

การประยุกต์ใช้พืชท้องถิ่นเพื่อตรวจวัดฟอร์มาลินปนเปื้อนในอาหาร

วรางคณา เขาคี^{1*} อรณี มะโนยานะ¹ ฐณะวัฒน์ โกมลนิธิพงศ์¹ และ อโนดาช รัชเวทย์¹

¹ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50300 ประเทศไทย

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน อีเมล: warangkha_kha@gcmru.ac.th DOI: 10.14416/JASET.KMUTNB.2025.02.006

รับเมื่อ 10 กันยายน 2567 แก้ไขเมื่อ 13 พฤษภาคม 2568 ตอบรับเมื่อ 15 กรกฎาคม 2568

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประยุกต์ใช้สารสกัดจากพืชในท้องถิ่นเพื่อตรวจวัดฟอร์มาลินตกค้างในอาหาร โดยปฏิกิริยาจะมีตะกอนเกิดขึ้น งานวิจัยนี้ได้ศึกษาพืช 4 ชนิด ที่อยู่ในวงศ์ *Phyllanthaceae* โดยที่ 2 ชนิดมีสารอะดีโนซีนเป็นองค์ประกอบ (มะยม (*Phyllanthus acidus*) และ ผักหวานบ้าน (*Sauropus androgynus*)) และอีก 2 ชนิด ได้แก่ มะเฒ่า (*Antidesma bunius*) และ มะขามป้อม (*Phyllanthus emblica*) พบว่าสารสกัดจากใบผักหวานบ้านเท่านั้นที่เกิดตะกอนกับฟอร์มาลินได้ สารสกัดจากใบผักหวานบ้านถูกทำให้เป็นผงโดยขบวนการทำแห้งแบบแช่แข็ง เมื่อใช้อัตราส่วนของผงสารสกัดใบผักหวานบ้าน 0.5 กรัม ต่อสารละลายฟอร์มาลิน 5 มิลลิลิตร ความเข้มข้นต่ำสุดของฟอร์มาลินที่สามารถตรวจวัดได้คือ 5% w/v งานวิจัยนี้ได้ประยุกต์ใช้จริงกับการตรวจวัดฟอร์มาลินในตัวอย่างอาหารทะเล คือ ปลาหมึกกระดอง และกุ้งขาว การทดสอบความใช้ได้ของวิธีนี้โดยเปรียบเทียบผลการตรวจวัดฟอร์มาลินกับชุดทดสอบที่มีขายในท้องตลาด พบว่าให้ผลการตรวจวัดที่มีความสอดคล้องกัน งานวิจัยนี้ทำให้เห็นการใช้ประโยชน์จากพืชเพื่อพัฒนาการตรวจวัดฟอร์มาลินที่ง่าย และรวดเร็ว อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มคุณค่าให้กับพืชท้องถิ่น

คำสำคัญ: ฟอร์มาลดีไฮด์, ฟอร์มาลิน, ผักหวานบ้าน, สารตกค้าง

The Application of Using Local Plant for Determination of Formalin Contaminated in Food

Warangkhanha Khaodee^{1*}, Orranee Manoyana¹, Thanawat Komonnithiphong¹, and Anodar Ratchawet¹

¹Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Chiangmai Rajabhat University, Chiang Mai, 50300 Thailand

* Corresponding Author, E-mail: warangkhanha_kha@cmru.ac.th DOI: 10.14416/JASET.KMUTNB.2025.02.006

Received 10 September 2024; Revised 13 May 2025; Accepted 15 July 2025

ABSTRACT

This research aimed to apply extracted from local plants to determine formalin residue in food. The precipitation would be appeared from this reaction. Four plants in *Phyllanthaceae* family were studied, 2 plants were consisted of adenosine (*Phyllanthus acidus* and *Sauropus androgynus*) and another 2 were *Antidesma bunius* and *Phyllanthus emblica*. It was found that only the extract from *Sauropus androgynus* was precipitated with formalin. The *Sauropus androgynus* extract was made to be powder by freeze drying process. Using 0.5 gram of extract powder in 5 milliliters of formalin solution showed 5% w/v formalin concentration as the detection limit. This extract powder was then applied to determine formalin in squid and white shrimp. For method validation, the results were compared with those determined by commercial formalin test kit. Formalin detection of this developed method showed the similar results with all commercial products. This research showed the useful of determination of formalin in food by using plant extracted to be simple and rapid test kit. Moreover, this research is also adding value to the local plant.

KEYWORDS: Formaldehyde, Formalin, Local plant, Residue chemical

1. บทนำ

อาหารเป็นปัจจัยสำคัญในการดำรงชีวิตของมนุษย์เป็นอย่างมาก ในการรับประทานอาหารทุกครั้ง นอกจากต้องคำนึงถึงคุณค่าทางโภชนาการแล้ว สิ่งสำคัญที่ควรคำนึงถึงก็คือ เรื่องของความสะอาด และความปลอดภัย เพราะกว่าอาหารจะมาถึงมือผู้บริโภคนั้น ต้องผ่านกระบวนการหลายขั้นตอน นับตั้งแต่การผลิต ตลอดจนวิธีการเก็บรักษาอาหารก่อนจะมาถึงมือผู้บริโภค ซึ่งกระบวนการทั้งหลายเหล่านี้ ล้วนก่อให้เกิดความเสี่ยงของอาหารที่ไม่ปลอดภัย และเป็นอันตรายต่อร่างกาย เมื่อมีการบริโภคเข้าไปได้ทั้งสิ้น เช่น การใช้ “สารฟอร์มาลิน” ในการถนอมอาหารและยืดอายุของอาหาร โดยผู้จำหน่ายมีการนำฟอร์มาลินผสมน้ำ แล้วราดใส่หรือแช่ อาหารบางชนิด เช่น ปลาหมึก กุ้ง ปลาหู เพื่อป้องกันการเน่าเสีย โดยอาหารเหล่านี้จะถูกแช่ฟอร์มาลินก่อนนำมาวางขาย เพื่อให้มีความสดได้นาน ไม่เน่าเสียเร็ว และเก็บไว้นานจำหน่ายได้นานหลายวัน ฟอร์มาลินที่ปนเปื้อนมาในอาหารทะเลเป็นสารอันตรายมีพิษต่อร่างกายและอาจเพิ่มความเสี่ยงที่ก่อให้เกิดโรคมะเร็งได้ หากผู้บริโภคได้รับในปริมาณมาก (Zhang, 2018) สำหรับประเทศไทยฟอร์มาลิน (Formalin) จัดเป็นวัตถุอันตรายชนิดที่ 2 ตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 และเป็นอาหารที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือจำหน่าย ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 391 (พ.ศ. 2561) การกินอาหารที่ปนเปื้อนฟอร์มาลินในปริมาณมากถึง 30-60 มิลลิกรัม จะทำให้เกิดอาการปวดท้องรุนแรง อาเจียน ท้องเดิน หดสติ และอาจเสียชีวิตได้ U.S. EPA กำหนดค่าขนาดของสารที่ยอมรับให้บริโภคได้ต่อวันแล้วไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษหรือผลเสียใด ๆ ต่อร่างกาย (Reference dose; RfD) ไว้ไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน (United States Environmental Protection Agency, 1999.) World Health Organization; WHO กำหนดค่าปริมาณได้รับประจำวันที่ทนได้ (Tolerable daily intake; TDI) ไว้ไม่เกิน 0.15 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน (World Health Organization, 2005.)

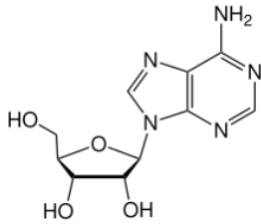
การวิเคราะห์และตรวจสอบหาฟอร์มาลินหรือฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหาร ทดสอบได้หลายวิธี ทั้งวิธีทั้งโครมาโทกราฟีและสเปกโตรเมตรี ซึ่งวิธีทางโครมาโทกราฟีให้ความถูกต้องและมีสภาพไวสูง (Abe et al, 2021) อย่างไรก็ตาม

เครื่องมือยังมีราคาแพงและการใช้งานค่อนข้างยุ่งยาก (Zhao & Fan, 2006) วิธีทางสเปกโตรเมตรีใช้รีเอเจนต์มากมาย เช่น Schiff's reagent, p-phenylenediamine, chromotropic acid, brilliant cresyl blue and fluoral-P (Thepchuay et al., 2022) แต่ข้อเสียของวิธีทางสเปกโตรเมตรี คือ สีของสารประกอบไม่เสถียร และมีสารอื่นๆ รบกวนมากมาย อีกทั้งต้องมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง (Teixeira et al., 2004) แต่อย่างไรก็ตามวิธีนี้มีความง่ายกว่า ราคาถูกกว่าวิธีทางโครมาโทกราฟี นอกจากนี้ยังมีวิธีโวลแทมเมตรี และ ฟลูออโรเมตรีที่มีความไวต่อการวัดฟอร์มาลดีไฮด์ (Yasri et al., 2015) มีการพัฒนาหัวตรวจวัดขนาดเล็ก (Nanoprobe) เพื่อตรวจฟอร์มาลินในอาหาร (Zhang et al., 2024) ซึ่งผลการตรวจวัดที่ถูกต้อง สะดวก และปัจจุบันวิธีตรวจด้วยชุดน้ำยาทดสอบอย่างง่าย ซึ่งสะดวกรวดเร็วผลิตโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ วิธี Enzymatic method โดยการใช้เอนไซม์ Formaldehyde dehydrogenase ย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ อย่างไรก็ตามเอนไซม์มีราคาสูง และไม่คงตัว เนื่องจากเอนไซม์จะเป็นโปรตีนที่เสถียรภาพได้ง่าย (Sibirny et al., (2011)

สารประกอบอัลดีไฮด์ (Aldehyde) สามารถทำให้โปรตีนตกตะกอนด้วยวิธี alkylation โดยจะทำปฏิกิริยากับหมู่ amino, carbonyl และ hydroxyl และมีการศึกษาเกี่ยวกับปฏิกิริยาระหว่างอัลดีไฮด์กับหมู่เอมีน เช่น Marsal et al., (2018) ได้ศึกษาการลดลงของปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ในกระบวนการทำหนังโดยใช้เรซินสังเคราะห์ด้วยสีย้อม ซึ่งฟอร์มาลดีไฮด์จะเกิดปฏิกิริยากับกลุ่มอะมิโนที่มีอยู่ในโครงสร้างของสีย้อมจึงเป็นการกำจัดฟอร์มาลดีไฮด์ได้ ส่วน Yangyu et al., (2019) ได้ศึกษาการดัดแปร apoka ที่ได้จากธรรมชาติด้วยสาร 3-aminopropyltrimethoxysilane (APTMS) ที่เติมไปด้วยหมู่เอมีนสามารถกำจัดแก๊สฟอร์มาลดีไฮด์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

จากการศึกษาพบว่าในพืชทั่วไปส่วนใหญ่จะมีสารอะดีโนซีน (Adenosine) เป็นองค์ประกอบ มีรายงานครั้งแรกที่พบว่าอะดีโนซีน 9- β -L(+) เป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติซึ่งได้รับจากไตรอะคอนทาล (Stanley et al., 1990)

อะดีโนซีนมีหมู่ amine และ hydroxyl ในโครงสร้าง (รูปที่ 1) จึงคาดว่าจะมีความสามารถทำปฏิกิริยากับฟอร์มาลดีไฮด์หรือฟอร์มาลินตกตะกอนได้เช่นเดียวกัน



รูปที่ 1 โครงสร้างของอะดีโนซีน (Adenosine)

ทั้งนี้ ผู้วิจัยได้เลือกพืชที่หาง่ายในท้องถิ่นมาประยุกต์เพื่อใช้ในการตรวจวัดฟอร์มาลินตกค้างในอาหารอย่างง่าย โดยสังเกตจากการตกตะกอน โดยเลือกพืชท้องถิ่นที่มีรายงานว่ามีสารอะดีโนซีน คือ มะยม (*Phyllanthus acidus*) (Sousa et al, 2007; Leeya et al., 2010) และ ผักหวานบ้าน (*Sauropus androgynus*) (Wang, 1997) รวมถึงคัดเลือกพืชในวงศ์ *Phyllanthaceae* เดียวกันอีก 2 ชนิด ได้แก่ มะเฒ่า (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) และ มะขามป้อม (*Phyllanthus emblica* (L.)) ทั้งนี้ เพื่อเป็นการทดสอบฟอร์มาลินในเบื้องต้น เพื่อให้มีความสะดวก รวดเร็ว สามารถทดสอบได้นอกห้องปฏิบัติการ อีกทั้งยังเป็นการใช้ประโยชน์จากพืชท้องถิ่น ลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายต่อผู้ทำการทดลอง

2. วิธีการ

2.1 การคัดเลือกพืชท้องถิ่น

การศึกษาในครั้งนี้ จะเลือกใช้พืชที่เป็นผักพื้นบ้านทั่วไป โดยเลือกพืชที่มีรายงานว่ามีสารอะดีโนซีน คือ มะยม และ ผักหวานบ้าน รวมถึงคัดเลือกพืชในวงศ์ *Phyllanthaceae* เดียวกันอีก 2 ชนิด ได้แก่ มะเฒ่า และ มะขามป้อม ซึ่งจะเลือกใช้ส่วนใบแก่ของพืชเท่านั้น โดยนำตัวอย่างใบพืชทั้ง 4 ชนิด มาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่น แล้วทิ้งไว้ให้แห้ง ชั่งน้ำหนักให้ได้ 10 g แล้วนำมาบดละเอียดด้วยครกหิน เติมน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน นำมารองกากออก ด้วยผ้าขาวบาง เอาส่วนน้ำที่กรองผ่านผ้าขาวบางแล้ว มารองซ้ำอีกครั้งด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วนำสารสกัดที่ได้ใส่ลงในขวดพลาสติกบรรจุสาร และเก็บไว้ในตู้เย็น

2.2 ทดสอบเบื้องต้นของการทำปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดจากพืชกับสารมาตรฐานฟอร์มาลิน

เตรียมถาดหลุมอะลูมิเนียมขนาด 4 หลุม โดยแต่ละหลุม เติมสารมาตรฐานฟอร์มาลิน 37% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และ เติมสารสกัดจากใบมะเฒ่า ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลุม

ที่ 1, เติมสารสกัดจากใบมะยม ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลุมที่ 2 เติมสารสกัดจากใบผักหวานบ้าน ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลุมที่ 3 และ เติมสารสกัดจากใบมะขามป้อม ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลุมที่ 4 สังเกตผลการเปลี่ยนแปลง

2.3 การศึกษาสมบัติเบื้องต้นของสารสกัดผักหวานบ้าน

จากการทดสอบพบว่าพืชที่ตกตะกอนกับฟอร์มาลินได้ คือ ผักหวานบ้าน จึงนำสารสกัดจากใบผักหวานบ้านมาผ่านการทำให้แห้งแบบแช่แข็ง (Freeze drying) แล้วละลายในน้ำปราศจากไอออน ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 200 - 800 นาโนเมตร ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible spectrophotometer) และนำสารสกัดแบบผงตรวจวัดรูปแบบการดูดกลืนแสงย่านอินฟราเรดด้วยเครื่อง FT-IR โดยใช้เทคนิค ATR และหาปริมาณอะดีโนซีนด้วยเทคนิค HPLC

2.4 ศึกษาอัตราส่วนของสารสกัดใบผักหวานบ้านที่ทำปฏิกิริยากับสารมาตรฐานฟอร์มาลิน

เตรียมหลอดทดลอง 4 หลอด เติมสารมาตรฐานฟอร์มาลิน ความเข้มข้น 5 % w/v ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เติมสารสกัดแบบผง 0.01, 0.05, 0.1 และ 0.5 กรัม ลงในหลอดทดลองที่ 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ เขย่าหลอดทดลองเบา ๆ ทุกหลอด และสังเกตผลการเปลี่ยนแปลง

2.5 ศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัดฟอร์มาลินของสารสกัดใบผักหวานบ้าน

เตรียมหลอดทดลองทั้งหมด 10 หลอด ให้หลอดที่ 1 เป็น blank (น้ำปราศจากไอออน 5 มิลลิลิตร) และหลอดที่ 2 - 9 ให้เติมสารมาตรฐานฟอร์มาลิน ความเข้มข้น 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 และ 9 % w/v ตามลำดับ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เติมสารสกัดแบบผง 0.05 กรัม ลงในหลอดทดลองทั้ง 10 หลอด เขย่าหลอดทดลองเบา ๆ ทุกหลอด และสังเกตผลการเปลี่ยนแปลง

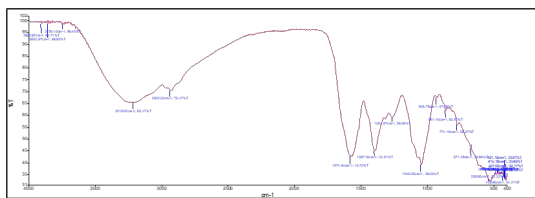
2.6 ศึกษาการตรวจวัดฟอร์มาลินของสารสกัดใบผักหวานบ้านเทียบกับชุดทดสอบอย่างง่ายที่มีจำหน่ายตามท้องตลาด

ในการทดลองครั้งนี้ผู้วิจัยได้เลือกชุดทดสอบมา 2 ยี่ห้อ คือ ชุดทดสอบ ETK Easy Formalin Test จากมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และชุดทดสอบ GPO Test Kit for formalin in food จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยทดสอบกับ ตัวอย่างอาหารทะเล 2 ชนิด ได้แก่ ปลาหมึก

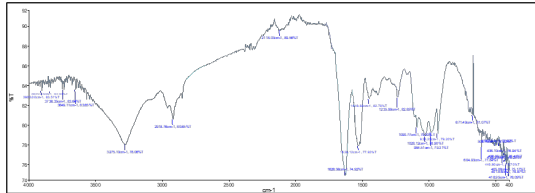
กระดอง และกุ้งขาว จากตลาดศิริวัฒนา จังหวัดเชียงใหม่ โดยจะศึกษาทั้งในน้ำแช่ตัวอย่างปกติ และในน้ำแช่ตัวอย่างที่ บดละเอียด

2.7 ศึกษาอายุการใช้งานของสารสกัดแบบผง

การเก็บรักษาสารสกัดจากใบผักหวานบ้านที่ดัดแปร เป็นผง จะเก็บรักษาไว้ในขวดสีชา และเก็บไว้ในตู้เย็น เมื่อครบทุก ๆ 1 เดือน นำผงมาตรวจสอบความคงสภาพและ การใช้งาน โดยสังเกตลักษณะของผง และนำมาทดสอบกับ สารมาตรฐานฟอร์มาลินความเข้มข้น 20% w/v และ 10% w/v เตรียมหลอดทดลอง 3 หลอด หลอดที่ 1 (Blank) เติมน้ำปราศจากไอออน 5 มิลลิลิตร ,หลอดที่ 2 เติมสาร มาตรฐานฟอร์มาลินความเข้มข้นที่ 20% w/v ปริมาตร 5

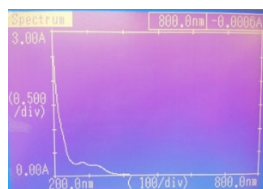


รูปที่ 6 การดูดกลืนแสงย่านอินฟราเรดของผงสารสกัดใบผักหวานบ้าน

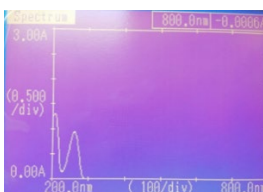


รูปที่ 7 การดูดกลืนแสงย่านอินฟราเรดของตะกอนที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่าง สารสกัดแบบผงกับสารมาตรฐานฟอร์มาลิน

รูปที่ 3 ลักษณะสารสกัดแบบผง จากการทำ Freeze drying



รูปที่ 4 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดใบผักหวานบ้าน ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์



รูปที่ 5 ค่าการดูดกลืนแสงของอะดีโนซีนบริสุทธิ์ ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

มิลลิลิตร, หลอดที่ 3 เติมสารมาตรฐานฟอร์มาลินความเข้มข้นที่ 10% w/v ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และเติมสารสกัดแบบผง 0.05 g ลงไปทั้ง 3 หลอด เขย่าหลอดทดลองเบา ๆ ทุกหลอด และสังเกตผลการเปลี่ยนแปลง โดยในขั้นตอนนี้จะใช้ระยะเวลาในการศึกษาเป็นระยะเวลารวม 6 เดือน

3. ผลลัพธ์และอภิปรายผล

3.1 การทำปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดจากพืชกับสารมาตรฐานฟอร์มาลิน

เมื่อเติมสารสกัดจากพืชทั้ง 4 ชนิด ลงในหลอดที่ 1- 4 ที่มีเติมสารมาตรฐานฟอร์มาลิน ความเข้มข้น 37% w/v ปริมาตร 1 มิลลิลิตร พบว่า มีการตกตะกอนอย่างเห็นได้ชัด ในหลอดที่ 3 ที่เป็นสารสกัดจากใบผักหวานบ้าน ส่วนหลอดอื่นที่เป็นสารสกัดจากใบมะเเมา ใบมะยม และใบมะขามป้อม ไม่เกิดการตกตะกอน ดังรูปที่ 2

ดังนั้น ในการทดลองจึงได้เลือกสารสกัดจากใบผักหวานบ้าน มาเป็นสารสกัดที่ใช้ในการตรวจวัด เนื่องจากสามารถทำปฏิกิริยากับสารมาตรฐานฟอร์มาลิน และทำให้เกิดการตกตะกอนขึ้นโดยสังเกตเห็นเป็นตะกอนได้อย่างชัดเจน เมื่อนำสารสกัดจากใบผักหวานบ้านผ่านกระบวนการทำผงด้วยการทำ Freeze drying ผงที่ได้มีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาล ดังรูปที่ 3 คิดเป็นร้อยละผลผลิต 6.42

3.2 สมบัติเบื้องต้นของสารสกัดผักหวานบ้าน

จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงของกบอะดีโนซีนบริสุทธิ์ ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible spectrophotometer) มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 207 และ 260 nm ดังรูปที่ 4 ส่วนสารสกัดใบผักหวานบ้าน ได้ค่าความยาวคลื่นแสงที่ถูกดูดกลืนเด่นชัดที่ 200 nm และในช่วง ที่ 259 - 274 nm รูปที่ 5 เมื่อเปรียบเทียบกับพบว่ามีค่าการดูดกลืนแสงสอดคล้องกันแต่อย่างไรก็ตามผงสารสกัดได้จากกระบวนการคั้นน้ำแล้วทำ freeze drying เท่านั้น ไม่ผ่านขั้นตอนการทำบริสุทธิ์ ทำให้มีอะดีโนซีนปริมาณน้อย และมีสารอื่นๆ ปนมาได้ เช่น สารจำพวกฟลาโวนอยด์ซึ่งมีการดูดกลืนแสงที่ 240-280 nm และ 300-400 nm (Feng, 2017)

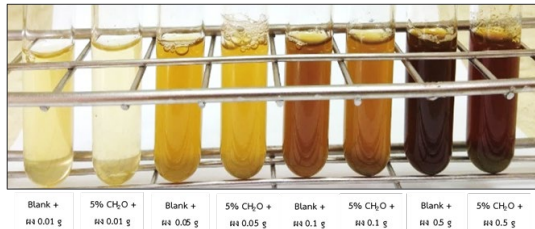
เมื่อนำสารสกัดผงผักหวานบ้าน 20 กรัม ตรวจสอบหาปริมาณอะดีโนซีนในใบผักหวานบ้าน ด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) พบว่า ในผักหวานบ้าน มีอะดีโนซีนเป็นองค์ประกอบ เมื่อคิดเป็น

ตารางที่ 1 ปริมาณอะดีโนซีนในผงผักหวานบ้าน

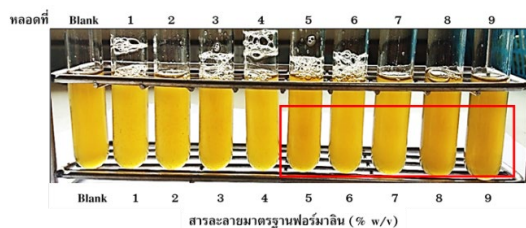
ลำดับที่	รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	วิธีการ	ปริมาณ Adenosine (mg/100g sample)
1	6309082	Adenosine (1)	HPLC-UV	3.66

หมายเหตุ: N.d. = ไม่พบ

หมายเหตุ: ข้อมูลการวิเคราะห์ จากห้องปฏิบัติการกลาง ศูนย์บริการวิชาการและถ่ายทอดเทคโนโลยีการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่



รูปที่ 8 การเกิดตะกอนจากการทำปฏิกิริยาระหว่างสารมาตรฐานฟอร์มาลิน 5% w/v กับสารสกัดแบบผงในปริมาณต่าง ๆ



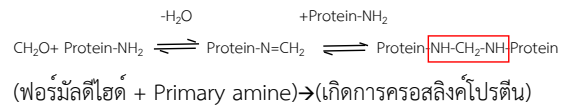
รูปที่ 9 ชีตจำกัดของสารสกัดแบบผง ในการตกตะกอนกับสารมาตรฐานฟอร์มาลินที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ

ปริมาณอะดีโนซีนจะได้ 2.35 มิลลิกรัม ต่อผักหวานบ้าน 1 กิโลกรัม ดังตารางที่ 1

จากการศึกษาการดูดกลืนแสงย่านอินฟราเรดพบ O-H ที่ 3193.00 cm^{-1} , N-H ที่ 1591.36 cm^{-1} , C=C ที่ 1402.13 cm^{-1} , C-N ที่ 1255.96 cm^{-1} และ C-O ที่ 1046.61 cm^{-1} รูปที่ 6

นอกจากนี้ยังศึกษาหมู่ฟังก์ชันของตะกอนที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดแบบผงกับสารมาตรฐานฟอร์มาลิน ด้วยเทคนิค ATR-IR พบ O-H ที่ 3275.10 cm^{-1} , N-H ที่ 1625.56 cm^{-1} , C-N ที่ 1235.99 cm^{-1} , C-H ที่ 2118.03 cm^{-1} , C-O ที่ ช่วง $1000-1300\text{ cm}^{-1}$ และ CH_2 (Alkane) ที่ 1448.82 cm^{-1} รูปที่ 7

ซึ่งหมู่ฟังก์ชันที่พบในการตรวจวัด คาดว่ามีความเป็นไปได้ และมีความใกล้เคียงกับหมู่ฟังก์ชันของสารอะดีโนซีน และมี CH_2 ที่มาจากสารมาตรฐานฟอร์มาลิน (CH_2O) และได้คาดการณ์การเกิดปฏิกิริยาครอสลิงค์ (Cross link) ของฟอร์มาลดีไฮด์กับโปรตีนที่ปลายกรดอะมิโนชนิด Primary amine เกิดเป็น Secondary amine ที่เสถียร ดังสมการ



3.3 ศึกษาอัตราส่วนของสารสกัดใบผักหวานบ้านที่ทำปฏิกิริยากับสารมาตรฐานฟอร์มาลิน

จากการทำปฏิกิริยากันของสารมาตรฐานฟอร์มาลิน ความเข้มข้น 5 % w/v ปริมาตร 5 มิลลิลิตร กับสารสกัดแบบผง ปริมาณ 0.5, 0.1, 0.05 และ 0.01 g ตามลำดับพบว่า ในหลอด Blank ทุกหลอดที่ใส่ผงปริมาณแตกต่างกัน เกิดเป็นสารละลายไม่มีตะกอน รวมถึงหลอดที่เติมสารมาตรฐานฟอร์มาลินเข้มข้น 5 % w/v กับสารสกัดแบบผง ที่ปริมาณ 0.01 g แต่ในหลอดเติมสารมาตรฐานฟอร์มาลินเข้มข้น 5 % w/v กับสารสกัดแบบผง ที่ปริมาณ 0.05 g ขึ้นไปเริ่มมีการตกตะกอนและตะกอนที่เกิดขึ้นจะมีปริมาณมากขึ้นตามปริมาณของสารสกัดแบบผงที่เติมลงไป ดังรูปที่ 8

ดังนั้น ในการทดลองครั้งนี้ จะเลือกใช้สารสกัดแบบผงที่ 0.05 กรัม เนื่องจากเป็นการใช้ผงในปริมาณน้อยที่สุด และมีตะกอนที่สังเกตเห็นได้ชัด

3.4 ศึกษาขีดจำกัดของสารสกัดใบผักหวานบ้านในการตรวจวัดฟอร์มาลิน

จากการศึกษาขีดจำกัดของสารสกัดแบบผง ในการตกตะกอนสารมาตรฐานฟอร์มาลิน ความเข้มข้นที่ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 และ 9% w/v พบว่า ที่ความเข้มข้น 1-4% w/v ไม่มีการตกตะกอน ส่วนที่ความเข้มข้น 5 % w/v เริ่มมีการตกตะกอนไปจนถึงความเข้มข้น 9% w/v ตะกอนที่เกิดขึ้นจะมีปริมาณมากขึ้นตามความเข้มข้นของสารมาตรฐานฟอร์มาลิน ดังนั้นสารสกัดจากสารสกัดแบบผง 0.05 กรัม สามารถทำปฏิกิริยากับสารมาตรฐาน

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบผลการตรวจวัดสารฟอรัมาลินในอาหารทะเลของทั้งสามวิธี

วิธี	Blank	ตัวอย่าง			
		น้ำแช่ปลาหมึกกระดอง	น้ำแช่ปลาหมึกบดละเอียด	น้ำแช่กุ้งขาว	น้ำแช่กุ้งขาวบดละเอียด
ETK Easy Formalin Test					
ผล	-	พบ < 100 mg/kg	พบ < 100 mg/kg	พบ 100 mg/kg	ไม่สามารถระบุได้
GPO Test Kit for formalin in food					
ผล	-	มีฟอรัมาลิน	มีฟอรัมาลิน	มีฟอรัมาลิน	มีฟอรัมาลิน
สารสกัดใบผักหวานบ้านแบบผง					
ผล	-	มีฟอรัมาลิน	มีฟอรัมาลิน	มีฟอรัมาลิน	มีฟอรัมาลิน

ฟอรัมาลินได้ในความเข้มข้นต่ำสุดคือ 5% w/v ดังรูปที่ 9 ซึ่งถือเป็นขีดจำกัดหรือความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดฟอรัมาลินได้

อย่างไรก็ตามความเข้มข้นต่ำสุดที่ผ้งจากผักหวานบ้านจะตรวจวัดได้ยังคงสูงกว่าค่าที่กำหนดไม่ควรพบในอาหารตามที่ระบุใน U.S.EPA และ WHO แต่วิธีตรวจสอบด้วยวิธีนี้จะเห็นว่าการทำงานง่ายเพียงขั้นตอนเดียว ใช้สารปริมาณน้อย และไม่เป็นอันตรายต่อผู้ใช้งาน อีกทั้งไม่มีของเสียหลังการทดสอบ

3.5 การเปรียบเทียบผลการตรวจวัดสารฟอรัมาลินในอาหารทะเลกับชุดทดสอบอย่างง่าย

จากการเปรียบเทียบผลจากการตรวจวัดสารฟอรัมาลินในอาหารทะเลของทั้งสามวิธี คือการตรวจวัดด้วยผงสารสกัดใบผักหวานบ้าน และจากชุดทดสอบที่มีขายในท้องตลาดทั้ง 2 ยี่ห้อ พบผลการตรวจวัดฟอรัมาลินดังตารางที่ 2

จากตารางที่ 2 พบว่า ชุดทดสอบ ETK Easy Formalin Test จากมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ มีการเปลี่ยนแปลงสีเป็นสีเหลืองเล็กน้อย ซึ่งรายงานได้ว่าพบฟอรัมาลินในปริมาณน้อยกว่า 100 mg/kg ในหมึกกระดองทั้งในน้ำแช่และในเนื้อบดละเอียด สำหรับในตัวอย่างน้ำแช่กุ้งขาว ชุดทดสอบเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อน รายงานได้ว่าพบสารฟอรัมาลินในระดับ 100 mg/kg แต่เมื่อวิเคราะห์ในเนื้อกุ้งขาวบดละเอียด เกิดการรบกวนของสีจากสารตัวอย่างจึงไม่

สามารถรายงานค่าได้ เป็นข้อจำกัดของชุดทดสอบนี้เมื่อเปรียบเทียบกับชุดทดสอบ GPO Test Kit for formalin in food จากองค์การเภสัชกรรม พบว่าตัวอย่างที่นำมาตรวจวัดมีการเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อนทั้งหมด รายงานได้ว่าพบฟอรัมาลินในทุกตัวอย่าง ซึ่งชุดทดสอบนี้มีค่าการตรวจต่ำสุด 0.5 ppm สอดคล้องกับการทดสอบจากผงสารสกัดใบผักหวานบ้านเมื่อเติมลงในสารละลายตัวอย่าง พบว่ามีความขุ่นเกิดขึ้นแม้จะไม่เกิดเป็นตะกอนขนาดใหญ่ รายงานว่าอาจจะพบฟอรัมาลินในตัวอย่างทั้งหมดด้วยเช่นกัน ทั้งนี้ชุดทดสอบ GPO Test Kit for formalin in food ก็มีข้อจำกัดเรื่องผลบวกเทียม ทดสอบเฉพาะในน้ำแช่หรือน้ำล้างตัวอย่างเท่านั้น หลีกเลี่ยงการบดตัวอย่าง ภายใต้ปฏิกิริยา Schryver's method ซึ่งมีความไวต่อปริมาณฟอรัมาลดีไฮด์ในระดับต่ำสามารถเกิดปฏิกิริยากับ Trimethylamine (Reay, 1936) และฟอรัมาลดีไฮด์ในระดับที่อาจจะไม่ได้ตามธรรมชาติ ไม่ใช่ฟอรัมาลินที่เกิดการเติมลงในตัวอย่าง (Wahed et al., 2016)

จะเห็นว่าผงสารสกัดจากผักหวานบ้านสามารถนำมาประยุกต์ตรวจวัดฟอรัมาลินตกค้างเบื้องต้นได้ แม้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ผ้งจากผักหวานบ้านจะตรวจวัดได้ยังคงสูง แต่มีการใช้งานง่ายเพียงขั้นตอนเดียว ใช้สารปริมาณน้อย ไม่เป็นอันตรายต่อผู้ใช้งาน และไม่มีของเสียหลังการทดสอบ การดูสีอาจจะเป็นข้อเสีย แต่งานนี้ดูการตกตะกอน ซึ่งอาจจะต้องพัฒนาต่อไป อาจมีวิธีการตรวจวัดโดยใช้เครื่องวัดความขุ่นร่วมด้วย

3.6 ศึกษาอายุการใช้งานของสารสกัดแบบผง

เมื่อนำสารสกัดจากใบผักหวานบ้านที่ตัดแปรเป็นผงเก็บรักษาไว้ในขวดสีชา และเก็บไว้ในตู้เย็น เมื่อครบทุก ๆ 1 เดือน นำผงมาตรวจสอบความคงสภาพและการใช้งานโดยสังเกตลักษณะของผง และนำมาทดสอบกับสารมาตรฐานฟอรัมาลินความเข้มข้นที่ 10% w/v และ 20% w/v พบว่าทั้ง 6 เดือนให้ผลที่เหมือนกัน คือ มีการตกตะกอนทั้งกับสารมาตรฐานฟอรัมาลิน 10% w/v และ 20% w/v w/v อย่างไรก็ตามในเดือนที่ 5-6 เมื่อตั้งหลอดทดลองทิ้งไว้นาน ๆ พบว่าที่หลอดทดลองของ Blank มีตะกอนเล็ก ๆ ตกด้วย ซึ่งอาจจะมาจากความชื้นหรือการทำปฏิกิริยากับอากาศ ทำให้สารที่เป็นองค์ประกอบอื่น ๆ ในสารสกัดแบบผงเกิดการเสื่อมสภาพได้ ดังนั้น เพื่อให้

การตรวจวัดได้ถูกต้องอายุการใช้งานของสารสกัดจากใบ
ผักหวานบ้านควรใช้ภายในระยะเวลา 5 เดือน

4. บทสรุป

จากการทดลองการตรวจสอบหาฟอรัมาลินปนเปื้อนใน
อาหาร โดยวิธีการใช้พืชท้องถิ่นมาทดสอบ และสังเกตการ
เปลี่ยนแปลงด้วยการตกตะกอน พบว่าสารสกัดจากพืชทั้ง
4 ชนิด ได้แก่ ใบผักหวานบ้าน มะยม มะเฒ่า และมะขามป้อม
มีเพียงชนิดเดียวที่สามารถตกตะกอนฟอรัมาลินได้ คือ
สารสกัดจากใบผักหวานบ้าน ซึ่งได้นำมาผ่านกระบวนการทำ
ให้แห้งแบบแช่เยือกแข็งได้สารสกัดในรูปแบบผง ซึ่งสามารถ
ตรวจวัดฟอรัมาลินได้ที่ขีดความเข้มข้นต่ำสุดคือ 5 % w/v
ซึ่งยังมีค่าสูงยังคงต้องพัฒนาต่อไป อย่างไรก็ตามเมื่อนำมา
ทดสอบกับตัวอย่างอาหารทะเล พบว่าให้ผลใกล้เคียงกับชุด
ทดสอบที่มีขายตามท้องตลาด จากงานวิจัยนี้ทำให้เห็นการ
พัฒนาการตรวจวัดฟอรัมาลินสามารถทำได้ด้วยวิธีที่ง่าย
สะดวก รวดเร็ว สามารถนำไปวิเคราะห์เบื้องต้น ทำนอก
ห้องปฏิบัติการได้โดยไม่มีของเสียหลังการทดสอบ มีความ
ปลอดภัยต่อผู้ทำการตรวจสอบ เนื่องจากมีการใช้สารสกัด
ที่มาจากธรรมชาติ และช่วยลดค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์
สามารถเก็บใช้งานได้ประมาณ 5 เดือน อาจต่อยอดพัฒนา
เป็นชุดทดสอบหาสารฟอรัมาลินได้ในระดับเบื้องต้นได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ และกองทุนสนับสนุนทุนวิจัย
จากกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

เอกสารอ้างอิง

Abe, Y., Kobayashi, N., Yamaguchi, M., Mutsuga, M., Ozaki, A., Kishi, E., & Sato, K. (2021). Determination of formaldehyde and acetaldehyde levels in poly (ethylene terephthalate)(PET) bottled mineral water using a simple and rapid analytical method. *Food Chemistry*, 344, 128708.

Feng, W.-S, Hao, Z., & Meng, L. (2017). Flavonoids - From Biosynthesis to Human Health. *Intech*. 24-25.

Leeya, Y., Mulvany, M. J., Queiroz, E. F., Marston, A., Hostettmann, K., & Jansakul, C. (2010). Hypotensive activity of an n-butanol extract and their purified compounds from leaves of *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels in rats. *European journal of pharmacology*, 649(1-3), 301-313.

Liu, Y., Jia, H., Sun, Z., Pan, Y., Zhang, G., & Zheng, S. (2019). High-efficiency removal of gaseous HCHO by amine functionalized natural opoka. *Chemical Physics Letters*, 722, 32-38.

Marsal, A., Cuadros, S., Cuadros, R. M., Font, J., & Manich, A. M. (2018). Dyestuffs and formaldehyde content in split leather treated with formaldehyde resins. *Dyes and Pigments*, 158, 50-59. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2018.05.027>.

Reay, G. A. (1936). Testing for the presence of formaldehyde in salt-cured ling. *Analyst*, 61(719), 78-85.

Ries, S., Wert, V., O'Leary, N. F. D., & Nair, M. (1990). 9- β -L (+) Adenosine: A new naturally occurring plant growth substance elicited by triacontanol in rice. *Plant growth regulation*, 9(3), 263-273.

Sibirny, V., Demkiv, O., Klepach, H., Honchar, T., & Gonchar, M. (2011). Alcohol oxidase-and formaldehyde dehydrogenase-based enzymatic methods for formaldehyde assay in fish food products. *Food Chemistry*, 127(2), 774-779.

Sousa, M., Ousingsawat, J., Seitz, R., Puntheeranurak, S., Regalado, A., Schmidt, A., & Kunzelmann, K. (2007). An extract from the medicinal plant *Phyllanthus acidus* and its isolated compounds induce airway chloride secretion: a potential treatment for cystic fibrosis. *Molecular Pharmacology*, 71(1), 366-376.

Teixeira, L. S., Leão, E. S., Dantas, A. F., Pinheiro, H. L., Costa, A. C., & De Andrade, J. B. (2004). Determination of formaldehyde in Brazilian alcohol fuels by flow-injection solid phase spectrophotometry. *Talanta*, 64(3), 711-715.

Thepchuay, Y., Chairit, W., Saengsane, N., Porrawatkul, P., & Pimsen, R. (2022). Simple and green colorimetric method for the detection of formaldehyde in vegetable samples. *Journal of Food Composition and Analysis*, 111, 104623. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104623>

United States Environmental Protection Agency. *Integrated Risk Information System (IRIS) on Formaldehyde*. National Center for Environmental Assessment. Office of Research and Development. Washington DC: U.S. EPA, 1999.

Wahed, P., Razzaq, M. A., Dharmapuri, S., & Corrales, M. (2016). Determination of formaldehyde in food and feed by an in-house validated HPLC method. *Food chemistry*, 202, 476-483.

Wang, P. H., & Lee, S. S. (1997). Active chemical constituents from *Sauropus androgynus*. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 44(2), 145-149.

World Health Organization. Formaldehyde in Drinking-water. *Background document for development of WHO Guidelines for drinking-water quality*. Geneva: WHO, 2005.

Yasri, N. G., Seddik, H., & Mosallb, M. A. (2015). Spectrophotometric determination of formaldehyde based on the telomerization reaction of tryptamine. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(4), 487-494.

Zhang, L. (2018). *Formaldehyde: Exposure, Toxicity and Health Effects*. 1st ed., Royal Society of Chemistry. pp 389.

Zhang, Y.-T., Liao, L.-G., & Tan, M., et al. (2024). Design of an ultra-sensitive nanoprobe based on poly β -cyclodextrin for formaldehyde detection in food and biological samples. *Microchemical Journal*. 199. 110090. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.110090>

Zhao, J., & Fan, B. 2006. Spectrophotometric Determination Method of Formaldehyde. *Guangdong Trace Elements Science*, 13(2), 17-22.