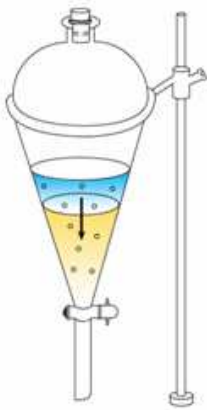


การเตรียมและทำความสะอาดสารตัวอย่างด้วยวิธี Solid Phase Extraction

ขั้นตอนการเตรียมและทำความสะอาดสารตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทาง HPLC และ GC เป็นสิ่งที่มีความสำคัญอย่างยิ่ง เนื่องจากสารตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ส่วนใหญ่เป็นสารที่ไม่บริสุทธิ์ ตัวอย่างเช่น การวิเคราะห์สารพิษและสารปนเปื้อนในน้ำ การวิเคราะห์ metabolite ของยาในเลือด ในปัสสาวะ การวิเคราะห์ของเหลวในร่างกายตลอดจนวิเคราะห์สารตัวอย่างที่สนใจในอาหารและสารผสมต่างๆ

การเตรียมและทำความสะอาดสารตัวอย่างให้พร้อมก่อนการฉีดเข้าเครื่อง HPLC และ GC เพื่อทำการวิเคราะห์นี้จะช่วยป้องกันการอุดตันและช่วยยืดอายุการใช้งานของ Column ยิ่งไปกว่านี้สารตัวอย่างที่ปราศจากสิ่งปนเปื้อนและมีสถานะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัด จะทำให้การแยกสารมีประสิทธิภาพมากขึ้น ทำงานได้อย่างรวดเร็ว และได้ peak ของสารที่ต้องการวิเคราะห์อย่างชัดเจน



การเตรียมสารตัวอย่างด้วยวิธีแบบดั้งเดิม ด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลาย (Liquid-Liquid Extraction, LLE) เป็นวิธีที่เสียเวลา ต้องสูญเสียสารละลายในปริมาณมาก การ recovery ของสารตัวอย่างไม่สมบูรณ์ มีการสูญเสียสารตัวอย่าง ทั้งยังต้องใช้เครื่องแก้วจำนวนมากในขั้นตอนของการสกัด และอาจต้องเสี่ยงกับสารปนเปื้อนที่ติดมากับเครื่องแก้วหรือภาชนะต่างๆ ที่ปะปนเข้ากับสารที่ต้องการวิเคราะห์ได้

รูปภาพจาก www.chem.ubc.ca

ปัจจุบันการเตรียมสารตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC และ GC ไม่ยุ่งยากอีกต่อไป โดยเทคนิคที่ได้รับความนิยมและเข้ามาแทนที่การเตรียมสารตัวอย่างแบบเดิม คือ Solid Phase Extraction (SPE) ซึ่งเป็นเป็นเทคนิคการเตรียมตัวอย่างที่ทำได้ง่าย สะดวก และรวดเร็ว ลดขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างให้น้อยลงหรือเหลือขั้นตอนเดียว ไม่สิ้นเปลืองสารละลาย ลดการสูญเสียสารตัวอย่างและไม่ต้องเสี่ยงกับสารปนเปื้อนต่างๆ

เทคนิค Solid Phase Extraction (SPE) เป็นการแยกสารปนเปื้อนออกโดยให้สารที่ต้องการ ดูดซับบนวัสดุภาคหนึ่ง ใน cartridge (absorbent ที่อยู่ในแท่ง SPE) จากนั้นเติมตัวทำละลายเพื่อดึงเอาสารที่สนใจที่เกาะกับ sorbent ออก เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป



รูปภาพจาก www.phenomenex.com และ www.thermoscientific.com

ลดขั้นตอนยุ่งยากการเตรียมสารก่อนการวิเคราะห์ ด้วยการใช้ SPE

ใช้งานง่ายเพียง 3 ขั้นตอน Load -> Wash-> Elute

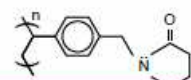
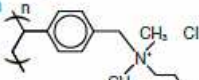
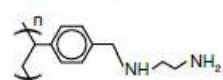
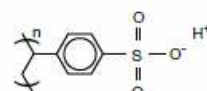
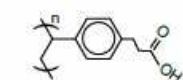


วิธีเลือก SPE

1. เลือกใช้งานได้ตามคุณสมบัติของสารที่สนใจโดยพิจารณาจากค่า pKa

คุณสมบัติของสารที่สนใจ	pKa	Strata™-X SPE
Neutral		Strata-X (Reversed phase sorbent)
Weak Acid	< 2	Strata-X-A (Strong anion-exchange sorbent)
Strong Acid	2-4	Strata-X-AW (Weak anion-exchange sorbent)
Weak Base	8-10	Strata-X-C (Strong cation-exchange sorbent)
Strong Base	>10	Strata-X-CW (Weak cation-exchange sorbent)

ตารางแนะนำการใช้งาน Strata™-X SPE

Sample Preparation Compound of Interest	Try this Strata-X SPE Sorbent:		Material Characteristics:												
Neutral	X	<p>Modified pyrrolidone ligand offers multiple mechanisms of retention</p> 	<table border="1"> <tr><td>Particle Size (µm)</td><td>33</td></tr> <tr><td>Pore Size (Å)</td><td>85</td></tr> <tr><td>Surface Area (m²/g)</td><td>800</td></tr> <tr><td>pH Stability</td><td>1-14</td></tr> </table>	Particle Size (µm)	33	Pore Size (Å)	85	Surface Area (m ² /g)	800	pH Stability	1-14				
Particle Size (µm)	33														
Pore Size (Å)	85														
Surface Area (m ² /g)	800														
pH Stability	1-14														
Weak Acid	X-A	<p>Di-methyl butyl quaternary amine ligand offers a strong anionic mechanism of retention</p> 	<table border="1"> <tr><td>Particle Size (µm)</td><td>33</td></tr> <tr><td>Pore Size (Å)</td><td>85</td></tr> <tr><td>Surface Area (m²/g)</td><td>800</td></tr> <tr><td>pH Stability</td><td>1-14</td></tr> <tr><td>Ionic Capacity</td><td>0.30 meq/g</td></tr> <tr><td>pK_a</td><td>~ 14</td></tr> </table>	Particle Size (µm)	33	Pore Size (Å)	85	Surface Area (m ² /g)	800	pH Stability	1-14	Ionic Capacity	0.30 meq/g	pK _a	~ 14
Particle Size (µm)	33														
Pore Size (Å)	85														
Surface Area (m ² /g)	800														
pH Stability	1-14														
Ionic Capacity	0.30 meq/g														
pK _a	~ 14														
Strong Acid	X-AW	<p>Di-amino ligand offers a weak anionic mechanism of retention</p> 	<table border="1"> <tr><td>Particle Size (µm)</td><td>33</td></tr> <tr><td>Pore Size (Å)</td><td>85</td></tr> <tr><td>Surface Area (m²/g)</td><td>800</td></tr> <tr><td>pH Stability</td><td>1-14</td></tr> <tr><td>Ionic Capacity</td><td>0.60 meq/g</td></tr> <tr><td>pK_a</td><td>~ 9</td></tr> </table>	Particle Size (µm)	33	Pore Size (Å)	85	Surface Area (m ² /g)	800	pH Stability	1-14	Ionic Capacity	0.60 meq/g	pK _a	~ 9
Particle Size (µm)	33														
Pore Size (Å)	85														
Surface Area (m ² /g)	800														
pH Stability	1-14														
Ionic Capacity	0.60 meq/g														
pK _a	~ 9														
Weak Base	X-C	<p>Sulfonic Acid ligand offers a strong cationic mechanism of retention</p> 	<table border="1"> <tr><td>Particle Size (µm)</td><td>100</td></tr> <tr><td>Pore Size (Å)</td><td>300</td></tr> <tr><td>Surface Area (m²/g)</td><td>520</td></tr> <tr><td>pH Stability</td><td>1-14</td></tr> <tr><td>Ionic Capacity</td><td>1 meq/g</td></tr> <tr><td>pK_a</td><td>~ 0</td></tr> </table>	Particle Size (µm)	100	Pore Size (Å)	300	Surface Area (m ² /g)	520	pH Stability	1-14	Ionic Capacity	1 meq/g	pK _a	~ 0
Particle Size (µm)	100														
Pore Size (Å)	300														
Surface Area (m ² /g)	520														
pH Stability	1-14														
Ionic Capacity	1 meq/g														
pK _a	~ 0														
Strong Base	X-CW	<p>Carboxylic Acid ligand offers a weak cationic mechanism of retention</p> 	<table border="1"> <tr><td>Particle Size (µm)</td><td>100</td></tr> <tr><td>Pore Size (Å)</td><td>300</td></tr> <tr><td>Surface Area (m²/g)</td><td>520</td></tr> <tr><td>pH Stability</td><td>1-14</td></tr> <tr><td>Ionic Capacity</td><td>0.76 meq/g</td></tr> <tr><td>pK_a</td><td>~ 4.5</td></tr> </table>	Particle Size (µm)	100	Pore Size (Å)	300	Surface Area (m ² /g)	520	pH Stability	1-14	Ionic Capacity	0.76 meq/g	pK _a	~ 4.5
Particle Size (µm)	100														
Pore Size (Å)	300														
Surface Area (m ² /g)	520														
pH Stability	1-14														
Ionic Capacity	0.76 meq/g														
pK _a	~ 4.5														

หากต้องการตัวดูดซับ (Sorbent) ที่มีขนาด particle size และ pore size ใหญ่ขึ้นเลือกใช้เป็นขนาด XL

All Strata-X phases (X, X-A, X-AW, X-C and X-CW) are also available in a large particle / large pore size formats

Sample Type

- Large Target Analyte (> 10kDa)
- Large Volume Samples
- Viscous Samples

Use Strata-XL Phase:

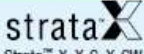
**XL, XL-A, XL-AW,
XL-C or XL-CW**

Material Characteristics

Particle Size (µm)	100
Pore Size (Å)	300
Surface Area (m ² /g)	520
pH Stability	1-14

เลือกใช้งานของตัวดูดซับในเหมาะสมกับปริมาณสารตัวอย่าง ซึ่งขนาดตัวดูดซับใน tube ที่เท่ากันอาจ ใช้กับสารตัวอย่าง แต่ละชนิดในปริมาณที่แตกต่างกัน เช่น Plasma/Serum, Urine, Filtered Tissue Homogenates, Water(particulate-free) Water (particulate-laden)

Determine the Correct Sorbent Mass

	Sorbent Mass (in tube)	Plasma/Serum	Urine	Filtered Tissue Homogenates	Water (particulate-free)	Water (particulate-laden)
 Strata™ -X, X-C, X-CW, X-A, X-AW, XL, XL-C, XL-CW, XL-A, XL-AW	10 mg	100 µL	250 µL	10 mg	2 mL	1 mL
	30 mg	250 µL	1 mL	50 mg	10 mL	5 mL
	60 mg	500 µL	2 mL	100 mg	25 mL	10 mL
	100 mg	1 mL	4 mL	150 mg	50 mL	25 mL
	200 mg	2 mL	8 mL	300 mg	100 mL	50 mL
	500 mg	5 mL	20 mL	500 mg	500 mL	100 mL

2. เลือกใช้งานได้ตามตัวดูดซับ (Sorbent)

พิจารณาจากการใช้งานตาม Phase ของตัวดูดซับ ได้แก่

- Reversed Phase Method
- Ion-Exchange Method
- Normal Phase Method

Strata Traditional Solid Phase Extraction (SPE) Sorbents

Determine the Correct Sorbent Mass

Phases	Reversed Phases	Normal Phases	Ion-Exchange	Mixed-Mode	Specialty
C18-E	CN	SCX	Screen-C GF	FL-PR (Acids)	
C18-U	NH ₂	WCK	Screen-C	EPH (Extratable Petroleum (Hydrocarbon)	
C18-T	Si-1 (Silica)	SAK	Screen-A	AL-N Aluminum Neutral	
C8			ABW	SCB-L	
Phenyl				Eco-Screen Melamine, PAH	

เอกสารอ้างอิง

1. Baker S. Solid Phase Extraction: A Viable Alternative. Laboratory Equipment Digest. October 1991.
2. High Performance Liquid Chromatography: Method development and application. Department of Pharmaceutical Chemistry Faculty of Pharmacy Mahidol University. October 2010
3. Strata-X Functionalized Polymeric SPE. Sample Preparation. Phenomenex 2011-2012.