ว กรมวิทย พ 2548; 47 (2) : 69 - 76

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณ BADGE และ BPA ในปลากระป๋อง โดยวิธีเอชพีแอลซี

สุธาทิพย์ วิทย์ชัยวุฒิวงศ์ และจันทร์ฉาย แจ้งสว่าง

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ การพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ bisphenol A diglycidyl ether (BADGE) และ bisphenol A (BPA) รวมทั้งสารที่เกิดจากการไฮโดรไลซ์ของ BADGE ได้แก่ BADGE.2H_2O และ BADGE.2HCl ในปลากระป๋องสามารถวิเคราะห์ได้อย่างต่อเนื่องพร้อมกัน โดยการสกัดตัวอย่างด้วย n-heptane และ acetonitrile จากนั้นทำให้บริสุทธิ์ด้วย Sep Pak C18 แล้วหาปริมาณโดยเครื่อง high performance liquid chromatograph คอลัมน์ชนิด reverse phase ที่ต่อกับเครื่องตรวจวัดชนิด fluorescence ที่ความยาวคลื่น excitation 275 นาโนเมตร และ emission 305 นาโนเมตร ผลการทดสอบความเหมาะสมของวิธีได้ขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection) คือ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (limit of quantitation) คือ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%recovery) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, %RSD) ที่ความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับ BADGE.2H_2O, BPA, BADGE.2HCl และ BADGE มีค่าเท่ากับ 97.9 ± 5.13, 105.4 ± 4.32, 97.5 ± 6.87 และ 99.2 ± 7.55 ตามลำดับ

บทนำ

BADGE (bisphenol A diglycidyl ether) และ BPA (bisphenol A) เป็นสารตั้งต้นที่ใช้โดยทั่วไปในการผลิต epoxy resin นอกจากนี้ BADGE ยังถูกใช้เป็น stabilizer ใน polyvinyl chloride (PVC) resin สาร resin พวกนี้ใช้ในการเคลือบภายในกระป๋องบรรจุอาหาร[1] ถ้าขบวนการเกิด resin ไม่สมบูรณ์จะเกิดการตกค้างของ BADGE และ BPA ซึ่งสารดังกล่าวสามารถละลายได้ในน้ำมัน ไขมัน และน้ำ BADGE ยังสามารถถูกไฮโดรไลซ์กลายเป็นสาร (hydrolysis products) อีกหลาย ๆ ชนิด เช่น BADGE.2H_2O และ BADGE.2HCl เป็นต้น เมื่อเดือนมกราคมปี 2544 สหภาพยุโรปได้ประกาศสมุดปกขาวด้านความปลอดภัยอาหาร (white paper on food safety) เพื่อเสริมสร้างความเข้มแข็งในการคุ้มครองผู้บริโภค จึงได้มีการปรับปรุงกฎระเบียบต่าง ๆ ซึ่งรวมถึงกฎระเบียบความปลอดภัยของภาชนะบรรจุอาหารด้วย คณะผู้เชี่ยวชาญได้มีการประเมินความปลอดภัยของ BADGE และสารที่เกิดจากการไฮโดรไลซ์ของ BADGE ในที่สุดจึงได้กำหนดปริมาณ BADGE และสารที่เกิดจากการไฮโดรไลซ์ของ BADGE ที่จะละลายออกมาในอาหาร (specific migration limit for BADGE and certain of its derivatives) ที่ระดับ 1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม[2] และระหว่างรอการศึกษาการก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutagenicity) ความเป็นพิษเรื้อรัง (chronic

Accepted for publication, 7 october 2004

toxicity) และการก่อให้เกิดมะเร็ง (carcinogenicity) เพิ่มเติม สหภาพยุโรปจึงขยายเวลาในการให้ใช้และการพบ BADGE ในอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องถึงปี 2547[3] เนื่องจากอันตรายที่อาจเกิดจากสารชนิดนี้ที่ละลายออกมาปนเปื้อนในอาหารกระป๋องซึ่งส่งออกไปสหภาพยุโรปจำนวนมาก ทั้งประเทศไทยยังไม่มีการศึกษาเรื่องนี้อย่างแพร่หลาย ดังนั้นสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร จึงมีวัตถุประสงค์จะตรวจหา BADGE รวมทั้งสารไฮโดรไลซ์และ BPA จากรายงานการศึกษาวิธีวิเคราะห์สารดังกล่าว มีทั้งการใช้เครื่อง High Performance Liquid Chromatograph (HPLC) คอลัมน์ชนิด reverse phase หรือ normal phase ใช้เครื่องตรวจวัดชนิดต่าง ๆ นอกจากนี้ ก็มีการใช้เครื่อง GC/MS หรือ LC/MS เป็นต้น[4] ซึ่งจากการศึกษาวิธีนี้ การสกัดตัวอย่างใช้เวลานานใช้สารเคมีปริมาณมากและได้เปอร์เซ็นต์การกลับคืนไม่แน่นอน จึงได้ศึกษาวิธีของ Food Standard Agency[5] ซึ่งมีวิธีการสกัดไม่ซับซ้อนใช้วัสดุอุปกรณ์ไม่มาก อย่างไรก็ดีต้องมีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ให้เหมาะสมกับห้องปฏิบัติการโดยการเพิ่มขั้นตอนการ clean up สารสกัด ด้วยการนำไปผ่าน Sep Pak C18 ก่อนวัดปริมาณโดยใช้เครื่อง HPLC คอลัมน์ชนิด reverse phase, gradient pump พร้อมเครื่องตรวจวัดชนิด fluorescence[6] เมื่อได้วิธีที่เหมาะสมแล้วต้องทดสอบความถูกต้องของวิธี (method validation) ก่อนนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการ คุณสมบัติที่จะศึกษาคือ ความแม่น ความเที่ยง ความเป็นเส้นตรง และช่วงของการวิเคราะห์ ขีดจำกัดของการตรวจพบ และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณของวิธี วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้จะมีประโยชน์ต่อห้องปฏิบัติการที่เกี่ยวข้อง สามารถนำไปตรวจวิเคราะห์สารปนเปื้อน BADGE และ BPA ในอาหารกระป๋อง เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคภายในประเทศ และเตรียมความพร้อมในการรองรับมาตรการควบคุมสารดังกล่าวในอาหารกระป๋อง ที่ประเทศไทยส่งไปยังสหภาพยุโรป

วัสดุและวิธีการ

ชนิดตัวอย่าง ปลาทูน่ากระป๋อง

เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องโครมาโตกราฟชนิดของเหลวประสิทธิภาพสูง (HPLC) ของ Shimadzu ประกอบด้วย 2 ปั๊ม รุ่น LC-10AD, เครื่องฉีดสารอัตโนมัติ รุ่น SIL-10A เครื่องตรวจวัดปริมาณสารชนิด fluorescence รุ่น RF-10A และตู้อบคอลัมน์ รุ่น CTO-10A เครื่องชั่งความละเอียด 3 และ 4 ตำแหน่ง เครื่องผสมสาร (Homogenizer) เครื่องบดปั่น (Blender) ชุดกรอง ตัวอย่างโดยสุญญากาศ กระดาษกรองชนิด GF/C Sep Pak C18, 3 cc. Vac.

สภาวะของเครื่อง HPLC: column: YMC-Pack ODS-AM 5 μm ขนาด 150 × 6.0 mm, mobile phase: acetonitrile และ น้ำ (HPLC), gradient condition : ตั้งเวลา 5 นาที linear gradient จากอัตราส่วน acetonitrile:น้ำ 50:50 ถึง 60:40, isocratic elution 5 นาทีที่อัตราส่วน 60:40, 5 นาที linear gradient จาก 60:40 ถึง 100:0, isocratic elution 5 นาทีที่อัตราส่วน 100:0, 3 นาที linear gradient ถึง 50:50, isocratic elution 4 นาทีที่อัตราส่วน 50:50, flow rate: 1.0 ml/min, detection: $\lambda_{Excitation}$ 275 nm, $\lambda_{Emission}$ 305 nm, temperature: 30°C, injection volume: 50 μl

สารมาตรฐานและสารเคมี

สารมาตรฐาน : BADGE (97%), BADGE.$2H_2O$ (97%), BPA (97%) และ BADGE.2HCl (99%) ของ Fluka,

สารเคมี : acetonitrile AR (ใช้สกัดตัวอย่าง), acetonitrile HPLC (ใช้เตรียมสารมาตรฐานและเป็น mobile phase), n-heptane AR, sodium sulfate AR

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน BADGE, BADGE.2H_2O, BPA และ BADGE.2HCl ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร : ชั่ง BADGE, BADGE.2H_2O, BPA ชนิดละ 0.0103 กรัม และ BADGE.2HCl 0.0101 กรัม แยกใส่ในขวดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร 4 ขวด ปรับปริมาตรด้วย acetonitrile

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน BADGE, BADGE.2H_2O, BPA และ BADGE.2HCl ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร : ปิเปตสารละลายความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรแต่ละชนิดปริมาตร 1 มิลลิลิตรใส่รวมในขวดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย acetonitrile

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน BADGE, BADGE.2H_2O, BPA และ BADGE.2HCl ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร : เจือจางสารมาตรฐาน 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรให้ได้ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรปรับปริมาตรด้วย acetonitrile

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน BADGE, BADGE.2H_2O, BPA และ BADGE.2HCl สำหรับสร้างกราฟมาตรฐาน : ปิเปตสารละลายความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 100, 250, 500, 1000, 2000 และ 4000 ไมโครลิตร ใส่ในขวดปริมาตรขนาด 5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตรใน 5 ขวดแรก และ 1 มิลลิลิตรในขวดสุดท้าย ปรับปริมาตรด้วย acetonitrile จะได้สารมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.02, 0.05, 0.10, 0.20, 0.40 และ 0.80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

การเตรียมตัวอย่าง

- เปิดกระป๋องแล้วเทส่วนที่เป็นของเหลวทิ้ง โดยจับเวลา 2 นาที นำส่วนเนื้อมาบดละเอียดโดยเครื่องบดปั่น
- วิธีวิเคราะห์ พัฒนาจากวิธี HPLC[5] มีรายละเอียดดังนี้

ตัวอย่างที่บดแล้วนำมาชั่ง 20 กรัม ใส่ลงในถ้วยผสมสาร (homogenizer cup) เติม n-heptane 20 มิลลิลิตร และ acetonitrile 30 มิลลิลิตร นำไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสาร เป็นเวลา 3 นาที จากนั้น กรองผ่านกระดาษกรอง GF/C โดยปั๊มสุญญากาศ ล้างถ้วยด้วย acetonitrile 10 มิลลิลิตร เติม sodium sulfate 10 กรัมในสารละลายที่ได้ แล้วปิเปตชั้นล่าง 2 มิลลิลิตร นำมาผ่าน Sep Pak C18 (ปรับสภาพด้วยการผ่าน acetonitrile 2 มิลลิลิตร) ตามด้วย acetonitrile : น้ำ (9:1) 2 มิลลิลิตร โดยรองรับสารละลายที่ได้ด้วยขวดปริมาตรขนาด 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย acetonitrile จากนั้นปิเปตสารละลายที่ได้ 0.5 มิลลิลิตรลงในขวด (vial) เติมน้ำ 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันก่อนนำไปตรวจวัดด้วยเครื่อง HPLC

การทดสอบความถูกต้องวิธีวิเคราะห์

การสร้างกราฟมาตรฐาน (calibration curve):

ฉีดสารละลายมาตรฐานแต่ละชนิดของ BADGE และ BPA ความเข้มข้น 0.02, 0.05, 0.10, 0.20, 0.40 และ 0.80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นและพื้นที่ใต้พีก (peak area) ของสารมาตรฐานแต่ละชนิด

การทดสอบความเป็นเส้นตรงและพิสัย (linearity and range):

เติมสารมาตรฐานความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 100, 200 และ 400 ไมโครลิตร ลงในตัวอย่างจะได้ความเข้มข้นคือ 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แล้วทำตามวิธีวิเคราะห์ 3 ซ้ำ จากนั้นนำค่าพื้นที่ใต้พีกมาหาความสัมพันธ์เชิงเส้นกับระดับความเข้มข้นที่เติม

การหาขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection, LOD):

เติมสารมาตรฐานความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 100 ไมโครลิตร ลงในตัวอย่างจะได้ความเข้มข้นคือ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แล้วทำตามวิธีวิเคราะห์ 9 ซ้ำ

การหาขีดจำกัดของการวัดปริมาณ (limit of quantitation, LOQ)

เติมสารมาตรฐานความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 100 ไมโครลิตร ในตัวอย่าง จะได้ความเข้มข้น คือ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แล้วทำตามวิธีวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

การทดสอบความแม่น (accuracy)

เติมสารมาตรฐานความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100, 200 และ 400 ไมโครลิตร ลงในตัวอย่าง จะได้ความเข้มข้นคือ 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แล้วทำตามวิธีวิเคราะห์ 3 ซ้ำ คำนวนหาค่าความเข้มข้นจากกราฟและคำนวนเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%recovery)

การทดสอบความเที่ยง (precision) ทดสอบทั้งความทวนซ้ำได้และความทำซ้ำได้ ดังนี้

ความทวนซ้ำได้ (repeatability)

เติมสารมาตรฐานความเข้มข้น100ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 100, 200 และ 400 ไมโครลิตร ลงในตัวอย่างจะได้ความเข้มข้นคือ 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แล้วทำตามวิธีวิเคราะห์ 3 ซ้ำในวันเดียวกัน นำพื้นที่ใต้พีกอ่านปริมาณของสารจากกราฟมาตรฐาน แล้วคำนวณค่า $\%RSD_R$

ความทำซ้ำได้ (reproducibility)

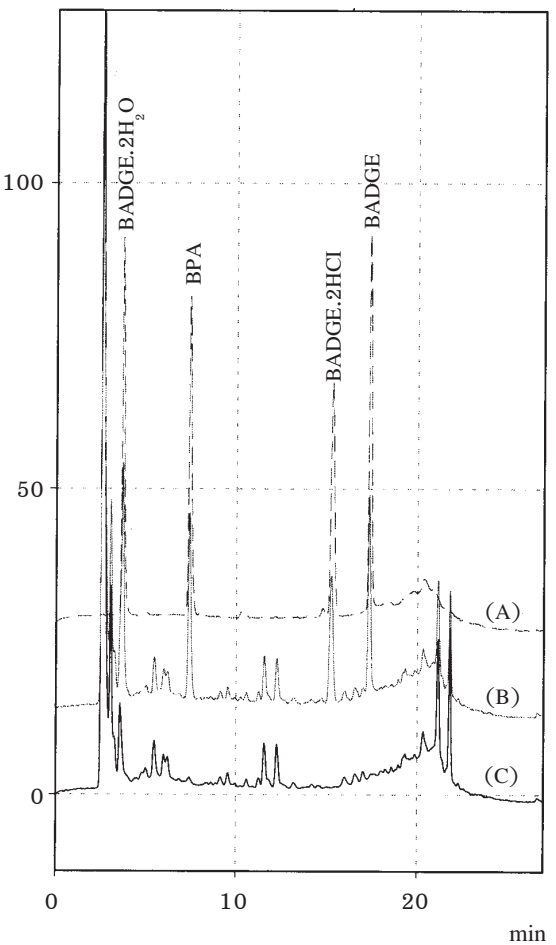
เติมสารมาตรฐานความเข้มข้น100ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 100, 200 และ 400 ไมโครลิตร ลงในตัวอย่างจะได้ความเข้มข้นคือ 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แล้วทำตามวิธีวิเคราะห์ 9 ซ้ำ ต่างวันต่างตัวอย่าง นำพื้นที่ใต้พีกอ่านปริมาณของสารจากกราฟมาตรฐาน คำนวณค่า $\%RSD_R$

เกณฑ์การประเมิน เปอร์เซ็นต์การกลับคืน 81 - 110 และ HORRAT ≤2 [7]

สถิติที่ใช้วิเคราะห์ข้อมูล t-test

ผล

ลักษณะโครมาโตแกรมการแยกของสารมาตรฐานแต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 0.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, โครมาโตแกรมของตัวอย่างที่ไม่ได้เติมสารมาตรฐานและโครมาโตแกรมของตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐานแต่ละชนิดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่า มีค่าการแยก (resolution) ของ BADGE.2H_2O = 2.04, BPA = 3.98, BADGE.2HCl = 24.02 และ BADGE = 2.35 ดังภาพที่ 1

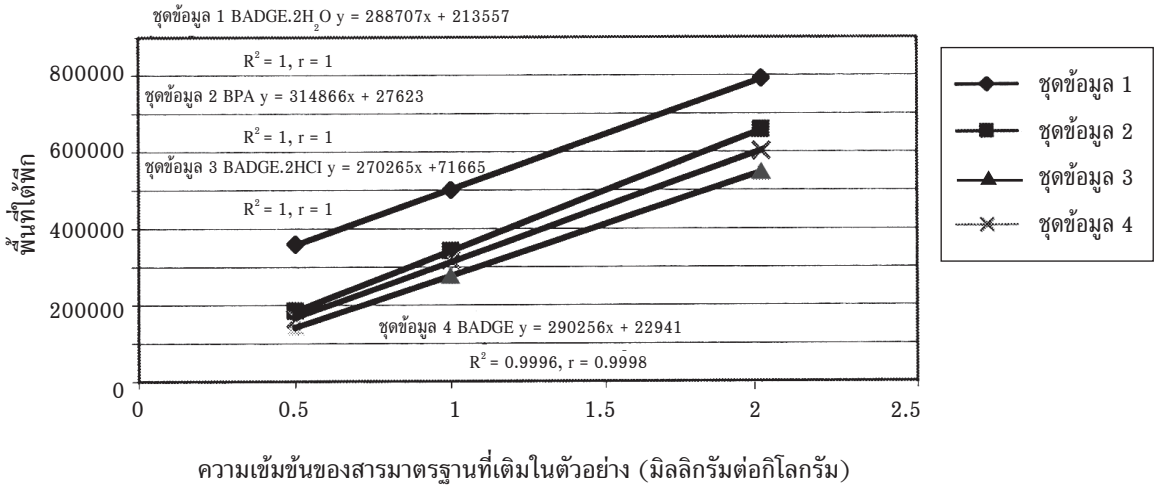


ภาพที่ 1 Chromatogram ของสารมาตรฐานความเข้มข้น 0.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (A), ตัวอย่างที่มีการเติมสารมาตรฐานความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (B), และตัวอย่าง (C)

การทดสอบความเป็นเส้นตรงและพิสัย พบว่า ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมที่ 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรกับพื้นที่ใต้พีก มีความเป็นเส้นตรง โดยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ r_2 (correlation coefficient) ของ BADGE.2H_2O, BPA และ BADGE.2HCl = 1 ส่วน BADGE ค่า = 0.9998 ดังภาพที่ 2

ขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) จากการวิเคราะห์ 9 ซ้ำ คือ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ในการวิเคราะห์วันเดียวกันพบว่า เปอร์เซ็นต์การกลับคืน ± %RSD ที่ความเข้มข้น 0.5 (LOQ), 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ของ BADGE.2H_2O, BPA, BADGE.2HCl และ BADGE แสดงในตารางที่ 1



ภาพที่ 2 การทดสอบความเป็นเส้นตรงและพิสัยการวิเคราะห์ของสารแต่ละชนิด

ตารางที่ 1 แสดง accuracy และ repeatability ของวิธี (วิเคราะห์วันเดียวกัน) n = 3

ความเข้มข้นที่เติม (มก/กก)	BADGE.2H_2O		BPA		BADGE.2HCI		BADGE	
	ค่าเฉลี่ยของ %Recovery	%RSD	ค่าเฉลี่ยของ %Recovery	%RSD	ค่าเฉลี่ยของ %Recovery	%RSD	ค่าเฉลี่ยของ %Recovery	%RSD
0.5	99.1	4.61	104.7	2.83	97.8	1.30	96.1	7.51
1.0	93.6	9.29	102.7	6.27	102.0	5.34	104.0	4.53
2.0	92.4	3.46	102.0	4.53	100.7	1.78	100.8	2.07

ผลรวมจากการวิเคราะห์ต่างวันต่างตัวอย่าง พบว่า เปอร์เซ็นต์การกลับคืน ± %RSD ที่ความเข้มข้น 0.5 (ขีดจำกัดของการวัดปริมาณ), 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ของ BADGE.2H_2O, BPA, BADGE.2HCl และ BADGE แสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดง accuracy และ reproducibility ของวิธี (ผลรวมการวิเคราะห์ต่างกัน) n = 9

ความเข้มข้นที่เติม (มก/กก)	BADGE.2H_2O		BPA		BADGE.2HCI		BADGE	
	ค่าเฉลี่ยของ %Recovery	%RSD	ค่าเฉลี่ยของ %Recovery	%RSD	ค่าเฉลี่ยของ %Recovery	%RSD	ค่าเฉลี่ยของ %Recovery	%RSD
0.5	99.8	3.05	106.2	4.50	95.4	2.99	96.4	7.83
1.0	98.5	7.51	106.5	4.88	101.3	7.81	105.4	4.66
2.0	94.9	3.38	103.7	3.41	98.0	7.08	97.6	6.07

วิจารณ์

จากการศึกษาวิธีสกัดตัวอย่างตามวิธีของ Theobald[4] โดยการสกัดไขมันจากตัวอย่างด้วย diethyl ether ก่อนจะนำไขมันที่ได้สกัดอีกครั้งด้วย acetonitrile แล้วจึงนำไปผ่าน Sep Pak C18 ก่อนจะวัดปริมาณด้วย HPLC พบว่า วิธีนี้ไม่เหมาะสม เนื่องจากเปอร์เซ็นต์การกลับคืนมีค่าไม่แน่นอนอยู่ในช่วง 0 ถึง 112.0 ซึ่งอาจมาจากสารที่ต้องการหายไประหว่างการสกัดด้วย ether และวิธีนี้ยังสิ้นเปลืองเนื่องจากใช้ ether ปริมาณมาก จึงศึกษาวิธีสกัดของ Food Standard Agency[5] ซึ่งเป็นการสกัดตัวอย่างด้วย acetonitrile และ n-heptane จากนั้นกรองสารที่สกัดได้ผ่าน syringe filter แล้ววัดปริมาณด้วย HPLC แต่พบว่ามีพีกรบกวนทำให้ได้ค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืนสูงมากกว่า 200% เพื่อขจัดปัญหาดังกล่าวจึงเพิ่มขั้นตอน clean up โดยนำ acetonitrile ที่สกัดได้มาผ่าน Sep Pak C18 ก่อนจะวัดปริมาณด้วย HPLC พบว่า วิธีที่พัฒนานี้เหมาะสมกับห้องปฏิบัติการ จากนั้นจึงต้องมีการทดสอบความถูกต้องวิธีก่อนนำไปใช้

ผลการทดสอบวิธี พบว่า ลักษณะโครมาโตแกรมมีการแยกของสารแต่ละชนิดที่ชัดเจน ไม่มีสารรบกวนจากตัวอย่างโดยแต่ละพีกมีค่า resolution มากกว่า 1.5 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับโดยทั่วไป พิสัยของความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.5 - 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยที่ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมและพื้นที่ใต้พีกมีความเป็นเส้นตรงค่า r มากกว่า 0.999 ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณที่ได้คือ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งต่ำกว่าข้อกำหนดของสหภาพยุโรป ความแม่นของวิธีในการตรวจวัดสารที่มีระดับต่ำมีค่าเป็นไปตามเกณฑ์การประเมิน ซึ่งประเมินจากสองส่วนคือ เปอร์เซ็นต์การกลับคืนมีค่ามากกว่า 80 โดยที่เกณฑ์การประเมินคือ 81 - 110[7] เมื่อทดสอบทางสถิติโดยใช้ t-test พบว่า ความเข้มข้นที่เติมลงไปในตัวอย่างและความเข้มข้นที่ได้รับไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ p value = 0.05 ส่วนความเที่ยงของวิธีนั้นทั้งความทวนซ้ำได้ซึ่งประเมินจากค่า %RSD จากการวิเคราะห์วันเดียวกัน และความทำซ้ำได้ซึ่งประเมินจากค่า %RSD จากการวิเคราะห์ต่างวันต่างตัวอย่าง โดยผลที่ได้ทั้งสองมีค่า HORRAT น้อยกว่า 2 ซึ่งแสดงว่าวิธีนี้มีความเที่ยงที่ยอมรับได้[7]

สรุป

วิธีวิเคราะห์หาปริมาณ BADGE ในปลากระป๋องที่พัฒนานี้ มีวิธีการสกัดที่ไม่ยุ่งยากซับซ้อน ใช้วัสดุอุปกรณ์ไม่มาก สภาวะของเครื่อง HPLC ที่ได้ปรับปรุงแล้วเหมาะสมกับเครื่องมือและอุปกรณ์ที่มีในห้องปฏิบัติการ ซึ่งสามารถแยก BADGE, BPA, BADGE.2H_2O และ BADGE.2HCl ได้ดี อีกทั้งเครื่อง HPLC เป็นเครื่องมือที่ใช้ในห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่ซึ่งจะสามารถนำวิธีการนี้ไปใช้ได้ นอกจากนี้ผลการทดสอบแสดงถึงประสิทธิภาพของวิธีที่มีความแม่นและเที่ยง เหมาะสมกับการหาสารปริมาณน้อยอย่างสารดังกล่าวด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณปิยนาถ ลีวิวัฒน์ สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ให้การสนับสนุนงานวิจัยนี้จนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Scientific Committee on Food SCF/CS/PM 3243 Final 6/04/99. Opinion on Bisphenol A diglycidyl ether (BADGE) Belgium. (expressed on 24 March 1999)
2. Anonymous. Commission Directive 2001/61/EC of 8 August 2001 on the use of certain epoxy derivatives in materials and articles intended to come into contact with foodstuffs. 2001: L215/26 - L215/29.
3. European Commission Scientific Committee on Food. Final 9 Dec 2002. Statement of the Scientific Committee on Food on Bisphenol A diglycidyl ether (BADGE) SCF/CS/PM/GEN/13510/22112002 Belgium. (expressed on 4 December 2002).
4. Theobald A, Simoneau C. A Comphehensive Overview of the Methodology used for the Analysis of BADGE, BFDGE, their Hydrolysis Products and NOGE in Foodstuff, Can Coatings and Food Simulants. EMB/622/Rev.4, Joint Research Center, Ispra/Italy Food Products and Consumer Goods Unit: 15 September 2000.
5. Food Standards Agency Food Surveillance Information Sheet Number 9/00 November. Available at: http://www.foodstandards.gov.uk/fstinfsheet/2000/9/9badge.htm.
6. Paseiro LP, Paz AS. Quality control of cured epoxy resins Determination of residual free monomers (m-xylyeenediamine and bisphenol A diglycidyl ether) in the finished product. J. Chromatogr 1991; 585: 75-81.
7. Atisook K. SOP for Validation of Chemical Method for Food Analysis (SOP No.20 13 001). Bureau of Quality and Safety of Food Revision no.0 Date issued 16 June 2004.

Method Development for Determination of BADGE and BPA in Canned Fish by HPLC

Suthatip Vitchaivutivong and Chanchai Jaengsawang

Bureau of Quality and Safety of Food, Department of Medical Sciences, Tiwanond Road, Nonthaburi 11000, Thailand.

ABSTRACT A simultaneous determination of bisphenol A diglycidyl ether (BADGE), bisphenol A (BPA) and its hydrolysis products (BADGE.2H_2O and BADGE.2HCl) from canned fish has been developed. Extraction was based on sample homoginizing with n-heptane and acetonitrile. Then, the acetonitrile layer was purified by passing through Sep-Pak C18. The quantification was carried out by reverse-phase high performance liquid chromatograph with fluorescence detector at excitation wavelength 275 nanometer and emission wavelength 305 nanometer. The detection limit was 0.05 mg/kg and the limit of quantification was 0.5 mg/kg. The average of %recovery ± relative standard deviation (%RSD) for spiked concentration of 0.5 - 2.0 mg/kg for BADGE.2H_2O, BPA, BADGE.2HCl and BADGE was 97.9 ± 5.13, 105.4 ± 4.32, 97.5 ± 6.87 and 99.2 ± 7.55 respectively.

Key words: BADGE, BPA, canned fish, HPLC