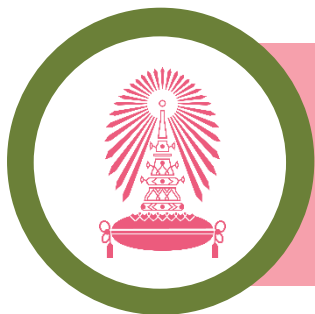




หลักการของแมสสเปกโตรเมตรีและการประยุกต์ใช้ในงานด้านพิษวิทยา

บทความวิชาการเพื่อการศึกษาต่อเนื่องทางเภสัชศาสตร์

หน่วยกิตการศึกษาต่อเนื่อง 3.00

รหัส 1001-1-000-003-03-2568

วันที่รับรอง 13/03/2568

วันที่หมดอายุ 12/03/2569

อาจารย์ เกษักร ดร.อภิรักษ์ หงษ์ประสิทธิ์

ภาควิชาเภสัชวิทยาและสรีรวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม

1. เพื่อให้ทราบและเข้าใจหลักการพื้นฐานของแมสสเปกโตรเมตรี ในเชิงส่วนประกอบ การทำงานของเครื่องแมสสเปกโตรเมเตอร์ ความสำคัญของเทคนิคการแตกตัวเป็นไอออนและการตรวจวิเคราะห์มวลในการตรวจหาสารพิษ
2. เพื่ออธิบายการจำแนกประเภทของเทคนิคแมสสเปกโตรเมตรี ในงานพิษวิทยา โดยเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง GC-MS, LC-MS และ ICP-MS ในการตรวจวิเคราะห์สารพิษและยา รวมถึงเลือกใช้เทคนิคที่เหมาะสมตามลักษณะของสารที่ต้องการวิเคราะห์

บทคัดย่อ

แมสสเปกโตรเมตรี (Mass spectrometry: MS) เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ที่สำคัญในงานพิษวิทยา เนื่องจากมีความไวและความแม่นยำในการแยกและระบุสารพิษในตัวอย่างชีวภาพและสิ่งแวดล้อม การเชื่อมต่อเทคนิค MS กับเทคนิคการแยกอื่นๆ เช่น โครมาโทกราฟีของเหลว (LC) และโครมาโทกราฟีแก๊ส (GC) ทำให้เกิดระบบของเครื่องมือที่สามารถตรวจวิเคราะห์สารที่หลากหลายได้ เทคนิค GC-MS ถูกใช้ในงานพิษวิทยาเพื่อตรวจคัดกรองสารพิษหรือยาที่สามารถระเหยได้ ขณะที่ LC-MS สามารถวิเคราะห์สารพิษหรือยาที่ไม่สามารถระเหยหรือไวต่อความร้อนได้ นอกจากนี้ยังมีการใช้ inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) สำหรับการวิเคราะห์โลหะหนักที่เป็นพิษ เช่น ตะกั่ว ปรอท และสารหนู การพัฒนาความสามารถของ MS ช่วยยกระดับการตรวจวิเคราะห์ในงานพิษวิทยาทั้งในเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพ และช่วยให้สามารถตรวจคัดกรองสารพิษในงานพิษวิทยาคลินิกและพิษวิทยานิติเวชได้อย่างแม่นยำ

บทนำ

พิษวิทยาเป็นสาขาวิชาที่เน้นการศึกษาเรื่องสารพิษ วิธีที่ร่างกายสัมผัสและได้รับสารพิษเหล่านี้ การตอบสนองของร่างกายต่อสารพิษ และการศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับวิธีการจัดการทางคลินิกเพื่อลดผลกระทบจากสารพิษ¹ โดยสารพิษนั้นมีความหมายครอบคลุมไปถึงสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ส่งผลให้เกิดความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต กล่าวคือโมเลกุลที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพใด ๆ ที่อาจส่งผลกระทบต่อการทำงานปกติของร่างกายจะกลายเป็นสารพิษได้หากสะสมในปริมาณมากเพียงพอที่จะเกิดพิษขึ้น¹ ด้วยเหตุนี้เอง แม้แต่ยาที่ใช้เพื่อรักษาโรคก็สามารถกลายเป็นสารพิษได้หากใช้ในปริมาณที่ไม่เหมาะสม และผลของพิษขึ้นนั้นยังขึ้นอยู่กับปัจจัยทั้งทางเภสัชจลนศาสตร์และเภสัชพลศาสตร์ด้วย นอกเหนือไปจากการพิจารณาปัจจัยในด้านปริมาณเพียงอย่างเดียว²

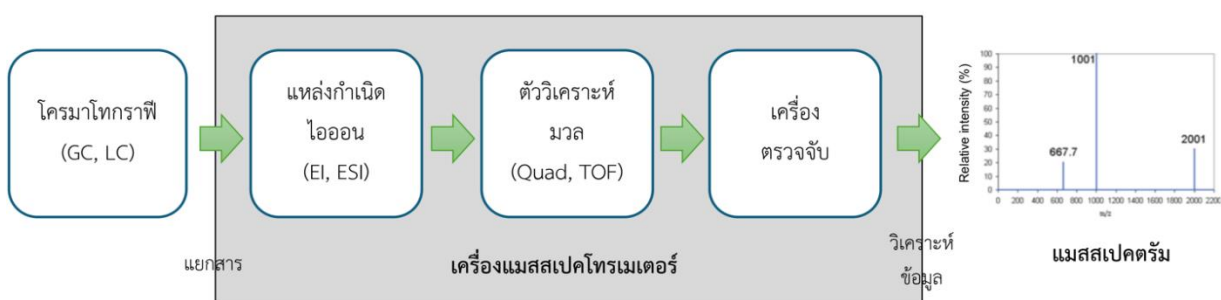
ในชีวิตประจำวันของมนุษย์นั้นมีโอกาสที่จะสัมผัสสารเคมีได้ในทุกสถานที่เนื่องจากมีสารเคมีที่เกี่ยวข้องกับชีวิตที่อยู่รอบตัวมากมาย ไม่ว่าจะเป็นที่บ้าน สถานที่ทำงาน หรือจากสิ่งแวดล้อม ความหลากหลายและซับซ้อนของการได้รับสารพิษนี้เองที่ทำให้จำเป็นต้องอาศัยเครื่องมือและเทคนิคการวิเคราะห์ที่ทันสมัยเพื่อใช้ในการประเมินการสัมผัสกับสารพิษ^{3,4} โดยการประเมินทางพิษวิทยาจะเริ่มต้นด้วยการวิเคราะห์เชิงคุณภาพหรือเชิงปริมาณเพื่อทำการระบุและ/หรือวัดปริมาณสารพิษที่อาจเป็นสาเหตุของกลุ่มอาการพิษ (toxidrome) ที่สังเกตได้⁵ ซึ่งเป็นสัญลักษณ์สำคัญที่จะบ่งชี้ถึงสารพิษในกลุ่มต่าง ๆ นอกจากนี้ การค้นหาแหล่งที่มาของการสัมผัสหรือได้รับสารพิษมีความสำคัญเช่นเดียวกันโดยรวมแล้ว การทดสอบในห้องปฏิบัติการมีบทบาทสำคัญในการยืนยันการมีอยู่ของสารพิษซึ่งอาจเป็นสารที่ต้องสงสัยและให้ข้อมูลการคาดการณ์ผลลัพธ์ทางคลินิกซึ่งอาจช่วยในการดูแลและรักษาผู้ป่วย^{6,7}

งานในสาขาพิษวิทยานั้น มีแนวทางการวิเคราะห์ที่เป็นมาตรฐานสำหรับการประเมินสารพิษในตัวอย่างต่าง ๆ ซึ่งประกอบด้วยขั้นตอนสำคัญตามลำดับคือ 1) การสกัด 2) การทำให้บริสุทธิ์ 3) การตรวจจับ และ 4) การตรวจวัดปริมาณ^{8,9} การพัฒนาเครื่องมือวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการพิษวิทยามีความเชื่อมโยงควบคู่กันกับการปฏิบัติทางอุตสาหกรรมและเคมีในช่วงปี 1850 ถึง 1950^{10,11} ซึ่งเป็นช่วงที่ได้มีการพัฒนาวิธีการใหม่ ๆ ในการสกัดทั้งแบบของเหลว-ของเหลว (liquid-liquid extraction) และแบบเฟสของแข็ง (solid phase extraction) รวมถึงวิธีการวัดปริมาณสารพิษโดยใช้ลักษณะทางกายภาพของสารพิษเหล่านั้น ในช่วงต้นศตวรรษที่ 20 Mikhail Tsvet ได้พัฒนาเทคนิคโครมาโทกราฟี (chromatography) ซึ่งใช้กระบวนการเคลื่อนที่แตกต่างกันสำหรับแยกสารเป้าหมาย และในช่วงกลางศตวรรษที่ 20 เทคโนโลยีแยกสารสมัยใหม่อย่างโครมาโทกราฟีของเหลว (liquid chromatography, LC) และโครมาโทกราฟีแก๊ส (gas chromatography, GC) เริ่มแพร่หลายทั้งในงานวิเคราะห์และเตรียมสารตัวอย่าง¹²⁻¹⁴ นอกจากนี้ ห้องปฏิบัติการยังเริ่มพัฒนาเครื่องแมสสเปกโตรเมเตอร์ (mass spectrometer หรือเครื่อง MS) รุ่นแรกที่ใช้วิเคราะห์สารที่มีความบริสุทธิ์สูงในช่วงนี้ด้วย^{12,15}

เมื่อเทคโนโลยีที่ก้าวหน้าทางเทคนิค LC, GC และเทคนิคแมสสเปกโตรเมทรี (mass spectrometry, MS) ได้รับการพัฒนาขึ้นในช่วงครึ่งหลังของศตวรรษที่ 20 วิธีการที่ซับซ้อนมากขึ้นในห้องปฏิบัติการพิษวิทยาสมัยใหม่ก็ได้เกิดขึ้น และการใช้งานเพิ่มมากขึ้น โดยเป็นการรวมขั้นตอนการแยกและการตรวจวิเคราะห์สารเข้าด้วยกัน ก่อให้เกิดการประยุกต์ใช้งานวิเคราะห์ซึ่งมีประสิทธิภาพสูง เช่น high-performance liquid chromatography (HPLC), gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS), liquid chromatography–mass spectrometry (LC-MS), tandem mass spectrometry (MS/MS) และ sequential mass spectrometry (MSⁿ) เทคโนโลยีเหล่านี้เริ่มใช้ในห้องปฏิบัติการวิจัยก่อนที่จะต่อมาย้ายสู่การใช้งานในห้องปฏิบัติการทางคลินิก ในปัจจุบันนี้¹⁵⁻¹⁷ เทคนิคการวิเคราะห์สมัยใหม่หลายอย่าง เช่น GC-MS และ LC-MS ยังคงใช้แนวทางหรือแผนการวิเคราะห์เดียวกับห้องปฏิบัติการพิษวิทยาในอดีต แต่ได้รับการพัฒนาให้มีความเป็นระบบและนอกจากนี้ยังมีศักยภาพมากขึ้นสำหรับการทำงานแบบอัตโนมัติ^{18,19}

หลักการของแมสสเปกโตรเมทรี (Mass Spectrometry)

เทคนิค MS เป็นเทคนิคการวิเคราะห์เชิงปริมาณและเชิงคุณภาพสำหรับการหามวลอะตอม (atomic mass) มวลโมเลกุล (molecular mass) หรือแฟรกเมนต์ของโมเลกุล (molecular fragment) ผ่านการตรวจวัดค่าอัตราส่วนมวลต่อประจุ (mass per charge, m/z) เครื่อง MS โดยทั่วไปจะมีส่วนประกอบสำคัญ 4 ส่วน ได้แก่ 1) ช่องรับตัวอย่าง (sample inlet) 2) แหล่งกำเนิดไอออน (ion source) 3) ตัววิเคราะห์มวล (mass analyzer) และ 4) เครื่องตรวจจับ (detector)²⁰ ช่องรับตัวอย่างทำหน้าที่เป็นทางเข้าของตัวอย่างสู่เครื่องมือก่อนที่จะถูกพาไปยังแหล่งกำเนิดไอออน แหล่งกำเนิดไอออนจะแบ่งออกตามเทคนิคการสร้าง ion ซึ่งปัจจัยสำคัญในการกำหนดวิธีการเตรียมตัวอย่างให้เหมาะสมกับแหล่งกำเนิดไอออน และยังเป็นปัจจัยที่กำหนดประเภทของเทคนิคการแยกทางโครมาโทกราฟีที่เหมาะสมกับเครื่อง MS นอกจากนั้น ประสิทธิภาพในการสร้างไอออนของตัวอย่างยังมีผลต่อความไวในการวิเคราะห์ของเครื่องมืออีกด้วย^{20,21} โดยเครื่อง MS ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการพิษวิทยามักจะมี GC หรือ LC เป็นอุปกรณ์เบื้องต้น ที่จะนำตัวอย่างในรูปของเหลวหรือแก๊สเข้าสู่กระบวนการทำให้แตกตัวเป็นไอออนผ่านไปสู่การวิเคราะห์ การตรวจจับ และการวัดปริมาณของสารในขั้นตอนต่อไป²² (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 ส่วนประกอบหลักของเครื่องแมสสเปกโตรเมเตอร์ (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงลำดับที่ 22)

เทคนิคการแตกตัวเป็นไอออน (ionization) ที่ใช้บ่อยใน GC-MS คือ การเปลี่ยนเป็นไอออนด้วยอิเล็กตรอน (electron ionization, EI) และการเปลี่ยนเป็นไอออนทางเคมี (chemical ionization, CI) ซึ่งเหมาะสำหรับการวิเคราะห์สารที่มีคุณสมบัติในการระเหยและทนความร้อนได้³ สำหรับ LC-MS จะใช้เทคนิคการแตกตัวเป็นไอออนที่ความดันบรรยากาศ (atmospheric pressure ionization, API) เช่น การเปลี่ยนเป็นโมเลกุลที่รับโปรตอน (protonated molecule) หรือโมเลกุลที่เสียโปรตอน (deprotonated molecule) ด้วยสเปรย์ไฟฟ้า (electrospray ionization: ESI) และการเปลี่ยนเป็นไอออนทางเคมีที่ความดันบรรยากาศ (atmospheric pressure chemical ionization, APCI) ซึ่งเหมาะสำหรับสารที่ไม่สามารถระเหยได้ ระเหยได้ยาก หรือไวต่อความร้อน อีกเทคนิคหนึ่งคือการทำให้แตกตัวเป็นไอออนด้วยพลาสมาเหนี่ยวนำ (inductively coupled plasma ionization, ICP) ซึ่งใช้สำหรับการวิเคราะห์ธาตุ โดยเฉพาะการตรวจสอบโลหะผ่านเครื่อง ICP-MS ส่วนเทคนิคการทำให้เปลี่ยนเป็นไอออนด้วยเลเซอร์ที่ช่วยการกระจายตัวในเมทริกซ์ (matrix assisted laser desorption ionization, MALDI) เหมาะกับการทำให้แตกตัวเป็นไอออนในตัวอย่างที่ถูกเตรียมให้อยู่ในรูปของแข็งเพื่อการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค MS ในงานด้านพิษวิทยานั้น เทคนิคการแตกตัวเป็นไอออนที่มักพบการใช้งานอย่างแพร่หลายและเป็นที่ยอมรับ ได้แก่ EI, ESI และ ICP แม้เครื่องมือ GC-MS และ LC-MS ในปัจจุบันจะมีการพัฒนาอย่างก้าวหน้าจนสามารถสับเปลี่ยนการใช้กลไกการทำให้แตกตัวเป็นไอออนได้ระหว่าง EI/CI และ ESI/APCI ได้ตามความเหมาะสม อย่างไรก็ตามในอนาคต คาดว่างานวิจัยและการประยุกต์ใช้การวิเคราะห์ตัวอย่างแบบหยดแห้งด้วยเทคนิค MALDI (MALDI analysis of dried drop) และการสร้างภาพเชิงมวลสารด้วยเทคนิค MALDI (MALDI imaging) จะมีแนวโน้มได้รับความสนใจและนำมาใช้งานอย่างแพร่หลายมากยิ่งขึ้นด้วย²³

ตัววิเคราะห์มวล (Mass analyzers)

ภายหลังจากที่ตัวอย่างผ่านการทำให้แตกตัวเป็นไอออนแล้ว ไอออนเหล่านี้จะผ่านเข้าสู่ตัววิเคราะห์มวล ซึ่งถือเป็นหัวใจสำคัญของเครื่องมือ เพราะตัววิเคราะห์มวลจะเป็นส่วนที่กำหนดช่วงมวล (mass range) ความละเอียด (mass resolution) และ ความแม่นยำ (mass accuracy) ที่เครื่องมือสามารถวิเคราะห์ได้ โดยช่วงมวลนั้นหมายถึง m/z สูงสุดถึงต่ำสุดที่เครื่องมือสามารถวิเคราะห์ได้ ส่วนความละเอียดแสดงถึงความสามารถการแยกมวลสองมวลที่ใกล้เคียงกัน²⁴ โดยพิจารณาจากความกว้างของยอดที่ครึ่งหนึ่งของยอดสูงสุด (full width at half maximum, FWHM) สำหรับค่า m/z หนึ่ง ๆ ความละเอียดจะถูกแสดงเป็นอัตราส่วนของ m/z ต่อ FWHM ดังสมการต่อไปนี้

$$R = \frac{m/z}{\Delta m}$$

โดยที่

- R = ความละเอียดของมวลที่เครื่องมือสามารถแยกมวลสองมวลที่ใกล้เคียงกันได้
- m/z = อัตราส่วนมวลต่อประจุของไอออนที่วิเคราะห์
- Δm = ความกว้างของยอดที่ FWHM

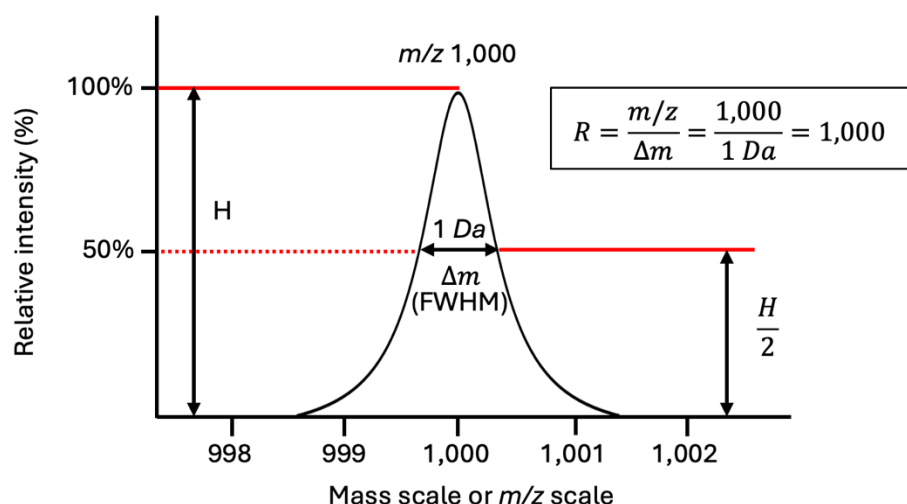
ตัวอย่างเช่น เช่น สำหรับไอออนที่เครื่องมือวัดค่า m/z 1,000 และความกว้างของยอดที่ FWHM เท่ากับ 1 dalton (Da) นั้น เครื่องมือนี้จะมีความละเอียดเท่ากับ 1,000 โดยผู้อ่านสามารถดูภาพประกอบที่แสดงลักษณะของยอดสัญญาณ (mass peak) และการวัดค่า FWHM เพื่อให้เข้าใจแนวคิดนี้ได้ชัดเจนยิ่งขึ้น ดังภาพประกอบที่ 2 ซึ่งในภาพจะเห็นว่าหากสามารถทำให้ค่า FWHM แคบลง (ยอดสัญญาณแหลมขึ้น) จะทำให้ค่าความละเอียดของเครื่องมือสูงขึ้น และสามารถแยกไอออนที่มีมวลใกล้เคียงกันได้ดีขึ้น ตรงกันข้าม หาก FWHM กว้างขึ้น (ยอดสัญญาณกว้างขึ้น) ค่าความละเอียดจะลดลง ทำให้การแยกไอออนที่มีมวลใกล้เคียงกันทำได้ยากขึ้น ความสามารถในการแยกไอออนที่มีมวลใกล้เคียงกันนี้ยังเป็นปัจจัยสำคัญที่ใช้ในการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเครื่องมือ MS โดยทั่วไปแล้ว เครื่องมือที่มีความละเอียดต่ำจะมี FWHM ประมาณ 1 Da²⁵ ในขณะที่เครื่องมือที่มีความละเอียดสูงจะมีค่า FWHM น้อยกว่า 0.2 Da ลงไป²⁶ ส่วนความแม่นยำบ่งบอกถึงความคลาดเคลื่อนจากค่าจริงหรือค่าทางทฤษฎีในการวัดค่า m/z โดยเครื่องมือที่มีความแม่นยำสูงจะสามารถวัดมวลของไอออนได้ใกล้ค่าจริงในตำแหน่งทศนิยมที่ละเอียดมากขึ้น²⁷ ความแม่นยำสามารถแสดงในหน่วยส่วนในล้าน (ppm) ซึ่งอิงจากอัตราส่วนของความแตกต่างระหว่างมวลที่แท้จริงและ มวลที่วัดได้ต่อมวลที่แท้จริง²⁷ เช่น ถ้ามวลต่อประจุจริงของไอออนคือ m/z 1,000 แต่เครื่องมือวัดค่า m/z ได้ 1,000.002 ความแม่นยำจะอยู่ที่ 2 ppm ซึ่งคำนวณจากอัตราส่วนของค่าคลาดเคลื่อนกับมวลจริง โดยใช้สมการ²⁸

$$\begin{aligned} \text{mass measurement error (in ppm)} &= \frac{|mass_{\text{measured}} - mass_{\text{theoretical}}|}{mass_{\text{measured}}} \times 10^6 \\ &= \frac{|1,000.002 - 1,000.000|}{1,000.000} \times 10^6 = 2 \text{ ppm} \end{aligned}$$

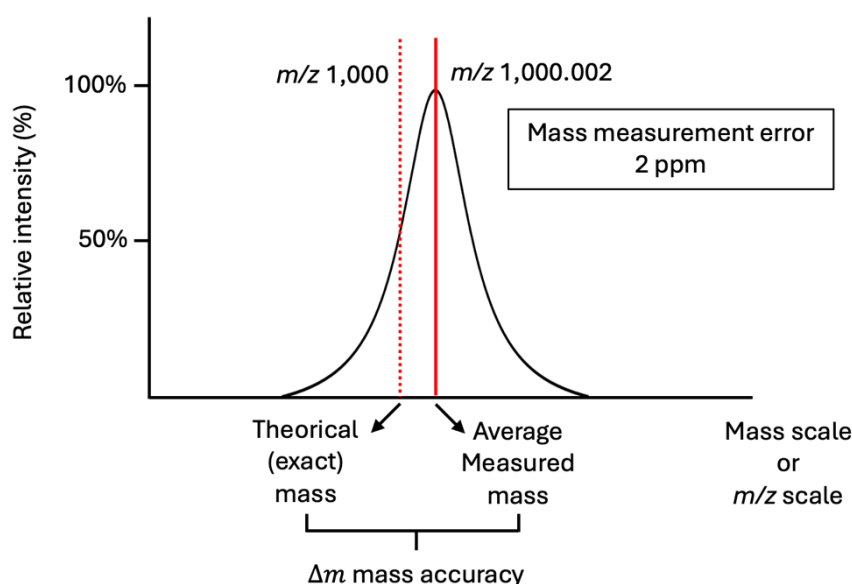
โดยที่

- $mass_{\text{measured}}$ = ค่ามวลที่วัดได้ (average measured mass)
- $mass_{\text{theoretical}}$ = ค่ามวลที่แน่นอนของโมเลกุล (theoretical mass, exact mass)

ดังที่แสดงในภาพที่ 3 จุดยอดที่แท้จริงของไอออนอยู่ที่ m/z 1,000.000 (เส้นประสีแดง) ขณะที่ค่ามวลที่เครื่องมือวัดได้ถูกเลื่อนไปทางขวาที่ m/z 1,000.002 (เส้นสีแดงทึบ) ความแตกต่างระหว่างค่ามวลที่แน่นอนของโมเลกุลกับค่ามวลที่วัดได้ แสดงให้เห็นค่าคลาดเคลื่อนของมวล Δm ซึ่งเป็นค่าความแม่นยำของเครื่องมือ โดยยิ่งค่าความคลาดเคลื่อนของมวลที่ลดลง (ค่าความผิดพลาดในหน่วย ppm ต่ำลง) สะท้อนถึงความสามารถของเครื่องมือในการให้ค่ามวลที่แม่นยำมากขึ้น ซึ่งมีความสำคัญอย่างยิ่งในเทคนิค MS เนื่องจากช่วยให้สามารถระบุองค์ประกอบของโมเลกุลและสูตรโครงสร้างของสารได้อย่างถูกต้อง ภาพกราฟยังแสดงให้เห็นแนวคิดเกี่ยวกับค่าความแม่นยำของมวล ซึ่งเป็นตัวชี้วัดที่สำคัญในการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเครื่องมือของเครื่อง MS โดยเครื่องมือที่มีค่าความแม่นยำของมวลสูงจะสามารถจำแนกความแตกต่างของมวลไอออนที่ใกล้เคียงกันได้อย่างมีประสิทธิภาพ ลดโอกาสในการระบุสารผิดพลาด และเพิ่มความน่าเชื่อถือในการวิเคราะห์



ภาพที่ 2 การวัดค่าความละเอียดของมวล (mass resolution, R) โดยใช้หลักการ Full Width at Half Maximum (FWHM) ซึ่งเป็นค่าความกว้างของยอดที่ครึ่งหนึ่งของความเข้มสูงสุด

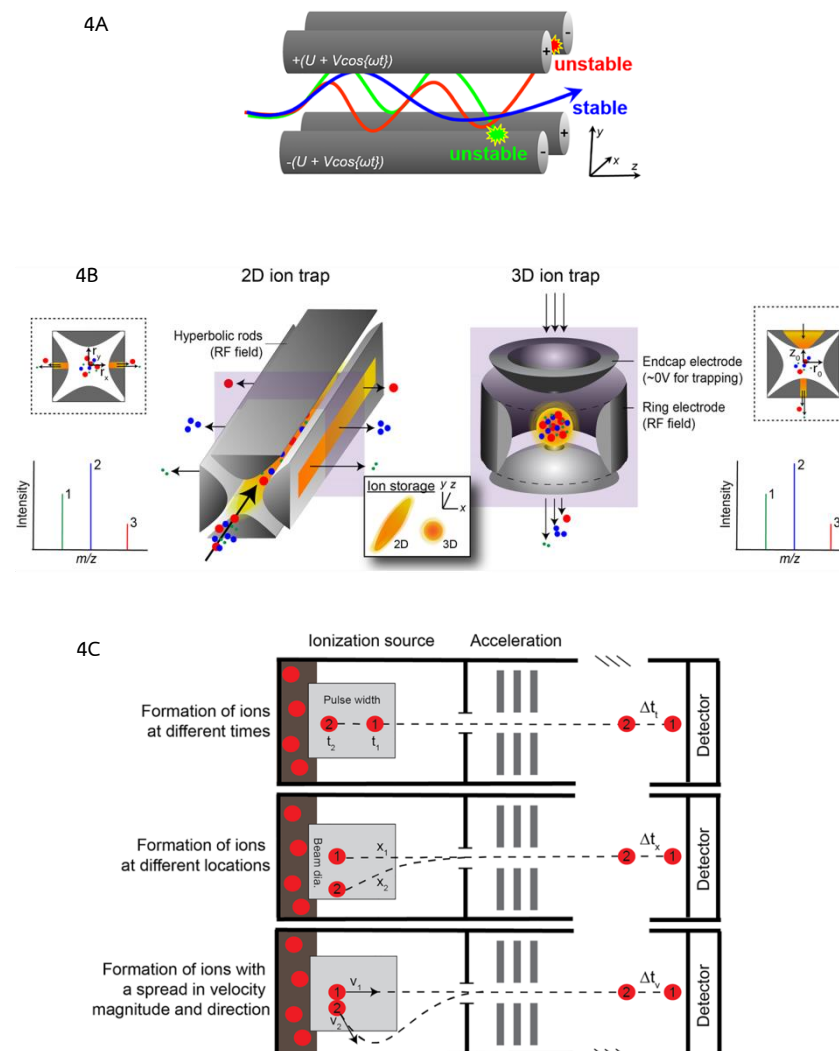


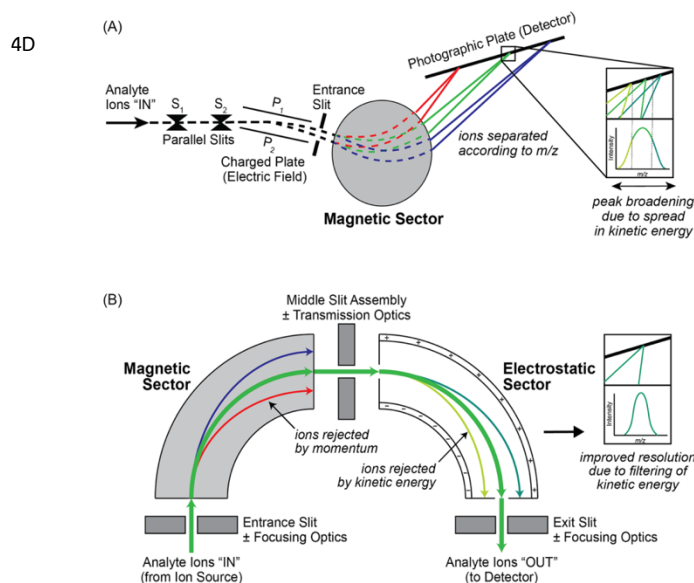
ภาพที่ 3 ค่าความแม่นยำของการวัดมวล (mass accuracy) และข้อผิดพลาดของการวัดมวล (mass measurement error) (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 27)

ตัววิเคราะห์มวลที่มีการใช้ในงานพิษวิทยา เช่น quadrupole, ion trap (IT), time of flight (TOF) และ magnetic sector (ภาพที่ 4) โดยในส่วนของ quadrupole นั้นจะใช้แท่งโลหะขนานสี่แท่งเพื่อสร้างสนามไฟฟ้าที่ปรับเปลี่ยนได้ ช่วยคัดเลือกไอออนที่มี m/z ในช่วงที่กำหนดสามารถไปถึงตัวตรวจจับได้ ข้อดีของ quadrupole คือมีราคาถูกลงและมีความทนทาน อย่างไรก็ตาม ความละเอียดของ quadrupole โดยทั่วไปจะอยู่ที่ประมาณ 2,000²⁹ ซึ่งหมายความว่าเครื่องมือนี้สามารถแยกไอออนที่มีมวลต่างกันอย่างน้อย 0.5 Da ได้ที่ m/z 1,000 โดยใช้สูตร $R = m/z / \Delta m$ ซึ่งแสดงว่า เมื่อ $R \approx 1,000$ และ $m/z = 1,000$ จะได้ $\Delta m \approx 0.5 \text{ Da}$ ดังนั้น

หลักการของแมสสเปกโตรเมตรีและการประยุกต์ใช้ในงานด้านพิษวิทยา

quadrupole จึงไม่สามารถแยกสารที่มีมวลใกล้เคียงกันมาก ๆ ได้ เช่น m/z 1,000.0 และ 1,000.1 ซึ่งจำเป็นต้องใช้เครื่องมือที่มีความละเอียดสูงกว่า เช่น TOF-MS หรือ Orbitrap-MS ที่มีความสามารถในการแยกที่แม่นยำขึ้น ในส่วนของความแม่นยำของมวล ซึ่งโดยทั่วไปอยู่ที่ประมาณ 100 ppm หมายความว่าเครื่องมือ quadrupole อาจมีความคลาดเคลื่อนของค่ามวลอยู่ที่ 100 ppm ของค่ามวลที่วัดได้ ตัวอย่างเช่น ที่ m/z 1,000 จะมีความคลาดเคลื่อนได้ถึง 0.1 Da โดยใช้สูตร $mass\ measurement\ error\ (in\ Da) = (ppm \times m/z)/10^6$ ซึ่งทำให้ quadrupole อาจไม่สามารถแยกแยะสารที่มีมวลใกล้เคียงกันมากหรือมีไอโซโทปที่แตกต่างกันได้ ดังนั้น แม้ว่า quadrupole จะเป็นเครื่องมือที่มีต้นทุนต่ำและใช้งานได้ดีในงานที่ต้องการความทนทานและรวดเร็ว แต่ข้อจำกัดด้านความละเอียดและความแม่นยำของมวลทำให้ไม่เหมาะสำหรับการวิเคราะห์สารที่ต้องการค่ามวลที่แม่นยำสูงหรือการแยกสารที่มีโครงสร้างคล้ายกันมาก^{30,31}





ภาพที่ 4 แผนภาพแผนผังของตัววิเคราะห์มวลในเครื่องแมสสเปกโตรเมเตอร์ประเภท quadrupole (4A), ion trap (4B), time of flight (4C), และ magnetic sector (4D)
(คัดลอกจากเอกสารอ้างอิงลำดับที่ 24)

ตัววิเคราะห์มวลประเภท ion trap ประกอบไปด้วย quadrupole ion trap (QIT), fourier-transform ion cyclotron resonance (FT-ICR) และ Orbitrap ตัววิเคราะห์มวล QIT นั้นใช้สนาม quadrupole แบบสองมิติ (2D QIT) หรือสามมิติ (3D QIT) เพื่อดักจับไอออนในพื้นที่จำกัด และสแกน radio frequency (RF) และ direct current (DC)^{12,20} เพื่อปลดปล่อยไอออนที่เลือกออกมาสำหรับตรวจวัด โดย QIT ให้ความละเอียดอยู่ที่ไม่เกิน 5,000 โดยมีความแม่นยำที่ต่ำกว่า 30 ppm ลงไป³² สำหรับ FT-ICR จะใช้ศักย์ไฟฟ้าในการดักไอออนไว้ใน trapping plate และใช้สนามแม่เหล็กในการทำให้ไอออนเคลื่อนที่ในลักษณะวงจรรังโคตรอน ซึ่ง trapping plate มีหน้าที่เป็นเครื่องตรวจจับชนิด image current detector สำหรับตรวจวัดความถี่โคตรอนของวงโคจร โดยไอออนที่มี m/z สูง จะโคจรด้วยความถี่น้อยกว่า นอกจากนั้น FT-ICR จะใช้ไฟฟ้ากระแสสลับ (AC) ที่มีความถี่สอดคล้องกับการโคจรของไอออน ทำให้ไอออนโคจรใกล้เครื่องตรวจจับมากขึ้น เพื่อเพิ่มความไวของการตรวจวัด²⁰ โดย FT-ICR นั้นมีความละเอียดได้ถึงช่วง 100,000 ถึง 10,000,000 และความแม่นยำถึง 0.05-1 ppm³² สำหรับตัววิเคราะห์มวลแบบ Orbitrap จะใช้ขั้วไฟฟ้าลักษณะเฉพาะสำหรับสร้างสนามไฟฟ้าสถิตเพื่อทำให้ไอออนเคลื่อนที่เป็นวงโคจรภายใน และมีวิธีการตรวจจับคล้ายกับ FT-ICR แต่จะมีความละเอียดที่ต่ำกว่า ซึ่งอยู่ในช่วง 120,000 ถึง 1,000,000 และความแม่นยำในช่วง 0.5 ถึง 5 ppm³² ซึ่งก็ถือว่า Orbitrap ยังให้ความแม่นยำที่ใกล้เคียงกับ FT-ICR

ตัววิเคราะห์มวลประเภท TOF นั้นจะใช้ศักย์ไฟฟ้าแบบคงที่ในการเร่งไอออนให้เคลื่อนที่ผ่านฟลทิวบ์ (flight tube) ไอออนทั้งหมดในแต่ละ pulse จะได้รับพลังงานจลน์เท่ากัน ทำให้ไอออนที่มี m/z ต่ำ จะเคลื่อนที่เร็วตัววัด

เร็วกว่า และใช้เวลาน้อยกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับไอออนที่มี m/z สูงกว่า โดยเวลาที่ไอออนแต่ละชนิดใช้ในการเข้าถึงตัวตรวจจับจะถูกนำมาคำนวณเป็น m/z นอกจากนั้น TOF มีช่วงมวลกว้างกว่า quadrupole และ ion trap พร้อมความละเอียดที่สูงกว่า อยู่ในช่วง 10,000 ถึง 60,000 และความแม่นยำของมวลที่สูงกว่า อยู่ในช่วง 0.5 ถึง 5 ppm³²

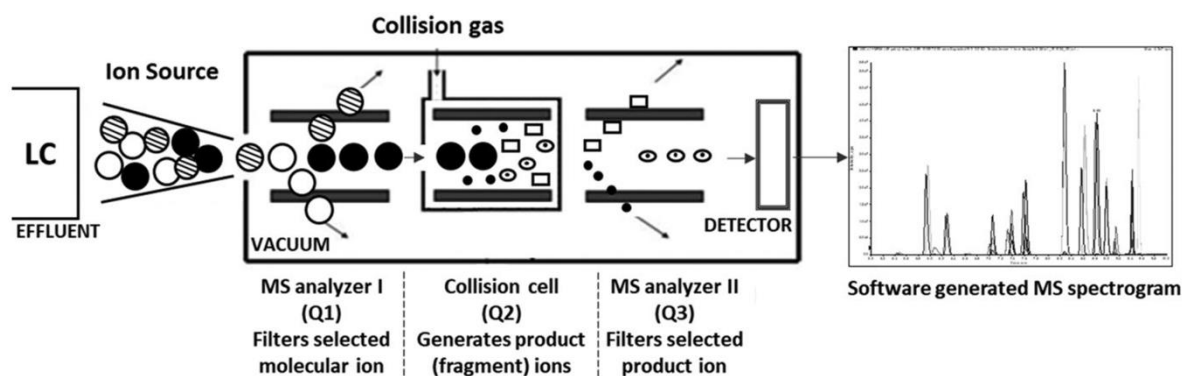
ตัววิเคราะห์ sector แบ่งเป็นแบบสนามแม่เหล็กและสนามแม่เหล็กและไฟฟ้า (double focusing) เช่นเดียวกับ TOF สนามแม่เหล็กใช้ศักย์ไฟฟ้าคงที่ในการเร่งไอออนให้ได้รับพลังงานจลน์เท่ากันแต่มีโมเมนตัมต่างกันตามค่า m/z จากนั้นไอออนจะผ่านสนามแม่เหล็กซึ่งทำให้ไอออนเคลื่อนที่ในเส้นโค้งเพื่อกระทบตัวตรวจจับตามอัตราส่วนโมเมนตัมต่อประจุ การสแกนความเข้มสนามแม่เหล็กช่วยให้เลือกไอออนที่มีค่า m/z ต่างกันในการตรวจจับ นอกจากนั้น double focusing sector นั้นสามารถเพิ่มสนามไฟฟ้าเพื่อโฟกัสไอออนตามอัตราส่วนพลังงานต่อประจุ ทำให้ไอออนที่มีความเร็วต่างกันรวมกันที่จุดเดียวกันได้ ส่งผลให้ double focusing magnetic sectors มีความละเอียดสูงถึง 100,000²⁰ และความแม่นยำของมวลโดยเฉลี่ยที่ระดับ 3.3 ppm³³

เทคนิค MS นั้น มีแหล่งกำเนิดไอออน ตัววิเคราะห์มวล และตัวตรวจจับเป็นส่วนสำคัญที่ร่วมกันกำหนดความสามารถของเครื่องมือในการวิเคราะห์ นอกจากนั้น แม้ว่าโครงสร้างหลักที่เป็นพื้นฐานของเครื่องมือ MS จะยังคงไม่มีเปลี่ยนแปลงไปมากนักในแต่ละช่วงเวลา แต่ความสามารถและประสิทธิภาพในการทำงานของส่วนต่าง ๆ เช่น แหล่งกำเนิดไอออน ตัววิเคราะห์มวล และตัวตรวจจับยังคงได้รับการพัฒนาให้ดีขึ้นอย่างต่อเนื่อง จุดเด่นของ MS ในงานด้านพิษวิทยาคือความไวและความจำเพาะที่สูงซึ่งจำเป็นอย่างยิ่งสำหรับการระบุชนิดและวัดปริมาณสารพิษ^{12,19}

การใช้เครื่องแมสสเปกโตรเมเตอร์ตรวจจับโมเลกุลเป้าหมายจากระบบโครมาโทกราฟี

การใช้งานเทคนิคด้านแมสสเปกโตรเมตรีมีความหลากหลายเป็นอย่างมากเนื่องจากสามารถเชื่อมต่อกับเทคนิคการแยกที่หลากหลายที่ส่วนช่องรับตัวอย่าง เช่น GC หรือ LC รวมไปถึงจนถึงการจัดเรียงตัววิเคราะห์ที่หลากหลายแบบต่อเนื่องหรือแบบไฮบริด การเลือกประเภทและการจัดเรียงส่วนประกอบในเครื่องจะมีผลต่อความละเอียด ความแม่นยำของมวล ช่วงมวลในการวิเคราะห์ รวมไปถึงจนถึงรูปแบบของการทดลองและการวิเคราะห์ต่าง ๆ ที่สามารถทำได้^{3,20,24} ในการประยุกต์ใช้ทางพิษวิทยานั้น เครื่อง MS ที่มีการใช้ประโยชน์หลากหลายที่สุดคือ triple quadrupole tandem mass spectrometer (TQ-MS/MS) ซึ่งประกอบด้วย quadrupole สามตัวที่เรียงต่อเนื่องสำหรับ MS/MS ดังแสดงให้เห็นในภาพที่ 5 ถึงโครงสร้างและกระบวนการของ TQ-MS/MS³⁴ โดย quadrupole ตัวแรก (Q1) นั้นจะทำหน้าที่คัดเลือกไอออนที่จะเข้าสู่ quadrupole ตัวที่สอง (Q2) หรือ collision cell ซึ่งเป็นส่วนที่ทำให้เกิดไอออนผลิตภัณฑ์ (product ion) ผ่านกระบวนการแยกไอออนโดยการชนเหนี่ยวนำ (collision induced dissociation, CID) จากนั้นไอออนผลิตภัณฑ์จะเข้าสู่ quadrupole ตัวที่สาม (Q3) เพื่อคัดเลือกและนำไอออนที่ต้องการมุ่งเข้าสู่ตัวตรวจจับ TQ-MS/MS สามารถทำการสแกนมวลได้เต็มรูปแบบตลอดช่วงมวล (full scan) การติดตามการแตกแฟรก

เมนต์แบบหลายตัว (multiple reaction monitoring, MRM) หรือการติดตามการแตกแฟรกเมนต์แบบจำเพาะเจาะจงตัวเดียว (single reaction monitoring, SRM) เพื่อตรวจจับสารพิษ^{18,20}

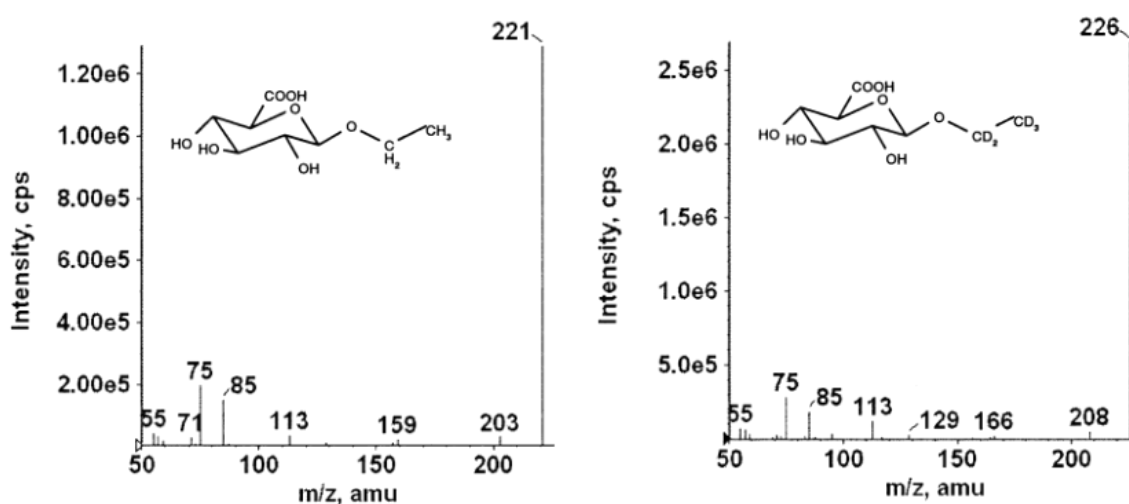


ภาพที่ 5 โครงสร้างและกระบวนการวิเคราะห์ของ Triple quadrupole mass spectrometry (TQ-MS/MS)
(คัดลอกจากเอกสารอ้างอิงลำดับที่ 34)

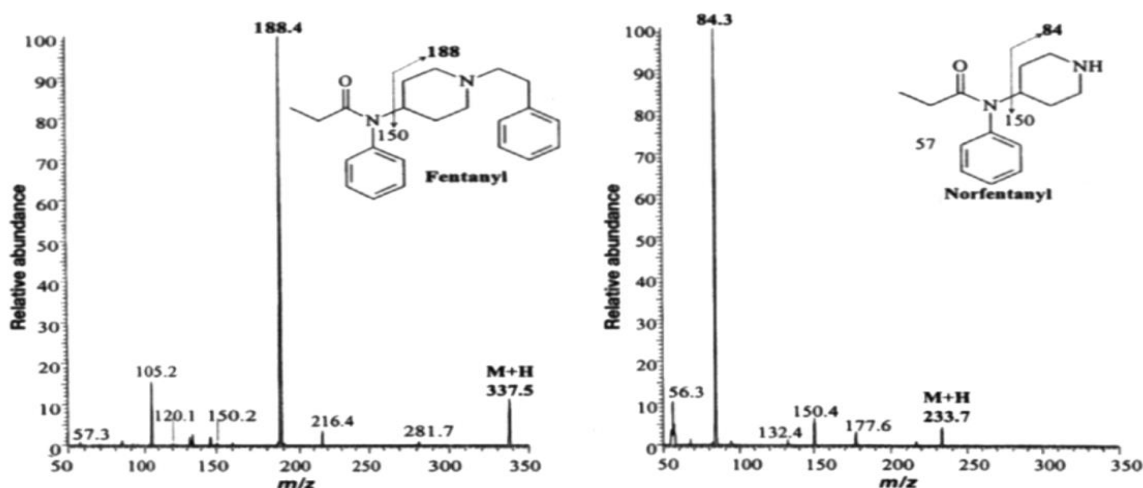
เทคนิค MS/MS มีการใช้ CID เพื่อทำให้เกิดการแยกไอออนเป้าหมาย (precursor ion) เป็นไอออนผลิตภัณฑ์ จากนั้นจึงจะวิเคราะห์ไอออนผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น ในเทคนิค MS/MS นั้น MRM หรือ SRM จะมีการติดตามการเปลี่ยนแปลงของไอออนเป้าหมายเป็นไอออนผลิตภัณฑ์ หนึ่งตัวผ่านการเกิด CID โดยระบุค่า m/z ของไอออนเป้าหมายเปลี่ยนแปลงไปสู่ m/z ของไอออนผลิตภัณฑ์หรือใช้ชุดไอออนเป้าหมายและไอออนผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ตามที่เครื่องมือสามารถรองรับได้ โดยทั้ง MRM และ SRM ช่วยเพิ่มความไวโดยลดสัญญาณรบกวน ส่วน MS/MS จะเพิ่มความจำเพาะจากรูปแบบการแตกแฟรกเมนต์ที่เป็นเอกลักษณ์ของสารแต่ละชนิด ทำให้สามารถเลือกใช้การตอบสนอง (response) ที่ m/z ของไอออนผลิตภัณฑ์ซึ่งไม่ถูกรบกวนโดยสารอื่น ๆ ได้ นอกจากนี้ MS/MS ยังใช้เพื่อศึกษาคุณสมบัติโครงสร้างได้ ข้อได้เปรียบของ TQ-MS/MS คือสามารถทำการสแกนไอออนเป้าหมายหรือสแกนการสูญเสียโมเลกุลที่มีความเป็นกลาง (neutral loss, NL) ในช่วง m/z ที่กว้างได้ ซึ่งช่วยให้สามารถฉีดยาอย่างครั้งเดียวนั้นสามารถใช้สแกนสเปกตรัม m/z ทั้งหมดได้อย่างรวดเร็ว ตรวจหาสารที่มีหมู่ฟังก์ชันเฉพาะที่แตกตัวเป็นไอออนที่ตรวจจับได้ รวมทั้งตรวจหาโมเลกุลกลางที่ไม่มีประจุ^{6,12,18,35}

สำหรับตัววิเคราะห์มวลรูปแบบ quadrupole ใน TQ-MS/MS นั้น ได้ถูกจัดเรียงแบบต่อเนื่องกัน (in space) ขั้นตอนของ MS/MS จึงเกิดขึ้นแบบต่อเนื่องในตำแหน่งที่ต่างกันของตัววิเคราะห์ ในขณะที่ในเครื่องมือ IT เช่น QIT, fourier transform ion trap (FT-IT) และ Orbitrap ขั้นตอนของ MS/MS จะเกิดขึ้นต่อเนื่องตามลำดับช่วง (in time) ซึ่งขึ้นอยู่กับความสามารถของแทรป (trap) ในการเก็บไอออนเป้าหมายภายหลังแต่ละรอบของการทำ CID แม้ว่า MS/MS ในเครื่อง IT จะมีประสิทธิภาพสูง แต่ข้อจำกัดสำคัญคือการเก็บไอออนและความเร็วในการสแกน m/z QIT แบบ 2 มิติ นั้นได้ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อลดปัญหาการเก็บไอออนและเพิ่มช่วงการวิเคราะห์ ทำให้สามารถทำ FS, MRM และ SRM ในช่วง m/z ที่กว้างกว่า QIT แบบ 3 มิติ อย่างไรก็ตาม MS/MS ในเครื่องแบบ IT จะไม่รองรับการสแกนไอออน

เป้าหมาย และการสูญเสียโมเลกุลที่มีความเป็นกลาง แต่ก็สามารถออกแบบให้เครื่องมือเป็นลักษณะ MS^n เพื่อเพิ่มความสามารถในการวิเคราะห์โครงสร้างของโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่ได้ ซึ่งโดยทั่วไปแล้วจะไม่เกินสามรอบของการแยกเนื่องจากสัญญาณจะสูญเสียไปในแต่ละรอบของ CID^{12,36} เมื่อไอออนเหล่านี้เข้าสู่ตัววิเคราะห์มวล ระบบจะทำการแยกไอออนตามอัตราส่วนมวลต่อประจุ จากนั้นเครื่องตรวจจับจะทำการวัดค่า abundant ion แต่ละตัวที่มีอัตราส่วนมวลต่อประจุต่างกัน ผลลัพธ์ที่ได้จากเครื่อง MS จะแสดงออกในรูปแบบของแมสสเปกตรัม (mass spectrum) (ภาพที่ 6 และ 7)^{35,37} ซึ่งเป็นรูปแบบของกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความอุดมสมบูรณ์ (relative abundance) หรือความเข้มในหน่วยจำนวนครั้งต่อวินาที (intensity in counts per second, cps) ซึ่งกำกับด้วย cps บนแกนแนว y กับอัตราส่วนมวลต่อประจุของไอออนซึ่งกำกับด้วย m/z บนแนวแกน x ของกราฟ



ภาพที่ 6 แมสสเปกตรัมแสดงไอออนผลิตภัณฑ์ของเอทิลกลูคูโรไนด์ (ethyl glucuronide, EtG) และ D5-EtG ซึ่งมี parent ion m/z 221 และ 226 ตามลำดับ (คัดลอกจากเอกสารอ้างอิงลำดับที่ 35)



ภาพที่ 6 แมสสเปกตรัมและรูปแบบการแตกตัวของเฟนทานิล (fentanyl) และนอร์เฟนทานิล (norfentanyl) ในการวิเคราะห์ด้วย LC-MS/MS ผ่านกระบวนการแยกไอออนโดยการชนเหนี่ยวนำ ซึ่งมี precursor ion m/z 337.5 และ 233.7 ตามลำดับ (คัดลอกจากเอกสารอ้างอิงลำดับที่ 37)

ตัวเครื่องมือ MS นั้นได้รับการพัฒนาอย่างต่อเนื่องโดยมีความจำเพาะ ความแม่นยำของมวล และความละเอียดที่สูงขึ้น รวมถึงการออกแบบเครื่องมือแบบไฮบริดที่มีประสิทธิภาพดีขึ้นเพื่อลดข้อจำกัดของเครื่องมือในปัจจุบัน โดยตัวอย่างหนึ่งของข้อจำกัดในเครื่อง TQ-MS/MS คือไม่สามารถทำการสแกนไอออนเป้าหมาย และการสูญเสียโมเลกุลที่มีความเป็นกลางพร้อมกับการทำเทคนิค MS/MS สำหรับการกำหนดและวิเคราะห์โครงสร้างของสารหรือโมเลกุลในครั้งเดียวได้ สำหรับ QTRAP เป็นเครื่องมือที่เป็นการรวมกันระหว่าง triple quadrupole และ ion trap ซึ่งเรียกว่าเป็นเครื่องมือแบบไฮบริด ซึ่งองค์ประกอบที่เป็น quadrupole ตัวที่สามนั้นถูกออกแบบให้เป็น QIT แบบ 2 มิติ ช่วยให้ QTRAP มีความสามารถในการสแกนไอออนเป้าหมาย การสูญเสียโมเลกุลที่มีความเป็นกลาง และ MS^n ได้จากการฉีดตัวอย่างครั้งเดียว^{16,36,38} นอกจากนี้ยังมีเครื่องมือแบบผสมผสานหลายเทคนิคที่พัฒนาเพื่อให้สามารถกำหนดมวลได้แม่นยำขึ้นพร้อมความสามารถในการทำ MS/MS หรือ MS^n เช่น QTOF ซึ่งเป็นการรวมระหว่าง quadrupole และ TOF และเครื่อง quadrupole-Orbitrap hybrid (QE หรือ Q Exactive)^{39,40}

แมสสเปกตรัมที่ได้จากเครื่อง MS นั้นสามารถให้ข้อมูล m/z ของสารที่มีความละเอียดสูง จึงทำให้สามารถวิเคราะห์ข้อมูลของไอโซโทปในโมเลกุลได้ด้วย²⁷ การมีพื้นฐานความรู้เกี่ยวกับไอโซโทปจึงเป็นสิ่งจำเป็นในการแปลความหมายของแมสสเปกตรัม มวลที่แน่นอนของโมเลกุล (exact mass) นั้นจะถูกวัดในหน่วยมวลอะตอม (atomic mass unit หรือ u) โดยที่ 1 หน่วยมวลอะตอมเท่ากับ 1/12 ของมวลของ ^{12}C หน่วยนี้บางครั้งเรียกว่า ดัลตัน (dalton, Da) ซึ่งเป็นที่นิยมใช้เช่นกัน โดยมีค่าเท่ากับ 1 u (1 u = 1 Da) มวลของไอโซโทป ^{12}C เท่ากับ 12.0000 Da ในขณะที่มวลของอะตอมอื่น ๆ จะถูกเปรียบเทียบกับไอโซโทป ^{12}C เช่น มวลของไอโซโทป ^1H ซึ่งเบากว่าไอโซโทป ^{12}C ประมาณ 11.9068 เท่า ดังนั้นมวลของไอโซโทป ^1H จึงเท่ากับ $1/11.9068 \times 12.0000 = 1.0078$ Da ส่วนไอโซโทป ^{35}Cl ซึ่งมีมวลมากกว่าไอโซโทป ^{12}C 2.91407 เท่า ทำให้มวลของ ^{35}Cl เท่ากับ $2.91407 \times 12.0000 = 34.9688$ Da โดยอะตอมคลอรีนมีอยู่สองไอโซโทปคือ ^{35}Cl และ ^{37}Cl ซึ่งมีมวล 34.965903 Da และมีสัดส่วนตามธรรมชาติ 75.77% และ 24.23% ตามลำดับ ธาตุในสารพิษ ยา และเมตาบอไลต์ส่วนใหญ่มีมากกว่าหนึ่งไอโซโทป ยกเว้นบางธาตุที่มีไอโซโทปเดียว เช่น ฟลูออรีน ไอโอดีน และฟอสฟอรัส มวลที่แน่นอนของโมเลกุลนั้นสามารถคำนวณได้จากผลรวมของมวลไอโซโทปที่อยู่ในโมเลกุลนั้น ๆ โดยมวลที่แน่นอนของโมเลกุลที่ได้จากผลรวมของมวลไอโซโทปที่มีสัดส่วนตามธรรมชาติมากที่สุดเรียกว่า monoisotopic mass นอกจากนั้น มวลที่แน่นอนของอะตอมหรือโมเลกุลจะมีความละเอียดถึงทศนิยมได้สามถึงสี่ตำแหน่งเมื่อวัดด้วยเครื่อง MS ที่มีความละเอียดสูง (HRMS)^{41,42} เช่น TOF-MS หรือ Orbitrap-MS ในขณะที่เครื่องมือที่มีความละเอียดต่ำ (LRMS) โดยทั่วไปจะให้ผลลัพธ์ของเลขมวลเป็นจำนวนเต็ม^{27,31} อย่างไรก็ตาม การวิเคราะห์มวลด้วยเทคนิค TQ-MS และ IT-MS ซึ่งจัดว่าเป็น LRMS นั้นสามารถให้ผลลัพธ์ในรูปแบบทั้งเลขจำนวนเต็มและค่าทศนิยมขึ้นอยู่กับความละเอียดของเครื่องมือและวัตถุประสงค์ของการวิเคราะห์^{32,43-45}

การประยุกต์ใช้แมสสเปคโตรเมทรีทางด้านพิษวิทยา

ในปัจจุบันนั้น การประยุกต์ใช้เทคนิค MS ในด้านพิษวิทยาจะมีการใช้งานเทคนิค MS ร่วมกับเทคนิคอื่น ๆ เช่น GC, LC, และ ICP-MS เป็นระบบการแยกที่เชื่อมต่อเข้ากับเครื่อง MS ซึ่งได้รับการยอมรับว่าเป็นเครื่องมือวิเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพสูงสำหรับงานพิษวิทยา โดยที่ GC-MS มักใช้สำหรับวิเคราะห์สารที่สามารถระเหยและทนความร้อนได้, LC-MS ใช้กับสารที่ไม่ระเหยและไวต่อความร้อน, และ ICP-MS สำหรับการวิเคราะห์ธาตุโดยเฉพาะโลหะ ด้วยความสามารถในการวิเคราะห์ที่หลากหลายของ MS ทั้งความจำเพาะ ความไว ช่วงไดนามิกที่กว้าง และความสามารถในการตรวจคัดกรองสารที่หลากหลายได้พร้อมกัน การใช้ MS จึงมีความสำคัญในงานพิษวิทยาสำหรับใช้ในการวิเคราะห์ยาเพื่อวัตถุประสงค์เฉพาะ เช่น การตรวจติดตามระดับยาในเลือด (therapeutic drug monitoring, TDM), การตรวจคัดกรอง เช่น สารเสพติด พิษวิทยานิติเวช พิษวิทยาสิ่งแวดล้อม และพิษวิทยาคลินิก, และการวิจัยในเภสัชจลนศาสตร์/เภสัชพลศาสตร์ ซึ่งความสามารถและประสิทธิภาพของ GC-MS, LC-MS, ICP-MS และ MS/MS และการใช้ประยุกต์ใช้งานที่เกี่ยวข้องกับงานพิษวิทยานั้นเป็นสิ่งที่โดดเด่นและมีความสำคัญต่อวงการวิจัยเป็นอย่างยิ่ง^{24,18,35,38,46}

ปัจจัยสำคัญอีกอย่างหนึ่งที่ทำให้มีการใช้ GC และ LC-MS เพิ่มขึ้นในพิษวิทยานั้นคือความต้องการก้าวข้ามจำกัดของหลักการปฏิกิริยาภูมิคุ้มกัน (immunoassay, IA) ในการวิเคราะห์ยา ได้แก่ ความจำเพาะในการวิเคราะห์และการถูกรบกวน⁴⁷ IA ที่มีการพัฒนาสำหรับยาโมเลกุลขนาดเล็กมักมีความจำเพาะที่เพียงพอตรวจจับในระดับของกลุ่มยา แต่ไม่สามารถแยกแยะด้วยยาภายในกลุ่มอย่างจำเพาะเจาะจงได้ ข้อจำกัดนี้เกิดจากการที่แอนติบอดีโดยทั่วไปสามารถจดจำเฉพาะตำแหน่งที่อยู่บนโมเลกุลขนาดใหญ่ได้เท่านั้น ทำให้ IA ไม่สามารถที่จะใช้ระบุโมเลกุลขนาดเล็กได้อย่างจำเพาะและแม่นยำ ในปัจจุบัน IA มักใช้ในการคัดกรองเบื้องต้นในพิษวิทยาเพื่อช่วยคัดกรองผลลบและแยกแยะกลุ่มยาหรือยาที่เฉพาะเจาะจง เช่น benzodiazepine, opioid, amphetamine, fentanyl เป็นต้น^{48,49} แต่ก็มีแนวโน้มเกิดผลบวกสูงและผลลบสูงเนื่องจากขาดความจำเพาะและมักพบการรบกวนจากการเกิดปฏิกิริยาไขว้ (cross reaction) วิธีการตรวจวิเคราะห์ทั่วไปคือนำ IA มาใช้ในการตรวจคัดกรองสารเบื้องต้นแล้วจึงยืนยันผลบวกด้วย GC-MS หรือ LC-MS ที่มีความไวและความจำเพาะที่เหนือกว่า^{18,48,49}

ในงานพิษวิทยานั้น ยังมีเครื่อง MS หลายชนิดที่ได้มีการนำมาใช้ในการวิเคราะห์สารพิษ ยา และสารแปลกปลอมทั้งในสิ่งแวดล้อมและตัวอย่างชีวภาพ เพื่อศึกษากลไกของสารพิษ การเปลี่ยนแปลงของสารในร่างกาย (biotransformation) และผลกระทบทางชีวภาพของสารเคมี โดยเครื่อง TOF-MS นิยมนำมาใช้ในการคัดกรองสารพิษที่ไม่ทราบล่วงหน้า (untargeted screening) ในตัวอย่างสิ่งแวดล้อมและชีวภาพ³⁹ เช่น การวิเคราะห์สารพิษตกค้างในอาหาร น้ำ หรือการตรวจจับสารอันตรายในอุตสาหกรรมเคมี นอกจากนี้ TOF-MS ยังมีการใช้ร่วมกับ MALDI-TOF-MS ในการวิเคราะห์สารชีวโมเลกุล เช่น โปรตีน หรือเปปไทด์ที่เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพของความเป็นพิษ⁶ ในขณะที่ IT-MS มีข้อได้เปรียบในด้านการวิเคราะห์โครงสร้างของสารพิษและเมตาบอไลต์ เนื่องจากสามารถทำการวิเคราะห์แบบหลายขั้นตอน (MSⁿ) ซึ่งช่วยให้สามารถติดตามกระบวนการแปรสภาพของสารพิษและตรวจสอบผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาทาง

ชีวเคมีได้อย่างมีประสิทธิภาพ^{44,50,51} สำหรับ Orbitrap-MS ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ให้ ความละเอียดและความแม่นยำของมวลสูงที่น้อยกว่า 1ppm ได้ถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์สารพิษที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกัน (isomeric compounds) และ metabolomics⁵² เพื่อศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสารพิษระดับโมเลกุล อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบกับ LC-MS ซึ่งเป็นเทคนิคที่แพร่หลาย พบว่า LC-MS ยังคงเป็นมาตรฐานสำหรับการตรวจวิเคราะห์สารพิษในระดับปริมาณ (quantitative analysis)⁵³ เช่น การตรวจหายาเสพติด สารเคมีตกค้าง และสารปนเปื้อนในอาหาร⁵⁴ แม้ว่าระบบ HRMS เช่น Orbitrap-MS และ TOF-MS จะมีข้อได้เปรียบด้านความแม่นยำของมวลและสามารถใช้ในการค้นหาสารใหม่หรือวิเคราะห์สารที่ไม่ทราบล่วงหน้าได้ดี แต่ก็มีข้อจำกัดด้านต้นทุน ความเร็วในการสแกน และความซับซ้อนของการประมวลผลข้อมูล ดังนั้น การเลือกใช้ MS ในงานพิษวิทยาขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการตรวจวิเคราะห์ เช่น การคัดกรองสารพิษที่ไม่ทราบล่วงหน้า การวิเคราะห์โครงสร้างสาร หรือการตรวจวัดสารเป้าหมายเชิงปริมาณ โดยต้องคำนึงถึงปัจจัยด้านความไว ความแม่นยำ และความสามารถในการประมวลผลข้อมูลของเครื่องมือแต่ละประเภท

การประยุกต์ใช้ GC-MS สำหรับงานทางด้านพิษวิทยา

ในงานทางด้านพิษวิทยานั้น GC-MS นับเป็นหนึ่งในเทคนิค MS ที่มีการประยุกต์ใช้อย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะการวิเคราะห์ยา โดยการวิเคราะห์ยาด้วยเทคนิค GC-MS นั้นจะเป็นการรวมเทคนิคการแยกสารในส่วนของ GC เข้ากับเทคนิคในการตรวจวัดโมเลกุลของสารโดยเครื่อง MS ซึ่งช่วยให้เกิดการพัฒนากการประยุกต์ใช้ที่ความจำเพาะและความไวจากเทคนิค MS เอง^{12,20,55} GC เป็นเทคนิคการแยกสารที่ใช้เฟสคงที่แบบของเหลวหรือโพลิเมอร์ร่วมกับเฟสเคลื่อนที่แบบแก๊ส เพื่อแยกสารตามการกระจายตัวระหว่างเฟสคงที่และเฟสแก๊ส โดยมักใช้อุณหภูมิสูงหรือการปรับอุณหภูมิในการแยกได้สูงถึง 350°C เพื่อเป็นการเร่งให้สารออกมาสู่เฟสแก๊สเคลื่อนที่ได้ สารที่ต้องการวิเคราะห์จะถูกแยกออกมาตามช่วงเวลาที่แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับความสามารถในการกระจายตัวในคอลัมน์ จากนั้นจะเข้าสู่เครื่อง MS ในเฟสแก๊สเพื่อทำให้เกิดการแตกตัวเป็นไอออน โดยทั่วไปจะใช้แหล่ง EI ที่ใช้พลังงานจากอิเล็กตรอนพลังงานสูง (ประมาณ 70 eV) เพื่อดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลของสารที่อุณหภูมิสูง ทำให้เกิดรูปแบบของการแตกแฟรกเมนต์ที่มีแบบแผนชัดเจนและเกิดซ้ำได้ของโมเลกุลสารอินทรีย์^{3,12,24} ด้วยเหตุนี้เองข้อมูล EI-GC-MS จึงมีความเหมาะสมสำหรับการเปรียบเทียบแมสสเปกตรัม ระหว่างห้องปฏิบัติการ และสามารถรวมเป็นชุดข้อมูลหรือไลบรารี (libraries) ของแมสสเปกตรัม EI-GC-MS ขนาดใหญ่ ซึ่งมีการสร้างและรวบรวมขึ้นเพื่อใช้ในการระบุตัวสารผ่านการจับคู่แมสสเปกตรัมซึ่งช่วยเพิ่มความสามารถในการระบุสารที่ไม่ทราบชื่อได้ในเบื้องต้น จากข้อได้เปรียบนี้ทำให้ EI-GC-MS เป็นเครื่องมือสำคัญในการตรวจหาและวัดปริมาณโมเลกุลขนาดเล็ก โดยมีความจำเพาะของเทคนิค MS^{3,24} EI-GC-MS ยังคงเป็นเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจคัดกรองสารที่ไม่ทราบชื่อในตัวอย่างชนิดต่าง ๆ รวมทั้งยังสามารถใช้ในการยืนยันผลบวกจาก IA จากการตรวจคัดกรองยาในพิษวิทยาคลินิก⁴⁹ สำหรับข้อจำกัดหลักของเทคนิค GC-MS นั้นคือจำเป็นต้องใช้สารที่ระเหยได้และยังมีความคงตัวเมื่อได้รับความร้อน ซึ่งหมายความว่าเทคนิคนี้อาจต้องทำให้สารวิเคราะห์บางชนิดสามารถที่จะระเหยได้ผ่านการ

ดัดแปลงทางเคมีก่อนจึงจะวิเคราะห์ด้วย GC-MS ได้ ส่งผลให้การใช้งาน GC-MS ในการวิเคราะห์ยาหลายชนิดมีข้อจำกัดและอาจต้องเพิ่มขั้นตอนและค่าใช้จ่ายสำหรับเตรียมตัวอย่าง⁵⁶⁻⁵⁸

การประยุกต์ใช้ GC-MS งานด้านพิษวิทยาพบว่า GC-MS มีข้อดีหลายประการเมื่อเปรียบเทียบกับ LC-MS/MS เช่น การแยกสารที่มีประสิทธิภาพสูงกว่า เฟสเคลื่อนที่ประเภทแก๊ส (เช่น ฮีเลียมและไฮโดรเจน) จะมีความสม่ำเสมอ, การปรับเงื่อนไขการแยกด้วยการควบคุมอุณหภูมิอย่างแม่นยำผ่านระบบการควบคุมแบบอิเล็กทรอนิกส์ รวมไปถึงจนถึงความสามารถในการค้นหาข้อมูลจากไลบรารีของ EI-MS เพื่อการระบุสารพิษ ความไวของการตรวจวิเคราะห์ และความจำเพาะของเทคนิค MS^{3,12,24} โดยทั่วไปแล้ว GC-MS จึงเป็นเครื่องมือหลักในการคัดกรองสารพิษที่ไม่ทราบชนิด ซึ่งอาจมีความเกี่ยวข้องในงานด้านควบคุมสารกระตุ้น การวิเคราะห์สิ่งแวดล้อม พิษวิทยาคลินิก และพิษวิทยานิติเวช⁵⁷

ในการวิเคราะห์ทางคลินิกนั้น GC-MS เป็นวิธีที่ใช้ในการคัดกรองเลือดและปัสสาวะเพื่อระบุการใช้ยาเกินขนาด ในกรณีฉุกเฉิน โดยเฉพาะยาที่มีพิษและมีการรักษาหรือยาต้านพิษที่สามารถช่วยบรรเทาอาการพิษได้⁴⁷ นอกจากนี้ GC-MS ยังใช้ในการระบุและตรวจวัดยาหรือสารพิษในการวิเคราะห์กลุ่มอาการพิษ และในงานสืบสวนทางนิติเวช ยาที่มีมีการตรวจวิเคราะห์ด้วย GC-MS ได้แก่ ยาเสพติด สารกระตุ้น ยานอนหลับ ยาต้านชัก ยาด้านฮิสตามีน เป็นต้น⁵⁹

ในด้านพิษวิทยาสิ่งแวดล้อมยังพบว่า GC-MS นิยมใช้ในการคัดกรองสารพิษที่หลากหลาย เช่น chlorophenol ในน้ำและดิน, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH), dioxin, และสารกำจัดศัตรูพืชที่มีองค์ประกอบของธาตุ halogen ความจำเพาะที่สูงกว่าของเทคนิค MS เมื่อเทียบกับการทดสอบแบบเอนไซม์สเปกโตรโฟโตเมตริก (enzymatic spectrophotometric method) นั้น ส่งผลให้บางครั้ง GC-MS ถูกใช้ในการระบุและวัดปริมาณสารระเหย (เช่น ethanol และ methanol) ในตัวอย่างชีววัตถุจำพวกเลือดและปัสสาวะ^{59,60}

การประยุกต์ใช้ LC-MS ในการตรวจวิเคราะห์ยาและสารพิษสำหรับงานพิษวิทยา

การตรวจวิเคราะห์สารพิษและตัวยาโดยใช้ LC-MS นั้น มีความเกี่ยวข้องกับข้อจำกัดของ GC-MS ที่มิในการแยกวิเคราะห์ เนื่องจาก GC-MS ในการวิเคราะห์สารที่สามารถระเหยได้และยังมีความคงตัวเมื่อได้รับความร้อน จึงส่งผลให้ LC-MS นั้นมีการนำมาประยุกต์ใช้ในระบบ MS สำหรับการวิเคราะห์สารที่ไม่สามารถระเหยและมีความไวต่อความร้อน สำหรับการตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการพิษวิทยา^{12,18,55} การเชื่อมต่อเทคนิค MS เข้ากับ LC นั้นเป็นไปได้ว่าอยู่ในช่วงเดียวกันกับที่แหล่งกำเนิดไอออนแบบ API-ESI ได้ถูกพัฒนาขึ้น ซึ่งทำให้สารสามารถเกิดการแตกตัวเป็นไอออนได้ แม้ว่าสารนั้นจะอยู่ในเฟสที่มีความเข้มข้น และสามารถฉีดไอออนเข้าสู่การวิเคราะห์ MS ได้โดยตรง ESI แตกต่างจาก EI ที่ใช้ใน GC¹² โดยเป็นการทำให้เกิดเป็นไอออนแบบอ่อน (soft ionization) ซึ่งยังไม่ทำให้เกิดการแตกแฟรกเมนต์ของโมเลกุลตั้งต้น แต่จะเกิดไอออนที่มีประจุจากโมเลกุลที่ยังคงรูปเดิม เนื่องจากการถ่ายโอนโปรตอน ESI ผ่านทางท่อแคปิลลารีที่ทำให้ตัวทำละลายในเฟสเคลื่อนที่ไหลผ่านแรงดันไฟฟ้าก่อนที่จะถูกพ่นออกไปในระบบสุญญากาศของ MS ในรูปแบบของละออง โดยเป็นละอองที่เกิดขึ้นมาจากกระบวนการที่สารละลายได้ถูกขับดันออกมา และแก๊สร้อน

เช่น ไนโตรเจน มีบทบาททั้งในการสร้างละอองและทำให้ละอองนั้นแห้ง จากนั้นไอออนที่รวมอยู่ในเฟสแก๊สจะถูกปล่อยออกมาเพื่อให้ MS ตรวจจับ การทำให้เกิดไอออนนี้จะเกิดไอออนที่มีประจุบวกหรือลบขึ้นได้นั้น จะเป็นไปตามขั้วของศักย์ไฟฟ้า (polarity) ที่ใช้ โดยการเกิดกระบวนการโปรโตเนชัน (protonation) หรือดีโปรโตเนชัน (deprotonation) จะทำให้ได้ไอออน $[M+H]^+$ หรือ $[M-H]^-$ และการเกิด protonation หรือ deprotonation ได้หลายครั้งยังหมายความว่า ESI จะสามารถให้ peak m/z ได้หลาย peak จากสารเดียว ซึ่งผลเฉลี่ยของการคำนวณมวลโมเลกุลจาก m/z และประจุช่วยให้เพิ่มความแม่นยำในการคำนวณมวลโมเลกุลได้^{3,12,20} ข้อจำกัดของ ESI และ LC-MS คือ สเปกตรัมของสารอาจเปลี่ยนแปลงตามเงื่อนไขและสภาพของเครื่องมือ รวมทั้งอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่มีไอออนตัวอย่าง และแรงดันที่ใช้ ทำให้ต้องมีการพัฒนาข้อมูลของสเปกตรัมไลบรารี (spectrum library) เฉพาะภายในแต่ละห้องปฏิบัติการสำหรับการวิเคราะห์สาร อย่างไรก็ตาม³ การที่ LC-MS สามารถช่วยแก้ไขและทดแทนข้อจำกัดสำคัญของ GC-MS ได้นั้น ทำให้ LC-MS มีบทบาทมากขึ้นเป็นอย่างมากสำหรับงาน MS โดยเฉพาะการวิเคราะห์ยาและเมตาบอไลต์ที่ไม่สามารถทำให้ระเหยและไม่คงทนต่อความร้อน โดยเฉพาะงานตรวจวิเคราะห์ทางด้านพิษวิทยาที่จำเป็นต้องตรวจวิเคราะห์สารพิษ ยา และเมตาบอไลต์ของสารตั้งต้นเหล่านี้ ซึ่งมักมีการเปลี่ยนจาก GC-MS มาใช้ LC-MS เนื่องจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของสารพิษและยาในร่างกายนั้นจะมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารตั้งต้น ผ่านกระบวนการเมตาบอลิซึมในช่วงระยะที่ I (phase I metabolism) ที่ทำให้สารมีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยา และกระบวนการเมตาบอลิซึมในช่วงระยะที่ II (phase II metabolism) ที่ทำให้มีการเติมโมเลกุลที่มีความชอบน้ำเข้าไปสู่สารตั้งต้นเพื่อเพิ่มการละลายน้ำ⁶¹ ซึ่งจะเห็นได้ว่ากระบวนการที่เกิดการเปลี่ยนแปลงนี้มักทำให้เกิดเมตาบอไลต์ที่มีโครงสร้างหลากหลายที่ละลายได้ดีและอาจไวต่อความร้อนได้มาก ปัจจัยที่เกี่ยวกับกระบวนการเมตาบอลิซึมเหล่านี้เองที่ทำให้ LC-MS มีความเหมาะสมอย่างยิ่งสำหรับการวิเคราะห์โครงสร้างยาและเมตาบอไลต์โดยใช้ LC-MS, MS/MS หรือ MSⁿ และโดยเฉพาะสารที่ไม่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ด้วย GC-MS เพื่อการระบุ วิเคราะห์โครงสร้าง รวมไปถึงการติดตามพารามิเตอร์ทางด้านเภสัชจลนศาสตร์และเภสัชพลศาสตร์^{2,62,63} นอกจากนี้จะเห็นได้ว่าการตรวจวิเคราะห์ยาหรือสารพิษควบคู่ไปกับการตรวจติดตามเมตาบอไลต์นั้นยังสามารถช่วยเพิ่มขีดความสามารถในการระบุชนิดของยาหรือสารพิษได้อย่างแม่นยำได้มากขึ้นผ่านการใช้อย่างเลือดและปัสสาวะ เนื่องจากการตรวจวิเคราะห์เมตาบอไลต์บางชนิดสามารถตรวจพบในปัสสาวะได้มากกว่าในเลือดอันเนื่องมาจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของร่างกาย⁶⁴⁻⁶⁷

งานตรวจวิเคราะห์ด้านพิษวิทยาสำหรับการวิเคราะห์สารต่าง ๆ ในเชิงความเป็นพิษ ได้มีการนำ LC-MS มาใช้อย่างแพร่หลาย เช่น การตรวจวิเคราะห์ยาในกลุ่มมอร์ฟีน ยาต้านมะเร็ง ยากันชัก ยานอนหลับ และแอลกอฮอล์ เช่น ในการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ (ethanol) และยานอนหลับในบุคคลที่ได้รับสารเหล่านี้และมีผลเป็นคดีทางกฎหมาย ซึ่งโดยทั่วไปนั้น แอลกอฮอล์ที่รับประทานเข้าไปจะผ่านกระบวนการเมตาบอลิซึมในตับประมาณ 95-98% โดยเอนไซม์ Alcohol dehydrogenase ส่วนแอลกอฮอล์ที่เหลือประมาณ 2-5% จะถูกขับออกจากร่างกายทางปัสสาวะ เหงื่อ และลมหายใจออก นอกจากนี้ แอลกอฮอล์ปริมาณน้อยมาก (ต่ำกว่า 0.1%) สามารถเกิดปฏิกิริยา conjugation ในระยะที่ II (phase II conjugation) ผ่านเอนไซม์ UDP-glucuronyltransferase ได้เป็นเอทิลกลูคูโรไนด์ (ethyl glucuronide, EtG)

หลักการของแมสสเปกโตรเมตรีและการประยุกต์ใช้ในงานด้านพิษวิทยา

ซึ่งละลายน้ำได้ดีและถูกขับออกทางปัสสาวะ EtG จึงเป็นเมตาบอไลต์ของแอลกอฮอล์ที่ตรวจพบได้ในปัสสาวะ ซึ่งเดิม มักมีการวิเคราะห์ EtG ในปัสสาวะด้วยการใช้ GC-MS แต่ปัจจุบันนิยมใช้ LC-MS เนื่องจากมีความจำเพาะและความไว สูงกว่า GC-MS อีกประการหนึ่งคือค่าครึ่งชีวิตของ EtG ในปัสสาวะยาวกว่าค่าครึ่งชีวิตของแอลกอฮอล์ ดังนั้นการตรวจ ระดับ EtG ในปัสสาวะจึงช่วยระบุเวลาการบริโภคแอลกอฮอล์ครั้งสุดท้ายได้อย่างแม่นยำ³⁵ ซึ่งมีประโยชน์อย่างมากใน การตัดสินใจคดี โดยเฉพาะกรณีที่เกี่ยวข้องกับอุบัติเหตุที่เกิดจากการขับขีโดยผู้ที่ดื่มแอลกอฮอล์

การประยุกต์ใช้ ICP-MS ในการตรวจวิเคราะห์โลหะหนักสำหรับงานพิษวิทยา

การประยุกต์ใช้ ICP-MS สำหรับการวิเคราะห์โลหะหนักที่เป็นพิษนั้นได้มีการนำมาใช้ตรวจวิเคราะห์โลหะทั้ง แบบธาตุเดี่ยวและแบบหลายธาตุในทางพิษวิทยา⁶⁸ โดยแหล่งกำเนิดของส่วนที่เป็น ICP นั้นได้ถูกออกแบบมาเพื่อให้ ตัวอย่างที่จะวิเคราะห์เกิดการระเหยและนำไปสู่การวิเคราะห์ธาตุโลหะในขั้นตอนต่อไป ปกติจะใช้ปั๊มเพอริสแตติก (peristaltic pump) เพื่อฉีดตัวอย่างของเหลวในรูปละอองเข้าสู่อาร์กอนพลาสมาที่มีอุณหภูมิสูงราว 10,000 K แต่ใน บางกรณีสามารถแยกธาตุที่ต้องการจะจำแนกโดยเฉพาะได้ผ่านระบบของ LC ก่อนที่จะใช้พลาสมาช่วยให้ตัวอย่างเกิด การระเหย เกิดการแยกเป็นอะตอม และทำให้เกิดการแตกตัวเป็นไอออนของสารตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ธาตุโลหะ ด้วย MS⁶⁸ ข้อได้เปรียบของ LC-ICP-MS คือความสามารถในการจำแนกธาตุโลหะ ตรวจวัดธาตุได้หลายชนิด ประกอบ กับช่วงของการตรวจวิเคราะห์ที่กว้างซึ่งสามารถตรวจวัดธาตุโลหะที่มีความเข้มข้นต่ำได้อย่างแม่นยำ โดยขีดจำกัด การตรวจวัดของ ICP-MS นั้นอยู่ในระดับต่ำถึง ng/L จึงทำให้เหมาะกับการวัดธาตุโลหะในปริมาณต่ำหรือโลหะหนักที่ เป็นพิษซึ่งสามารถเกิดพิษต่อร่างกายได้แม้จะมีในร่างกายเพียงปริมาณน้อย^{4,68}

ข้อจำกัดสำคัญในการใช้ ICP-MS สำหรับวิเคราะห์โลหะคือการถูกรบกวนจากไอออนผสม ซึ่งเกิดจากการรวมกัน ของไอออนจากเมทริกซ์ตัวอย่างที่กลายเป็นโมเลกุลที่มี m/z เท่ากันกับธาตุโลหะที่มักอยู่ในรายการตรวจวิเคราะห์โดย ใช้ ICP-MS เช่น อาร์กอนพลาสมาซึ่งมีน้ำหนักอะตอม 40 Da ซึ่งอาจรวมกับคลอไรด์ไอออนน้ำหนัก 35 Da หรือธาตุ คาร์บอนน้ำหนัก 12 Da ที่มักมีอยู่ในเมทริกซ์ของตัวอย่างทางชีวภาพที่ตรวจวิเคราะห์ ซึ่งการรวมกันของไอออน ดังกล่าวจะทำให้ทำให้เกิดไอออน ได้แก่ $ArCl^+$ ซึ่งมีค่า m/z 75 ที่เท่ากับสารหนู และ ArC^+ ซึ่งมีค่า m/z 52 ที่เท่ากับ โครเมียม เพื่อปัญหาที่เกิดขึ้นนี้⁶⁸ เครื่องมือ ICP-MS ในปัจจุบันมีการพัฒนาส่วนของเครื่องมือหลายอย่างเพิ่มเติมเพื่อ เพิ่มความจำเพาะ โดยเฉพาะการใช้ส่วนที่เป็นเซลล์ของการเพิ่มการชนและการเกิดปฏิกิริยา (collision/reaction cells) เช่น เซลล์ปฏิกิริยาแบบไดนามิก (dynamic reaction cells, DRC)⁶⁹ ซึ่งจะใช้แก๊สทำปฏิกิริยาในเครื่อง quadrupole ICP-MS เพื่อแก้ไขการรบกวนจากอาร์กอนพลาสมาผ่านการทำปฏิกิริยากับไอออนเป้าหมาย และไอออนของ สารประกอบรบกวนที่มี m/z ใกล้เคียงกันให้แยกออกจากกัน นอกจากนี้ยังสามารถใช้เซลล์เพิ่มการชนเพื่อให้แก๊สเฉื่อย ช่วยแยกไอออนผสมออกจากไอออนเป้าหมายผ่านกระบวนการแยกด้วยพลังงานจลน์ (kinetic energy discrimination, KED) และกระบวนการแยกไอออนด้วยการชนเหนี่ยวนำใน ICP-MS/MS แบบ triple quadrupole ที่สามารถแยก

ไอออนผสมก่อนการตรวจจับด้วย MS^{4,68} หรือการใช้เครื่องมือที่มีความละเอียดสูง เช่น double focusing sector ICP-MS ซึ่งให้การวัดที่แม่นยำมากขึ้นจากการกำหนดมวล⁷⁰

โลหะที่มีความเป็นพิษและการได้รับโลหะหนัก

โลหะถือเป็นหนึ่งในสารพิษที่มีประวัติความเป็นมาเก่าแก่ที่สุด โดยมีบันทึกการเกิดภาวะพิษจากการได้รับโลหะหนักมาตั้งแต่สมัยโบราณ¹ อย่างไรก็ตาม โลหะบางชนิดยังเป็นธาตุจำเป็นหรือธาตุปริมาณน้อยที่มีบทบาทสำคัญต่อชีวิต เช่น โคบอลต์ ทองแดง เหล็ก แมกนีเซียม ซีลีเนียม หรือสังกะสี แต่จะกลายเป็นพิษได้หากมีระดับสูงขึ้นหรือเกิดกระบวนการเมตาบอลิซึมที่ผิดปกติ เช่น การสะสมของทองแดงหรือภาวะทองแดงคั่งในร่างกาย (Wilson's disease)⁴ ในขณะที่โลหะบางชนิด เช่น แพลเลียม สารหนู พรอท และตะกั่ว ไม่มีหน้าที่ทางชีวภาพและมีความเป็นพิษสูง การเกิดพิษจากโลหะนั้นเกิดจากปฏิกิริยารีดอกซ์ (redox reaction) กับเป้าหมายในร่างกาย ซึ่งอาจเปลี่ยนสถานะออกซิเดชันของโลหะและทำให้เกิดสารประกอบจำพวกออร์แกโนเมทัลลิก (organometallic compound) นอกจากนั้น โลหะแต่ละชนิดมีกลไกการเกิดพิษต่างกัน⁴ เช่น chromium VI (Cr^{VI}) มีความเป็นพิษสูง ในขณะที่ chromium III (Cr^{III}) นั้นมีพิษน้อยกว่าและมีบทบาทในกระบวนการเมตาบอลิซึมของร่างกาย^{4,71} พรอทในรูป metallic mercury (Hg^0) มีความเป็นพิษน้อยกว่าสารประกอบที่เป็นพรอทเมทิล (methylmercury, MeHg) และสารหนูในอาหารทะเลอยู่ในรูปแบบที่มีความเป็นพิษต่ำมาก ได้แก่ arsenocholine และ arsenobetaine ซึ่งแตกต่างจากสารหนูรูปแบบ metallic arsenic ที่มีความเป็นพิษอย่างมาก^{4,71,72} ดังนั้น การจำแนกประเภทของโลหะและสารประกอบนั้นจึงเป็นสิ่งสำคัญในการประเมินการได้รับโลหะที่เป็นพิษ

การจำแนกรูปแบบของธาตุโลหะสามารถแยกแยะได้จากองค์ประกอบไอโซโทป สถานะออกซิเดชัน หรือโครงสร้างโมเลกุลโดยรวม การจำแนกด้วย LC-ICP-MS ใช้การแยก LC ของรูปแบบโลหะต่าง ๆ แล้วจึงตรวจจับด้วย MS โดยในปัจจุบันมีการพัฒนาวิธีเพื่อจำแนกโลหะเช่น พรอท สารหนู และโครเมียม นอกจากนี้ การแยกไอโซโทปด้วย high resolution-ICP-MS หรือ quadrupole ICP-MS ยังช่วยในการระบุโลหะได้ ตัวอย่างเช่น การตรวจวิเคราะห์อัตราส่วนไอโซโทปของตะกั่ว ได้แก่ ^{206}Pb , ^{207}Pb , และ ^{208}Pb อาจมีประโยชน์ในการยืนยันแหล่งที่มาของการได้รับโลหะในทางพิษวิทยาคลินิกและนิติเวช อัตราส่วนไอโซโทปของทองแดง ^{65}Cu และ ^{63}Cu จากการตรวจวิเคราะห์จุดของปัสสาวะและเซรัมแห้ง อาจใช้จำแนกผู้ป่วยที่มีภาวะทองแดงคั่งในร่างกายทั้งที่ได้รับการรักษาและไม่ได้รับการรักษา^{4,71,72} ด้วยเหตุนี้เอง ICP-MS จึงเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพอย่างมากในการประเมินการได้รับโลหะเข้าไปในร่างกายในทางพิษวิทยาคลินิกและพิษวิทยานิติเวช ทั้งการตรวจคัดกรองและการจำแนกประเภทของโลหะ

การประยุกต์ใช้ ICP-MS สำหรับงานพิษวิทยาคลินิก

การใช้ ICP-MS ในพิษวิทยาคลินิก ICP-MS ถูกนำมาใช้ในกาตรวจคัดกรองโลหะพิษหลายชนิดในเลือด พลาสมา เซรัม และปัสสาวะ การตรวจวิเคราะห์เลือดและปัสสาวะนั้นเป็นประโยชน์ในการประเมินการสัมผัสโลหะทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรังโดยมีค่ามาตรฐานอ้างอิงจากหลายภูมิภาคทั่วโลกเพื่อช่วยในการวิเคราะห์ผล⁷¹ การประยุกต์ใช้ ICP-MS ในทางพิษวิทยาคลินิกนั้นมีการพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์แบบใหม่ขึ้น โดยใช้จุดเลือดหรือปัสสาวะแห้งและการระเหยด้วยเลเซอร์เพื่อตรวจวิเคราะห์โลหะได้หลายชนิดในคราวเดียว วิธีการวิเคราะห์ดังกล่าวนี้ทำให้ ICP-MS สามารถถูกใช้เพื่อตรวจวิเคราะห์โลหะหนักได้หลายสิบธาตุ เช่น ตะกั่ว พรอท สารหนู โคบอลต์ โครเมียม แมงกานีส โมลิบดีนัม นิกเกิล ไทเทเนียม อะลูมิเนียม และเงิน โดยตะกั่วเป็นโลหะหนักที่จำเป็นต้องถูกตรวจวิเคราะห์เสมอ และบ่อยครั้งมักถูกตรวจวิเคราะห์ในกลุ่มตัวอย่างที่เป็นเด็กเนื่องจากมีผลกระทบต่อพัฒนาการทางร่างกายและสมองของเด็กได้อย่างมาก⁷³ การได้รับตะกั่วเข้าไปในร่างกายอาจเกิดจากการปนเปื้อนของท่อน้ำที่มืองค์ประกอบของตะกั่วในอาคารเก่า การใช้สีทาห้องที่มีส่วนผสมของตะกั่ว หรือจากการสะสมในสิ่งแวดล้อมเนื่องจากการใช้น้ำมันเบนซินที่มีสารตะกั่ว⁴ การรับประทานปลาที่มีปริมาณ MeHg สูงซึ่งเกิดจากการสะสมจากสิ่งแวดล้อมอาจนำไปสู่การได้รับพรอทเข้าสู่ร่างกายได้⁷¹ สารหนูอาจตรวจพบได้จากกรณีภาวะพิษที่มีความง่วงใจให้เกิดขึ้นหรือจากน้ำใต้ดินที่ปนเปื้อน^{4,74} นอกจากนี้มีการพบโคบอลต์ โครเมียม แมงกานีส โมลิบดีนัม นิกเกิล และไทเทเนียมในระดับที่มีโอกาสก่อให้เกิดพิษในผู้ที่มีการใช้ข้อต่อเทียมหรือรากฟันเทียม⁷⁵ นอกจากนี้ยังมีประเด็นการตรวจวิเคราะห์ธาตุเงิน ซึ่งเคยถูกใช้เป็นสารฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพ แต่การได้รับธาตุเงินที่มากเกินไปอาจนำไปสู่โรค Argyria พร้อมกับการเกิดอาการทางระบบประสาทและอาการผิดปกติของระบบอวัยวะอื่นได้^{76,77}

การประยุกต์ใช้ ICP-MS ในงานตรวจวิเคราะห์ด้านพิษวิทยานิติเวช

ICP-MS มีการใช้ในการวิเคราะห์ด้านพิษวิทยานิติเวชในด้านการเสียชีวิตจากพิษของโลหะที่อาจพบได้ยากและมักเกิดโดยไม่ได้คาดคิด ดังนั้นการเสียชีวิตที่ไม่สามารถอธิบายได้นั้นอาจมีการตรวจวิเคราะห์โลหะที่เป็นพิษควบคู่กันไปด้วย เช่น สารหนูหรือเทลลูเรียม รวมถึงโลหะหนักที่มีความเป็นพิษสูง เช่น สารหนู ตะกั่ว แคดเมียม และพรอท หรือโลหะอื่นที่เป็นพิษ เช่น อะลูมิเนียม โครเมียม โคบอลต์ เป็นต้น หนึ่งในข้อได้เปรียบของ ICP-MS ในการตรวจวิเคราะห์โลหะทางพิษวิทยานิติเวชคือสามารถใช้ตัวอย่างอื่นนอกเหนือจากเลือดหรือปัสสาวะได้ เนื่องจากสามารถใช้การระเหยตัวอย่างด้วยเลเซอร์ร่วมกับ ICP-MS ได้ ทำให้สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างจำพวกเล็บและเส้นผมในการตรวจพิษวิทยาคลินิกและนิติเวช โดยตัวอย่างเลือดและปัสสาวะนั้นจะเป็นตัวบ่งชี้ถึงการสัมผัสและได้รับโลหะหนักในระยะสั้น ส่วนเล็บหรือเส้นผมสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงการได้รับโลหะหนักและสะสมในระยะยาว ซึ่งความยาวในแต่ละเซนติเมตรของเส้นผม นั้น จะแสดงถึงช่วงเวลาของการได้รับสารหรือการสัมผัสอย่างต่อเนื่องเป็นเวลาหนึ่งเดือน ตัวอย่างเส้นผมจึงสามารถใช้เพื่อตรวจสอบการสัมผัสและได้รับโลหะหนักในระยะเวลานานระยะหนึ่ง ตัวอย่างเส้นผมยังสามารถใช้ร่วมกับผลเลือดและปัสสาวะ เพื่อแยกแยะระหว่างการได้รับโลหะหนักในครั้งเดียวและจากการได้รับอย่างต่อเนื่องเรื้อรังออก

จากกันได้ โดยเปรียบเทียบกับช่วงการเติบโตของเส้นผม ส่วนเส้นผมสามารถใช้เป็นตัวอย่างบ่งชี้ถึงการสะสมของธาตุจากเลือดในระยะเวลา 3 ถึง 5 เดือน การเก็บเส้นผมเพื่อเป็นตัวอย่างยังถือว่าเป็นวิธีที่ไม่รบกวนหรือก่อให้เกิดความลำบากแก่กลุ่มตัวอย่างมากนักเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเก็บตัวอย่างจากเลือด และการที่เส้นผมมีองค์ประกอบของสารที่มีหมู่ disulfide ซึ่งช่วยให้มีความสามารถในการสะสมโลหะในปริมาณสูงกว่า จึงเหมาะที่จะเป็นตัวอย่างในการตรวจวิเคราะห์โลหะจากการรับอย่างเรื้อรังระยะเวลานานเมื่อไม่สามารถเก็บเส้นผมได้ ส่วนการตรวจเนื้อเยื่อเฉพาะส่วนด้วย ICP-MS ก็มีความสำคัญในอย่างน้อย 3 กรณี ได้แก่ ไม่สามารถเก็บเลือดและปัสสาวะได้, เส้นผมหรือเส้นผมมีการปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อม, หรือเมื่อต้องตรวจสอบการสะสมโลหะในอวัยวะเป้าหมาย^{4,68,78}

บทสรุป

เทคนิค MS เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพในการแยกสารเคมีหรือธาตุที่สามารถกลายเป็นไอออนได้โดยพิจารณาจากอัตราส่วน m/z ในเฟสเคลื่อนที่ ด้วยความไว ความแม่นยำ และช่วงการวิเคราะห์ที่กว้าง MS จึงเป็นเครื่องมือที่สำคัญในงานวิเคราะห์สารพิษ และเมตาบอไลต์ในพิษวิทยาคลินิก พิษวิทยานิติเวช และสิ่งแวดล้อม GC-MS มักใช้สำหรับการตรวจคัดกรองสารพิษ ยา และเมตาบอไลต์ที่ยังไม่ทราบชนิดในเบื้องต้นได้ เนื่องจากสามารถระบุสารได้หลากหลายโดยใช้ฐานข้อมูลแมสสเปกตรัมไลบรารีของ EI-MS โดยข้อจำกัดของ GC-MS คือจำเป็นต้องใช้สารที่ระเหยและทนความร้อน ซึ่งบางครั้งต้องมีการดัดแปลงสารที่ไม่ระเหยให้สามารถเข้ากับการใช้งานของ GC ได้ และด้วยข้อจำกัดการวิเคราะห์สารที่ไวต่อความร้อนดังกล่าว จึงมีการนำ LC-MS เข้ามาประยุกต์เพื่อแก้ปัญหานี้โดยใช้ ESI ทำให้สามารถวิเคราะห์สารที่ไม่สามารถระเหยและมีความไวต่อความร้อนในตัวอย่างของเหลวได้ LC-MS จึงเริ่มเข้ามาแทนที่ GC-MS ในการวิเคราะห์สารพิษ ยา และเมตาบอไลต์สำหรับ LC-MS ยังมีข้อจำกัดคือราคาสูงและไม่สามารถใช้แมสสเปกตรัมที่ได้จากฐานข้อมูลแมสสเปกตรัมไลบรารีเพื่อการระบุสารได้ ในปัจจุบันทั้ง GC-MS และ LC-MS มีการใช้ในห้องปฏิบัติการขั้นสูงร่วมกับ MS/MS และ MSⁿ เพื่อเพิ่มความจำเพาะในการวิเคราะห์ยาและเมตาบอไลต์ และในส่วนของ ICP-MS นั้นได้มีการใช้ในการวิเคราะห์โลหะที่เป็นพิษในห้องปฏิบัติการพิษวิทยา โดยเฉพาะโลหะหนักต่าง ๆ ซึ่งมีข้อดีในการวิเคราะห์ธาตุหลายชนิดร่วมกับ MS/MS, high resolution-MS และ DRC เพื่อแยกโมเลกุลเป้าหมายออกจากสารที่อาจรบกวน โดยภาพรวมแล้วเครื่อง MS จัดเป็นเครื่องมือวิเคราะห์ที่มีความหลากหลายและมีศักยภาพในด้านของการใช้ในงานตรวจวิเคราะห์ด้านพิษวิทยาทั้งเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพ

เอกสารอ้างอิง

- (1) Langman, L. J.; Kapur, B. M. Toxicology: Then and Now. *Clin. Biochem.* **2006**, *39* (5), 498–510.
- (2) Lista, A. D.; Sirimatuross, M. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Principles for Toxicology. *Crit. Care Clin.* **2021**, *37* (3), 475–486.
- (3) Smith, M. L.; Vorce, S. P.; Holler, J. M.; Shimomura, E.; Magluilo, J.; Jacobs, A. J.; Huestis, M. A. Modern Instrumental Methods in Forensic Toxicology. *J. Anal. Toxicol.* **2007**, *31* (5), 237–253, 8A-9A.
- (4) Goullé, J.-P.; Sausseureau, E.; Mahieu, L.; Guerbet, M. Current Role of ICP-MS in Clinical Toxicology and Forensic Toxicology: A Metallic Profile. *Bioanalysis* **2014**, *6* (17), 2245–2259.
- (5) Philipsen, S. P. J.; de Wit, H. A. J. M.; Kramers, C. K. [Toxidromes]. *Ned. Tijdschr. Geneesk.* **2023**, *167*.
- (6) Ahuja, V.; Singh, A.; Paul, D.; Dasgupta, D.; Urajová, P.; Ghosh, S.; Singh, R.; Sahoo, G.; Ewe, D.; Saurav, K. Recent Advances in the Detection of Food Toxins Using Mass Spectrometry. *Chem. Res. Toxicol.* **2023**, *36* (12), 1834–1863.
- (7) Thompson, J. P.; Watson, I. D.; Thanacoody, H. K. R.; Morley, S.; Thomas, S. H. L.; Eddleston, M.; Vale, J. A.; Bateman, D. N.; Krishna, C. V. Guidelines for Laboratory Analyses for Poisoned Patients in the United Kingdom. *Ann. Clin. Biochem.* **2014**, *51* (Pt 3), 312–325.
- (8) Pappas, A. A.; Massoll, N. A.; Cannon, D. J. Toxicology: Past, Present, and Future. *Ann. Clin. Lab. Sci.* **1999**, *29* (4), 253–262.
- (9) Qriouet, Z.; Qmichou, Z.; Bouchoutrouch, N.; Mahi, H.; Cherrah, Y.; Sefrioui, H. Analytical Methods Used for the Detection and Quantification of Benzodiazepines. *J. Anal. Methods Chem.* **2019**, *2019*, 2035492.
- (10) Bonnemain, B.; Ricordel, I. A Brief History of Toxicology in France during the Last Two Centuries (1789-1989). *Toxicol. reports* **2022**, *9*, 505–512.
- (11) Hayes, A. N.; Gilbert, S. G. Historical Milestones and Discoveries That Shaped the Toxicology Sciences. *EXS* **2009**, *99*, 1–35.
- (12) Wen, B.; Zhu, M. Applications of Mass Spectrometry in Drug Metabolism: 50 Years of Progress. *Drug Metab. Rev.* **2015**, *47* (1), 71–87.
- (13) Hwang, J.; Han, M.; An, S.; Moon, J. H.; Shim, G.; Chung, H. Screening of New Psychoactive Substances in Human Plasma by Magnetic Solid Phase Extraction and LC-QTOF-MS. *Forensic Sci. Int.* **2022**, *332*, 111176.
- (14) Rygaard, K.; Pan, M.; Nielsen, M. K. K.; Dalsgaard, P. W.; Rasmussen, B. S.; Linnet, K. Overview of Systematic Toxicological Analysis Strategies and Their Coverage of Substances in Forensic Toxicology. *Anal. Sci. Adv.* **2023**, *4* (3–4), 96–103.

- (15) Soria, M. L. The Improvements in Forensic Toxicology and Its Role in the Forensic Process (I). *Spanish J. Leg. Med.* **2023**, *49* (3), 107–117.
- (16) Remane, D.; Wissenbach, D. K.; Peters, F. T. Recent Advances of Liquid Chromatography–(Tandem) Mass Spectrometry in Clinical and Forensic Toxicology — An Update. *Clin. Biochem.* **2016**, *49* (13), 1051–1071.
- (17) Rentsch, K. M. Knowing the Unknown – State of the Art of LCMS in Toxicology. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2016**, *84*, 88–93.
- (18) Grebe, S. K.; Singh, R. J. LC-MS/MS in the Clinical Laboratory - Where to From Here? *Clin. Biochem. Rev.* **2011**, *32* (1), 5–31.
- (19) Seger, C.; Salzmann, L. After Another Decade: LC–MS/MS Became Routine in Clinical Diagnostics. *Clin. Biochem.* **2020**, *82*, 2–11.
- (20) Glish, G. L.; Vachet, R. W. The Basics of Mass Spectrometry in the Twenty-First Century. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2003**, *2* (2), 140–150.
- (21) Zhou, M.; Veenstra, T. D. Mass Spectrometry: *M/z* 1983–2008. *Biotechniques* **2008**, *44* (5), 667–670.
- (22) Nguyen, D. H.; Nguyen, C. H.; Mamitsuka, H. Recent Advances and Prospects of Computational Methods for Metabolite Identification: A Review with Emphasis on Machine Learning Approaches. *Brief. Bioinform.* **2019**, *20* (6), 2028–2043.
- (23) de Almeida, C. M.; dos Santos, N. A.; Lacerda, V.; Ma, X.; Fernández, F. M.; Romão, W. Applications of MALDI Mass Spectrometry in Forensic Science. *Anal. Bioanal. Chem.* **2024**, *416* (24), 5255–5280.
- (24) Arevalo Jr, R.; Ni, Z.; Danell, R. M. Mass Spectrometry and Planetary Exploration: A Brief Review and Future Projection. *J. Mass Spectrom.* **2020**, *55* (1), e4454.
- (25) Zarrouk, E.; El Balkhi, S.; Saint-Marcoux, F. Low-Resolution or High-Resolution Mass Spectrometry for Clinical and Forensic Toxicology: Some Considerations from Two Real Cases. *Column* **2023**, *19*, 10–13.
- (26) Giorgi, G. Mass Spectrometry and High Resolution Mass Spectrometry: An Overview BT - Molecular Technologies for Detection of Chemical and Biological Agents; Banoub, J. H., Caprioli, R. M., Eds.; Springer Netherlands: Dordrecht, 2017; pp 89–101.
- (27) Brenton, A. G.; Godfrey, A. R. Accurate Mass Measurement: Terminology and Treatment of Data. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2010**, *21* (11), 1821–1835.
- (28) Perez de Souza, L.; Alseekh, S.; Scossa, F.; Fernie, A. R. Ultra-High-Performance Liquid Chromatography High-Resolution Mass Spectrometry Variants for Metabolomics Research. *Nat. Methods* **2021**, *18* (7), 733–746.

- (29) Bigler, L. Mass Spectrometry - Recent Applications in Chemistry, Pharmacology and Biology, University of Zurich, 2009. <https://www.zora.uzh.ch/id/eprint/20797/>.
- (30) Vadakedath, S.; Kandi, V.; Godishala, V.; Pinnelli, V. B. K.; Alkafaas, S. S.; Elkafas, S. S. The Principle, Types, and Applications of Mass Spectrometry: A Comprehensive Review. *Biomed. Biotechnol.* **2022**, 7 (1), 6–22.
- (31) Bristow, A. W. T.; Webb, K. S. Intercomparison Study on Accurate Mass Measurement of Small Molecules in Mass Spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2003**, 14 (10), 1086–1098.
- (32) Géhin, C.; Holman, S. W. Advances in High-Resolution Mass Spectrometry Applied to Pharmaceuticals in 2020: A Whole New Age of Information. *Anal. Sci. Adv.* **2021**, 2 (3–4), 142–156.
- (33) Bereman, M. S.; Lyndon, M. M.; Dixon, R. B.; Muddiman, D. C. Mass Measurement Accuracy Comparisons between a Double-Focusing Magnetic Sector and a Time-of-Flight Mass Analyzer. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2008**, 22 (10), 1563–1566.
- (34) Hristova, J.; Svinarov, D. Enhancing Precision Medicine through Clinical Mass Spectrometry Platform. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* **2022**, 36 (1), 107–117.
- (35) Weinmann, W.; Schaefer, P.; Thierauf, A.; Schreiber, A.; Wurst, F. M. Confirmatory Analysis of Ethylglucuronide in Urine by Liquid-Chromatography/Electrospray Ionization/Tandem Mass Spectrometry According to Forensic Guidelines. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2004**, 15 (2), 188–193.
- (36) Li, C.; Chu, S.; Tan, S.; Yin, X.; Jiang, Y.; Dai, X.; Gong, X.; Fang, X.; Tian, D. Towards Higher Sensitivity of Mass Spectrometry: A Perspective From the Mass Analyzers. *Front. Chem.* **2021**, 9, 813359.
- (37) Day, J.; Slawson, M.; Lugo, R. A.; Wilkins, D. Analysis of Fentanyl and Norfentanyl in Human Plasma by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Using Electrospray Ionization. *J. Anal. Toxicol.* **2003**, 27 (7), 513–516.
- (38) Herrin, G. L.; McCurdy, H. H.; Wall, W. H. Investigation of an LC-MS-MS (QTrap) Method for the Rapid Screening and Identification of Drugs in Postmortem Toxicology Whole Blood Samples. *J. Anal. Toxicol.* **2005**, 29 (7), 599–606.
- (39) Allen, D. R.; McWhinney, B. C. Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry: A Paradigm Shift in Toxicology Screening Applications. *Clin. Biochem. Rev.* **2019**, 40 (3), 135–146.
- (40) Cavaliere, C.; Antonelli, M.; Capriotti, A. L.; La Barbera, G.; Montone, C. M.; Piovesana, S.; Laganà, A. A Triple Quadrupole and a Hybrid Quadrupole Orbitrap Mass Spectrometer in Comparison for Polyphenol Quantitation. *J. Agric. Food Chem.* **2019**, 67 (17), 4885–4896.
- (41) Maurer, H. H.; Meyer, M. R. High-Resolution Mass Spectrometry in Toxicology: Current Status and Future Perspectives. *Arch. Toxicol.* **2016**, 90 (9), 2161–2172.

- (42) Hu, Q.; Noll, R. J.; Li, H.; Makarov, A.; Hardman, M.; Graham Cooks, R. The Orbitrap: A New Mass Spectrometer. *J. Mass Spectrom.* **2005**, *40* (4), 430–443.
- (43) Konkel, R.; Milewska, A.; Do, N. D. T.; Barreto Duran, E.; Szczepanski, A.; Plewka, J.; Wiczerzak, E.; Iliakopoulou, S.; Kaloudis, T.; Jochmans, D.; Neyts, J.; Pyrc, K.; Mazur-Marzec, H. Anti-SARS-CoV-2 Activity of Cyanopeptolins Produced by *Nostoc Edaphicum* CCNP1411. *Antiviral Res.* **2023**, *219*, 105731.
- (44) Li, L.; Zhang, T.; Wang, D.; Zhang, Y.; He, X.; Wang, X.; Li, P. Portable Digital Linear Ion Trap Mass Spectrometer Based on Separate-Region Corona Discharge Ionization Source for On-Site Rapid Detection of Illegal Drugs. *Molecules.* 2022.
- (45) Burhenne, J.; Halama, B.; Maurer, M.; Riedel, K.-D.; Hohmann, N.; Mikus, G.; Haefeli, W. E. Quantification of Femtomolar Concentrations of the CYP3A Substrate Midazolam and Its Main Metabolite 1'-Hydroxymidazolam in Human Plasma Using Ultra Performance Liquid Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* **2012**, *402* (7), 2439–2450.
- (46) Becker, J. S.; Jakubowski, N. The Synergy of Elemental and Biomolecular Mass Spectrometry: New Analytical Strategies in Life Sciences. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38* (7), 1969–1983.
- (47) Peters, F. T.; Wissenbach, D. Current State-of-the-Art Approaches for Mass Spectrometry in Clinical Toxicology: An Overview. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* **2023**, *19* (8), 487–500.
- (48) Algren, D. A.; Christian, M. R. Buyer Beware: Pitfalls in Toxicology Laboratory Testing. *Mo. Med.* **2015**, *112* (3), 206–210.
- (49) Moeller, K. E.; Kissack, J. C.; Atayee, R. S.; Lee, K. C. Clinical Interpretation of Urine Drug Tests: What Clinicians Need to Know About Urine Drug Screens. *Mayo Clin. Proc.* **2017**, *92* (5), 774–796.
- (50) Schneider, B.; Kiehne, A.; Meyer, M.; Baessmann, C. Fast and Confident Identification of Drugs and Their Metabolites Using Ion Trap LC-MSⁿ Analysis and a Library Of >4500 Compounds. *Toxicol. Anal. Clin.* **2015**, *27* (2, Supplement), S58.
- (51) Ma, X. Recent Advances in Mass Spectrometry-Based Structural Elucidation Techniques. *Molecules.* 2022.
- (52) Hofmann, A. E.; Chimiak, L.; Dallas, B.; Griep-Raming, J.; Juchelka, D.; Makarov, A.; Schwieters, J.; Eiler, J. M. Using Orbitrap Mass Spectrometry to Assess the Isotopic Compositions of Individual Compounds in Mixtures. *Int. J. Mass Spectrom.* **2020**, *457*, 116410.
- (53) Maurer, H. H. Hyphenated High-Resolution Mass Spectrometry-the “All-in-One” Device in Analytical Toxicology? *Anal. Bioanal. Chem.* **2021**, *413* (9), 2303–2309.

- (54) Steiner, D.; Malachová, A.; Sulyok, M.; Krska, R. Challenges and Future Directions in LC-MS-Based Multiclass Method Development for the Quantification of Food Contaminants. *Anal. Bioanal. Chem.* **2021**, *413* (1), 25–34.
- (55) Lynch, K. L.; Breaud, A. R.; Vandenberghe, H.; Wu, A. H. B.; Clarke, W. Performance Evaluation of Three Liquid Chromatography Mass Spectrometry Methods for Broad Spectrum Drug Screening. *Clin. Chim. Acta.* **2010**, *411* (19–20), 1474–1481.
- (56) Seto, Y.; Tsunoda, N.; Ohta, H.; Shinohara, T. Determination of Blood Cyanide by Headspace Gas Chromatography with Nitrogen-Phosphorus Detection and Using a Megabore Capillary Column. *Anal. Chim. Acta* **1993**, *276* (2), 247–259.
- (57) Segura, J.; Ventura, R.; Jurado, C. Derivatization Procedures for Gas Chromatographic-Mass Spectrometric Determination of Xenobiotics in Biological Samples, with Special Attention to Drugs of Abuse and Doping Agents. *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.* **1998**, *713* (1), 61–90.
- (58) Lin, D. L.; Wang, S. M.; Wu, C. H.; Chen, B. G.; Liu, R. H. Chemical Derivatization for Forensic Drug Analysis by GC- and LC-MS. *Forensic Sci. Rev.* **2016**, *28* (1), 17–35.
- (59) Chauhan, A.; Goyal, M. K.; Chauhan, P. GC-MS Technique and Its Analytical Applications in Science and Technology. *J. Anal. Bioanal. Tech.* **2014**, *5*, 1–5.
- (60) Wu, S.; Xu, S.; Guo, G.; Zeng, W.; Chen, J.; Ruan, Y.; Zhou, L. Simultaneous Determination of Methanol, Ethanol, and Formic Acid in Human Serum by HSGC-MS: Method Development, Validation, and Application. *Microchem. J.* **2024**, *201*, 110621.
- (61) Krishnan, K. Toxicokinetics. In *Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, 9th edition*; Klaassen, C. D., Ed.; McGraw-Hill Education: New York, NY, 2019.
- (62) Castaneto, M. S.; Wohlfarth, A.; Desrosiers, N. A.; Hartman, R. L.; Gorelick, D. A.; Huestis, M. A. Synthetic Cannabinoids Pharmacokinetics and Detection Methods in Biological Matrices. *Drug Metab. Rev.* **2015**, *47* (2), 124–174.
- (63) Meyer, M. R.; Maurer, H. H. Current Status of Hyphenated Mass Spectrometry in Studies of the Metabolism of Drugs of Abuse, Including Doping Agents. *Anal. Bioanal. Chem.* **2012**, *402* (1), 195–208.
- (64) Pope, J. D.; Black, M. J.; Drummer, O. H.; Schneider, H. G. Urine Toxicology Screening by Liquid Chromatography Time-of-Flight Mass Spectrometry in a Quaternary Hospital Setting. *Clin. Biochem.* **2021**, *95*, 66–72.

- (65) Kahl, K. W.; Seither, J. Z.; Reidy, L. J. LC-MS-MS vs ELISA: Validation of a Comprehensive Urine Toxicology Screen by LC-MS-MS and a Comparison of 100 Forensic Specimens. *J. Anal. Toxicol.* **2019**, *43* (9), 734–745.
- (66) Rosano, T. G.; Ohouo, P. Y.; Wood, M. Screening with Quantification for 64 Drugs and Metabolites in Human Urine Using UPLC–MS-MS Analysis and a Threshold Accurate Calibration. *J. Anal. Toxicol.* **2017**, *41* (6), 536–546.
- (67) Chauhan, V.; Sharma, M.; Tiwari, A.; Tiwari, V.; Kumar, M.; Virmani, T.; Kumar, G.; Altwaijry, N.; Alkamaly, O.; Saleh, A.; Alhalimi, A. Development and Validation of Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Method for Simultaneous Determination of Tramadol and Its Phase I and II Metabolites in Human Urine. *Separations*. **2023**.
- (68) Wilschefske, S. C.; Baxter, M. R. Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: Introduction to Analytical Aspects. *Clin. Biochem. Rev.* **2019**, *40* (3), 115–133.
- (69) Tanner, S. D.; Baranov, V. I. A Dynamic Reaction Cell for Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-DRC-MS). II. Reduction of Interferences Produced within the Cell. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1999**, *10* (11), 1083–1094.
- (70) Rodushkin, I.; Axelsson, M. D. Application of Double Focusing Sector Field ICP-MS for Multielemental Characterization of Human Hair and Nails. Part I. Analytical Methodology. *Sci. Total Environ.* **2000**, *250* (1), 83–100.
- (71) Delafiori, J.; Ring, G.; Furey, A. Clinical Applications of HPLC-ICP-MS Element Speciation: A Review. *Talanta* **2016**, *153*, 306–331.
- (72) Marcinkowska, M.; Baratkiewicz, D. Multielemental Speciation Analysis by Advanced Hyphenated Technique - HPLC/ICP-MS: A Review. *Talanta* **2016**, *161*, 177–204.
- (73) Téllez-Rojo, M. M.; Bellinger, D. C.; Arroyo-Quiroz, C.; Lamadrid-Figueroa, H.; Mercado-García, A.; Schnaas-Arrieta, L.; Wright, R. O.; Hernández-Avila, M.; Hu, H. Longitudinal Associations between Blood Lead Concentrations Lower than 10 Microg/DL and Neurobehavioral Development in Environmentally Exposed Children in Mexico City. *Pediatrics* **2006**, *118* (2), e323-30.
- (74) Roychowdhury, T. Groundwater Arsenic Contamination in One of the 107 Arsenic-Affected Blocks in West Bengal, India: Status, Distribution, Health Effects and Factors Responsible for Arsenic Poisoning. *Int. J. Hyg. Environ. Health* **2010**, *213* (6), 414–427.
- (75) Grosogeat, B.; Vaicelyte, A.; Gauthier, R.; Janssen, C.; Le Borgne, M. Toxicological Risks of the Cobalt-Chromium Alloys in Dentistry: A Systematic Review. *Mater. (Basel, Switzerland)* **2022**, *15* (17).

- (76) Jensen, E. J.; Rungby, J.; Hansen, J. C.; Schmidt, E.; Pedersen, B.; Dahl, R. Serum Concentrations and Accumulation of Silver in Skin during Three Months Treatment with an Anti-Smoking Chewing Gum Containing Silver Acetate. *Hum. Toxicol.* **1988**, 7 (6), 535–540.
- (77) Van Garsse, L.; Versieck, J. [General argyria caused by administration of tobacco-withdrawal tablets containing silver acetate]. *Ned. Tijdschr. Geneesk.* **1995**, 139 (51), 2658–2661.
- (78) Tian, X.; Jiang, H.; Hu, L.; Wang, M.; Cui, W.; Shi, J.; Liu, G.; Yin, Y.; Cai, Y.; Jiang, G. Simultaneous Multi-Element and Multi-Isotope Detection in Single-Particle ICP-MS Analysis: Principles and Applications. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2022**, 157, 116746.