



การวิเคราะห์สารอินทรีย์ระเหยง่ายในลมหายใจของมนุษย์

ผู้เรียบเรียง : รติมาศ บุญล้อม

บทนำ

ลมหายใจของมนุษย์ เกิดขึ้นเนื่องจากร่างกายต้องลำเลียงก๊าซออกซิเจนเข้าสู่ปอด และลำเลียงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากร่างกาย ส่วนประกอบในลมหายใจจะมีละอองฝอยที่ประกอบไปด้วยอนุภาคต่างๆ ทั้งขนาดเล็กและใหญ่ นอกเหนือจากนั้นสิ่งหนึ่งที่ปะปนออกมาด้วย นั่นก็คือสารอินทรีย์ระเหยง่าย (VOCs) ซึ่งเป็นสารที่เกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของร่างกาย และจะถูกดูดซึมเข้าสู่ระบบหมุนเวียนของเลือด และถูกพาออกมาทางลมหายใจ บางครั้งสาร VOCs ที่อยู่ในลมหายใจ อาจจะมีที่มาจากสิ่งแวดล้อมที่อยู่รอบๆตัว และถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้เช่นเดียวกัน

สาร VOCs ที่อยู่ในลมหายใจมีหลากหลายชนิด ซึ่งจะมีรูปแบบของสารที่ตรวจวัดได้ ที่เหมือนหรือแตกต่างกันได้ในแต่ละบุคคล ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยทั้งทางด้านสิ่งแวดล้อม การบริโภค หรือการใช้ยาโรคใด โดยสาร VOCs บางชนิดที่เกิดขึ้นอย่างจำเพาะ กับกลุ่มบุคคลที่ป่วยด้วยโรคชนิดเดียวกัน เดียวกันสามารถใช้เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพ (Biomarkers) เพื่อตรวจคัดกรองโรคหรือตรวจติดตามการรักษาโรคได้ เช่น ผู้ป่วยโรคมะเร็ง จะพบสาร Allyl methyl sulfide และ Propyl methyl sulfide แตกต่างจากผู้ที่มีร่างกายปกติอย่างชัดเจน หรือผู้ป่วยโรคมะเร็งจะพบสาร Ketone และ Aldehyde มากกว่าคนปกติ เป็นต้น

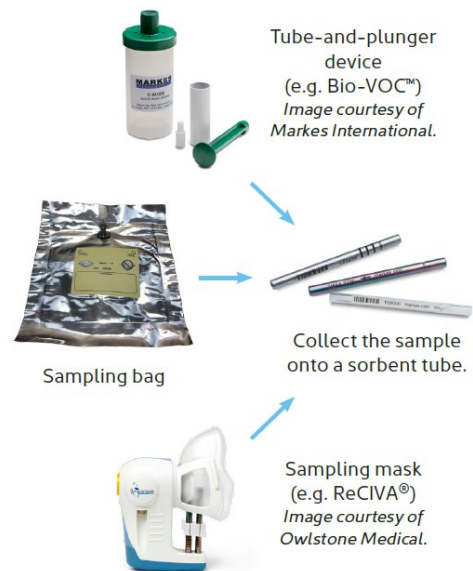
การใช้ลมหายใจมาวิเคราะห์ เพื่อใช้ในการตรวจคัดกรองหรือตรวจติดตามการรักษา ทำได้อย่างรวดเร็วโดยที่ผู้ป่วยหรือผู้เข้ารับการตรวจ จะไม่เจ็บตัวเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อนำมาวิเคราะห์ ข้อดีของการเก็บตัวอย่างลมหายใจ คือสามารถเก็บตัวอย่างซ้ำๆ ได้เป็นจำนวนมาก ทำให้ง่ายต่อการตรวจติดตามความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นเมื่อได้รับการรักษา เป็นต้น ดังนั้นการใช้ลมหายใจเพื่อเป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพ จึงเป็นทางเลือกที่ช่วยให้การวิเคราะห์ วิจัย และวินิจฉัย ทำได้ง่ายมากยิ่งขึ้น แม้ว่าในปัจจุบันวิธีการนี้ยังอยู่ในขั้นตอนของการวิจัย แต่แนวโน้มของงานวิจัยที่ประสบความสำเร็จที่เพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ คาดว่าในอนาคตวิธีการนี้จะถูกนำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยอย่างแพร่หลาย ประชาชนสามารถเข้าถึงได้ทุกคน เนื่องจากเป็นวิธีที่ค่าใช้จ่ายไม่สูงและทำได้รวดเร็วอีกด้วย

ขั้นตอนการวิเคราะห์

ขั้นตอนการวิเคราะห์

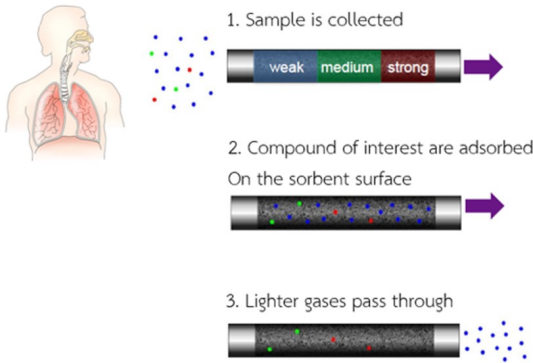
สาร VOCs ที่อยู่ในลมหายใจนั้น โดยมากแล้วจะมีความเข้มข้นอยู่ในระดับต่ำ เนื่องด้วยความหลากหลายขององค์ประกอบอื่นๆที่อยู่ในลมหายใจ ดังนั้นวิธีการเตรียมตัวอย่างลมหายใจเพื่อนำสาร VOCs ไปวิเคราะห์จึงจำเป็นต้องใช้วิธีที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อสาร VOCs และสามารถเพิ่มความเข้มข้นของสาร VOCs ก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์ได้

เทคนิค Thermal Desorption, TD เป็นเทคนิคการเตรียมตัวอย่างเพื่อสกัดสารอินทรีย์ VOCs แล้วนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี โดยวิธีการเก็บตัวอย่างลมหายใจสามารถใช้อุปกรณ์ที่นำหลอดเก็บตัวอย่าง (Sorbent Tube) มาต่อพ่วงได้ เช่น Tube-and-plunger device หรือ Sampling mask หรือ ถุงเก็บอากาศ ดังแสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างลมหายใจ

สาร VOCs จากลมหายใจจะถูกดูดซับที่ตัวดูดซับของหลอดเก็บตัวอย่างเพื่อเพิ่มความเข้มข้นของสาร VOCs ดังแสดงในรูปที่ 2

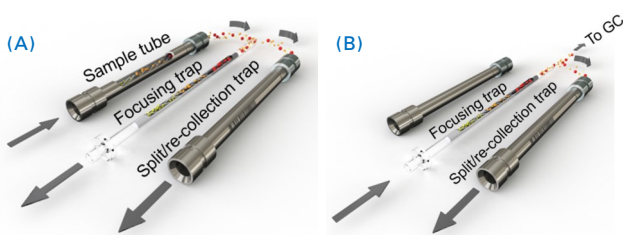


รูปที่ 2 แสดงขั้นตอนการเก็บตัวอย่างลมหายใจ

เมื่อเก็บตัวอย่างลมหายใจจากผู้ทดสอบเรียบร้อยแล้ว หลอดบรรจุตัวอย่างจะถูกนำเข้าสู่ระบบ TD เพื่อเริ่มทำการวิเคราะห์ โดยจะแบ่งขั้นตอนการทำงานเป็น 2 ขั้นตอน ดังนี้

1. Tube Desorption เป็นการให้ความร้อนกับหลอดเก็บตัวอย่างเพื่อให้สาร VOCs ถูกชะออกสู่ Focusing trap ที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ในช่วง -30 ถึง 50 องศาเซลเซียส และยังสามารถเลือกแบ่งตัวอย่างที่ถูกชะออกมาสู่ Sorbent Tube เปล่าเพื่อเก็บตัวอย่างไว้วิเคราะห์ซ้ำ ได้อีกด้วย ดังแสดงในรูปที่ 3A

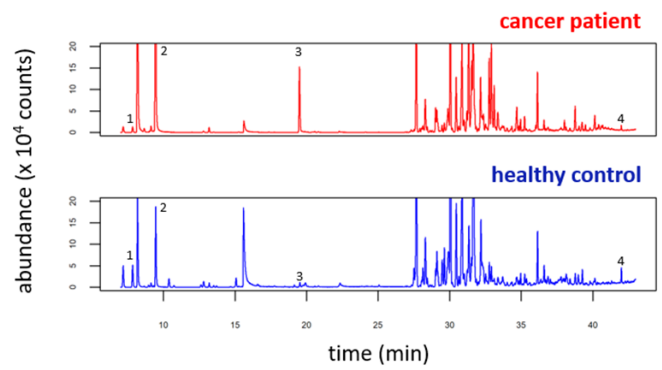
2. Trap Desorption คือการให้ความร้อนกับ Focusing Trap ด้วยความเร็ว โดยสามารถเพิ่มอุณหภูมิได้สูงสุด 425 องศาเซลเซียสด้วยความเร็วสูงสุด 100 องศาเซลเซียสต่อวินาที เพื่อชะสาร VOCs เข้าสู่ระบบ GC ซึ่งการชะสาร VOCs ออกจาก Focusing trap เป็นแบบ Backflush จึงทำให้เพิ่มประสิทธิภาพในการนำสาร VOCs เข้าสู่ระบบ GC และยังสามารถเลือกแบ่งตัวอย่างที่ถูกชะออกมาสู่ Sorbent Tube เปล่าเพื่อเก็บตัวอย่างไว้วิเคราะห์ซ้ำได้อีกด้วย ดังแสดงในรูปที่ 3B



รูปที่ 3 แสดงขั้นตอนการทำงานของระบบ TD

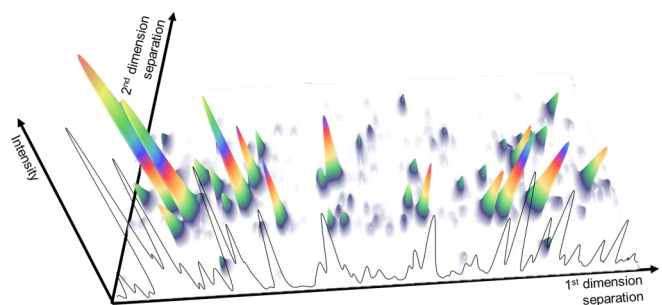
(A) Tube Desorption และ (B) Trap Desorption

เมื่อสาร VOCs ถูกชะเข้าสู่ระบบ GC สาร VOCs ก็จะถูกแยกออกจากกัน และตรวจวัดออกมาในรูปแบบโครมาโตแกรมรูปที่ 4 แสดงตัวอย่างโครมาโตแกรมของสาร VOCs ที่ตรวจพบได้ในลมหายใจของผู้ป่วยโรคมะเร็ง เมื่อเปรียบเทียบกับลมหายใจของผู้ที่มีร่างกายปกติมีปริมาณสารบางชนิดแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด แต่ในบางช่วงของโครมาโตแกรมจะพบว่าสาร VOCs ไม่สามารถแยกจากกันได้ชัดเจน ซึ่งอาจจะทำให้ยากต่อการวิเคราะห์ผล แสดงให้เห็นว่าการใช้เทคนิค GC เพื่อแยกสารเพียงอย่างเดียวอาจไม่เพียงพอที่จะนำมาวิเคราะห์สาร VOCs ในลมหายใจ ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีสองมิติ (GCxGC) ซึ่งเป็นการแยกสารผสมแบบสองขั้นตอนและตอบโจทย์การวิเคราะห์สารผสม ที่มีองค์ประกอบหลากหลายและซับซ้อน นอกจากนี้ยังช่วยลดระยะเวลาในการวิเคราะห์อีกด้วย

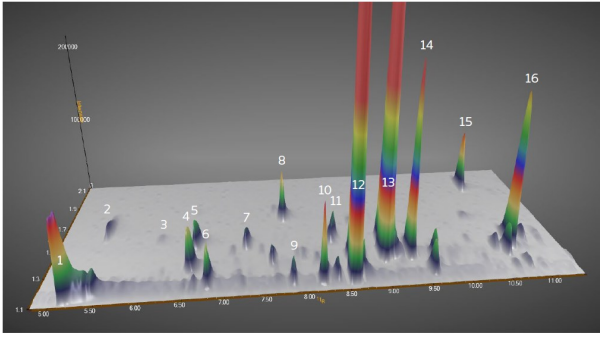


รูปที่ 4 ตัวอย่างโครมาโตแกรมเปรียบเทียบการวิเคราะห์สาร VOCs ที่ตรวจพบในลมหายใจของผู้ป่วยโรคมะเร็ง และผู้ที่มีร่างกายปกติ

เทคนิค GCxGC เป็นเทคนิคการแยกสารผสมในสถานะแก๊สโดยผ่านการแยกจากคอลัมน์สองชนิดที่มีขั้วแตกต่างกัน และเชื่อมต่อกันด้วยระบบโมดูลเตอร์ โดยสารที่ถูกแยกจากคอลัมน์ที่หนึ่ง จะถูกแบ่งส่วนเพื่อส่งเข้าสู่คอลัมน์ที่สอง ทำให้เกิดการแยกสารอีกครั้งผ่านโมดูลเตอร์ กระบวนการแยกสารจะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดเวลาจนจบการวิเคราะห์ และเมื่อแยกสารผสมแล้ว จะถูกตรวจวัดและบันทึกสัญญาณ เพื่อนำมาประมวลผลในรูปแบบโครมาโตแกรมสามมิติดังแสดงในรูปที่ 5



รูปที่ 5 ตัวอย่างโครมาโตแกรมสามมิติจากระบบ GCxGC

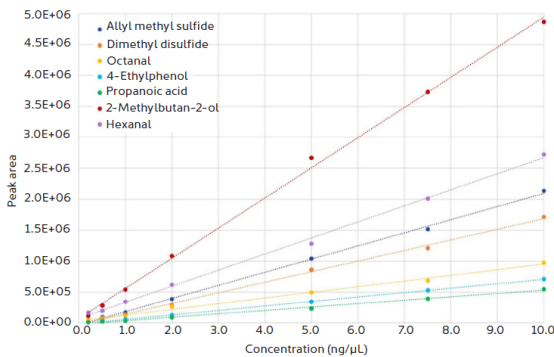


- | | | | |
|------------------|--------------------|---------------------|--------------------------------------|
| 1 Carbon dioxide | 5 Isopropanol | 9 2-Methylpentane | 13 Ethyl acetate |
| 2 Sulfur dioxide | 6 Isoprene | 10 3-Methylpentane | 14 1,3,5-Trifluorobenzene (artifact) |
| 3 Ethanol | 7 Dichloromethane | 11 Butane-2,3-dione | 15 Butan-1-ol |
| 4 Acetone | 8 Trimethylsilanol | 12 n-Hexane | 16 Benzene |

รูปที่ 6 ตัวอย่างโครมาโตแกรมสามมิติของการวิเคราะห์สาร VOCs ในลมหายใจด้วยเทคนิค TD-GCxGC-TOFMS

สำหรับขั้นตอนการประมวลผลการวิเคราะห์สาร VOCs ในลมหายใจ เพื่อนำมาใช้ในการตรวจคัดกรองหรือตรวจติดตามโรค จำเป็นจะต้องหาชนิดของสาร VOCs ที่สามารถนำมาเป็นสารบ่งชี้ โดยการวิเคราะห์เพื่อหาสารบ่งชี้ จะใช้การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ เพื่อหาความแตกต่างของชนิดและปริมาณของสาร VOCs ที่ตรวจวัดได้ในลมหายใจของผู้ป่วยและผู้ที่มีร่างกายปกติ ซึ่งการเลือกใช้ตัวตรวจวัดเป็นชนิดแมสสเปคโตรมิเตอร์ (Mass Spectrometer, MS) จะช่วยให้การวิเคราะห์เพื่อหาชนิดของสาร VOCs ทำได้ง่ายมากยิ่งขึ้น เนื่องจากสามารถนำผลการวิเคราะห์ในรูปแบบแมสสเปคตรัมที่ได้จากตัวอย่างไปเปรียบเทียบกับแมสสเปคตรัมของฐานข้อมูล เพื่อทำนายชนิดของสารได้

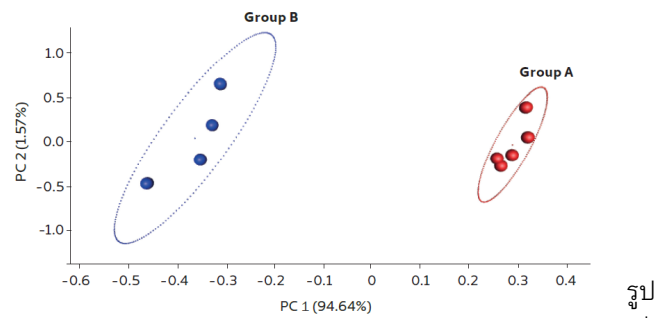
เมื่อสามารถหาสารบ่งชี้จากตัวอย่างลมหายใจของผู้ป่วยได้แล้ว สามารถนำสารบ่งชี้เหล่านั้นมาวิเคราะห์เชิงปริมาณได้โดยการสร้างกราฟมาตรฐานดังแสดงในรูปที่ 7 ซึ่งเป็นตัวอย่างกราฟมาตรฐานของสารบ่งชี้ที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค TD-GCxGC-TOFMS



รูปที่ 7 ตัวอย่างกราฟมาตรฐานของสารบ่งชี้ที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค TD-GCxGC-TOFMS

แต่บางครั้งการใช้เพียงสารบ่งชี้เพียงชนิดเดียว อาจจะไม่เพียงพอต่อการนำมาใช้ในการตรวจคัดกรองหรือตรวจติดตามโรค เนื่องจากสาร VOCs ที่เลือกใช้เป็นสารบ่งชี้ อาจจะมีแหล่งที่มาจากสาเหตุอื่นได้ เช่น การรับประทานอาหาร การกิน

ยารักษาโรค หรือได้รับจากสิ่งแวดล้อม เป็นต้น ในกระบวนการวิเคราะห์ผลจึงจำเป็นต้องใช้ผลการวิเคราะห์สาร VOCs ที่ตรวจวัดได้ลักษณะรูปแบบของสาร (Compound Profile) มาช่วยในการยืนยันความถูกต้องในการตรวจวิเคราะห์ โดยสามารถนำมาแสดงผลในรูปแบบความสัมพันธ์ของข้อมูลหรือการคำนวณทางสถิติต่างๆ เพื่อให้ง่ายต่อการประมวลผล เช่น การแสดงผลในรูปแบบ PCA ซึ่งเป็นการแบ่งกลุ่มตัวอย่างโดยอาศัยความสัมพันธ์ของชุดข้อมูล ไม่ว่าจะเป็นจำนวนชนิดหรือความเข้มข้นของสาร VOCs ที่ตรวจพบในตัวอย่าง ทำให้สามารถแยกกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยและผู้มีร่างกายปกติออกจากกันได้อย่างชัดเจนดังแสดงในรูปที่ 7



รูปที่ 7 การแสดงผลในรูปแบบ PCA ของการวิเคราะห์สาร VOCs ที่ตรวจวัดได้ในตัวอย่างลมหายใจของผู้ป่วย (Group A) และผู้ที่มีร่างกายปกติ (Group B)

บทสรุป

- การเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค TD เป็นการเตรียมตัวอย่างที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สาร VOCs ในตัวอย่างลมหายใจเนื่องจากเป็นวิธีที่จำเพาะเจาะจงและช่วยเพิ่มความเข้มข้นของสาร VOCs ก่อนการวิเคราะห์

- การวิเคราะห์สาร VOCs ในลมหายใจด้วยเทคนิค GCxGC-TOFMS ช่วยให้สามารถแยกและตรวจวัดสาร VOCs ในลมหายใจได้อย่างมีประสิทธิภาพทั้งทางด้าน การวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ

- การนำผลการวิเคราะห์มาใช้ในการตรวจคัดกรองโรคหรือตรวจติดตามโรค จำเป็นต้องใช้ข้อมูลแบบเดี่ยวที่ใช้เฉพาะข้อมูลของสารบ่งชี้ร่วมกับข้อมูลที่เป็นรูปแบบและความสัมพันธ์ของข้อมูลที่รวบรวมสาร VOCs ที่ตรวจพบทั้งหมดเพื่อมาช่วยในการวิเคราะห์ผลและช่วยลดความผิดพลาดของข้อมูลที่อาจเกิดจากปัจจัยภายนอก โดยระบบประมวลผลที่เลือกใช้ควรมีฟังก์ชันการทำงานที่ครอบคลุมทุกความต้องการของผู้ใช้งาน

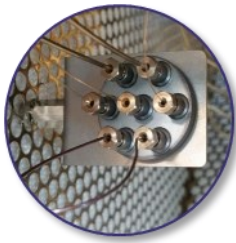
เครื่องมือที่เกี่ยวข้อง



เครื่องเตรียมตัวอย่างแบบ Thermal Desorption รุ่น TD100-xr ที่รองรับตัวอย่างได้สูงสุด 100 ตัวอย่าง ระบบ Re-collection และ ระบบ Leak Check ในทุกตัวอย่าง ทำให้ไม่ผิดพลาดทุกการวิเคราะห์



BenchTOF2™ เครื่องแมสสเปคโตรมิเตอร์ที่รองรับการทำงานร่วมกับระบบ GCxGC ได้อย่างมีประสิทธิภาพ พร้อมด้วยฟังก์ชัน Tandem Ionisation เพื่อตอบโจทยงานวิเคราะห์วิจัยได้หลากหลายมากยิ่งขึ้น



INSIGHT® Flow modulator (SepSolve Analytical)

ระบบโมดูเลเตอร์ชนิดใช้การควบคุมอัตราการไหล ซึ่งเป็นระบบที่ไม่ใช้สารหล่อเย็นในการทำงาน ช่วยลดค่าใช้จ่ายในการใช้งาน และใช้งานได้ต่อเนื่องยาวนาน เหมาะกับห้องปฏิบัติการที่มีตัวอย่างจำนวนมาก



ChromCompare+ โปรแกรมสำหรับควบคุมการทำงานของเครื่องมือ และประมวลผลการวิเคราะห์ของระบบ GCxGC ที่มีฟังก์ชันการวิเคราะห์ครอบคลุมทั้งการวิเคราะห์เชิงปริมาณและเชิงคุณภาพ ตลอดจนฟังก์ชันและการประมวลผลข้อมูลเชิงสถิติต่างๆ

ติดตามแอปพลิเคชันอื่น ๆ ได้ที่ <https://www.scispec.co.th>



บริษัท ชายนี สเปค จำกัด
10 กาญจนภิเษก ซอย 0010 แยกสอง
เขตบางแค กทม. 10160
โทร 02-454-8533



/scispec



@scispec

ThermoFisher
SCIENTIFIC