วิธีการเตรียมตัวอย่างที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมด้วยการสกัดระดับจุลภาค

Environmental Friendly Sample Preparation Method by Microextraction

อภิญญา นวคุณ*

Apinya Navakhun*

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

Department of Chemistry, Faculty of Science, Burapha University

วันที่รับบทความ 18 กรกฎาคม พ.ศ. 2557

วันที่ตอบรับตีพิมพ์ 8 ธันวาคม พ.ศ. 2557

บทคัดย่อ

ปัจจุบันวิธีการเตรียมตัวอย่างที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมีสำคัญในการวิเคราะห์ทางเคมี โดยเน้นการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่เป็นพิษในปริมาณน้อยเพื่อลดของเสียจากกระบวนการวิเคราะห์ ซึ่งในบทความนี้ได้นำเสนอการสกัดตัวอย่างด้วยวิธีการใหม่โดยได้อธิบายถึงหลักการของวิธีการสกัดด้วยวัฏภาคของเหลวระดับจุลภาค 3 วิธีคือการสกัดระดับจุลภาคด้วยตัวทำละลายหยดเดียว การสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจาย และการสกัดระดับจุลภาคด้วยไฟเบอร์ที่เป็นโพรง วิธีดังกล่าวได้ใช้ตัวทำละลายในระดับไมโครลิตรที่มีความง่าย รวดเร็ว และราคาถูกเมื่อเทียบกับวิธีการสกัดด้วยของเหลวแบบปกติ

คำสำคัญ: การสกัดระดับจุลภาค การสกัดระดับจุลภาคด้วยตัวทำละลายหยดเดียว การสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจาย การสกัดระดับจุลภาคด้วยไฟเบอร์ที่เป็นโพรง

Abstract

In recent years, the environmental friendly sample preparation method is an important issue in chemical analysis. The small volume of toxic organic solvents is used in order to reduce the chemical waste from analysis process. The extraction methods have been presented in this review. The principles of three liquid phase microextraction methods including single-drop microextraction, dispersive liquid-liquid microextraction and hollow fiber microextraction have been described. These methods use micro-volume solvent and illustrate the simpler, faster, and more inexpensive than traditional liquid extraction.

Keywords: Microextraction, single-drop microextraction, Dispersive liquid-liquid microextraction, hollow fiber microextraction

*Corresponding Author. E-mail: apinyan@buu.ac.th

บทนำ

วิธีการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว มีสภาพไว ให้ผลการวิเคราะห์ที่มีความแม่นและความเที่ยงสูงเป็นเรื่องที่สำคัญในการวิเคราะห์สารปริมาณน้อย (trace analysis) โดยเฉพาะสำหรับงานทางชีววิทยา สิ่งแวดล้อมหรือเภสัชกรรม การเตรียมตัวอย่าง (sample pre-treatment) เป็นขั้นตอนที่สำคัญในการสกัดสารที่ต้องการวิเคราะห์ออกมาจากเมทริกซ์ตัวอย่างที่มีความซับซ้อน และเป็นการเพิ่มความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์ (pre-concentration)ด้วย เนื่องจากเครื่องมือในการวิเคราะห์ส่วนใหญ่ยังคงมีปัญหาจากการรบกวนของเมทริกซ์จากตัวอย่างในขั้นตอนการวิเคราะห์ ดังนั้นการเตรียมตัวอย่างเป็นขั้นตอนที่สำคัญและจำเป็นในกระบวนการวิเคราะห์ เพื่อทำให้สารที่วิเคราะห์มีความเข้มข้นไม่ต่ำเกินไปจนไม่สามารถตรวจวัดได้อย่างไรก็ตามเทคนิคการเตรียมตัวอย่าง เช่นการสกัดด้วยของเหลว-ของเหลว (liquid-liquid extraction, LLE) การสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง (solid phase extraction, SPE) มีข้อเสียหลายประการได้แก่ ขั้นตอนการสกัดที่ยุ่งยาก ใช้เวลานาน ใช้ปริมาณตัวอย่างมาก ยุ่งยากในการพัฒนาให้เป็นระบบอัตโนมัติ นอกจากนี้ยังใช้สารเคมีและตัวทำละลายอินทรีย์ที่เป็นพิษเป็นจำนวนมากก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมเป็นพิษ ปัญหาสุขภาพของผู้ทำการทดลอง และมีค่าใช้จ่ายสูงในการกำจัดของเสียดังกล่าว วิธีการเตรียมตัวอย่างที่รวดเร็ว ง่าย ราคาถูกสามารถนำไปประยุกต์กับเครื่องมือวิเคราะห์ที่หลากหลายเป็นสิ่งที่ต้องการในกระบวนการวิเคราะห์เป็นอย่างมาก ปัจจุบันได้มีการพัฒนาเทคนิคการเตรียมตัวอย่างเพื่อให้ได้วิธีที่ง่าย มีขั้นตอนน้อยตลอดจนการใช้ปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ที่น้อยลง โดยเทคนิคใหม่ที่เรียกว่าการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งระดับจุลภาค (solid phase microextraction, SPME) (Arthur and Pawliszyn, 1990) ซึ่งใช้พอลิเมอร์เคลือบบนไฟเบอร์ขนาดเล็ก สารที่ต้องการวิเคราะห์จะดูดซับบนพอลิเมอร์จากการสัมผัสโดยตรงหรือจากไอของสาร (headspace) เทคนิค SPME มีข้อดีเมื่อเทียบกับการสกัดทั่วไป คือ มีขั้นตอนการวิเคราะห์น้อย ง่าย ไม่ต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์และเป็นวิธีที่มีสภาพไวสูง ให้ผลการวิเคราะห์ที่ยอมรับได้ถึงแม้ว่าจะมีความเข้มข้นในระดับต่ำมาก อย่างไรก็ตามเทคนิค SPME มีข้อเสียหลายประการจากไฟเบอร์ที่ใช้ ได้แก่ ความไม่เสถียรและไม่ทนทานต่อตัวทำละลายอินทรีย์ การหักง่ายของไฟเบอร์ การหลุดออกของพอลิเมอร์ที่เคลือบบนไฟเบอร์ตลอดจนไฟเบอร์ที่มีราคาสูง ดังนั้นในบทความนี้จึงได้นำเสนอหลักการวิธีการเตรียมตัวอย่างสมัยใหม่คือเทคนิคการสกัดด้วย วัฏภาคของเหลวระดับจุลภาค (liquid phase microextraction, LPME) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ง่ายและราคาถูก โดยอธิบายถึงหลักการของการสกัดด้วยเทคนิค LPME 3 เทคนิค ได้แก่ การสกัดระดับจุลภาคด้วยตัวทำละลายหยดเดียว การสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจาย และการสกัดระดับจุลภาคด้วยไฟเบอร์ที่เป็นโพรง รวมถึงการอธิบายข้อดีข้อเสียและการนำไปประยุกต์ใช้ของเทคนิคดังกล่าวด้วย

ซึ่งเทคนิค LPME จะใช้ตัวทำละลายปริมาณน้อยลงมากโดยทั่วไปจะใช้ในระดับไมโครลิตรเมื่อเทียบกับการใช้ตัวทำละลายในระดับร้อยมิลลิลิตรในเทคนิคการสกัดด้วยของเหลวทั่วไป เทคนิค LPME เหมาะสำหรับการวิเคราะห์ โดยเทคนิค capillary gas chromatography (GC) capillary electrophoresis (CE) และ high performance liquid chromatography (HPLC) เทคนิค LPME นิยมใช้ในการสกัดสารจากตัวอย่างที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ (donor phase) เข้าสู่ตัวทำละลายที่ไม่รวมตัวกับน้ำ (acceptor phase) เทคนิค LPME แบ่งออกเป็น 3 เทคนิคที่สำคัญได้แก่

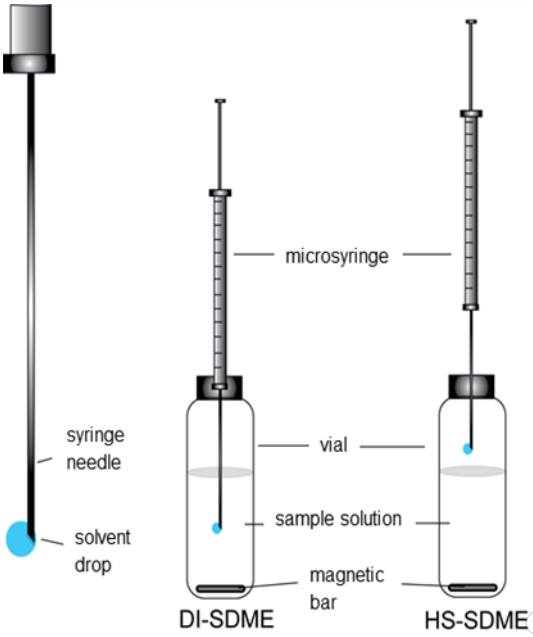
1) การสกัดระดับจุลภาคด้วยตัวทำละลายหยดเดียว (single-drop microextraction, SDME)
2) การสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)
3) การสกัดระดับจุลภาคด้วยไฟเบอร์ที่เป็นโพรง (hollow fiber microextraction, HF-LPME)

<u>การสกัดระดับจุลภาคด้วยตัวทำละลายหยดเดียว</u> (single-drop microextraction, SDME)

เทคนิค SDME พัฒนาจาก LPME โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ปริมาตร 2-3 ไมโครลิตรแขวนอยู่ที่ปลายเข็มของเข็มฉีดขนาดเล็ก (microsyringe) หลังกระบวนการสกัดหยดของตัวทำละลายขนาดเล็กจะถูกดึงกลับเข้าสู่ภายในเข็มก่อนนำไปวิเคราะห์โดยวิธีอื่นต่อไป เทคนิค SDME ประยุกต์ใช้ได้ 2 แบบคือการจุ่มลงในสารละลายตัวอย่างโดยตรง (direct immersion, DI-SDME) และการสกัดไอระเหย (headspace, HS-SDME) สำหรับ DI-SDME หยดของตัวทำละลายที่ไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกับน้ำจะแขวนอยู่ที่ปลายเข็มของเข็มฉีดที่จุ่มในสารละลายตัวอย่าง ตัวทำละลายที่ใช้สกัดจะต้องไม่รวมตัวกับน้ำ เหมาะสำหรับสกัดสารที่มีขั้วปานกลางโดยสารที่ไม่มีขั้วหรือสารที่มีขั้วมากจะต้องเปลี่ยนอนุพันธ์ก่อนการสกัด ตัวอย่างการจัด DI-SDME แสดงดังภาพที่ 1 โดยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีหยดขนาดเล็ก (1 ไมโครลิตร) แขวนอยู่ที่ปลายเข็มฉีด จุ่มโดยตรงลงไปในสารละลายตัวอย่างที่มีการคนตลอดเวลา หลังจากสกัดส่วนของตัวทำละลายอินทรีย์ที่อยู่ที่ปลายเข็มจะถูกดึงกลับเข้าสู่ภายในเข็มก่อนนำไปวิเคราะห์ต่อไป (Jeannot and Cantwell, 1997) อย่างไรก็ตาม DI-SDME พบปัญหาความไม่เสถียรของหยดตัวทำละลายเมื่ออัตราการคนสารละลายสูงทำให้หยดตัวทำละลายหลุดออกจากปลายเข็มได้ง่าย นอกจากนี้การเพิ่มพื้นที่หน้าตัดของปลายเข็มยังเพิ่มความสามารถในการเกาะของหยดตัวทำละลายให้สามารถแขวนอยู่ที่ปลายเข็มได้ดีขึ้น (Ahmadi *et al.,* 2006)

สำหรับ HS-SDME หยดขนาดเล็กของตัวทำละลายอินทรีย์แขวนอยู่ที่ปลายเข็มบริเวณไอระเหยเหนือสารละลายตัวอย่างเพื่อสกัดสารที่สามารถระเหยกลายเป็นไอได้ง่าย (ภาพที่ 1) สารที่วิเคราะห์จะระเหยเป็นไอและถูกสกัดเข้าสู่หยดตัวทำละลายอินทรีย์ สารที่วิเคราะห์จะกระจายอยู่ใน 3 เฟส ได้แก่สารละลายตัวอย่าง ไอระเหยและหยดของตัวทำละลายอินทรีย์ เมื่อเปรียบเทียบเทคนิค HS-SDME และ HS-SPME ให้ความเที่ยงและใช้เวลาในการสกัดอยู่ในระดับเดียวกัน HS-SDME มีข้อดีกว่า HS-SPME คือ (1) สามารถเลือกใช้ชนิดตัวทำละลายที่หลากหลาย เมื่อเทียบกับชนิดของไฟเบอร์ที่มีใช้ใน SPME และ (2) ค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ของ SDME ถูกมากเมื่อเทียบกับ SPME เนื่องจากใช้ตัวทำละลายในปริมาณที่น้อยมาก (ไมโครลิตร) จึงถูกกว่าไฟเบอร์ที่มีราคาแพง

เมื่อเปรียบเทียบ HS-SDME กับ DI-SDME พบว่าใช้เวลาในการวิเคราะห์และความเที่ยงในระดับเดียวกับ DI-SDME แต่สามารถเลือกใช้ตัวทำละลายที่หลากหลายกว่าและไม่จำเป็นต้องพิจารณาความสามารถในการละลายเมื่อเทียบกับสารละลายตัวอย่าง สามารถใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในการสกัดสารที่ระเหยเป็นไอง่ายที่สามารถละลายน้ำได้ ทำให้สามารถสกัดสารได้หลายชนิดมากกว่า DI-SDME อย่างไรก็ตามข้อจำกัดที่สำคัญของตัวทำละลายที่ใช้ใน HS–SDME คือ จะต้องมีค่าความดันไอต่ำเนื่องจากหลีกเลี่ยงการระเหยเป็นไอของหยดตัวทำละลายในระหว่างกระบวนการสกัด นอกจากนี้ HS-SDME ยังใช้ในการทำความสะอาดตัวอย่างที่มีความซับซ้อนได้ดี



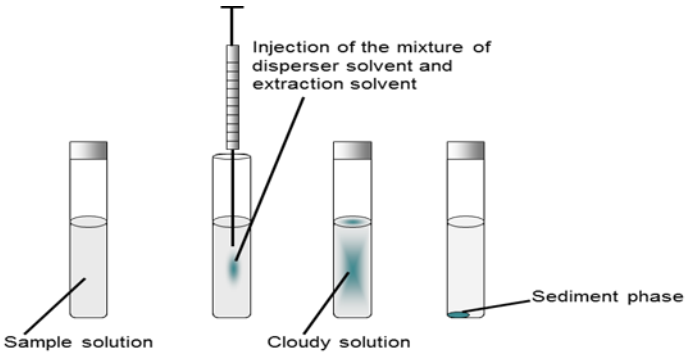
ภาพที่ 1 SDME แสดง การจัด DI-SDME และ HS-SDME

นอกจากนี้ได้มีการพัฒนาเทคนิค dynamic liquid phase microextraction (dynamic LPME) (He and Lee, 1997) โดยดูดสารละลายตัวอย่างเข้าไปในเข็มฉีดที่มีตัวทำละลายอินทรีย์อยู่ข้างใน หลังจากนั้นจึงดันเอาสารละลายตัวอย่างออกจากเข็มฉีดและดูดเข้าไปใหม่และทำซ้ำหลายครั้ง เมื่อการสกัดสิ้นสุดลงตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหลืออยู่จะถูกนำไปวิเคราะห์ต่อ เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง static LPME และ dynamic LPME พบว่า static LPME ความเที่ยงดีกว่า แต่ใช้เวลาในการสกัดนานกว่าและมีประสิทธิภาพในการสกัดที่ต่ำกว่า dynamic LPME

SDME นิยมใช้ในการสกัดและเพิ่มความเข้มข้นสารก่อนการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี เช่นการวิเคราะห์สารกลุ่ม organochlorine ในตัวอย่างปลาด้วยเทคนิค GC-MS (Shrivas and Wu, 2008) การวิเคราะห์สาร cyanozine simazine และ atrazine ในตัวอย่างน้ำด้วยเทคนิค HPLC (Ye, Zhou and Wang, 2007)

<u>การสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจาย (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)</u>

เทคนิค DLLME ถูกพัฒนาขึ้นในปี ค. ศ. 2006 (Rezaee *et al*., 2006) โดยอาศัยหลักการของระบบตัวทำละลาย 3 ส่วน (ternary component solvent system) ซึ่งประกอบด้วย ตัวทำละลายที่ใช้สกัด (extraction solvent) ตัวทำละลายกระจายตัว (dispersive หรือ disperser solvent) และสารละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ (aqueous solution) การสกัดด้วยเทคนิค DLLME แสดงในภาพที่ 2 โดยในกระบวนการสกัดจะผสมตัวทำละลายที่ใช้สกัดปริมาตรระดับไมโครลิตรกับตัวทำละลายกระจายตัวปริมาตรระดับมิลลิลิตรในอัตราส่วนที่เหมาะสม เมื่อฉีดสารละลายผสมดังกล่าวเข้าสู่สารละลายตัวอย่างอย่างรวดเร็วจะเกิดเป็นสารละลายขุ่นกระจายตัวไปทั่ว (cloudy solution) สารที่ต้องการสกัดจะเข้าไปในตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดซึ่งกระจายตัวทั่วสารละลายตัวอย่าง หลังจากเซนติฟิวจ์ตัวทำละลายที่ใช้สกัดจะแยกชั้นและนำไปวิเคราะห์ต่อไป



ภาพที่ 2 ขั้นตอนการสกัดด้วย DLLME

ในเทคนิคนี้ตัวทำละลายกระจายตัวมีความสำคัญมากเนื่องจากตัวทำละลายกระจายตัวจะช่วยในตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดเกิดการแตกเป็นหยดขนาดเล็กมาก (fine droplet) และกระจายในสารละลายตัวอย่างซึ่งมีน้ำเป็นองค์ประกอบ การเกิดหยดขนาดเล็กมากเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างตัวทำละลายและสารละลายตัวอย่าง ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดและลดเวลาในการสกัด เทคนิค DLLME เป็นเทคนิคที่ง่าย ราคาถูก มีประสิทธิภาพการสกัดที่ดีคือให้ค่าการได้กลับคืนสูง (high recovery) และค่าการเพิ่มความเข้มข้นสูง (high enrichment factor) และที่สำคัญคือใช้เวลาในการสกัดน้อยมาก เทคนิค DLLME นิยมใช้เป็นเทคนิคการเตรียมตัวอย่างสำหรับ GC และ HPLC มีรายงานการนำเทคนิคดังกล่าวไปใช้งานทางด้านสิ่งแวดล้อมตัวอย่างเช่น การวิเคราะห์สาร polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) (Rezaee *et al.*, 2006) การวิเคราะห์สารกลุ่ม BTEX (Assadi *et al.*, 2010)

<u>ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดของเทคนิค</u> DLLME

<u>ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้สกัด</u> เป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัด ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้สกัดมีผลต่อการเลือกสารที่ต้องการสกัดเข้าสู่ตัวทำละลายมากกว่าสารชนิดอื่น โดยทั่วไปตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารที่ดีต้องมีค่าการละลายน้ำต่ำและมีความหนาแน่นมากกว่าน้ำ ทำให้การแยกตัวทำละลายออกจากชั้นน้ำทำได้ง่ายหลังการเซนติฟิวจ์ ถ้าตัวทำละลายที่ใช้สกัดมีความหนาแน่นน้อยกว่าน้ำขั้นตอนในการนำสารที่สกัดได้ออกจะมีความยุ่งยาก ตัวทำละลายที่ใช้สกัดนิยมกลุ่ม halogenated solvent เช่น chlorobenzene chloroform หรือ tetrachloromethane นอกจากนี้มีการใช้ตัวทำละลายช่วย (auxiliary solvent) เพิ่มเข้ามาในกระบวนการสกัดเพื่อช่วยเพิ่มความหนาแน่นของตัวทำละลายผสมให้มากกว่าน้ำ (Kocurova *et al.*, 2010)

<u>ปริมาตรของตัวทำละลายที่ใช้สกัด</u> มีผลอย่างมากต่อค่า enrichment factor เมื่อเพิ่มปริมาตรตัวทำละลาย ปริมาตรของหยดตัวทำละลายที่ได้หลังจากการเซนติฟิวจ์จะเพิ่มขึ้นมีผลให้ค่าความเข้มข้นของสารที่สกัดได้ในตัวทำละลายลดลง จึงทำให้ enrichment factor ลดลง ดังนั้นปริมาตรตัวทำละลายที่ใช้สกัดที่เหมาะสมจะต้องคำนึงถึงทั้งปริมาตรที่มีมากเพียงพอของตัวทำละลายที่แยกได้หลังจากเซนติฟิวจ์และให้ค่า enrichment factor ที่สูง

<u>ตัวทำละลายกระจายตัว</u> จะต้องละลายได้ดีทั้งในน้ำและในตัวทำละลายที่ใช้สกัด การที่ตัวทำละลายกระจายตัวละลายได้ทั้งสองเฟสมีผลต่อการเกิดอิมัลชันของตัวทำละลายที่ใช้สกัดในชั้นน้ำและขนาดของหยดตัวทำละลายที่ใช้สกัด

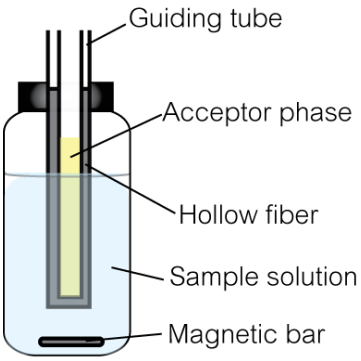
ตัวทำละลายกระจายตัวนิยมใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีพิษต่ำและมีราคาถูกเช่น acetone methanol ethanol acetonitrile และ tetrahydrofuran ปริมาตรของตัวทำละลายกระจายตัวมีผลโดยตรงต่อการกระจายตัวของตัวทำละลายที่ใช้สกัดในสารละลายตัวอย่าง (การเกิด cloudy solution) และมีผลต่อประสิทธิภาพการสกัด ถ้าปริมาตรตัวทำละลายกระจายตัวน้อยเกินไปจะทำให้การกระจายตัวของตัวทำละลายที่ใช้สกัดไม่สมบูรณ์ ในทางตรงกันข้ามถ้าปริมาตรตัวทำละลายกระจายตัวมากเกินไปการละลายของสารที่วิเคราะห์ในน้ำจะเพิ่มขึ้นทำให้การสกัดสู่ชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ไม่สมบูรณ์ (Liang and Sang, 2008) นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาตรของตัวทำละลายกระจายตัวมีผลต่อการแยกชั้นของตัวทำละลายที่ใช้สกัดหลังจากการเซนติฟิวจ์

<u>เวลาที่ใช้ในการสกัด</u> ในเทคนิค DLLME หมายถึงเวลาระหว่างเมื่อฉีดสารละลายผสมที่ใช้สกัดเข้าสู่สารละลายตัวอย่างจนถึงก่อนการเซนติฟิวจ์ (Jahromi *et al*., 2007) สมดุลในการสกัดจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วหลังจาก cloudy solution เกิดขึ้น เนื่องจากพื้นที่ผิวที่มากอย่างยิ่งของตัวทำละลายที่ใช้สกัดที่เกิดขึ้นใน cloudy solution เป็นการเพิ่มกระบวนการถ่ายเทมวล (mass-transfer process) ระหว่างสารที่ต้องการวิเคราะห์จากเฟสน้ำสู่เฟสตัวทำละลายอินทรีย์ (Rivas *et al.,* 2009) อย่างไรก็ตามเวลาในการสกัดมีผลค่อนข้างน้อยต่อประสิทธิภาพในการสกัด แต่เวลาที่รวดเร็วในการสกัดถือเป็นข้อดีหลักของเทคนิค DLLME

<u>การเติมเกลือ</u> การละลายของสารที่ต้องการวิเคราะห์และสารอินทรีย์ในน้ำจะลดลงเมื่อความแรงไอออนของสารละลาย (ionic strength) เพิ่มขึ้นตามหลักของ salting out effect (Miezaei *et al*., 2011) และพบว่าปริมาตรของตัวทำละลายที่ใช้สกัดที่แยกได้หลังจากเซนติฟิวจ์เพิ่มขึ้นเมื่อมีการเติมเกลือ นั่นคือทั้งความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์และ enrichment factor จะมีค่าลดลงเมื่อมีการเติมเกลือ อย่างไรก็ตามการเติมเกลือมีผลน้อยต่อประสิทธิภาพการสกัด

<u>การสกัดระดับจุลภาคด้วยไฟเบอร์ที่เป็นโพรง (Hollow Fiber Liquid Phase Microextraction, HF-LPME)</u>

ในปี ค. ศ. 1999 Pedersen และ Rasmussen (Pedersen and Rasmussen, 1999) ได้เสนอเทคนิค HF-LPME เพื่อแก้ปัญหาความไม่เสถียรของหยดตัวทำละลายในเทคนิค SDME โดยเทคนิค HF-LPME อาศัยหลักการพยุงของของเหลวด้วยเมมเบรน (supported liquid membrane, SLM) โดยใช้รูพรุนของ hollow fiber (HF) ที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำ ในเทคนิค HF-LPME การสกัดอาศัยระบบของเหลว 3 เฟสและใช้ polypropylene HF เป็นเมมเบรนดังแสดงในภาพที่ 3 โดยใส่ชิ้นสั้นๆ ของ HF ที่มีรูพรุนลงไปในสารละลายตัวอย่าง ซึ่งลักษณะของ HF มี 2 แบบ คือ เป็นหลอดขนาดเล็กที่มีปลายปิดทั้งสองด้านและเป็นรูปตัวยู (U-shape) ที่ปลายทั้งสองด้านต่อกับท่อนำ (guiding tube) โดยก่อนการสกัดจะจุ่ม HF ลงในตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่ละลายน้ำหลายๆครั้ง เพื่อให้ตัวทำละลายอินทรีย์เข้าไปอยู่ในรูพรุนของ HF และกำจัดตัวทำละลายส่วนเกินออกไป ตัวทำละลายจะเกิดเป็นฟิล์มบางๆที่ผิวภายในของ HF และไม่หลุดออกตลอดระยะเวลาที่ทำการสกัด ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้สกัดจะต้องเข้ากันได้กับชนิดของ HF ทำให้สามารถเข้าไปในรูพรุนของ HF ได้อย่างสมบูรณ์



ภาพที่ 3 หลักการของ HF-LPME

สำหรับสารละลายตัวรับ (acceptor solution) จะบรรจุอยู่ในช่องตรงกลางของ HF โดยถ้าสารละลายตัวรับเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดเดียวกับที่บรรจุในรูพรุนจัดเป็นระบบการสกัดแบบ 2 เฟส (two-phase extraction system) และถ้าสารละลายตัวรับเป็นสารละลายกรดหรือเบส (aqueous acid or base solution) จัดเป็นระบบการสกัดแบบ 3 เฟส (three-phase extraction system) ในระบบการสกัด 2 เฟส สารที่ต้องการวิเคราะห์จะถูกสกัดออกจากสารละลายตัวอย่างที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบเข้าสู่ตัวทำละลายอินทรีย์ซึ่งเป็นสารละลายตัวรับ (acceptor solution) ที่อยู่ทั้งตรงกลางและในรูพรุนของ HF ระบบนี้เหมาะสำหรับสารที่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่รวมตัวเป็นเนื้อเดียวกับน้ำ หลังจากการสกัดสารละลายตัวรับสามารถนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC ได้โดยตรง หรือนำไประเหยตัวทำละลายอินทรีย์ออกแล้วเปลี่ยนให้เป็นสารละลายน้ำสำหรับการฉีดเข้าสู่ HPLC หรือ CE โดยตัวทำละลายอินทรีย์นิยมใช้ toluene หรือ n-octanol

สำหรับระบบการสกัด 3 เฟส สารที่ต้องการวิเคราะห์จะถูกสกัดออกจากสารละลายตัวอย่างเข้าสู่ตัวทำละลายที่อยู่ในรูพรุนของ HF และผ่านไปยังสารละลายตัวรับที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ (aqueous acceptor solution) ระบบนี้เหมาะสำหรับการสกัดสารที่มีหมู่ที่เป็นกรดหรือเบสที่สามารถกลายเป็นไอออนได้ ตัวอย่างเช่นการสกัดสารที่เป็นเบส สารละลายตัวอย่างจะถูกปรับค่า pH ให้เป็นเบส เพื่อการละลายของสารในสารละลายตัวอย่างให้ลดลง ในขณะที่ pH ของสารละลายตัวรับจะเป็นกรดเพื่อช่วยให้สารที่ต้องการสกัดละลายได้ดีในสารละลายตัวรับ ซึ่งในกรณีนี้สารที่ต้องการสกัดจะถูกสกัดออกจากสารละลายตัวอย่างเข้าสู่ตัวทำละลายอินทรีย์และเข้าสู่สารละลายตัวรับได้อย่างมีประสิทธิภาพ ไม่เกิดการสกัดกลับเข้าสู่ชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ (back-extraction) สำหรับการสกัดสารที่เป็นกรด สารละลายตัวอย่างควรเป็นกรดและสารละลายตัวรับควรเป็นเบส ตามลำดับ หลังจากการสกัดสารละลายตัวรับสามารถนำไปวิเคราะห์ต่อโดยเทคนิค HPLC หรือ CE ได้โดยตรง ตัวทำละลายอินทรีย์นิยมใช้ n-octanol หรือ dihexyl ether และใช้ HCl และ NaOH ในการปรับ pH ของสารละลายตัวอย่างและสารละลายตัวรับ

สำหรับตัวอย่างการประยุกต์ใช้เทคนิค HF-LPME ได้แก่ การวิเคราะห์ยาปราบศัตรูพืชด้วยเทคนิค UHPLC-MS (Wang, Du, and Qu, 2012).และ การวิเคราะห์ Selenium ในตัวอย่างผักและผลไม้ด้วยเทคนิค GF-AAS (Shrivas and Patel, 2011)

สรุป

ในบทความนี้ได้นำเสนอการสกัดด้วยของเหลวระดับจุลภาค โดยได้อธิบายหลักการทั่วไปของวิธีการสกัด 3 วิธีได้แก่ การสกัดระดับจุลภาคด้วยตัวทำละลายหยดเดียว การสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจาย และการสกัดระดับจุลภาคด้วยไฟเบอร์ที่เป็นโพรง ซึ่งวิธีดังกล่าวเน้นการลดการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่เป็นพิษโดยใช้ตัวทำละลายในระดับไมโครลิตร และวิธีที่ได้นำเสนอนี้ยังมีประสิทธิภาพในการสกัดที่ดีให้ค่าร้อยละการกลับคืนและค่าการเพิ่มความเข้มข้นที่สูง มีความรวดเร็วง่ายและราคาถูกกว่าวิธีการสกัดด้วยของแข็งหรือการสกัดด้วยของเหลวแบบอื่นๆ

เอกสารอ้างอิง

Ahmadi, F., Assadi, Y., Hosseini, S. M. R. M., and Rezaee, M. (2006). Determination of organophosphorus pesticides in water samples by single drop microextraction and gas chromatography- flame photometric detector. *J. Chromatogr*, *A 1101*, 307-312.

Arthur, C. L. and Pawliszyn, J. (1990). Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Anal. Chem. ,63*, 2145-2148.

Assadi, Y., Ahmadi, F., and Milani Hosseini, M. R. (2010). Determination of BTEX compounds by dispersive liquid-liquid microextraction with GC-FID. *Chromatographia, 71*, 1137-1141.

He, Y. and Lee, H. K. (1997). Liquid-phase microextraction in a single drop of organic solvent by using a conventional microsyringe. Anal Chem, *69*, 4634-4640.

Jahromi, E. Z., Bidari, A., Assadi, Y., Hosseini, M. R. M., and Jamali, M. R. (2007). Dispersive liquid-liquid microextraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry:ultra trace determination of cadmium in water samples. *Anal. Chim. Acta, 585*, 305-311.

Jeannot, M. A. and Cantwell, F. F. (1997). Mass transfer characteristics of solvent extraction into a single drop at the tip of a syringe needle. *Anal. Chem., 69*, 235-239.

Kocurova, L., Balogh, I. S., Skrlikova, J., Posta, J., and Andruch, V. (2010). A novel approach in dispersive liquid-liquid microextraction based on the use of an auxiliary solvent for adjustment of density: UV-Vis spectrophotometric and graphite furnace atomic absorption spectrometric determination of gold based on ion pair formation. *Talanta, 82*, 1958-1964.

Liang, P. and Sang, H. (2008). Determination of trace lead in biological and water samples with dispersive liquid-liquid microextraction preconcentration. *Anal. Biochem., 380*, 21-25.

Ma, J., Lu, W., and Chen, L. (2012). Recent advances in dispersive liquid-liquid microextraction for organic compounds analysis in environmental water: A review. *Current Anal. Chem*., *8*, 78-90.

Miezaei, M., Behzadi, M., Abadi, N. M., and Beizaei, A. (2011). Simultaneous separation/preconcentration of ultra trace heavy metals in industrial wastewaters by dispersive liquid-liquid microextraction based on

solidification of floating organic drop prior to determination by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *J. Hazard Mat. ,186*, 1739-1743.

Pedersen, S. and Rasmussen, K. E. (1999) Liquid-liquid-liquid microextraction for sample preparation of biological fluids prior to capillary electrophoresis. *Anal. Chem., 71,* 2650-2656.

Rezaee, M., Assadi, Y., Milani Hosseini, M. R., Aghaee, E., Ahmadi, F., and Berijani, S. (2006). Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. *J. Chromatogr., A 1116*, 1-9.

Rivas, R. E., Lopez-Garcia, I., and Hernandez-Cordaba, M. (2009). Speciation of very low amounts of arsenic and antimony in waters using dispersive liquid-liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry. *Spectro. Chim. Acta Part B, 64*, 329-333.

Shrivas, K. and Patel, D. K. (2011) Ultrasound assisted-hollow fiber liquid-phase microextraction for the determination of selenium in vegetable and fruit samples by using GF-AAS. *Food Chemistry, 124*, 1673–1677.

Shrivas, K. and Wu, H. F. (2008). Ultrasonication followed by single-drop microextraction combined with GC/MS for rapid determination of organochlorine pesticides from fish. *J. Sep. Sci., 31*, 380-386.

Wang, J., Du, Z., Yu, W., and Qu, S. (2012). Detection of seven pesticides in cucumbers using hollow fibre-based liquid-phase microextraction and ultra-high pressure liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A, 1247*, 10–17.

Ye, C., Zhou, Q., and Wang, X. (2007). Improved single-drop microextraction for high sensitive analysis. *J. Chromatogr. A, 1139*, 7-13.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University