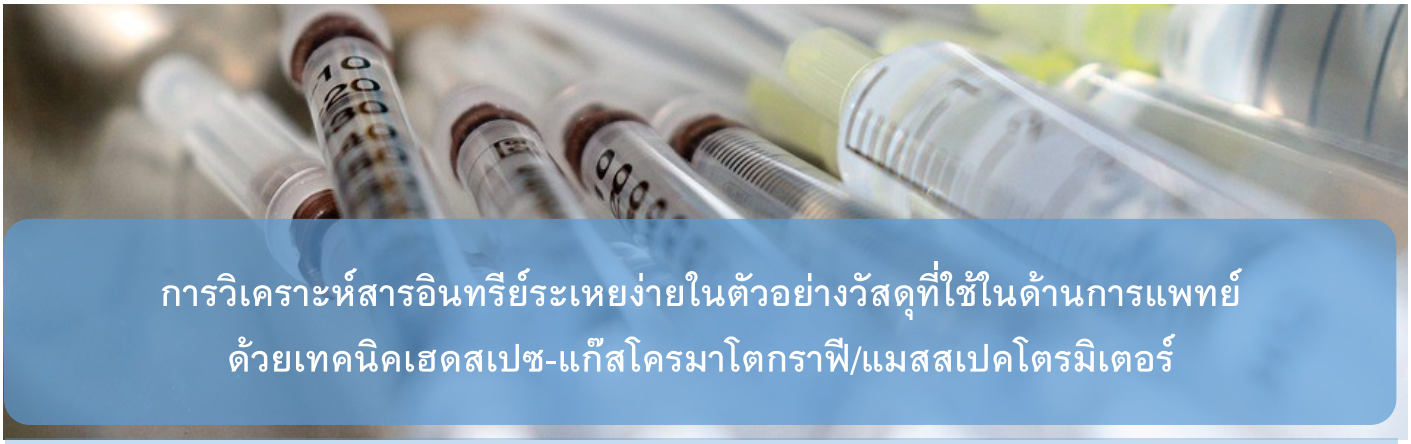


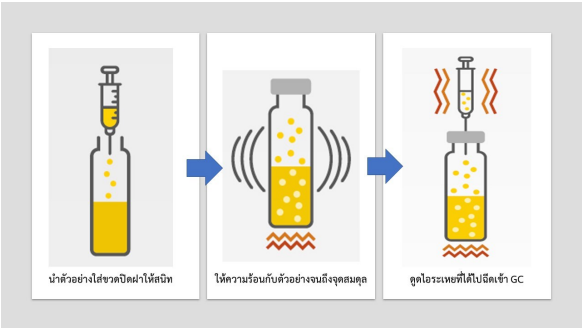
การวิเคราะห์สารอินทรีย์ระเหยง่ายในตัวอย่างวัสดุที่ใช้ในด้านการแพทย์ด้วยเทคนิคเฮดสเปซ-แก๊สโครมาโตกราฟี/แมสสเปคโตรมิเตอร์

ผู้จัดทำ: รติมาศ บุญล้อม

บทนำ

เภสัชภัณฑ์ (Pharmaceutical Products) ที่ผ่านกระบวนการผลิตและการเตรียมเพื่อนำมาใช้รักษาโรค มีโอกาสที่จะสัมผัสกับวัสดุต่างๆ ที่ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์หรืออุปกรณ์ใช้เฉพาะที่ เช่น จุกปิดขวดยา เข็มฉีดยา เข็มเจาะ หลอดสำหรับดูดยา ท่อพ่นยา เป็นต้น ซึ่งวัสดุอุปกรณ์เหล่านี้เรียกโดยรวมว่าเป็นเป็นผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากพอลิเมอร์ หรือยางที่อาจจะถูกสารละลายหรือตัวยาชะเอาสารอันตรายออกมากับตัวยาได้ ดังนั้นวัสดุอุปกรณ์เหล่านี้ จะต้องได้รับการทดสอบคุณภาพทั้งหลังผลิตตลอดจนการเก็บรักษาว่าสามารถใช้ได้อย่างปลอดภัย

สำหรับสารที่อาจจะถูกชะออกมาจากบรรจุภัณฑ์ หรือวัสดุอุปกรณ์ทางการแพทย์ได้นั้นมีได้หลากหลายชนิด หนึ่งในกลุ่มสารที่สามารถตรวจพบได้คือสารอินทรีย์ระเหยง่าย (VOCs) ซึ่งเป็นกลุ่มสารที่เป็นสารตั้งต้น สารเติมแต่ง หรือตัวทำละลายที่ใช้ในกระบวนการผลิตพอลิเมอร์วิธีการวิเคราะห์สารกลุ่มนี้ สามารถใช้เทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas Chromatography, GC) ร่วมกับวิธีการเตรียมตัวอย่างแบบเฮดสเปซ (Headspace, HS) ซึ่งเป็นวิธีการเตรียมตัวอย่างที่ง่ายและสะดวกรวดเร็ว มีขั้นตอนการทำงานดังแสดงในรูปที่ 1 โดยเริ่มการให้ความร้อนกับขวดใส่ตัวอย่างที่ปิดสนิท เพื่อให้สาร VOCs ระเหย จากนั้นจึงนำไอระเหยของสารที่สนใจเข้าสู่เครื่อง GC เพื่อแยกและวิเคราะห์ถัดไป



รูปที่ 1 ขั้นตอนการทำงานของระบบเฮดสเปซ

สำหรับบทความนี้เป็นการวิเคราะห์สารอินทรีย์ระเหยง่ายในตัวอย่างจุกยางของกระบอกฉีดยาด้วยเทคนิค HS-GC/MS โดยมีขั้นตอนการวิเคราะห์ดังนี้

การเตรียมตัวอย่าง

รูปที่ 2 ตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบทั้งสี่ตัวอย่าง

ตัวอย่าง A: จุกยาง 2 อันใส่ในขวด HS ขนาด 20 มล. ปิดฝาให้แน่น

ตัวอย่าง B: จุกยาง 30 อัน ใส่ในขวดสำหรับสกัดเติมน้ำ 30 มล. แล้วปิดฝาให้แน่น นำไปอุ่นที่ 50 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลาย 2 มล.ใส่ขวด HS ขนาด 20 มล. ปิดฝาให้แน่น

ตัวอย่าง C: จุกยาง 2 อันใส่ในขวด HS ขนาด 20 มล. เติมน้ำ 2 มล. ปิดฝาให้แน่น

ตัวอย่าง D: จุกยาง 30 อัน ใส่ในขวดสำหรับสกัดเติมน้ำ 30 มล. แล้วปิดฝาให้แน่น นำไปอุ่นที่ 50 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลาย 2 มล.ใส่ขวด HS ขนาด 10 มล. เติม NaCl 500 มก. ปิดฝาให้แน่น

Blank: เติมน้ำ 2 มล.ใส่ขวด HS ขนาด 20 มล. เติม NaCl 500 มล. ปิดฝาให้แน่น

สภาวะเครื่องมือ

TriPlus 500™ Headspace Autosampler

-อุ่นตัวอย่างที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที สำหรับตัวอย่าง B C D และ Blank

-อุ่นตัวอย่างที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที สำหรับตัวอย่าง A

TRACE 1310™ Gas Chromatograph

-คอลัมน์: TG-624 30 m × 0.32 mm ID 1.8 µm

-อุณหภูมิ Oven: เริ่มต้น 40 องศาเซลเซียส จากนั้นเพิ่มด้วยอัตราเร็ว 7 องศาเซลเซียสต่อนาทีจนถึง 200 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ 7 นาที

-แก๊สพา: แก๊สฮีเลียม อัตราการไหล 1 มล.ต่อนาที

-ตัวตรวจวัด: เฟลมไอออไนเซชัน (Flame Ionization, FID) อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส

Orbitrap Exploris GC™ High Resolution Accurate Mass (HRAM) mass spectrometer.

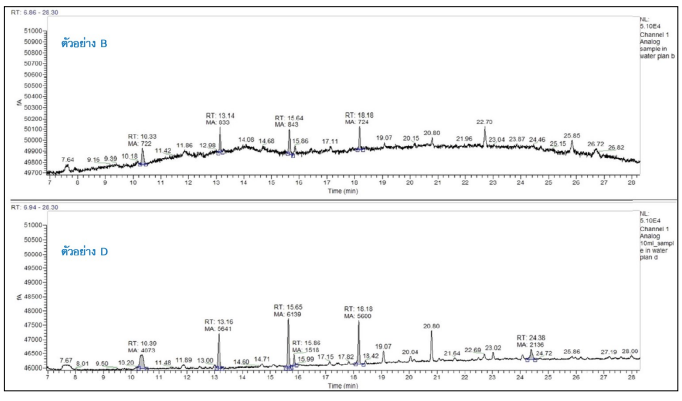
-อุณหภูมิ Ion source: 200 องศาเซลเซียส

-โหมด: Full scan, EI

-ช่วงมวล: 35-500 *m/z*

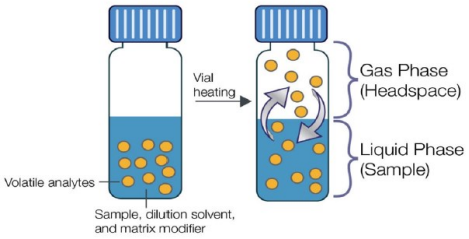
-Resolution: 60,000(FWHM at m/z 200)

ผลการวิเคราะห์

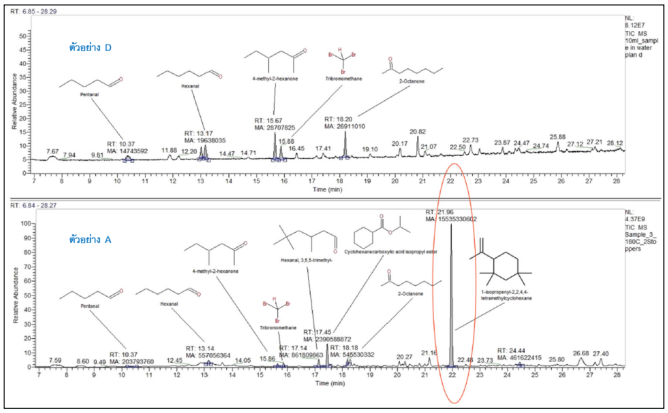


รูปที่ 3 โครมาโตแกรมเปรียบเทียบของตัวอย่าง B (บน) และตัวอย่าง D (ล่าง) จากตัวตรวจวัดชนิด FID

เมื่อทำการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ในรูปแบบโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยตัวตรวจวัดชนิด FID ของตัวอย่าง B และตัวอย่าง D ที่มีการเตรียมตัวอย่างเหมือนกันแต่แตกต่างกันที่ขนาดของขวด HS และการเติม NaCl เข้าไปเพื่อช่วยให้สาร VOCs ระเหยได้ง่ายขึ้น พบว่า ตัวอย่าง D ที่ใช้ขวด HS ขนาด 10 มล.และมีการเติม NaCl ในการวิเคราะห์ ให้ขนาดสัญญาณสูงกว่าตัวอย่าง B ที่ใช้ขวด HS ขนาด 20 มล. ดังแสดงในรูปที่ 3 ทั้งนี้เนื่องจากการใช้ขวด HS ขนาด 10 มล. ทำให้ขนาดของอัตราส่วนระหว่างเฟส (รูปที่ 4) ซึ่งเป็นอัตราส่วนระหว่างชั้นของของเหลวกับชั้นของแก๊สลดลง ปริมาณของสาร VOCs ในชั้นของแก๊สจึงมากขึ้นทำให้สามารถวิเคราะห์ได้ขนาดสัญญาณที่สูงขึ้นตามไปด้วย



รูปที่ 4 แสดงหลักการของเทคนิคเฮดสเปซ



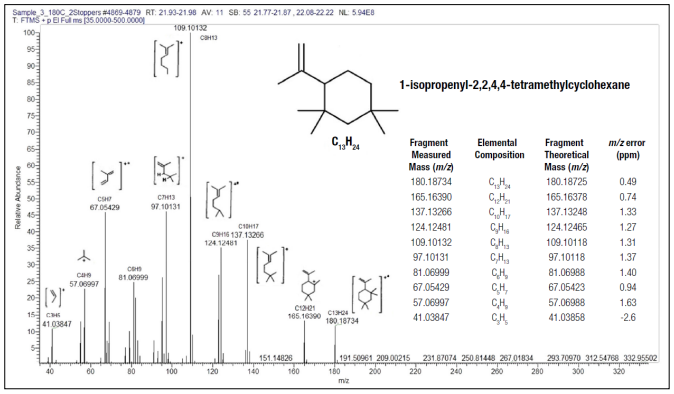
รูปที่ 5 โครมาโตแกรมเปรียบเทียบของตัวอย่าง D (บน) และตัวอย่าง A (ล่าง) จากตัวตรวจวัดชนิด HRAM

เมื่อเปรียบเทียบการวิเคราะห์ระหว่างตัวอย่าง A กับตัวอย่าง D ดังแสดงในรูปที่ 5 พบว่าตัวอย่างจุกยางที่ไม่มีการเติมน้ำแต่มีการใช้อุณหภูมิสูงในขั้นตอนการทำเฮดสเปซ พบสาร 1-isopropenyl-2,2,4,4-tetramethylcyclohexane ($C_{13}H_{24}$) ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ สารนี้จึงตรวจไม่พบในตัวอย่าง D ที่มีการสกัดด้วยน้ำก่อนนำมาวิเคราะห์

เมื่อนำสเปคตรัม ที่ได้จากตัวตรวจวัดชนิดแมสสเปคโตรมิเตอร์ความละเอียดสูง (High Resolution Accurate Mass (HRAM) Mass Spectrometer) มาวิเคราะห์เพื่อตรวจสอบชนิดของสารกับฐานข้อมูล ได้ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 1 ก็จะได้ความมั่นใจในการยืนยันผลมากยิ่งขึ้น เนื่องจากมีข้อมูลทั้งในส่วนของสเปคตรัมโดยรวมของสารเพื่อดู Ion Ratio เทียบกับฐานข้อมูลและสเปคตรัมแสดงมวลที่ความละเอียดสูงแสดงในรูปที่ 6

ตารางที่ 1 แสดงรายชื่อสารที่ตรวจวัดได้ในตัวอย่าง A

Identified Compound	Formula	RT (min)
Pentanal	$C_5H_{10}O$	10.37
Hexanal	$C_6H_{12}O$	13.14
4-methyl-2-hexanone	$C_7H_{14}O$	15.64
Tribromomethane	$CHBr_3$	15.86
3,5,5-trimethylhexanal	$C_9H_{18}O$	17.14
Cyclohexanecarboxylic acid isopropyl ester	$C_{10}H_{18}O_2$	17.45
2-Octanone	$C_8H_{16}O$	18.18
1-isopropenyl 2,2,4,4-tetramethylcyclohexane	$C_{13}H_{24}$	21.96



รูปที่ 6 แสดงสเปคตรัมของสาร 1-isopropenyl-2,2,4,4-tetramethylcyclohexane ในรูปแบบมวลความละเอียดสูง

สรุปผล

ตัวอย่างจุกยางที่ได้ทำการทดสอบ สามารถตรวจวัดสารอินทรีย์ระเหยง่ายด้วยเทคนิค HS-GCFID/MS ได้ง่ายและมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างที่ไม่ยุ่งยากซับซ้อน แต่การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้ จะต้องมีการปรับสภาวะการเตรียมตัวอย่างให้เหมาะสมกับลักษณะของตัวอย่างและคุณสมบัติของสารที่ต้องการวิเคราะห์ หากทราบชนิดของสารที่ต้องการวิเคราะห์สามารถใช้เพียงเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟ (GC) ร่วมกับตัวตรวจวัดชนิดเฟลมไอออนไนเซชัน (FID) ในการตรวจวิเคราะห์ได้ แต่หากยังไม่ทราบว่าสารที่ต้องการวิเคราะห์เป็นสารชนิดใดการเลือกใช้งานร่วมกับตัวตรวจวัดชนิดแมสสเปคโตรมิเตอร์ จะช่วยทำนายชนิดของสารที่ตรวจวิเคราะห์ หรือเลือกใช้แมสสเปคโตรมิเตอร์ความละเอียดสูง (HRAM) ที่จะช่วยยืนยันชนิดของสารที่ตรวจวัดได้ ทำให้ง่ายต่อการวิเคราะห์ทดสอบและพัฒนาวิธีวิเคราะห์ถัดไป

เครื่องมือที่เกี่ยวข้อง

Triplus™ 500 Headspace Autosampler

เครื่องเตรียมสารตัวอย่างอัตโนมัติชนิดเฮดสเปซที่ออกแบบมาให้เครื่องสามารถวิเคราะห์ซ้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพด้วยเทคโนโลยีการควบคุมระบบแรงดันอัตโนมัติ และระบบวาล์วปิดเปิดที่ช่วยลดการปนเปื้อนที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิเคราะห์ได้ อีกทั้งยังมีระบบทำความสะอาดระหว่างทำการวิเคราะห์ช่วยลดปัญหา Carryover ทำให้มั่นใจในการวิเคราะห์

Orbitrap™ Exploris™ High Resolution Accurate Mass (HRAM) Mass Spectrometer

แมสสเปคโตรมิเตอร์ที่มีชุดคัดแยกมวลเป็นชนิด Orbitrap ที่เป็นเทคโนโลยีใหม่ล่าสุด โดยมีความสามารถในการแยกมวลด้วย Resolution สูงสุด 240,000 (FWHM at m/z 200) และยังสามารถเพิ่มฟังก์ชัน MS/MS เพื่อตอบโจทย์งานวิเคราะห์ งานวิจัย ให้พัฒนาต่อยอดได้เต็มประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น มีระบบ Vacuum Probe Interlock สามารถเปลี่ยนโหมด EI และ CI ตลอดจนการถอดทำความสะอาด Ion Source ได้โดยไม่ต้องปิดระบบสุญญากาศของเครื่อง ทำให้ประหยัดเวลาและสามารถทำงานได้ต่อเนื่องยาวนานมากขึ้นอีกด้วย

ติดตามแอพพลิเคชั่นอื่น ๆ ได้ที่ https://www.scispec.co.th

SciSpec

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

/scispec
@scispec

ThermoFisher SCIENTIFIC