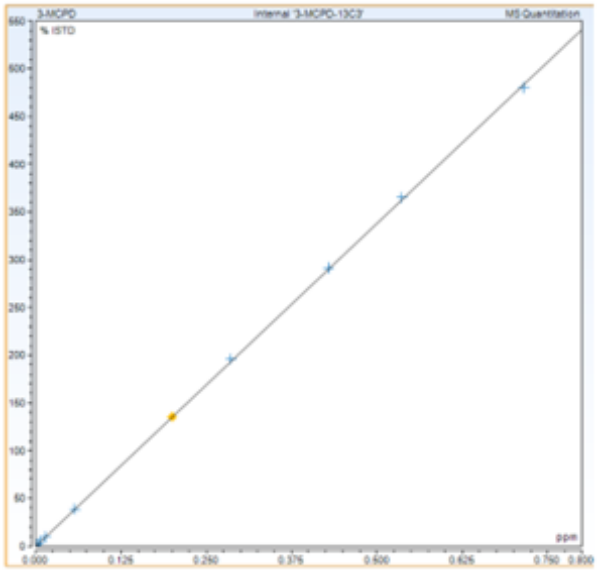
รูปที่ 4 โครมาโทแกรมการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ความเข้มข้น 250 ug/kg

LOD/LOQ

ทำการเตรียมตัวอย่างน้ำมันด้วยเครื่องเตรียมตัวอย่างอัตโนมัติจำนวน 10 ซ้ำ จากนั้นนำไปวิเคราะห์ แล้วเติมสารมาตรฐานที่ช่วงความเข้มข้น 1–50 ppb โดยแต่ละความเข้มข้นทำ 3 ซ้ำ ก่อนนำไปสกัดเพื่อใช้ในการคำนวณค่า LOD และ LOQ ผลการทดสอบพบว่า ค่า LOD และ LOQ ของสารแต่ละชนิดเป็นดังแสดงในตารางที่ 5 และกราฟมาตรฐานของสาร 3-MCPD ในช่วงความเข้มข้น 10–500 µg/kg แสดงดังรูปที่ 5

ตารางที่ 2 แสดงค่า LOD และ LOQ ของสารแต่ละชนิด

Compound	LOD (ug/kg)	LOD (ug/kg)
3-MCPD	10	15
2-MCPD	2.7	6.9
Glycidol	18.5	41



รูปที่ 5 กราฟมาตรฐานของสาร 3-MCPD

จากการวิเคราะห์สาร 3-MCPD ด้วยเทคนิค GC-MS/MS (SRM mode) แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของการตรวจวัดในระดับความเข้มข้นต่ำ อีกทั้งยังมีช่วงความเป็นเส้นตรง (linear range) ที่กว้าง รองรับการตรวจวัดปริมาณสารในช่วงความเข้มข้นที่หลากหลาย ช่วยเพิ่มความยืดหยุ่นในการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีความแตกต่างกันได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้การใช้งานเครื่องเตรียมตัวอย่างอัตโนมัติยังช่วยให้ผลการวิเคราะห์มีประสิทธิภาพและความแม่นยำสูงลดความคลาดเคลื่อนที่อาจเกิดขึ้นจากกระบวนการเตรียมตัวอย่างที่มีหลายขั้นตอนอีกทั้งยังสามารถทำงานได้อย่างต่อเนื่องส่งผลให้สามารถใช้ศักยภาพของเครื่องมือได้อย่างเต็มที่

นอกเหนือจากการวิเคราะห์สาร3-MCPDแล้วเทคนิค GC-MS/MS ยังสามารถประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์สารตกค้างและสารปนเปื้อนอื่นๆ ได้ เช่น การตรวจวัดสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างทั้งในวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์รวมถึงการตรวจวัดสารเติมแต่งที่อาจตกค้างจากบรรจุภัณฑ์ เป็นต้น

เครื่องมือที่เกี่ยวข้อง

เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ Trace™ 1600 Series ออกแบบมาเพื่อรองรับการใช้งานที่สะดวก รวดเร็ว และมีความยืดหยุ่นในการทำงาน พร้อมทั้งได้รับการพัฒนาอย่างต่อเนื่องเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ให้สูงยิ่งขึ้น

เครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์ รุ่น TSQ Series เป็นเครื่องที่ใช้ส่วนแยกมวล (mass analyzer) แบบ Triple Quadrupole พร้อมระบบ mass filter แบบ off-axis ซึ่งช่วยลดสัญญาณรบกวนในการวิเคราะห์ อีกทั้งยังมีระบบ triple off-axis ในส่วนของตัวตรวจวัดรุ่นใหม่ ที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพและขยายขอบเขตของการวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ดียิ่งขึ้น

เครื่องเตรียมและฉีดตัวอย่างอัตโนมัติ รุ่น TriPlus™ RSH SMART Autosampler ได้รับการออกแบบแบบ all-in-one รองรับเทคนิคที่หลากหลาย ได้แก่ Liquid Injection, Headspace และ SPME รวมถึงฟังก์ชันเฉพาะสำหรับการเตรียมตัวอย่าง ตัวเครื่องเป็นระบบแขนกลที่สามารถฉีดตัวอย่างได้อย่างแม่นยำ เที่ยงตรง และให้ผลการทวนซ้ำได้ดี เหมาะสำหรับห้องปฏิบัติการที่มีปริมาณงานสูง (high-throughput) และงานที่ต้องการความถูกต้องแม่นยำในระดับสูง