

การเปรียบเทียบชนิดของตัวทำละลายและเทคนิคการสกัดสารเบนโซฟีโนน จากกระดาษที่ใช้เป็นวัสดุสัมผัสอาหาร

Comparison of solvent and techniques for extraction of benzophenone from paper intended to come into contact with foodstuffs



หนึ่งฤทัย แสแสงสีรุ่ง^{1*}
Neungrutai Saesaengseerung^{1*}

บทคัดย่อ

สารเบนโซฟีโนนเป็นสารเริ่มปฏิกิริยาด้วยแสง (photo-initiator) ชนิดหนึ่งที่ใช้ในหมึกพิมพ์สำหรับการพิมพ์บนบรรจุภัณฑ์ โดยทั่วไปแล้วกระดาษที่มีการพิมพ์ด้วยสีสันสดใสจะมีปริมาณเบนโซฟีโนนตกค้างอยู่เป็นจำนวนมากหากกระดาษเหล่านี้ถูกสกัดด้วยตัวทำละลายหรือวิธีการสกัดที่ไม่เหมาะสมอาจส่งผลให้การทดสอบปริมาณเบนโซฟีโนนได้น้อยกว่าความเป็นจริง ดังนั้นเพื่อให้ได้วิธีสกัดที่มีประสิทธิภาพกระดาษกล่องขนมเบี๊ยะเป็นตัวอย่างที่ถูกเลือกให้เป็นตัวอย่างในการทดสอบเนื่องจากมีปริมาณเบนโซฟีโนนตกค้างเป็นปริมาณสูงโดยนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกัน ได้แก่ อะซิโตรไนไตรล์ เอทานอล และตัวทำละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทนในอัตราส่วน 1:1 กับตัวทำละลายดังต่อไปนี้ คือ เฮกเซน ไโซโคลเฮกเซน และอะซิโตรไนไตรล์ ผลจากการศึกษาพบว่ากระดาษที่สกัดด้วยเอทานอล ร้อยละ 95 สามารถสกัดสารเบนโซฟีโนนได้สูงสุดโดยสกัดได้มากกว่าเมื่อสกัดด้วยอะซิโตรไนไตรล์ หรืออะซิโตรไนไตรล์ผสมกับไดคลอโรมีเทนถึง ร้อยละ 7 และมีประสิทธิภาพดีกว่าเมื่อเทียบกับการสกัดด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทนกับไซโคลเฮกเซนหรือเฮกเซนถึงร้อยละ 50 ส่วนผลการเปรียบเทียบปริมาณเบนโซฟีโนนที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 โดยการสกัดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง การสกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสในอ่างควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิคที่อุณหภูมิไม่เกิน 60 องศาเซลเซียส พบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณเบนโซฟีโนนที่สกัดได้ทั้ง 3 วิธี มีค่าเท่ากับ 308 322 และ 320 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 (One Way Anova, $p = 0.397$) แต่เทคนิคการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิคมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานน้อยกว่าอีกสองวิธี ($n = 3$) ผลการศึกษาวิจัยนี้สรุปได้ว่าเทคนิคการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิคและตัวทำละลายเอทานอล ร้อยละ 95 เป็นวิธีการที่เหมาะสมในการสกัดสารเบนโซฟีโนนจากกระดาษที่ใช้เป็นวัสดุสัมผัสอาหาร

Abstract

Benzophenone is used as a photo-initiator in UV cure ink for printing of packaging. Basically, colorful paper packaging may be contaminated with high concentration of benzophenone. If the paper is extracted using inappropriate method, extracted benzophenone might be less than the actual amount. Therefore, to obtain the efficiency of extraction, Chinese cake paper box contaminated with benzophenone in high concentration was selected as test sample. The sample was extracted using various solvent, including acetonitrile, ethanol and mixture of dichloromethane and three kinds of solvents, such as cyclohexane, hexane and acetonitrile in the ratio of 1:1. This study found that the extracted paper sample using 95% ethanol gave the highest yield of benzophenone. The yield from 95% ethanol extraction is around 7% higher than those from acetonitrile and acetonitrile: dichloromethane (1:1) and around 50% yield higher than those from the mixture of dichloromethane and cyclohexane or hexane used. Furthermore, the results of extracted benzophenone by varying extraction techniques: at room temperature for 24 hr, 60°C for 2 hr in water bath and temperature below 60°C ultrasonic bath were 308, 322 and 320 mg/kg, respectively. Although these results are not significantly different at 95% confidences (One Way Anova, $p = 0.397$), ultrasonic extraction gave the least standard deviation ($n=3$). In conclusion, the appropriate technique for benzophenone extraction from food contact paper is ultrasonic extraction using 95% ethanol as extraction solvent.

คำสำคัญ: เบนโซฟีโนน วัสดุสัมผัสอาหาร กระดาษ

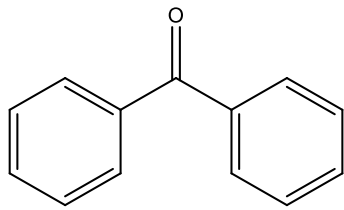
Keywords: Benzophenone, Food contact material, Paper

¹ กรมวิทยาศาสตร์บริการ

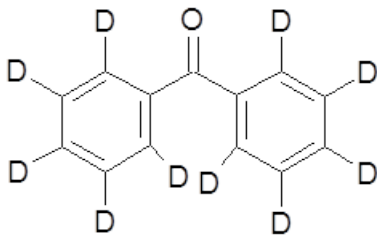
*Corresponding author E-mail address : sneungrutai@dss.go.th

1. บทนำ (Introduction)

เบนโซฟีโนน (benzophenone) (รูปที่ 1) เป็นสารที่จัดอยู่ในประเภทสารเริ่มปฏิกิริยาด้วยแสง (photo-initiator) ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการโพลีเมอไรเซชัน (polymerization process) เพื่อให้หมึกพิมพ์เกิดการแข็งตัวเป็นฟิล์มบนวัสดุที่พิมพ์ โดยทั่วไปเบนโซฟีโนนจะถูกใช้เป็นส่วนผสมของหมึกพิมพ์ยูวี (UV curing ink) [1] เนื่องจากบรรจุภัณฑ์ที่พิมพ์ด้วยหมึกพิมพ์ชนิดนี้จะมีสีสดใส ดังนั้นหมึกพิมพ์ยูวีจึงมักจะถูกนำไปใช้ในการพิมพ์บรรจุภัณฑ์ต่างๆ เพื่อให้เป็นที่สะดุดตาผู้บริโภค อย่างไรก็ตามมีรายงานการศึกษาวิจัยพบว่าบรรจุภัณฑ์กระดาษที่ใช้เป็นวัสดุสัมผัสอาหาร หรือบรรจุภัณฑ์อาหาร มักจะพบเบนโซฟีโนนตกค้างอยู่บนบรรจุภัณฑ์ และเบนโซฟีโนนที่ตกค้างนี้เองสามารถเคลื่อนย้าย (migrate) จากตัวบรรจุภัณฑ์กระดาษผ่านชั้นพลาสติกเข้าสู่อาหารได้แม้ว่าบรรจุภัณฑ์กระดาษนั้นจะไม่ได้สัมผัสกับอาหารโดยตรง [2] เนื่องจากสารเบนโซฟีโนนถูกจัดให้เป็นสารก่อมะเร็ง [3] ดังนั้นหากบรรจุภัณฑ์กระดาษมีสารเบนโซฟีโนนตกค้างอยู่ในปริมาณที่สูงอาจส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนของอาหารและเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้



Benzophenone



Benzophenone-D₁₀

รูปที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของเบนโซฟีโนน (benzophenone) และเบนโซฟีโนน-d10 (benzophenone-D10)

การวิเคราะห์ทดสอบสารเบนโซฟีโนนจะประกอบไปด้วยสองขั้นตอนหลักคือ การสกัด (extraction) และวิเคราะห์สารด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟี (chromatography)[1,4] ในปี 1995 S.M. John และคณะ [5] ได้ศึกษาการเคลื่อนย้ายสารเบนโซฟีโนนจากตัวอย่างกระดาษสู่อาหารที่อุ่นด้วยไมโครเวฟ โดยในการศึกษารังนี้ ได้สกัดตัวอย่างกระดาษด้วยวิธีการเขย่าตัวอย่างกระดาษกับตัวทำละลายคลอโรฟอร์มเป็นเวลาข้ามคืนที่อุณหภูมิห้อง และสกัดเบนโซฟีโนนจากตัวอย่างอาหารด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตนกับเฮกเซนก่อนจะผ่านขั้นตอนการกำจัดสิ่งรบกวน (clean up) แล้วเติมตัวทำละลายผสมระหว่างไซโคลเฮกเซนและไดคลอโรมีเทนอัตราส่วน 1:1 ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีร่วมกับ

แมสสเปกโตรเมตรี (Gas chromatography mass spectrometry, GC-MS) ต่อมาในปี 2010 R. Koivikko และคณะ [6] ได้ใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตนไตรเอทิลที่ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปทดสอบด้วยเทคนิคไฮเปอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโตกราฟี (HPLC) และในปีเดียวกันนี้งานวิจัยของ E. Van Hoeck และคณะ [1] พบว่าตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดเบนโซฟีโนนออกจากซีเรียลอาหารเช้า (Cereal) คือตัวทำละลายผสมระหว่างอะซิโตนไตรเอทิลและไดคลอโรมีเทนในอัตราส่วน 1:1 โดยค่าร้อยละคืนกลับ (%Recovery) ของเบนโซฟีโนนสูงกว่าเมื่อสกัดด้วยอะซิโตนไตรเอทิล หรือเมทานอล ร้อยละ 100 นอกจากงานวิจัยเหล่านี้แล้วยังพบว่ามาตรฐานระดับชาติ เช่น British standard (BS EN 15519:2007) [7] มีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ คือ เอทานอล ร้อยละ 95 เพื่อหาปริมาณสารเคมีที่สามารถเคลื่อนย้ายจากกระดาษที่ใช้สัมผัสอาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ โดยระยะเวลาและสภาวะที่ทดสอบขึ้นอยู่กับลักษณะการสัมผัสอาหารของตัวอย่างกระดาษนั้นๆ

จากข้างต้นจะเห็นได้ว่าเทคนิคการสกัดสารเบนโซฟีโนนจากกระดาษหรืออาหารมักจะเกี่ยวข้องกับการแช่กระดาษไว้ในตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ เช่น คลอโรฟอร์ม เอทานอล เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เมทานอล และอะซิโตนไตรเอทิลโดยใช้เวลาดังตั้ง 12-24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้องหรืออุณหภูมิสูงตั้งแต่ 60-70 องศาเซลเซียส [6-7] ซึ่งข้อเสียของวิธีการดังกล่าว คือ ใช้เวลานานในการสกัด ตัวทำละลายหลายตัวมีความเป็นพิษสูง เช่น คลอโรฟอร์ม ไดคลอโรมีเทน อะซิโตนไตรเอทิลและเมทานอล และแม้จะมีการศึกษาถึงตัวทำละลายและวิธีการที่เหมาะสมในการสกัดเบนโซฟีโนนจากซีเรียลอาหารเช้า [1] แต่ยังไม่มียานใดที่ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวทำละลายและเทคนิคในการสกัดเบนโซฟีโนนจากกระดาษที่ใช้เป็นวัสดุสัมผัสอาหารโดยเฉพาะเมื่อกระดาษนั้นมีการปนเปื้อนของเบนโซฟีโนนในปริมาณที่สูงซึ่งหากใช้ตัวทำละลายหรือเทคนิคในการสกัดที่ไม่มีประสิทธิภาพเพียงพออาจสกัดสารเบนโซฟีโนนออกมาจากตัวอย่างกระดาษได้น้อยกว่าความเป็นจริงได้

ดังนั้นเพื่อศึกษาเปรียบเทียบการสกัดเบนโซฟีโนนจากวัสดุสัมผัสอาหารประเภทกระดาษ จึงได้หาปริมาณเบนโซฟีโนนเบื้องต้นจากกระดาษตัวอย่างทั้งหมด 10 ตัวอย่าง เพื่อเลือกกระดาษที่มีปริมาณเบนโซฟีโนนสูงที่สุดในการศึกษานี้ตัวทำละลาย และสภาวะที่ใช้ในการสกัดเพื่อให้ได้วิธีที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการสกัดกระดาษที่มีการปนเปื้อนของเบนโซฟีโนนในปริมาณสูง

2. วิธีการวิจัย (Experimental)

2.1 ตัวอย่างกระดาษ

กระดาษสัมผัสอาหารจำนวน 10 ตัวอย่าง ซื้อมาจากร้านจำหน่ายอุปกรณ์เบเกอรี่ในย่านตลาดสำเพ็ง เขตสัมพันธวงศ์ กรุงเทพมหานคร แบ่งเป็นกระดาษรองขนมเค้กจำนวน 2 ตัวอย่าง (ตัวอย่างที่ 1-2) ภาชนะกระดาษใส่อาหาร จำนวน 2 ตัวอย่าง (ตัวอย่างที่ 3-4) ถ้วยกระดาษ (ตัวอย่างที่ 5-6) กระดาษสำหรับอบขนม (ตัวอย่างที่ 7-9) และกล่องใส่ขนมเปียะ (ตัวอย่างที่ 10)

2.2 สารเคมี

- สารเบนโซฟีโนนสำหรับการเตรียมกราฟมาตรฐาน ยี่ห้อ Sigma-Aldrich (reagent plus, 99.9%)
- สารเบนโซฟีโนน d-10 (รูปที่ 1) สำหรับใช้เป็น Internal standard ยี่ห้อ AccuStandard (Standard 99.5%)
- ตัวทำละลาย เฮกเซน ไซโคลเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และ อะซิโตรไนโตรลล์ ยี่ห้อ Fisher (AR, 99.9%)
- ตัวทำละลาย เอทานอล ยี่ห้อ Merck (Absolute for analysis, 99.9%)

2.3 การเตรียมตัวอย่าง

2.3.1 การสกัดตัวอย่างกระดาษ (ตัวอย่างที่ 1-10) เพื่อหาชนิดกระดาษที่มีเบนโซฟีโนนสูงสุด

ชั่งตัวอย่างกระดาษที่ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดไม่เกิน 1x1 ซม. จำนวน 0.1-1 กรัม ใส่ลงในขวดสีชาขนาด 40 มิลลิลิตร แล้วเติมตัวทำละลายผสมไดคลอโรมีเทนและเฮกเซน (1:1) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30°C) ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปกรองผ่านหลอดหยดที่ปลายดูดด้วยสำลี ชะตัวอย่างด้วยตัวทำละลายเดิมอีก 2 ครั้ง ครั้งละ 5 มิลลิลิตร นำสารละลายที่กรองได้ทั้งหมดไปเป่าก๊าซไนโตรเจนจนตัวทำละลายระเหยแห้ง จากนั้นเติมตัวทำละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทนและเฮกเซน (1:1) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมเบนโซฟีโนน d-10 ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาตร 100 ไมโครลิตร แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย GC-MS

2.3.2 การเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาประสิทธิภาพของตัวทำละลายต่างกัน 5 ชนิด

ชั่งตัวอย่างกระดาษกล่องขนมเป็ยยะ (ตัวอย่างที่ 10) ขนาดไม่เกิน 1x1 ซม. จำนวน 0.1 กรัม ใส่ลงในขวดสีชาขนาด 40 มิลลิลิตร จำนวน 3 ขวด แต่ละขวดเติมเบนโซฟีโนน d-10 ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และเติมเอทานอลร้อยละ 95 ในน้ำ (v/v) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30°C) ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปกรองผ่านหลอดหยดที่ปลายดูดด้วยสำลี ชะตัวอย่างด้วยตัวทำละลายเดิมอีก 2 ครั้ง ครั้งละ 5 มิลลิลิตร แล้วนำสารละลายที่กรองได้ทั้งหมดไปเป่าก๊าซไนโตรเจนจนตัวทำละลายระเหยแห้งแล้วชะด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทนและเฮกเซน (1:1) ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตร แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย GC-MS

ทำซ้ำแต่เปลี่ยนตัวทำละลายในการสกัดจากเอทานอล ร้อยละ 95 เป็น อะซิโตรไนโตรลล์ ไดคลอโรมีเทนต่อเฮกเซน (1:1) ไดคลอโร

มีเทนต่อไซโคลเฮกเซน (1:1) และไดคลอโรมีเทนต่ออะซิโตรไนโตรลล์ (1:1)

2.3.3 การเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาสถานะที่ใช้ในการสกัดเตรียมตัวอย่างตามข้อ 2.3.2 โดยใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล ร้อยละ 95 จำนวน 3 ชุด ชุดละ 3 ขวด แต่ละชุดนำไปศึกษาในสถานะต่างกัน 3 สถานะ ดังแสดงในตารางที่ 1

2.4 การสร้างกราฟมาตรฐานของละลายเบนโซฟีโนน

เตรียมสารละลายมาตรฐานเบนโซฟีโนน ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แล้วเจือจางเป็น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ในตัวทำละลายผสมไดคลอโรมีเทนต่อไซโคลเฮกเซน (1:1) ปีเปิดสารละลายเบนโซฟีโนนความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตรต่าง ๆ ได้แก่ 50, 100, 500, 1000, 1500, และ 2000 ไมโครลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายเบนโซฟีโนน-d10 ความเข้มข้นและปริมาตรเท่ากับที่เติมตัวอย่างทดสอบ ปรับปริมาตรแล้วจะได้ความเข้มข้น คือ 0.05, 0.10, 0.50, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วย GC-MS แล้วสร้างกราฟมาตรฐานโดยแกน Y คือ อัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคของ m/z 105 (เบนโซฟีโนน) ต่อพีค m/z 110 (เบนโซฟีโนน-d-10) และแกน X คือ ความเข้มข้นของสารเบนโซฟีโนน กราฟเส้นตรงที่ได้ต้องเป็นต้องมีค่า $r \geq 0.995$

2.5 การวิเคราะห์ด้วย GC-MS

การวิเคราะห์สารละลายตัวอย่างและสารมาตรฐานเบนโซฟีโนนที่เตรียมด้วยเทคนิค GC-MS โดยใช้เครื่อง GC-MS รุ่น Trace GC Ultra/ISQ (Thermo Scientific, Sci Spec, China) ประกอบด้วยเครื่อง GC รุ่น Trace 1300 ร่วมกับเครื่องฉีดตัวอย่างอัตโนมัติ รุ่น AI 1310 เครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์ รุ่น ISQ LT และคาพิลารีคอลัมน์เคลือบด้วย 50% diphenyl/50% dimethyl polysiloxane (TG-17Sil MS, Thermo Scientific; 30 m x 0.25 mm x 0.25 mm)

GC-MS ทำงานด้วยโหมดอิเล็กทรอนิกส์โดยเลือกวัดมวลสาร (SIM mode) ที่เวลา 5-6 นาที ของเบนโซฟีโนนที่ m/z 77, 105 และ 182 และเบนโซฟีโนน-d10 ที่ m/z 82, 110 และ 192 ใช้ก๊าซฮีเลียมเป็นก๊าซตัวพาที่อัตราการไหล 1 มิลลิเมตรต่อนาที อุณหภูมิของ injector, mass transfer line และ ion source คือ 280 300 และ 275 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ปริมาตรที่ฉีด คือ 1 ไมโครลิตร อุณหภูมิในการทำงานเริ่มต้นที่ 150 องศาเซลเซียส (2 นาที) แล้วเพิ่มขึ้นที่ 290 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 20 องศาเซลเซียสต่อนาทีและคงไว้เป็นเวลา 15 นาที

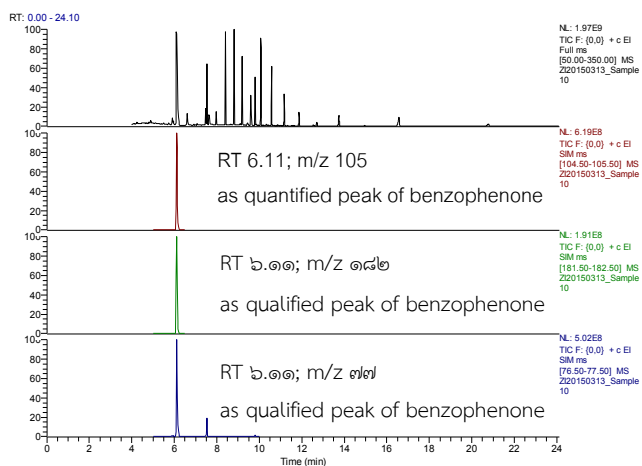
ตารางที่ 1 สถานะในการสกัดที่ใช้ในการศึกษาการสกัดเบนโซฟีโนนจากตัวอย่างกระดาษ

ชุดที่	ปริมาตรตัวทำละลาย (mL)	จำนวนครั้งที่สกัด	สถานะในการสกัด
1	20	1	แช่ขวดสกัดใน water bath ที่ 30°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
2	20	1	แช่ขวดสกัดใน water bath ที่ 60°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
3	10	3	แช่ขวดสกัดใน ultrasonic bath ที่ 60°C เป็นเวลา 0.5 ชั่วโมง

3. ผลและวิจารณ์ (Results and Discussion)

3.1 การหาตัวอย่างกระดาษที่มีปริมาณเบนโซฟีโนนสูงที่สุด

จากการสกัดตัวอย่างกระดาษตัวอย่างที่ 1-10 ด้วยตัวทำละลาย ไดคลอโรมีเทนต่อเฮกเซน (1:1) โดยแช่ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมงนั้น ผลการวิเคราะห์ด้วย GC-MS สามารถยืนยันสารเบนโซฟีโนนโดยพิจารณาจาก m/z 182, 105 และ 77 และนำอัตราส่วนของพื้นที่ใต้พีกที่ได้พีกที่สำคัญสูงสุดของเบนโซฟีโนน คือ m/z 105 ที่ RT 6.11 (รูปที่ 2) ต่อพื้นที่ใต้พีกของเบนโซฟีโนน-d10 ที่ m/z 110 เทียบกับกราฟมาตรฐาน ($Y = 1.0221X$; $r = 0.995$) เพื่อหาปริมาณเบนโซฟีโนนในตัวอย่าง ผลการทดสอบพบว่าเบนโซฟีโนนจากกล่องขนมเปี๊ยะ (ตัวอย่างที่ 10, รูปที่ 3) มีปริมาณเบนโซฟีโนนสูงที่สุด คือ 107 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในขณะที่ตัวอย่างหมายเลข 1 และ 7 ไม่พบเบนโซฟีโนน ($s/n < 3$) ตัวอย่างที่เหลือพบปริมาณเบนโซฟีโนนอยู่ในช่วง 0.17-2.98 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และเมื่อพิจารณาถึงลักษณะตัวอย่างกระดาษทั้งหมดที่ทดสอบพบว่ากล่องขนมเปี๊ยะมีลักษณะเป็นกระดาษแข็งที่มีการพิมพ์ด้วยแดงสดสี ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะของการพิมพ์ที่ใช้หมึกพิมพ์ที่มีเบนโซฟีโนนเป็นองค์ประกอบ [1] ดังนั้นจึงเลือกกล่องขนมเปี๊ยะเป็นตัวอย่างทดสอบในการศึกษาขั้นต่อไป



รูปที่ 2 GC-MS โคโรมาโตรแกรมแสดงพีกเบนโซฟีโนนที่ใช้ในการหาปริมาณ (quantified peak) และ ยืนยันชนิดสาร (qualified peak) จากการสกัดตัวอย่างกระดาษหมายเลข 10 ด้วยตัวทำละลายผสมไดคลอโรมีเทนต่อเฮกเซนอัตราส่วน 1: 1



รูปที่ 3 ลักษณะของตัวอย่างกระดาษหมายเลข 10 ที่ปนเปื้อนด้วยเบนโซฟีโนนปริมาณสูง

3.2 การศึกษาประสิทธิภาพของตัวทำละลายชนิดต่างๆ

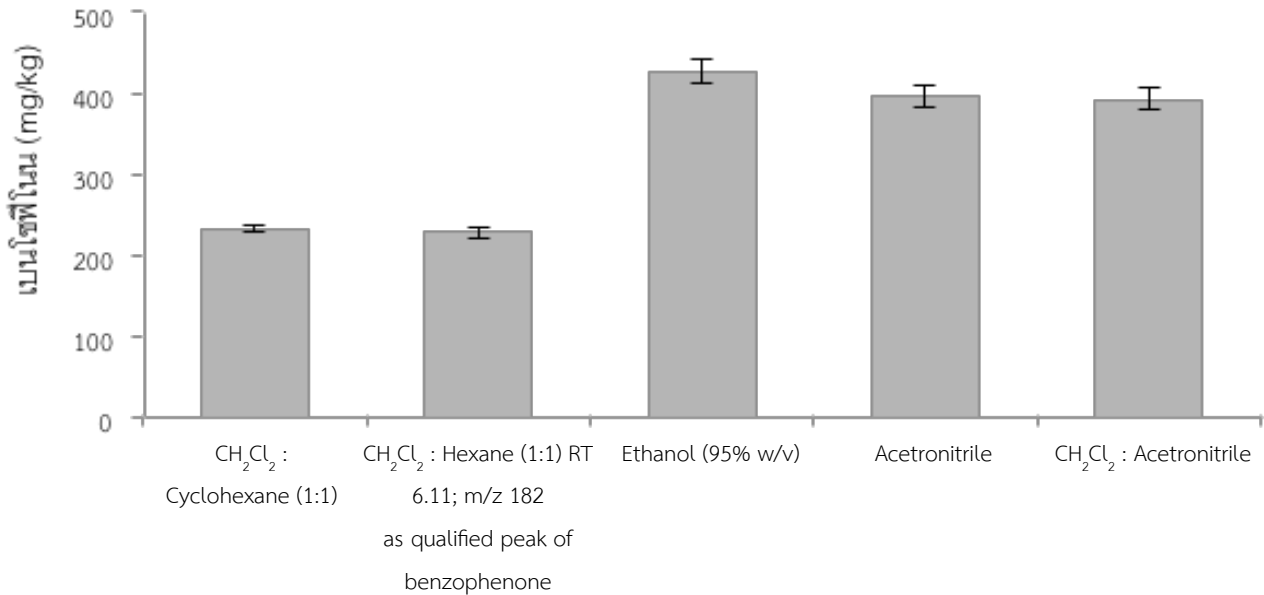
การสกัดเบนโซฟีโนนออกจากกระดาษกล่องขนมเปี๊ยะ (ตัวอย่างที่ 10, รูปที่ 3) ด้วยตัวทำละลายต่างกัน ผลการศึกษาสามารถเรียงลำดับตัวทำละลายที่สกัดได้เบนโซฟีโนนจากปริมาณน้อยไปมาก คือ CH_2Cl_2 : Hexane (1:1) < CH_2Cl_2 : Cyclohexane (1:1) < CH_2Cl_2 : Acetonitrile (1:1) < Acetonitrile < 95% Ethanol (รูปที่ 4) ซึ่งสอดคล้องกับค่าดัชนีความมีขั้วของ (Polarity index, P') [8] ของตัวทำละลายที่ใช้ คือ เมื่อตัวทำละลายที่ผสมกับไดคลอโรมีเทน ($P' = 3.4$) [8] ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 มีค่าดัชนีความมีขั้วสูงกว่าไดคลอโรมีเทน เช่น อะซิโตไนโตรล ($P' = 6.2$) [8] จะสามารถสกัดเบนโซฟีโนนออกจากกระดาษได้มากกว่าเมื่อผสมกับตัวทำละลายที่มีค่าดัชนีความมีขั้วต่ำ เช่น เฮกเซน ($P' = 0.1$) [8] และไซโคลเฮกเซน ($P' = 0.2$) [8] ถึงร้อยละ 58 และ 59 ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณเบนโซฟีโนนที่สกัดได้โดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 ในน้ำ (v/v) และสกัดด้วยอะซิโตรไนโตรล พบว่าเอทานอลร้อยละ 95 สามารถสกัดเบนโซฟีโนนออกจากกระดาษได้มากกว่า (ร้อยละ 7) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 (pair t-test, $p = 0.007$) ในกรณีนี้แม้เอทานอลจะมีดัชนีความมีขั้ว ($P' = 5.2$) [8] น้อยกว่าอะซิโตรไนโตรล ($P' = 6.2$) [8] แต่การเติมน้ำซึ่งมีความมีขั้วสูงมาก ($P' = 9.0$) [8] ลงไปในเอทานอลในอัตราส่วนร้อยละ 5 (v/v) นั้นเป็นการเพิ่มความมีขั้วให้กับตัวทำละลายเอทานอลจนทำให้สามารถสกัดได้ปริมาณเบนโซฟีโนนสูงที่สุดเมื่อเทียบกับตัวทำละลายทั้งหมด อีกทั้งผลการทดลองนี้ยังสอดคล้องกับสมบัติด้านการละลายของเบนโซฟีโนนที่ว่าเบนโซฟีโนนสามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น แอลกอฮอล์ [9]

นอกจากตัวทำละลายเอทานอล ร้อยละ 95 สามารถสกัดสารเบนโซฟีโนนจากกระดาษได้มากที่สุดแล้ว เอทานอลยังเป็นสารเคมีที่มีความเป็นพิษต่ำเมื่อเทียบกับตัวทำละลายอื่นที่ศึกษา [10] ดังนั้นการเลือกใช้อีทานอล ร้อยละ 95 ในการสกัดตัวอย่างกระดาษจึงเป็นทางเลือกที่เหมาะสมและยังสอดคล้องกับมาตรฐาน BS EN 15519: 2007 [7]

3.3 การศึกษาสภาวะที่ใช้ในการสกัด

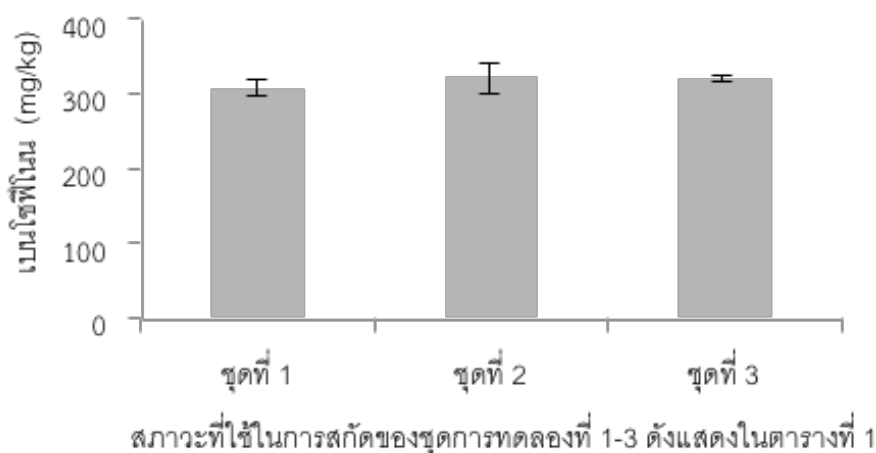
ผลการสกัดเบนโซฟีโนนจากกระดาษ (ตัวอย่างที่ 10, รูปที่ 3) ด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ที่ 30 องศาเซลเซียส (24 ชั่วโมง, ชุดที่ 1 ตารางที่ 1) 60 องศาเซลเซียส (2 ชั่วโมง, ชุดที่ 2 ตารางที่ 1) [7] และการสกัดโดยอัลตราโซนิก (ชุดที่ 3 ตารางที่ 1) คือ 308 ± 11 322 ± 20 และ 320 ± 3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (รูปที่ 5) เมื่อค่าความคลาดเคลื่อน คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง ($n = 3$) และปริมาณเบนโซฟีโนนที่สกัดได้นี้ไม่มีความต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 (One Way Anova, $p = 0.397$) แสดงว่าอิทธิพลวิธีการสกัด เวลา และ อุณหภูมิที่ใช้ไม่ส่งผลต่อการสกัดเบนโซฟีโนน อย่างไรก็ตามหากพิจารณาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง ($n = 3$) ในแต่ละสภาวะพบว่า การสกัดโดยอัลตราโซนิกนั้นให้ค่าความ

เคลื่อนอยู่ที่ ± 3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งน้อยกว่าอีกสองวิธีที่เหลือ (± 11 ถึง ± 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม, รูปที่ 5) อาจเพราะการสันสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิก ส่งผลให้ตัวทำละลายสามารถเข้าถึงสารที่ต้องการสกัดได้อย่างมีประสิทธิภาพขึ้น [11] ในขณะที่การแช่กระดาศในตัวทำละลายที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ โดยไม่เขย่านั้นทำให้โอกาสในการที่ตัวทำละลายเข้าถึงสารที่ต้องการสกัดจะมีประสิทธิภาพน้อยลงจนส่งผลให้ค่าความคลาดเคลื่อนของปริมาณที่สกัดได้สูงกว่า ดังนั้นแม้ปริมาณเบนโซฟีโนนที่สกัดได้จากสามวิธีจะไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่วิธีการสกัดด้วยอัลตราโซนิกจะให้ค่าความคลาดเคลื่อนน้อยกว่า และใช้เวลาในการสกัดน้อยกว่า ดังนั้นจึงเป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดตัวอย่างกระดาศที่มีการปนเปื้อนของเบนโซฟีโนนในปริมาณสูง



ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด

รูปที่ 4 กราฟแท่งแสดงปริมาณเบนโซฟีโนนที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยความคลาดเคลื่อน (error bar) ที่แสดงในกราฟ คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (± 1 SD; standard deviation เมื่อ $n = 3$)



สถานะที่ใช้ในการสกัดของชุดการทดลองที่ 1-3 ดังแสดงในตารางที่ 1

รูปที่ 5 กราฟแท่งแสดงปริมาณเบนโซฟีโนนที่สกัดได้จากตัวอย่างกระดาศหมายเลข 10 ด้วยตัวทำละลายเอทานอล ร้อยละ 95 (ในน้ำ) โดยชุดที่ 1-3 อ้างถึงสถานะที่ใช้ในการสกัดที่แสดงไว้ในตารางที่ 1 และค่าความคลาดเคลื่อน (error bars) ในกราฟ คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (± 1 SD; standard deviation เมื่อ $n = 3$)

4. สรุป (Conclusion)

จากการศึกษาเปรียบเทียบชนิดของตัวทำละลายและเทคนิคการสกัดสารเบนโซฟีโนนจากกระดาษที่ใช้เป็นวัสดุสัมผัสอาหารพบว่าตัวทำละลายและวิธีการสกัดที่เหมาะสมในการสกัดเบนโซฟีโนนที่ปนเปื้อนปริมาณสูงจากกระดาษ คือ การสกัดด้วยเทคนิคอัลตราโซนิกด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส สกัดครั้งละ 30 นาที จำนวน 3 ครั้ง เพราะนอกจากวิธีดังกล่าวจะให้ปริมาณเบนโซฟีโนนที่สกัดได้สูงสุด ด้วยความคลาดเคลื่อนต่ำสุดแล้ว ตัวทำละลายเอทานอลยังมีความเป็นพิษต่ำกว่า อะซิโตรไนโตรลีส เฮกเซน และไดคลอโรมีเทน

5. กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของงานวิจัยเรื่อง “การสำรวจสารอินทรีย์ต้องห้ามในวัสดุสัมผัสอาหารประเภทกระดาษเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค” สนับสนุนทุนวิจัยโดยกรมวิทยาศาสตร์บริการ

6. เอกสารอ้างอิง (References)

- [1] HOECK, E. Van., et al. Analysis of benzophenone and 4-methylbenzo-phenone in breakfast cereals using ultrasonic extraction in combination with gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MSn). *Analytica Chimica Acta*. 2010, 633(1), 55-59.
- [2] PASTORELLI, S., et al. Study of the migration of benzophenone from printed paperboard packages to cakes through different plastic films. *Eur. Food Res. Techno*. 2008, 227(6), 1585-1590.
- [3] NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM (NTP). Toxicity Studies of Benzophenone (CAS No. 119-61-9). Administered in Feed to F344/N rats and B6C3F1 mice. *Toxicol. Rep. Series*. 2000, 1-53, A1-A13. [online]. Available from: http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/ST_rpts/tox061.pdf.
- [4] CASTLE, L., et al. Migration studies from paper and board food packaging materials. Part 2. Survey for residues of dialkylamino benzophenone UV-cure ink photoinitiators. *Food Additives and Contaminants*. 1997, 14, 45-52.
- [5] JOHNS, S.M., L. W., GRAMSHAW., L., CASTLE and S. M., JICKELLS. Studies on Functional Barriers to Migration 1 Transfer of Benzophenone from Printed Paperboard to Microwaves Food. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*. 1995, 91, 69-73.
- [6] KOVIKKO, R., et al. Rapid multi-analyte quantification of benzophenone, 4-methylbenzophenone and related derivatives from paperboard food packaging. *Food Additives and Contaminants*. 2010, 27, 1478-1486.
- [7] BRITISH STANDARD, BS EN 15519: 2007. *Paper and board intended to come into contact with foodstuffs-Preparation of an organic solvent extract*.
- [8] BARWICK, V.J. Strategies for solvent selection - a literature review. *Trends in Analytical Chemistry*. 1997, 16, 293-309.
- [9] NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM (NTP). Toxicity Studies of Benzophenone (CAS No. 119-61-9). Administered in Feed to F344/N rats and B6C3F1 mice. *Toxicol. Rep. Series* [online]. Available from: http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/ST_rpts/tox061.pdf.
- [10] U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Guidance for Industry Q3C — Tables and List1” 2012, revision 2, [online]. Available from: <http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm073395.pdf>.
- [11] MELECCHI, M. I. S., et al. Optimization of the sonication extraction method of *Hibiscus tiliaceus* L. flowers. *Ultranonics Sonochemistry*. 2006, 13, 242-250.