

การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารกลุ่มไบโอจีนิกเอมีน  
ในปลาและผลิตภัณฑ์จากปลาด้วยเครื่อง UHPLC-UV

Development and validation of the analytical method of biogenic amines  
in fish and fishery products using UHPLC-UV

เอกปณณดา เย็นอุทก\* ศิริชัย สัจญญะ ปิยะวัฒน์ แปะงพิวะ วรพงศ์ พรหมณา ปุษยา แสงวิรุฬห์

Aekgphoonnada Yenuthok\*, Sirichai Sunya, Piyawat Paengphua, Vorapong Prommana, Pussaya Sangvirun

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

Bureau of Quality and Safety of Food, Department of Medical Sciences

บทคัดย่อ

ฮีสตามีน คาร์ดาเวอรีน พิวเทรสซีนและไทรามินเป็นสารกลุ่มไบโอจีนิกเอมีน พบได้ในสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์ที่ผ่านกระบวนการหมัก หลายประเทศมีข้อกำหนดเพื่อควบคุมอันตรายจากการปนเปื้อนสารฮีสตามีน ดังนั้นจึงได้พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้วิธีวิเคราะห์สารฮีสตามีน คาร์ดาเวอรีน พิวเทรสซีนและไทรามินในปลาและผลิตภัณฑ์ (น้ำปลา) โดยพัฒนาจากวิธีเดิมที่อ้างอิงจาก ISO 19343:2017 ซึ่งตรวจสอบฮีสตามีนเพียงชนิดเดียวด้วย HPLC-UV พัฒนาเป็นการตรวจแบบ multi-compounds และวัดปริมาณด้วย Ultra-HPLC-UV เพื่อลดเวลาการวัดปริมาณจาก 30 นาทีเป็น 10 นาที ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีพบว่า มีความจำเพาะเจาะจงสูง มีช่วงความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์ในปลาระหว่าง 20-500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ยกเว้นสารไทรามิน 20-250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และในน้ำปลา 20-1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ค่าขีดจำกัดของการตรวจวัดและของการวัดเชิงปริมาณเท่ากับ 5 และ 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ความแม่นยำและความเที่ยงที่ความเข้มข้นสามระดับพบ % recovery ในช่วง 80.0-108.6 และค่า HORRAT  $\leq 2$  นอกจากนี้ได้เข้าร่วมการทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการสารฮีสตามีนในปลากระป๋อง (FAPAS PT-27309:2021) ซึ่งผลอยู่ในเกณฑ์ที่น่าพอใจ วิธีที่พัฒนานี้จึงเหมาะสมและน่าเชื่อถือในการวิเคราะห์ปริมาณฮีสตามีน คาร์ดาเวอรีน พิวเทรสซีนและไทรามินในปลาและผลิตภัณฑ์

คำสำคัญ: ไบโอจีนิกเอมีน, ปลา, ผลิตภัณฑ์จากปลา, เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

Abstract

Histamine, cadaverine, putrescine, and tyramine are the most common biogenic amines, found in aquatic animals and their fermented products. Many countries have set regulations to control hazards from histamine contamination. The objectives of this study were to develop and validate an analytical method for the determination of histamine, cadaverine, putrescine, and tyramine in fish and fishery products. The original method ISO 19343: 2017 aimed at determining only histamine by HPLC-UV. Thus, this method was developed to analyse multi-compounds and to quantify using Ultra-HPLC-UV to reduce run time from 30 to 10 minutes. The results of method validation showed high specificity. The linearity range of the method in fish was 20-500 mg/kg (except for tyramine, 20-250 mg/kg), while those in fish source was 20-1,000 mg/kg. The developed method has a limit of detection of 5 mg/kg and a limit of quantitation of 20 mg/kg. Accuracy and precision studies at three concentration levels showed that the recoveries were in the range of 80.0-108.6% and HORRAT  $\leq 2$ . All performance characteristics of the method met the acceptance criteria. In addition, participation in proficiency testing of histamine in canned fish (FAPAS PT-27309:2021) was conducted and obtained satisfactory z-score results. In conclusion, this developed method is suitable and reliable to use as the quantitative procedure for histamine, cadaverine, putrescine, and tyramine in fish and fish products using UHPLC-UV.

**Keywords:** biogenic amines, fish, fish products, UHPLC-UV

**Corresponding author:** aekgphoonnada.y@dmsc.mail.go.th