

การวิเคราะห์ระดับการปนเปื้อนของสารบิสฟีนอล-เอ-ไดโกลซิดิลอีเทอร์
บิสฟีนอล-เอฟ-ไดโกลซิดิลอีเทอร์ และสารอนุพันธ์ที่เกี่ยวข้องจากสารเคลือบกระป๋อง
ในอาหารกระป๋องประเภทน้ำมันที่ผลิตขึ้นในประเทศไทย

นายวรพงษ์ สมบูรณ์ทรัพย์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี

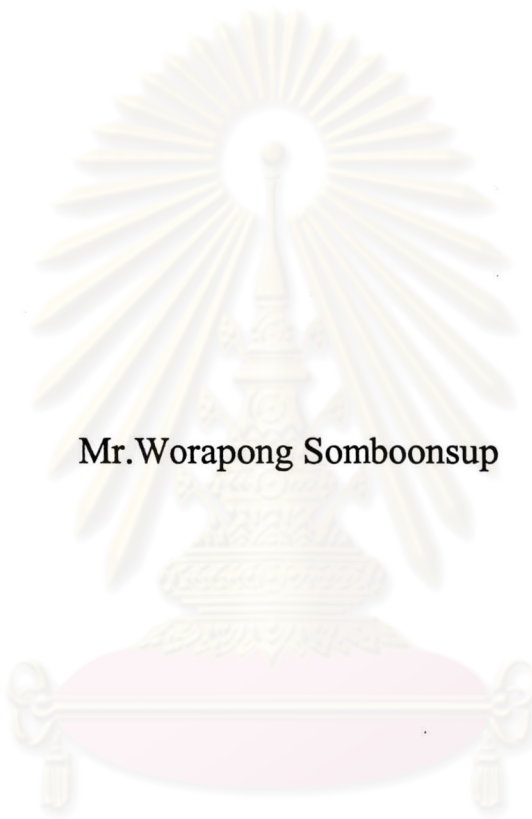
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2546

ISBN 974-17-5158-3

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CONTAMINATION LEVEL DETERMINATION OF
BISPHENOL-A-DIGLYCIDYL ETHER,
BISPHENOL-F-DIGLYCIDYL ETHER AND CERTAIN
DERIVATIVES FROM CAN COATINGS IN OIL-BASED FOODS
MANUFACTURED IN THAILAND



Mr. Worapong Somboonsup

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Chemistry

Department of Chemistry

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2003

ISBN 974-17-5158-3

Thesis Title Contamination Level Determination of Bisphenol-A-Diglycidyl Ether
 Bisphenol-F-Diglycidyl Ether and Certain Derivatives from Can
 Coatings in Oil-Based Foods Manufactured in Thailand.

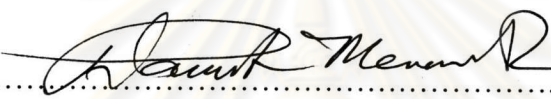
By Mr. Worapong Somboonsup

Field of Study Chemistry


Thesis Advisor Assistant Professor Natchanun Leepipatpiboon

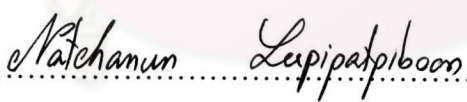
Thesis Co-advisor M.L. Siripastr Jayanta

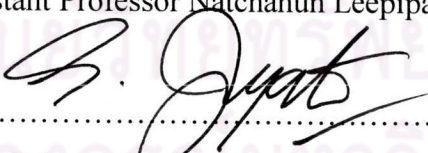
Accepted by the Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial
 Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree



 Dean of Faculty of Science
 (Professor Piamsak Menasveta, Ph.D.)


THESIS COMMITTEE


 Chairman
 (Associate Professor Siri Varothai, Ph.D.)


 Thesis Advisor
 (Assistant Professor Natchanun Leepipatpiboon, Dr. rer. nat)


 Thesis Co-advisor
 (M.L. Siripastr Jayanta, M.Sc.)


 Member
 (Associate Professor Pantipa Jantawat, Ph.D.)


 Member
 (Associate Professor Gullaya Wattayakorn, Ph.D.)

วรพงษ์ สมบูรณ์ทรัพย์: การวิเคราะห์ระดับการปนเปื้อนของสารบิสฟีนอล-เอ-ไดโกลซิดิลอีเทอร์ บิสฟีนอล-เอฟ-ไดโกลซิดิลอีเทอร์ และสารอนุพันธ์ที่เกี่ยวข้องจากสารเคลือบ
 กระจ่างในอาหารกระป๋องประเภทน้ำมันที่ผลิตขึ้นในประเทศไทย (CONTAMINATION
 LEVEL DETERMINATION OF BISPHENOL-A-DIGLYCIDYL ETHER,
 BISPHENOL-F-DIGLYCIDYL ETHER AND CERTAIN DERIVATIVES FROM CAN
 COATINGS IN OIL-BASED FOODS MANUFACTURED IN THAILAND) อาจารย์ที่
 ปรึกษา: ผศ. ดร. ณัฐชนน ลีพัฒนไพบูลย์, อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม: ม.ล. ศิริพัศตร์ ไชยันต์
 140 หน้า ISBN 974-17-5158-3

งานวิจัยนี้ศึกษาและพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารในกลุ่ม บิสฟีนอล-เอ-ไดโกลซิดิลอีเทอร์ บิสฟีนอล-
 เอฟ-ไดโกลซิดิลอีเทอร์และสารอนุพันธ์ที่เกี่ยวข้องในอาหารกระป๋องประเภทน้ำมันโดยเทคนิค
 RP-HPLC สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์คือ คอลัมน์ C18 ODS Hypersil ขนาด 4.0x150 มม.
 อนุภาคของเฟสคงที่ขนาด 5 ไมครอน เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้คือ เมทานอลต่อน้ำในอัตราส่วน 60 ต่อ 40
 ที่อัตราการไหล 0.75 มิลลิลิตรต่อนาที และใช้เครื่องตรวจวัดแบบฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น
 227/313 นาโนเมตร ค่าตัวแปรของการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์เป็นที่น่าพอใจดัง
 นี้ ช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูงกว่า 0.9990 ในช่วงความ
 เข้มข้น 0.035-5.000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร กราฟเทียบมาตรฐานให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ค
 ้นกว่า 0.9990 ในช่วงความเข้มข้น 0.035-1.000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการ
 วิเคราะห์และค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการหาปริมาณมีค่าอยู่ในช่วง 0.012-0.030 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
 และ 0.040 -0.113 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ความเที่ยงและค่าร้อยละของการคืนกลับของ
 วิธีวิเคราะห์และการเตรียมตัวอย่างมีประสิทธิภาพดี โดยเมื่อเติมสารมาตรฐานลงในเนื้ออาหาร
 สะอาดที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 5 เท่าของค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการหาปริมาณ พบว่าค่า
 สัมประสิทธิ์การแปรผันของการวิเคราะห์ซ้ำ 10 ครั้งมีค่าน้อยกว่า 15 และ 7 ตามลำดับ ค่าร้อยละ
 ของการคืนกลับอยู่ระหว่าง 65-85 ในการประเมินความแกร่งของวิธีการวิเคราะห์เมื่อสภาวะในการ
 ทดลองเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ผลวิเคราะห์อาหารกระป๋องประเภทน้ำมันจำนวน 20 ตัวอย่างพบว่าทุกชนิด
 มีการปนเปื้อน โดยร้อยละ 25 ของตัวอย่างปนเปื้อนเกินข้อกำหนดของสหภาพยุโรปที่ยอมให้มีการ
 ปนเปื้อนสูงสุดไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ร้อยละ 70 ของตัวอย่างมีการปนเปื้อนมากกว่า 0.200
 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยระดับการปนเปื้อนสูงสุดและต่ำสุดคือ 4.298 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมและ
 0.079 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมลำดับ

ภาควิชา.....เคมี..... ลายมือชื่อนิสิต.....*วรพงษ์*.....
 สาขาวิชา.....เคมี..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....*ณัฐชนน ลีพัฒนไพบูลย์*.....
 ปีการศึกษา.....2546..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....*ศิริพัศตร์ ไชยันต์*.....

447 22435 23: MAJOR CHEMISTRY

KEY WORDS: BADGE/BFDGE/CANNED FOOD

MR. WORAPONG SOMBOONSUP: CONTAMINATION LEVEL DETERMINATION OF BISPHENOL-A-DIGLYCIDYL ETHER, BISPHENOL-F-DIGLYCIDYL ETHER AND CERTAIN DERIVATIVES FROM CAN COATINGS IN OIL-BASED FOODS MANUFACTURED IN THAILAND. THESIS ADVISOR: NATCHANUN LEEPIPATPIBOON, THESIS CO-ADVISOR : M.L. SIRIPASTR JAYANTA, 140 PP. ISBN 974-17-5158-3

This research described systematic HPLC method development for the separation of BADGE, BFDGE and their monomeric derivatives (BADGE.HCl, BADGE.2HCl and BFDGE.2HCl) in oil-based canned foods. The analysis was carried out using RP-HPLC with fluorescence detector. Optimum chromatographic conditions are: C18 ODS Hypersil (4.0x150 mm, 5 μ m), 60% methanol in water mobile phase flow rate 0.75 mL/min, fluorescence detector λ_{ex} 227/ λ_{em} 313 nm. Satisfactory validation parameters were obtained: linearity of detector response ranged 0.035 – 5.000 μ g/mL ($R^2 > 0.9990$); standard calibrations were constructed from 0.035 – 1.000 μ g/mL ($R^2 > 0.9990$); limits of detection ranged 0.012-0.033 μ g/mL; limits of quantitation ranged 0.041- 0.113 μ g/mL. Method precision and percent recovery were acceptable with coefficient of variance (CV) at LoQ and 5*LoQ spiking levels less than 15 and 7 respectively. Percent recovery was achieved at 64-85%. The method was found to be robusted and no deviation was detected when minor changes in condition were applied. The method was used to test 20 oil-based foods, all were made in Thailand. All samples were contaminated. Twenty-five percent were contaminated above the EU control limit of 1 mg/kg. Seventy percent are contaminated more than 0.200 mg/kg. The maximum contamination was 4.298 mg/kg and the minimum was 0.079 mg/kg.

Department.....Chemistry..... Student's signature..... Worapong

Field of study.....Chemistry..... Advisor's signature..... Natchanun Leepipatpiboon

Academic year.....2003..... Co-advisor's signature..... Jayanta

ACKNOWLEDGEMENTS

I wish to express highest appreciation to my thesis advisors Assist. Prof. Dr. Natchanun Leepipatpiboon and thesis co-advisor M. L. Siripastr Jayanta for their invaluable guidance, kind supervision, profound assistance and encouragement. In addition, I would like to thank Assoc. Prof. Dr. Siri Varothai, Assoc. Prof. Dr. Pantipa Jantawat and Assoc. Prof. Dr. Gullaya Wattayakorn for their valuable suggestions and comments as committee members.

This thesis could not be completed without support and help from many good people. I would like to thank Koni Grob and Maurus Biedermann for their invaluable guidance and suggestions; Thai Epoxy Co. Ltd., for providing low molecular weight epoxy polymer; Pattaya Food Co., Ltd. for providing pre-cooking tuna sample.

Moreover, I would like to thank all members of the Chromatography and Separation Research Group for their valuable criticisms, social support and many advices.

Finally, I would like to express my deepest gratitude to my parents and family for their love, patient, understanding, encouragement and financial support throughout the course of my education.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CONTENTS

	PAGE
ABSTRACT (IN THAI)	iv
ABSTRACT (IN ENGLISH)	v
ACKNOWLEDGEMENTS	vi
CONTENTS	vii
LIST OF TABLES	x
LIST OF FIGURES	xi
CHAPTER I: INTRODUCTION	1
1. Problem definition.....	1
2. Literature review.	14
3. Significant of the problem.....	17
4. Scope of this work.....	17
CHAPTER II: THEORY	19
1. Epoxy resins.....	19
2. Type of epoxy resins.....	20
3. Toxicology.....	24
4. Metals used in can manufacture.....	25
5. Types of cans.....	27
6. Sample preparation.....	29
7. High performance liquid chromatography (HPLC).....	32
CHAPTER III: EXPERIMENTAL	39
1. Apparatus.....	39
2. Chemicals.....	40
2.1. Standard compounds.....	40
2.2. Organic solvents for BADGE synthesis.....	40
2.3. HPLC mobile phase.....	40
2.4. Organic solvents for extraction.....	40
2.5. Reagent.	40
3. Synthesis of BADGE.HCl.....	41
4. Preparation of the standard solutions.....	41

4.1 Preparation of the stock standard solutions 1000 ppm.....	41
4.2 Preparation of working 10 ppm standard solutions.....	41
4.3 Preparation of 10 ppm standard mixture.....	41
5. The study of high performance liquid chromatographic condition.....	41
6. The specificity of all standards.....	42
7. The study of linearity.....	42
8. The study of standard calibration curves.....	42
9. The study of limits of detection (LoD).....	43
10. The study of limits of quantitation (LoQ).....	43
11. The procedure for extraction of spiked standard solution.....	43
11.1. Extraction procedure for fish in oil.....	44
11.2. Extraction procedure for fried food samples	45
12. The study of precision and percent recovery.....	45
13. The study of robustness.....	46
13.1. Change in acetonitrile volume during extracting.....	46
13.2. Change in water bath temperature during evaporation.....	46
14. Real Sample Preparation	47
14.1. Foodstuff.....	47
14.2. Empty can.	47
CHAPTER IV: RESULT AND DISCUSSION.....	49
1. Synthesis of BADGE.HCl.....	49
2. The optimization of HPLC separation.....	51
3. The specificity of the standards.....	54
4. The study of linearity.....	55
5. The construction of standard calibration curves.....	61
6. The determination of limits of detection (LoD).....	67
7. The determination of limits of quantitation (LoQ).....	68
8. The determination of method precision and percent recovery	69
9. The study of method robustness.....	71
10. Analysis of real samples.....	73
CHAPTER V: CONCLUSION.....	85
RECOMMENDATIONS.....	90

REFERENCES.....	91
APPENDICES.....	96
VITA.....	141



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF TABLES

TABLE	PAGE
1.1. Comparison of bisphenol A and bisphenol F.....	8
2.1. Typical properties and handling characteristic of epoxy resin based on the diglycidyl ether of bisphenol A.....	22
2.2. Table shows the summary of steps in the manufacture of two-piece cans....	29
4.1. The optimization HPLC condition parameter.....	51
4.2. Table showed the chromatography parameter for the optimum condition....	52
4.3. Table showed retention time (t_R) of all standards.....	54
4.4. Linear regression results (10 level, $n=2$).....	55
4.5. Linear regression results (9 level, $n=2$).....	61
4.6. Comparison of limit of detection (LoD) value.....	67
4.7. Comparison of limit of quantitaion (LoQ) value.....	68
4.8. Coefficients of variation (CV) and percent recovery data ($n=10$).....	69
4.9. Coefficients of variation and student t-test data, ($n=6$).....	72
4.10. General data of food samples	75
4.11. Beilstein's test results of empty cans and total contamination from empty can (unit mg/dm^2).....	76
4.12. Contamination data of food content and oil phase.....	79
4.13. Contamination level per contact surface area	81
4.14. The contamination in samples from company A.....	82
4.15. The contamination in samples from company B.....	82
4.16. The contamination in samples from company C.....	83
4.17. The contamination in samples from company D and E.....	83
4.18. The contamination in samples from company F and G.....	84
5.1. The table showed the validation parameters of target compounds.....	88
5.2. Summerized contamination data of oil-based canned food from Thai market.....	89

LIST OF FIGURES

FIGURES	PAGE
1-1. Structure of tinplate.....	1
1-2. Synthesis reaction of acrylic polymer.....	2
1-3. The production of phenolic resins.....	3
1-4. The production of epoxy resins.....	3
1-5. The production of vinylchloride-vinylacetate co-polymer	4
1-6. The structures of BADGE monomer and BADGE polymer.....	5
1-7. The scheme of BADGE polymerization.....	6
1-8. The structures of BADGE and BFDGE.....	7
1-9. The structures of bisphenol A (BPA) and bisphenol F (BPF).....	7
1-10. The scheme of bisphenol F synthesis.....	8
1-11. Structures of BADGE and BFDGE chlorohydroxy derivatives.....	11
1-12. Reaction mechanism of chlorohydroxy reaction.....	11
1-13. Structures of BADGE and BFDGE hydrolysis derivatives.....	12
1-14. Reaction scheme of hydrolysis derivatives.....	12
1-15. Structures of some oligomer of BADGE.....	13
1-16. Reaction products of BADGE and BFDGE with solvent (phenol).....	14
1-17. The structures of target compounds.....	18
2-1. The production of epoxy resin (BADGE).....	21
2-2. Bisphenol F production and structure of its isomers.....	23
2-3. Typical reaction for preparation of epoxy novolac resins.....	24
2-4. Structure of a hydrogenated bisphenol A based epoxy resin.....	24
2-5. The structure of 1-chloro-2-propanol compare to BADGE.HCl.....	25
2-6. General SPE tube.....	31
2-7. The diagram of SCF extraction apparatus.....	32
2-8. Application of liquid chromatography.....	33
2-9. Schematic of HPLC instrument.....	34

2-10. Top: Schematic for single-wavelength UV-visible detector, Bottom: Schematic photodiode-array detector.....	36
2-11. Schematic for fluorescence detector.....	38
4-1. The chromatogram of BADGE.HCl that separated on ODS Hypersil C18 column (4.0 x 150 mm, 5 μ m) using a mobile phase of methanol-water (60:40) with fluorescence detection at wavelength ex 227/em 313 nm The peak UV spectrum was obtained showed λ_{max} at 227 nm that are characteristic of BADGE chromophore.....	50
4-2. Mass spectrum of BADGE ($m/z + \text{Na}^+ = 399.1$).....	50
4-3. Chromatogram of 0.1 ppm standard mixture separated on ODS Hypersil C18 column (4.0 x 150 mm, 5 μ m) using a mobile phase of methanol-water (60:40) with fluorescence detection at wavelength ex 227/em 313 nm.....	53
4-4. Chromatogram of matrix standard separated by the optimal condition.....	54
4-5. Linear regression line of peak area vs. concentration of BADGE obtained from HPLC data.....	56
4-6. Linear regression line of peak area vs. concentration of BADGE.HCl obtained from HPLC data.....	57
4-7. Linear regression line of peak area vs. concentration of BADGE.2HCl obtained from HPLC data.	58
4-8. Linear regression line of peak area vs. concentration of BFDGE obtained from HPLC data	59
4-9 Linear regression line of peak area vs. concentration of BFDGE.2HCl obtained from HPLC data	60
4-10. Calibration curve of BADGE obtained from HPLC data.....	62
4-11. Calibration curve of BADGE.HCl obtained from HPLC data	63
4-12. Calibration curve of BADGE.2HCl obtained from HPLC data.....	64
4-13. Calibration curve of BFDGE obtained from HPLC data	65
4-14. Calibration curve of BADGE.HCl obtained from HPLC data	66
4-15. Graphical presentation of percent recovery at LoQ and 5-fold LoQ	70
4-16. Graphical presentation of method precision at LoQ and 5-fold LoQ.....	71
4.17. Green flame of Bieltien's test indicates positive result (organosol polymer presented).....	74

C-1. Chromatogram of BADGE standard by HPLC condition in table 4.1 (a) and UV-visible spectra of BADGE (b).....	108
C-2. Chromatogram of BADGE.HCl standard by HPLC condition in table 4.1 (a) and UV-visible spectra of BADGE.HCl (b).....	109
C-3. Chromatogram of BADGE.2HCl standard by HPLC condition in table 4.1 (a) and UV-visible spectra of BADGE.2HCl (b)	110
C-4. Chromatogram of BFDGE standard by HPLC condition in table 4.1 (a) and UV-visible spectra of BFDGE (b).....	111
C-5. Chromatogram of BFDGE.2HCl standard by HPLC condition in table 4.1 (a) and UV-visible spectra of BFDGE.2HCl (b).....	112
D-1. Chromatograms of canned fried cockles (sample 1) by HPLC condition in Table 4.1. Triplicate analyses of homogenized sample.....	114
D-2. Chromatograms of canned baby clam (sample 2) by HPLC condition in Table 4.1. Triplicate analyses of homogenized sample.....	115
D-3. Chromatograms of canned fried sardines (sample 3) by HPLC condition in Table 4.1. Triplicate analyses of homogenized sample.....	116
D-4. Chromatograms of canned fried baby clam (sample 4) by HPLC condition in Table 4.1. Triplicate analyses of homogenized sample.....	117
D-5. Chromatograms of canned fried catfish (sample 5) by HPLC condition in Table 4.1. Triplicate analyses of homogenized sample	118
D-6. Chromatograms of canned tuna steak (meat sample 6) by HPLC condition in Table 4.1. Triplicate analyses of homogenized sample	119
D-7. Chromatograms of canned tuna steak (oil phase sample 6) by HPLC condition in Table 4.1. Triplicate analyses of homogenized sample.....	120
D-8. Chromatograms of canned tuna in mayonnaise (sample 7) by HPLC condition in Table 4.1. Triplicate analyses of homogenized sample	121
D-9. Chromatograms of canned tuna sandwich (meat sample 8) by HPLC condition in Table 4.1. Triplicate analyses of homogenized sample	122
D-10. Chromatograms of canned tuna sandwich (oil phase sample 8) by HPLC condition in Table 4.1. Triplicate analyses of homogenized sample.....	123
D-11. Chromatograms of canned fried baby clam (sample 9) by HPLC condition in Table 4.1. Triplicate analyses of homogenized sample.....	124

D-12. Chromatograms of canned tuna sandwich (meat sample 10) by HPLC condition in Table 4.1. Triplicate analyses of homogenized sample	125
D-13. Chromatograms of canned tuna sandwich (oil phase sample 10) by HPLC condition in Table 4.1. Triplicate analyses of homogenized sample.....	126
D-14. Chromatograms of canned tuna mayonnaise (sample 11) by HPLC condition in table 4.1. Triplicate analyses of homogenized sample	127
D-15. Chromatograms of canned fried sardines (sample 12) by HPLC condition in table 4.1. Triplicate analyses of homogenized sample	128
D-16. Chromatograms of canned fried baby clam (sample 13) by HPLC condition in table 4.1. Triplicate analyses of homogenized sample	129
D-17. Chromatograms of canned tuna sandwich (meat sample 14) by HPLC condition in table 4.1. Triplicate analyses of homogenized sample	130
D-18. Chromatograms of canned tuna sandwich (oil phase sample 14) by HPLC condition in table 4.1. Triplicate analyses of homogenized sample	131
D-19. Chromatograms of canned tuna steak (meat sample 15) by HPLC condition in table 4.1. Triplicate analyses of homogenized sample	132
D-20. Chromatograms of canned tuna steak (oil phase sample 15) by HPLC condition in table 4.1. Triplicate analyses of homogenized sample	133
D-21. Chromatograms of canned tuna sandwich (meat sample 16) by HPLC condition in table 4.1. Triplicate analyses of homogenized sample	134
D-22. Chromatograms of canned tuna sandwich (oil phase sample 16) by HPLC condition in table 4.1. Triplicate analyses of homogenized sample	135
D-23. Chromatograms of canned tuna steak (meat sample 17) by HPLC condition in table 4.1. Triplicate analyses of homogenized sample	136
D-24. Chromatograms of canned tuna steak (oil phase sample 17) by HPLC condition in table 4.1. Triplicate analyses of homogenized sample	137
D-25. Chromatograms of canned fried white scale fish (sample 18) by HPLC condition in table 4.1. Triplicate analyses of homogenized sample	138
D-26. Chromatograms of canned fried chicken (sample 19) by HPLC condition in table 4.1. Triplicate analyses of homogenized sample	139
D-27. Chromatograms of canned fried pork (sample 20) by HPLC condition in table 4.1. Triplicate analyses of homogenized sample	140