

การศึกษาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์อิสระ ในกระบวนการผลิตหมึกกรอบ

นิรันดร์ แร่กาสินธุ์ จรรยา บุญวิจิตร และ เขมิกา เหมโลหะ

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 สุราษฎร์ธานี กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ อำเภอเมือง สุราษฎร์ธานี 84100

บทคัดย่อ ฟอร์มาลดีไฮด์หรือฟอร์มาลิน เป็นสารก่อมะเร็งต่อมนุษย์ จัดเป็นสารห้ามใช้ในอาหารตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 391 พ.ศ. 2561 เรื่อง กำหนดอาหารที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือจำหน่าย ฟอร์มาลดีไฮด์อิสระ (Free-FA) ที่พบในหมึกซึ่งเป็นสัตว์ทะเลอาจพบได้จากการจงใจเติมเพื่อป้องกันการเน่าเสีย และสามารถพบได้จากการเน่าเสียตามธรรมชาติหรือเกิดจากกระบวนการผลิตอาหารได้ จึงได้ทำการศึกษาปริมาณ Free-FA ในหมึกกรอบ ซึ่งเป็นอาหารกลุ่มเสี่ยงที่พบ Free-FA สูง เพื่อพิสูจน์ว่ากระบวนการผลิตหมึกกรอบทำให้ปริมาณ Free-FA เพิ่มขึ้นหรือลดลง โดยการผลิตหมึกกรอบจากหมึกสดที่เติมฟอร์มาลินที่มีช่วงความเข้มข้นสองแบบ ตรวจวิเคราะห์ปริมาณ Free-FA ในหมึกสด หมึกแห้ง และหมึกกรอบด้วยเทคนิค HPLC พบว่าปริมาณ Free-FA ในหมึกแห้งและหมึกกรอบลดลงมากกว่าร้อยละ 80 และ 90 ตามลำดับ ของความเข้มข้นฟอร์มาลินทั้งสองช่วง แสดงว่าขั้นตอนการทำหมึกแห้งและหมึกกรอบทำให้ฟอร์มาลินระเหยและละลายออกมาจากหมึกได้ จากการศึกษาสรุปได้ว่า Free-FA ในหมึกกรอบอาจเกิดจากการจงใจเติมฟอร์มาลินในปริมาณสูงในหมึกสด หรือเติมในน้ำแช่หมึกกรอบในระหว่างจำหน่าย ดังนั้นเพื่อให้ผู้บริโภคสามารถลดการได้รับฟอร์มาลดีไฮด์จากการรับประทานหมึกกรอบจึงมีคำแนะนำให้ผู้ขายแช่หมึกกรอบในน้ำแข็งแทนการใช้ฟอร์มาลิน และให้ผู้บริโภคล้างหมึกกรอบด้วยน้ำสะอาดก่อนปรุงอาหาร

คำสำคัญ: ฟอร์มาลดีไฮด์อิสระ, หมึกแห้ง, หมึกกรอบ

Corresponding author E-mail: nirundorn.r@dmsc.mail.go.th

Received: 7 December 2024

Revised: 18 April 2025

Accepted: 1 May 2025

บทนำ

ฟอร์มาลดีไฮด์ (formaldehyde) เป็นสารอินทรีย์ในกลุ่มอัลดีไฮด์ที่มีสถานะเป็นก๊าซ มีสูตรโมเลกุล คือ CH_2O และน้ำหนักโมเลกุล เท่ากับ 30.03 ลักษณะทั่วไปเป็นสารที่ไม่มีสี มีกลิ่นฉุน มีคุณสมบัติเป็นตัวรีดิวซ์ที่รุนแรง ถ้าอยู่ในสถานะของเหลวมีชื่อเรียกว่า ฟอร์มาลิน (formalin) ซึ่งจะมีความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์ประมาณร้อยละ 37-55 และเติมเมทานอลความเข้มข้นประมาณร้อยละ 5-15 เพื่อป้องกันการเกิดโพลิเมอร์ ฟอร์มาลดีไฮด์ถูกนำมาใช้ประโยชน์เพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น สิ่งทอ การเกษตร ยา เครื่องสำอาง เป็นต้น⁽¹⁾ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 391 พ.ศ. 2561 เรื่อง กำหนดอาหารที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือจำหน่าย ระบุว่า ฟอร์มาลดีไฮด์ เป็นสารห้ามใช้ในอาหาร⁽²⁾ โดยองค์การนานาชาติเพื่อการวิจัยมะเร็ง (International Agency for Research on Cancer; IARC) จัดให้ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นสารก่อมะเร็งต่อมนุษย์กลุ่มที่ 1 หากได้รับทางการหายใจหรือทางผิวหนังในปริมาณน้อย อาจทำให้เกิดอาการระคายเคืองต่อระบบทางเดินหายใจและดวงตา ถ้าได้รับสัมผัสระยะยาวอาจมีผลต่อการเกิดมะเร็งโพรงจมูกได้⁽³⁾ และองค์กรพิทักษ์สิ่งแวดล้อมของประเทศสหรัฐอเมริกา (Environmental Protection Agency; EPA) จัดให้เป็นสารที่มีโอกาสก่อมะเร็งต่อมนุษย์ในกลุ่ม 1B (Probable Carcinogen) และกำหนดค่ายอมรับให้บริโภคได้โดยไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษหรือผลเสียต่อร่างกาย (Reference Dose; RfD) ไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน⁽⁴⁾

ฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหารสามารถเกิดขึ้นได้เองในธรรมชาติและในอาหารที่ผ่านกระบวนการจากการศึกษาของ Nowshad F และคณะ มีการตรวจพบในอาหารได้ในปริมาณที่แตกต่างกัน ได้แก่ ผลไม้ ผัก นมยูเอชที นมผง พบ 58.3, 40.6, 187.7 และ 194.1 mg/kg ตามลำดับ เป็นต้น⁽⁵⁾ ส่วนในสัตว์ทะเลพบฟอร์มาลดีไฮด์ได้จากการเปลี่ยนสารไตรเมทิลามีนออกไซด์ (Trimethylamine oxide) โดยเอนไซม์ไตรเมทิลามีน ออกซิเดส (Trimethylamine oxidase) ซึ่งปริมาณที่พบอาจแตกต่างกันขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น วิธีการ และระยะ

เวลาการเก็บรักษา เป็นต้น⁽⁶⁾ ในธรรมชาติฟอร์มาลดีไฮด์เป็นสารตัวกลาง (Intermediate) ที่สำคัญที่ใช้ในการสังเคราะห์ชีวโมเลกุลของสิ่งมีชีวิต ฟอร์มาลดีไฮด์ที่มีในอาหารเกิดขึ้นได้ด้วยกลไกทางชีวเคมีและทางกายภาพสามารถพบได้ในรูปสารอิสระ (Free formaldehyde; Free-FA) และในรูปที่รวมอยู่กับสารอื่น (Bound formaldehyde) เช่น โปรตีน กรดนิวคลีอิก กรดอะมิโน ครีเอติน เป็นต้น จากรายงานต่างๆ พบว่า Free-FA มีความไวต่อการจับกับสารชีวโมเลกุลในสิ่งมีชีวิตทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสุขภาพ⁽⁷⁾ และสามารถนำผลการตรวจวิเคราะห์ Free-FA ไปใช้ในการเฝ้าระวังการปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหารได้^(7,8) โดยการตรวจวิเคราะห์ด้วยชุดทดสอบซึ่งเป็นวิธีการคัดกรองเบื้องต้นควบคู่กับการตรวจวิเคราะห์ยืนยันโดยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ซึ่งสามารถระบุปริมาณที่ตรวจพบได้

ตามข้อมูลการเฝ้าระวังการปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหารด้วยชุดทดสอบ โดยหน่วยงานในสังกัดกระทรวงสาธารณสุขทั้ง 13 เขตสุขภาพ ในปี พ.ศ. 2563 พบฟอร์มาลดีไฮด์ในหมักกรอบและหมักแช่ต่าง รวมจำนวน 427 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 1,362 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 31.35 แต่การตรวจพบฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหารไม่สามารถสรุปได้ว่าเกิดจากการเติมลงไปในการเนื่องจากอาหารบางประเภทหรือบางชนิดสามารถพบฟอร์มาลดีไฮด์ได้ตามธรรมชาติ⁽⁹⁾ และจากผลการสำรวจ Free-FA โดยวิธีทางห้องปฏิบัติการในอาหารกลุ่มเสี่ยงที่อาจมีการปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์ ได้แก่ หมักสด หมักกรอบ สไลนาง โดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เมื่อปีงบประมาณ พ.ศ. 2563 จำนวน 396 ตัวอย่าง ซึ่งเก็บตัวอย่างจากสถานที่จำหน่าย 25 จังหวัด ใน 5 ภาคของประเทศไทย อาหารที่พบ Free-FA ได้แก่ หมักกรอบ 44 ตัวอย่าง ของตัวอย่างหมักกรอบ 120 ตัวอย่าง (ร้อยละ 36.7) ปริมาณที่พบอยู่ในช่วง 10.8 – 1,022 mg/kg ค่ามัธยฐาน 262 mg/kg สไลนางขาว 29 ตัวอย่าง ของตัวอย่างสไลนางดำ/ขาว ที่ผ่านการฟอกสี 128 ตัวอย่าง (ร้อยละ 22.7) ปริมาณที่พบอยู่ในช่วง 10.7–5,110 mg/kg ค่ามัธยฐาน 318 mg/kg และหมักสด 1 ตัวอย่าง ของตัวอย่างหมักสด 148 ตัวอย่าง (ร้อยละ 0.7) ปริมาณที่พบ 7.27 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg)^(10,11)

จากที่กล่าวข้างต้น Free-FA ที่พบในหมึกกรอบอาจพบได้จากการงจืดเติมฟอร์มาลีนในหมึกสดเพื่อป้องกันการเน่าเสียหรือการเพิ่มน้ำหนักของเนื้ออาหาร⁽¹²⁾ และสามารถพบได้จากการเน่าเสียตามกระบวนการธรรมชาติ หรือเกิดจากกระบวนการผลิตหมึกกรอบที่มีการนำหมึกสดมาตากแห้ง แล้วนำหมึกแห้งมาแช่น้ำต่างเพื่อให้หมึกพองตัว กรอบ และเต็ง ซึ่งอาจส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลง Free-FA ในหมึกกรอบได้ ดังนั้นในปี พ.ศ. 2564 จึงทำการศึกษาว่ากระบวนการผลิตหมึกกรอบส่งผลให้ปริมาณ Free-FA เพิ่มขึ้นหรือลดลงโดยการผลิตหมึกกรอบจากหมึกสดที่เติมฟอร์มาลีนปริมาณที่แตกต่างกัน ในช่วงความเข้มข้นที่มีข้อมูลตรวจพบในตัวอย่างหมึกกรอบ⁽¹⁰⁾ แล้ววิเคราะห์ปริมาณ Free-FA โดยใช้วิธีการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการด้วยเทคนิค HPLC จากนั้นเปรียบเทียบปริมาณ Free-FA ระหว่างหมึกสดกับหมึกแห้ง และหมึกสดกับหมึกกรอบ

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่าง

ตัวอย่างหมึกกล้วยสด ขนาดความยาวลำตัวประมาณ 15–20 เซนติเมตร ซื้อจากตลาดสด อำเภอเมือง จังหวัดสุราษฎร์ธานี

สารมาตรฐาน

สารมาตรฐาน formaldehyde Lot. No. LRAC1954 (Sigma Aldrich, USA) ความเข้มข้น 1,000 mg/L

สารเคมี

Formalin 37%, AR grade (UNIVAR, Australia), 2,4-Dinitrophenylhydrazine, AR grade (Kemaus, Australia), Glacial acetic acid, AR grade (Merck, Germany), Acetonitrile, HPLC grade (J.T. Baker, USA), Perchloric acid, AR grade (Merck, Germany), Baking soda, Food grade (McGarrett, Thailand) และ น้ำกลั่น Type I

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้

เครื่องชั่งไฟฟ้า พิกัด 0.1 มิลลิกรัม (Sartorius LP1200S, Germany), อ่างน้ำความถี่สูง (Hwashin Technology Powersonic 405, Korea), อ่างน้ำร้อน (Mettler WB 29, Germany), เครื่องหมุนเหวี่ยงแบบความเร็วสูง (Hettich Zentrifugen Rotofix 32, Germany), กระดาษกรองชนิด Nylon 0.22 μm ขนาด 13 และ 47 mm (CNW Technologies, China), กระดาษกรอง Whatman No.1 (Whatman, China), หลอดพลาสติก ขนาด 50 และ 15 มิลลิเมตร (ThermoNunc, USA) และเครื่อง High Performance Liquid Chromatography: HPLC (Agilent 1290, USA), Column: Thermo BDS C18 (250 mm $\times$ 4.6 mm $\times$ 5 μm) (ThermoFisher Scientific, USA)

การทดลองเตรียมหมึกแห้งและหมึกกรอบ

ทำการศึกษา 3 สภาวะแตกต่างกัน และแต่ละสภาวะทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง โดยแต่ละครั้งประกอบด้วยตัวอย่างหมึกสดน้ำหนัก 1 kg จากนั้นตากหมึกให้แห้ง นำหมึกแห้งแช่ในสารละลายต่างที่เตรียมจาก Baking soda, Food grade (McGarrett, Thailand) 20 g ละลายในน้ำ 1 L เป็นระยะเวลา 1 คืน แต่ละรอบการทดลองจะห่างกันประมาณ 1 เดือน ขึ้นอยู่กับสภาพอากาศในการจัดหาตัวอย่างหมึกสดและการตากหมึก รายละเอียดดังนี้

สภาวะที่ 1 กลุ่มควบคุม: นำหมึกสดแบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 ปริมาณ 300 g และส่วนที่ 2 ปริมาณ 700 g นำส่วนที่ 1 ไปวิเคราะห์ Free-FA ตามวิธีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์อิสระ ส่วนที่ 2 นำไปทำหมึกแห้งโดยการตากแดดกลางแจ้ง เป็นเวลา 6 วัน นำหมึกแห้งที่ได้ แบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 นำไปวิเคราะห์ Free-FA ส่วนที่ 2 นำไปทำหมึกกรอบ โดยนำหมึกแห้งแช่ในสารละลายต่าง 1 คืน จากนั้นนำหมึกกรอบไปวิเคราะห์ Free-FA

สภาวะที่ 2 การเตรียมหมึกกรอบที่มี 0.37–0.74 % formaldehyde: นำหมึกสด 1 kg เติมสารละลาย 37% formalin ปริมาณ 5–10 mL ใส่ในน้ำกลั่น 500 mL

(0.37–0.74 % formaldehyde) คนให้เข้ากัน เทใส่ในถังหมึกสดที่แช่ในน้ำแข็ง แช่ทิ้งไว้ 1 คืน แล้วนำไปทำหมึกกรอบ เช่นเดียวกับสถานะที่ 1 ทำทั้งสิ้น 5 ครั้ง

สถานะที่ 3 การเตรียมหมึกกรอบที่มี 1.48–2.22 % formaldehyde: นำหมึกสด 1 kg เติมน้ำละลาย 37% formalin ปริมาณ 20–30 mL ใส่ในน้ำกลั่น 500 mL (1.48–2.22 % formaldehyde) คนให้เข้ากัน เทใส่ในถังหมึกสดที่แช่ในน้ำแข็ง แช่ทิ้งไว้ 1 คืน แล้วนำไปทำหมึกกรอบ เช่นเดียวกับสถานะที่ 1 ทำทั้งสิ้น 5 ครั้ง

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์อิสระ (Free-FA)⁽⁸⁾

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน และกราฟมาตรฐาน

สารมาตรฐาน formaldehyde (working solution) ความเข้มข้น 100 mg/L เตรียมโดยปิเปตสารมาตรฐาน formaldehyde ความเข้มข้น 1,000 mg/L ปริมาตร 0.5 mL ใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 5 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เตรียมกราฟมาตรฐานโดยปิเปตสารมาตรฐาน formaldehyde (working solution) 12.5, 25, 50, 75, 100, 125, 150 μ L ใส่ในหลอดพลาสติกขนาด 15 mL เติมน้ำละลาย 30% Acetonitrile ใน 0.1% Acetic acid 5 mL เติม 2,4-Dinitrophenylhydrazine 1.0 mL (เตรียมโดยละลาย 0.12 กรัม 2,4-Dinitrophenylhydrazine ด้วย Acetonitrile 50 mL แล้วเทใส่ขวดวัดปริมาตร ขนาด 100 mL ที่มีสารละลาย Perchloric acid อัตราส่วน 1:19 อยู่ 10 mL และปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น) และนำไปวิเคราะห์ปริมาณ Free-FA ด้วยเครื่อง HPLC สถานะ Temperature: 30°C, Injection volume: 5 μ L, Flow rate: 1.0 mL/min, UV detector wavelength: 360 nm, Mobile phase: Isocratic elution; Acetonitrile:Water (60:40)

วิธีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์อิสระ (Free-FA)

นำตัวอย่างหมึกทั้งตัวที่นำเครื่องในออกแล้วหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ปริมาณ 5 g ใส่ในหลอดพลาสติก 50 mL เติมน้ำละลาย 0.1% Glacial acetic acid ปริมาตร 30 mL เพื่อสกัด Free-FA โดยจุ่มในอ่างน้ำความถี่สูงที่ 40 Kilohertz เป็นเวลา 30 นาที เติมน้ำ Acetonitrile 15 mL เพื่อให้โปรตีนตกตะกอน แล้วนำไปแยกชั้นด้วย

เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูงที่ความเร็ว 4,500 รอบต่อนาที นำสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 เติมน้ำ 1.0 mL 2,4-Dinitrophenylhydrazine และนำไปวิเคราะห์ปริมาณ Free-FA ด้วยเครื่อง HPLC ตามสถานะที่กำหนด คำนวณปริมาณ Free-FA เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน ตามวิธีการตรวจวิเคราะห์ของสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ซึ่งดัดแปลงจาก Yeh TS และคณะ⁽⁸⁾ ซึ่งได้ทำการทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method validation) ที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 สุราษฎร์ธานี มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่วิธีทดสอบสามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of Detection; LOD) เท่ากับ 2.5 mg/kg, ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ (Limit of Quantitation; LOQ) เท่ากับ 5.0 mg/kg ทวนสอบความแม่นยำและความเที่ยง (Accuracy and Precision) โดยการเติมสารมาตรฐานลงในตัวอย่างมี % Recovery เท่ากับ 80–120% และ % RSD ไม่เกิน 20% มีการเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ร่วมกับสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร อยู่ในเกณฑ์ที่น่าพอใจ และมีการควบคุมคุณภาพภายใน ได้แก่ ทดสอบ Blank โดยใช้ 0.1% Acetic acid แทนตัวอย่าง การทำซ้ำ (Duplicate) และการเติมสารละลายมาตรฐานในตัวอย่างเพื่อหา % Recovery

การรายงานผล ดังนี้

ค่าที่วิเคราะห์ได้ต่ำกว่า LOD จะรายงานว่าไม่พบ

ค่าที่วิเคราะห์ได้ต่ำกว่า LOQ แต่สูงกว่าหรือเท่ากับ LOD จะรายงานว่าน้อยกว่า LOQ

ค่าที่วิเคราะห์ได้เท่ากับหรือสูงกว่า LOQ จะรายงานค่าที่ตรวจพบ

การวิเคราะห์ข้อมูล

คำนวณปริมาณ Free-FA ของหมึกจากกระบวนการทำหมึกกรอบ ตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงสิ้นสุดกระบวนการ (หมึกสด หมึกแห้ง และหมึกกรอบ) แล้วเปรียบเทียบปริมาณ Free-FA ที่ลดลง คำนวณร้อยละของปริมาณ Free-FA ที่ลดลงในแต่ละตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบปริมาณ Free-FA ของหมึกสดกับหมึกแห้ง และหมึกสดกับหมึกกรอบ โดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel

ผล

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ Free-FA จากกระบวนการหมักกรอบ โดยทำการตรวจวิเคราะห์ ปริมาณ Free-FA ของหมึกสด หมึกแห้ง และหมึกกรอบ ของการทดลองที่มีการเติมฟอร์มาลินในหมึกสดในระดับ ความเข้มข้น 0.37–0.74% และ 1.48–2.22% โดย น้ำหนัก โดยมีสถานะที่ 1 กลุ่มควบคุมที่ไม่มีการเติม ฟอร์มาลิน การแช่หมึกสดในฟอร์มาลินในถังโฟมที่มี

น้ำแข็งด้วยการจำลองวิธีเสมือนหมึกสดที่มีจำหน่ายใน ท้องตลาด ปริมาณ Free-FA ในหมึกจึงขึ้นอยู่กับ การดูดซับฟอร์มาลินที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติในระยะเวลา การแช่ที่เท่ากัน จึงแสดงปริมาณ Free-FA ของแต่ละ ตัวอย่างด้วยค่าเฉลี่ย

ผลการทดลองสถานะที่ 1 กลุ่มควบคุมที่ไม่เติม ฟอร์มาลิน ตรวจไม่พบ Free-FA ทั้งในหมึกสด หมึกแห้ง และหมึกกรอบ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณ Free-FA ของหมึกกลุ่มควบคุมที่ไม่เติมฟอร์มาลินทั้งในหมึกสด หมึกแห้ง และหมึกกรอบ

ตัวอย่างที่	ปริมาณ Free-FA (mg/kg)		
	หมึกสด	หมึกแห้ง	หมึกกรอบ
1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
2	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
3	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
4	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
5	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ

หมายเหตุ: LOD เท่ากับ 2.5 mg/kg

ผลการทดลองสถานะที่ 2 กระบวนการผลิต หมึกกรอบที่เติมฟอร์มาลินในหมึกสด 0.37–0.74% โดยน้ำหนัก พบปริมาณ Free-FA ในหมึกสด 174–508 หมึกแห้ง 9.1–87.0 และหมึกกรอบ 6.6–13.7 mg/kg ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2 และสถานะที่ 3

กระบวนการผลิตหมึกกรอบที่เติมฟอร์มาลินในหมึกสด 1.48–2.22% โดยน้ำหนัก พบปริมาณ Free-FA ในหมึก สด 397–1,975 หมึกแห้ง 38.8–196 และหมึกกรอบ 17.5–66.2 mg/kg ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 2 ปริมาณ Free-FA ของหมึกสด หมึกแห้ง และหมึกกรอบ เมื่อเติมฟอร์มาลินในหมึกสด 0.37 – 0.74% โดยน้ำหนัก

ตัวอย่างที่	ปริมาณ Free-FA (mg/kg)		
	หมึกสด	หมึกแห้ง	หมึกกรอบ
1	174	33.7	6.9
2	222	21.7	6.6
3	283	9.1	7.5
4	508	87.0	11.6
5	447	59.4	13.7
ค่าเฉลี่ย	326.8±144.5	42.2±31.2	9.3±3.2

ตารางที่ 3 ปริมาณ Free-FA ของหมึกสด หมึกแห้ง และหมึกกรอบ เมื่อเติมฟอร์มาลีนในหมึกสด 1.48–2.22% โดยน้ำหนัก

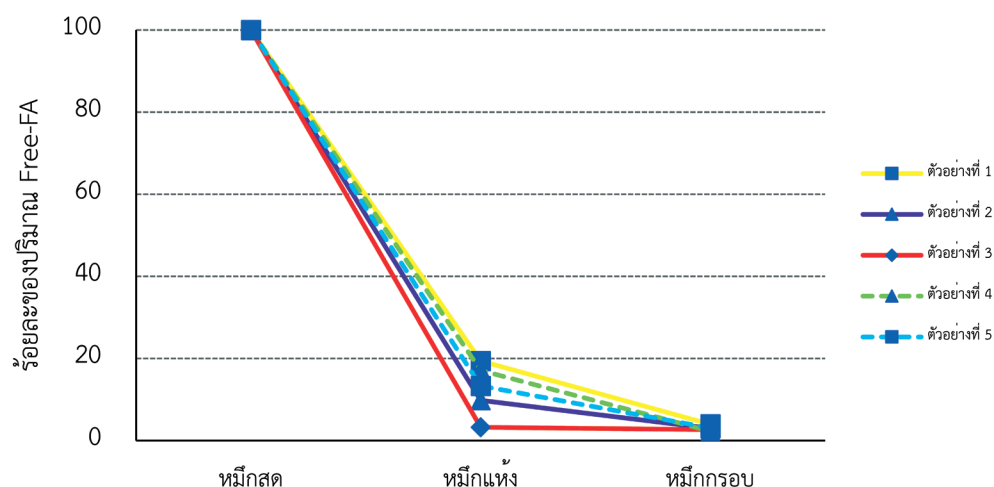
ตัวอย่างที่	ปริมาณ Free-FA (mg/kg)		
	หมึกสด	หมึกแห้ง	หมึกกรอบ
1	397	38.8	19.2
2	685	75.3	25.0
3	558	41.9	17.5
4	839	158	63.5
5	1,975	196	66.2
ค่าเฉลี่ย	890.8±627.5	102.0±71.2	38.3±24.4

เมื่อเปรียบเทียบ ร้อยละเฉลี่ยการลดลงของ ปริมาณ Free-FA ในหมึกสดกับหมึกแห้ง และหมึกสดกับ หมึกกรอบของกระบวนการที่เติมฟอร์มาลีนความเข้มข้น 0.37–0.74 % เท่ากับ 87.45 ± 6.38 และ 97.01 ± 0.63 ตามลำดับ และที่เติมฟอร์มาลีนความเข้มข้น 1.48–2.22% โดยน้ำหนัก เท่ากับ 88.59 ± 4.34 และ 95.49 ± 1.83 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4

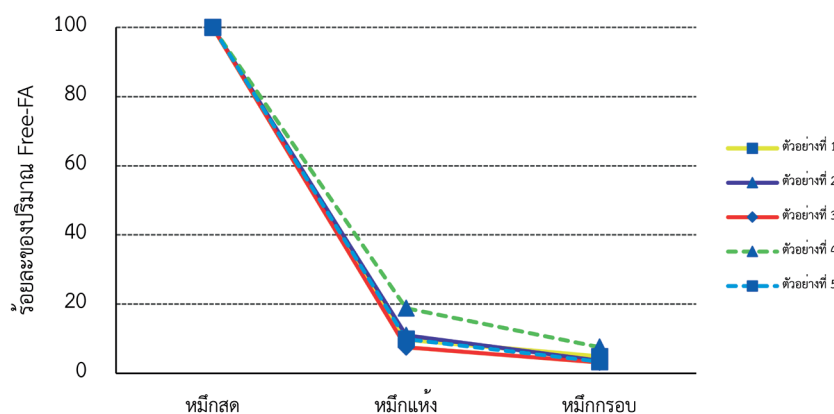
ตารางที่ 4 เปรียบเทียบร้อยละการลดลงของปริมาณ Free-FA ระหว่างหมึกสดเปรียบเทียบกับหมึกแห้ง และ หมึกสดเปรียบเทียบกับหมึกกรอบ เมื่อมีการเติมฟอร์มาลีนในหมึกสด

ความเข้มข้นของฟอร์มาลีนที่เติมในหมึกสด	ร้อยละเฉลี่ยการลดลงของปริมาณ Free-FA (n = 5)	
	หมึกสดเปรียบเทียบกับหมึกแห้ง	หมึกสดเปรียบเทียบกับหมึกกรอบ
0.37–0.74 %	87.45 ± 6.38	97.01 ± 0.63
1.48–2.22 %	88.59 ± 4.34	95.49 ± 1.83

นำข้อมูลร้อยละของปริมาณ Free-FA ที่ตรวจพบ มาสร้างเป็นภาพ พบว่าปริมาณ free-FA ของหมึกแห้ง และหมึกกรอบลดลงอย่างชัดเจนทั้ง 5 ครั้ง ดังแสดง ในภาพที่ 1 และ 2 ตามลำดับ



ภาพที่ 1 ร้อยละของปริมาณ Free-FA ที่ลดลง ระหว่างหมึกสดกับหมึกแห้ง และหมึกสดกับหมึกกรอบ เมื่อเติม ฟอร์มาลีนความเข้มข้น 0.37–0.74% โดยน้ำหนัก ในหมึกสด (n = 5)



ภาพที่ 2 ร้อยละของปริมาณ Free-FA ที่ลดลง ระหว่างหมักสดกับหมักแห้ง และหมักสดกับหมักกรอบ เมื่อเติมฟอร์มาลินความเข้มข้น 1.48–2.22% โดยน้ำหนัก ในหมักสด ($n = 5$)

วิจารณ์

กระบวนการทำหมักกรอบหรือหมักแช่ต่าง คือการนำหมักสดมาตากแดดเป็นหมักแห้ง แล้วนำหมักแห้งมาแช่ต่างเป็นหมักกรอบ การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาการผลิตหมักกรอบจากหมักสดที่จำลองสภาวะเสมือนที่จำหน่ายในท้องตลาด โดยแช่หมักสดในถังโพลีที่มีน้ำแข็งที่เติมฟอร์มาลิน และทำเป็นหมักแห้งโดยนำหมักสดตากแดด ในการเติมฟอร์มาลินลงในหมักสดในการศึกษานี้ได้เลือกระดับความเข้มข้นเป็น 2 ช่วง ซึ่งเป็นค่ากลางและค่าสูงที่ตรวจพบในหมักกรอบ จากข้อมูลการสำรวจอาหารกลุ่มเสี่ยงที่มีการปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์ ได้แก่ หมักสด หมักกรอบ และสับปะรด ในโครงการบูรณาการอาหารปลอดภัย ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2563 ของสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่พบ Free-FA ในปริมาณ 10.8–1,022 mg/kg ค่ามัธยฐาน 262 mg/kg จึงเลือกศึกษาโดยการเติมฟอร์มาลินในหมักสดที่ระดับความเข้มข้น 0.37–0.74% และความเข้มข้น 1.48–2.22% โดยน้ำหนัก โดยมีกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการเติมฟอร์มาลิน แต่ทำการทดลองทำซ้ำ 5 ครั้ง โดยมีระยะเวลาห่างกันประมาณ 1 เดือน ขึ้นอยู่กับโอกาสในการจัดหาตัวอย่างหมักสดและสภาพอากาศที่ใช้ในการตากหมักแห้ง จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ Free-FA จากกระบวนการทำหมักกรอบที่เติมฟอร์มาลินปริมาณที่ต่างกัน ในหมักสดก่อนทำหมักกรอบ ผลพบว่าร้อยละของปริมาณ Free-FA

ที่ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเริ่มต้นของหมักสดที่แช่ฟอร์มาลินความเข้มข้น 0.37–0.74% และ 1.48–2.22% ร้อยละเฉลี่ยการลดลงของปริมาณ Free-FA ในหมักสดเมื่อเปรียบเทียบกับหมักแห้ง และหมักสดเปรียบเทียบกับหมักกรอบ จากผลการศึกษาสอดคล้องกับคุณสมบัติของฟอร์มาลดีไฮด์ที่เป็นสารระเหยได้ง่ายและละลายน้ำได้ดี⁽¹⁾ เมื่อนำหมักสดมาตากแดดเป็นหมักแห้งแล้วนำหมักแห้งมาแช่ต่างเป็นหมักกรอบ จึงทำให้ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ลดลงได้

จากข้อมูลการสำรวจอาหารกลุ่มเสี่ยงที่มีการปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์ หมักกรอบ หมักสด โครงการบูรณาการอาหารปลอดภัย ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2563 ของสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร พบ Free-FA ในหมักกรอบปริมาณ 10.8–1,022 mg/kg ค่ามัธยฐาน 262 mg/kg และหมักสดที่พบ 7.27 mg/kg^(10,11) เป็นค่าที่สูงกว่าที่พบในธรรมชาติ เมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลจากการสำรวจปริมาณ Free-FA ในหมักและหมักหั่นฝอย (Shredded squid) ของ Yeh TS และคณะ⁽⁸⁾ พบปริมาณ Free-FA 10.4 และ 4.1–48.5 mg/kg ตามลำดับ และการศึกษาของ Zhang X และคณะ⁽¹³⁾ ที่ทำการศึกษารายการ Free-FA ในหมักตามฤดูกาล ระยะเวลา 12 เดือน พบปริมาณ Free-FA อยู่ในช่วง 1.51–36.8 mg/kg และข้อมูลจาก Risk Assessment Section Centre for Food Safety⁽¹⁴⁾ สรุปข้อมูลปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ที่เกิดจากธรรมชาติ

ของสัตว์ทะเลบางชนิด เช่น กุ้ง (shrimp) หมึก (squid) และ สัตว์น้ำที่มีเปลือกแข็ง (crustacean) พบฟอร์มาลดีไฮด์ 1.0–2.4, 1.8 และ 1.0–98 mg/kg ตามลำดับ เป็นต้น ในการศึกษาปริมาณ Free-FA ในกระบวนการผลิตหมึกกรอบ โดยเติมฟอร์มาลีนในปริมาณที่แตกต่างกันในหมึกสด แม้ว่าความเข้มข้นของ Free-FA ที่พบของตัวอย่างที่ศึกษา 5 ขั้ว จะมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับ การดูดซับฟอร์มาลีนของหมึก แต่ผลพบว่ากระบวนการผลิตหมึกกรอบทำให้ปริมาณ Free-FA ลดลงมากกว่าร้อยละ 80 ดังนั้นจากการศึกษาครั้งนี้เป็นข้อมูลที่สนับสนุนได้ว่า หากพบการปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์อิสระในหมึกกรอบ เกิดจากการเติมฟอร์มาลีนในหมึกสด ปริมาณสูงก่อนกระบวนการทำหมึกกรอบ หรืออาจเกิดจากการเติมภายหลังกระบวนการทำหมึกกรอบ ซึ่งควรทำการทดลองเพื่อพิสูจน์สมมุติฐานนี้ต่อไป ทั้งนี้การศึกษาครั้งนี้ ได้ทำการตรวจวิเคราะห์ Free-FA โดยไม่ได้ล้างหมึกก่อนตรวจวิเคราะห์ หากมีการล้างหมึกก่อนตรวจวิเคราะห์มีแนวโน้มทำให้ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ลดลงได้อีก จึงมีคำแนะนำเพิ่มเติมในการเฝ้าระวังการปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหารด้วยชุดทดสอบ หากมีการตรวจพบฟอร์มาลดีไฮด์ สามารถทดสอบซ้ำโดยการล้างตัวอย่างตามวิธีการของชุดทดสอบฟอร์มาลีนของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ หากพบฟอร์มาลีนในอาหาร สีของสารละลายที่ใช้ทดสอบจะเป็นสีชมพู และความเข้มของสีจะแปรผันตรงกับปริมาณฟอร์มาลีน สามารถสรุปเบื้องต้นว่าเกิดจากการเติมฟอร์มาลีนในอาหารดังกล่าว เพื่อหลีกเลี่ยงอันตรายจากการใช้ฟอร์มาลีน จึงแนะนำให้ผู้ผลิตหรือผู้ขายใช้น้ำแข็งในการรักษาสภาพ หรือใส่ในตู้เย็นเพื่อรักษาสภาพของหมึกกรอบในระหว่างจำหน่ายแทนการใช้ฟอร์มาลีน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ อติศรา ตันตสุทธิกุล⁽¹⁵⁾ ที่พบว่าสามารถเก็บรักษาหมึกกล้วยได้ 6 วัน ด้วยวิธีการแช่ในน้ำแข็ง และการศึกษาของ Bianchi F และคณะ⁽¹⁶⁾ ที่พบว่า การเก็บปลาทะเลในน้ำแข็งสามารถลดการเกิดฟอร์มาลดีไฮด์ได้ ส่วนผู้บริโภคแนะนำให้ล้างหมึกสดและหมึกกรอบด้วยน้ำสะอาดก่อนนำไปปรุงอาหารจะทำให้ลดการปนเปื้อนของฟอร์มาลดีไฮด์ได้

สรุป

การศึกษาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์อิสระ ในกระบวนการผลิตหมึกกรอบ โดยเติมฟอร์มาลีนในปริมาณที่แตกต่างกันในหมึกสด ผลพบว่ากระบวนการผลิตหมึกกรอบทำให้ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์อิสระลดลงมากกว่าร้อยละ 80 ดังนั้นจากการศึกษาครั้งนี้เป็นข้อมูลสนับสนุนได้ว่า หากพบการปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์อิสระในหมึกกรอบจะเกิดจากการเติมฟอร์มาลีนในหมึกสด ปริมาณสูงก่อนกระบวนการผลิตหมึกกรอบ หรือเติมภายหลังกระบวนการผลิตหมึกกรอบ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ผู้อำนวยการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 สุราษฎร์ธานี กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ให้การสนับสนุนการศึกษาครั้งนี้ และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการอาหาร ที่ให้ความร่วมมือในการดำเนินการศึกษาครั้งนี้จนบรรลุผลสำเร็จด้วยดี และขอบคุณ สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ผู้ถ่ายทอดวิธีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์อิสระ และนางสาวพนาวลัย กลิ่งกลางตอน สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ให้คำปรึกษาด้านวิชาการตลอดการศึกษา

เอกสารอ้างอิง

1. Liteplo RG, Beauchamp R, Meek ME, Chénier R. Formaldehyde: concise international chemical assessment document 40. Geneva: World Health Organization; 2002.
2. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 391 (พ.ศ. 2561) ออกตามความในพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 เรื่อง กำหนดอาหารที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือจำหน่าย. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 135 ตอนพิเศษ 237 ง (วันที่ 25 กันยายน 2561). หน้า 18.
3. International Agency for Research on Cancer. Formaldehyde, 2-butoxyethanol and 1-tert-butoxypropan-2-ol. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 2006; 88: 39–325.

4. United States Environmental Protection Agency. Formaldehyde. [online]; [cited 2024 Feb 19]; [16 screens]. Available from: URL: https://iris.epa.gov/ChemicalLanding/&substance_nmbr=419.
5. Nowshad F, Islam MN, Khan MS. Concentration and formation behavior of naturally occurring formaldehyde in foods. *Agric Food Secur* 2018; 7: 17. (8 pages).
6. Ariyani F, Anissah U, Januar HI, Barokah GR, Putri AK. The effect of formaldehyde addition on the distribution of trimethylamine oxide (TMAO) and trimethylamine (TMA) in marine and freshwater fish organs. *AIP Conf Proc* 2022; 2553, 0200061-5.
7. วนิดา ยุธยาติ, วันวิสา สนิทเชื้อ. ฟอรัมาลดีไฮด์ในอาหาร. *ว พืชวิทยาไทย* 2560; 32(1): 53-66.
8. Yeh TS, Lin TC, Chen CC, Wen HM. Analysis of free and bound formaldehyde in squid products by gas-chromatography-mass spectrometry. *J Food Drug Anal* 2013; 21: 190-7.
9. สำนักส่งเสริมและสนับสนุนอาหารปลอดภัย สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข. รายงานสถานการณ์ความปลอดภัยของอาหาร ปีงบประมาณ 2563. [ออนไลน์]. 2563; [สืบค้น 24 พ.ย. 2567]; [121 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <https://foodsafety.moph.go.th/main/?p=list&sec=37&detail=1010>.
10. นิตยา สุวรรณโพธิ์, วนิดา ยุธยาติ, วรพงศ์ พรหมณา, วันวิสา สนิทเชื้อ. การสำรวจฟอรัมาลดีไฮด์อิสระในหมึกสด หมึกแช่ต่าง และสไปนาง. ใน: เอกสารประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์การแพทย์ ครั้งที่ 29. นนทบุรี: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2564.
11. สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. รายงานสรุปผลการดำเนินงานโครงการบูรณาการอาหารปลอดภัย (Food Safety) ประจำปีงบประมาณ 2563. [ออนไลน์]. 2563; [สืบค้น 13 มี.ค. 2568]; [207 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: http://bqsf.dmsc.moph.go.th/bqsfWeb/index.php/sdm_downloads/food_safety_report_2563.
12. สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. ฟอรัมาลดีไฮด์ในอาหาร. [ออนไลน์]. 2561; [สืบค้น 24 พ.ย. 2567]; [48 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <http://bqsf.dmsc.moph.go.th/bqsfWeb/index.php/formaldehyde-in-food>.
13. Zhang X, Kong C, Yu Tang Y, Ling Fang C, Yun Huang X, Yi Lou X, et al. Seasonal variation of background formaldehyde content in large squid from scientific research research vessel. *IOP Conf Ser: Earth Environ Sci* 2020; 461: 012059. (4 pages).
14. The Government of the Hong Kong Special Administrative Region. Formaldehyde in food. [online]. 2017; [cited 2024 Feb 17]; [6 screens]. Available from: URL: https://www.cfs.gov.hk/english/programme/programme_rafs/programme_rafs_fa_02_09.html.
15. อติศรา ตันตสุทธิกุล. การศึกษาดัชนีคุณภาพของหมึกกล้วย และหมึกกระดองระหว่างการเก็บรักษาโดยการแช่ในน้ำแข็ง และการเยือกแข็ง [วิทยานิพนธ์]. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร. สงขลา: มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์; 2553.
16. Bianchi F, Careri M, Musci M, Mangia A. Fish and food safety: determination of formaldehyde in 12 fish species by SPME extraction and GC-MS analysis. *Food Chem* 2007; 100(3): 1049-53.

Study of Free Formaldehyde Content in Pickled Squid Production Process

Nirundorn Raekasin, Janya Bunwichit, and Kheamikar Hemloha

Regional Medical Sciences Center 11 Surat Thani, Department of Medical Sciences, Muang District, Surat Thani 84100, Thailand

ABSTRACT Formaldehyde, also known as formalin, is classified as a human carcinogen and is prohibited in food products. This prohibition is outlined in Notification of the Ministry of Public Health (No. 391) B.E. 2561 (2018), which specifies prohibited foods from production, importation, or sale. In marine animals, such as squid, free formaldehyde (Free-FA) may be present due to natural spoilage or intentional addition, often to prevent spoilage during transportation and the production process. A study was conducted to determine Free-FA content in pickled squids, which is a high-risk food with high Free-FA. This involved examining whether the pickled squids' production process, Free-FA, increased or decreased by adding varying amounts of formalin to the fresh squid before pickling. Free-FA contents in fresh squids, dried squids, and pickled squids were analyzed using the HPLC technique in two sets of studies. The results showed that the Free-FA content in dried and pickled squids was reduced by over 80% and 90%, respectively, compared to fresh squids across all treatment conditions. This reduction was attributed to the squid pickling process, which included drying and alkali immersion, promoting formalin evaporation and dissolution. In conclusion, the presence of Free-FA in pickled squids was likely due to the intentional addition of formalin to fresh squids or soaking water during distribution. To minimize formaldehyde exposure, traders are advised to use ice instead of formalin for soaking squids, and consumers are advised to rinse squids with water before cooking.

Keywords: Free formaldehyde, Dried squid, Pickled squid