

การตรวจสอบย้อมสี Basic Yellow 2 (BY2) และการตรวจคัดกรองสารปนเปื้อนในทุเรียนด้วยเทคนิค LC-MS

ผู้จัดทำ : นิรมล จิตต์สมหมาย, จิตนภา วรณติกุล, สิริรัตน์ สิทธิรัตนตรีกุล

บทนำ

ในช่วงต้นปี พ.ศ. 2568 ทุเรียนไทยส่งออกจำนวนมาก ได้ถูกตีกลับจากประเทศจีน เนื่องจากถูกตรวจพบสารย้อมสีก่อมะเร็ง Basic Yellow 2 (BY2) จึงส่งผลกระทบต่อความเชื่อมั่นของผู้บริโภคต่อทุเรียนส่งออกจากไทย ด้วยเหตุนี้กรมวิชาการเกษตร จึงได้ออกประกาศมาตรการควบคุมการปนเปื้อนสารต้องห้ามในทุเรียนผลสดส่งออกไปยังสาธารณรัฐประชาชนจีน พ.ศ. 2568 โดยมีเนื้อหาระบุว่าหากตรวจพบการใช้ BY2 ในทุเรียนผลสดจะถูกระงับการส่งออกและนำไปสู่การยกเลิกหนังสือสำคัญแสดงการขึ้นทะเบียนโรงงานผลิตสินค้าพืชได้^[1]

Basic Yellow 2, BY2 หรือ Auramine O เป็นสารสังเคราะห์ที่ถูกใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมเพื่อใช้ย้อมวัสดุต่างๆให้มีสีเหลืองสด ซึ่ง BY2 ได้ถูกจัดเป็นสารห้ามใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร เนื่องจากเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค และจัดอยู่ในกลุ่มสารก่อมะเร็ง อย่างไรก็ตาม ผู้ค้าทุเรียนบางรายได้นำสารดังกล่าวมาใช้ในการย้อมสีทุเรียนให้มีสีสันเพื่อเพิ่มความน่ารับประทาน ด้วยเหตุนี้จึงมีข้อกำหนดและบทลงโทษอย่างเข้มงวดในหลายประเทศ ต่อการนำสีดังกล่าวมาใช้ในการย้อมสีอาหาร โดยประเทศจีนได้สั่งห้ามใช้ BY2 ในอาหารตั้งแต่ปี 2551 ซึ่งการตรวจพบ BY2 ในทุเรียนส่งออกไทยดังกล่าว ส่งผลให้ทางการประเทศจีนมีการออกข้อกำหนดว่า ทุเรียนทุกล็อตที่ส่งออกไปยังประเทศจีนต้องมีใบรับรองการตรวจสอบว่าไม่มีสาร BY2^[2] และสำหรับประเทศไทย กรมวิชาการเกษตรมีข้อกำหนดในการออกใบรับรองทุเรียนส่งออกคือ ต้องตรวจไม่พบสาร BY2 จากห้องปฏิบัติการที่ได้รับการยอมรับความสามารถซึ่งมีค่า LOQ ของการตรวจวิเคราะห์ไม่เกิน 2 µg/kg^[3]

เครื่องมือที่ใช้สำหรับการตรวจวิเคราะห์สาร BY2 คือ เครื่องมือในกลุ่ม Liquid chromatograph – mass spectrometer (LC-MS) ซึ่งใช้คุณสมบัติของเครื่อง Liquid chromatograph (LC) ในการแยกสารประกอบในตัวอย่างทุเรียนสกัดออกจากกัน และใช้ Mass spectrometer (MS) ในการตรวจวัดสัญญาณจากค่ามวลต่อประจุที่จำเพาะต่อสารดังกล่าว เนื่องจาก BY2 เป็นสาร

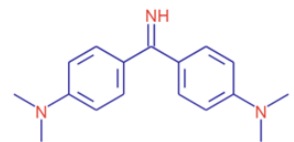
ปนเปื้อนที่จำเป็นต้องตรวจวัดที่ความเข้มข้นต่ำถึงระดับไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (µg/kg) ภายใต้สารประกอบอื่นๆจำนวนมากในทุเรียน ชนิดของเครื่อง MS ที่ใช้จึงจำเป็นต้องเป็นชนิดที่มีความไวในการวิเคราะห์ควบคู่กันมีความจำเพาะสูง

ในแง่ของการวิเคราะห์เชิงปริมาณชนิดของ MS ที่ได้รับความนิยมและใช้กันอย่างแพร่หลาย คือ triple quadrupole MS ซึ่งมีความจำเพาะสูงจากการตรวจวัดมวลต่อประจุ ในรูปแบบของ mass transition ในขณะที่ Q-Orbitrap MS เป็น MS ชนิดความละเอียดสูง (high resolution mass spectrometer) ที่สามารถอ่านค่ามวลต่อประจุของสารได้ละเอียดถึงระดับทศนิยม ส่งผลให้มีความจำเพาะและสามารถทำงานด้านปริมาณวิเคราะห์ได้เป็นอย่างดี ประสิทธิภาพเช่นเดียวกัน นอกจากนี้คุณสมบัติดังกล่าวยังส่งผลให้ Q-Orbitrap MS สามารถทำงานเพื่อระบุและยืนยันชนิดของสารซึ่งสามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพได้ เช่น การตรวจคัดกรองแบบไม่เจาะจงชนิดสาร (Untargeted screening) เพื่อหาสารอันตรายอื่นๆในตัวอย่างนอกเหนือจาก BY2 เป็นต้น ในปัจจุบัน Q-Orbitrap MS จึงเป็นเครื่องมือที่นิยมสำหรับห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์ขั้นสูง เพื่อรับรองความปลอดภัยทางอาหาร (food safety)

เอกสารฉบับนี้จึงเสนอวิธีตรวจวิเคราะห์สาร BY2 จากเครื่อง LC-MS ทั้งสองชนิดและการตรวจคัดกรองสารปนเปื้อนในตัวอย่างทุเรียนสกัดด้วยเครื่อง LC-Q-Orbitrap MS



รูปที่ 1 รูปสารประกอบ BY2



รูปที่ 2 รูปสูตรโครงสร้างสารประกอบ BY2 (Chemical formula: C₁₇H₂₁N₃)

เครื่องมือและวิธีการวิเคราะห์

Liquid Chromatography (LC): Thermo Scientific™ Vanquish Flex™

UHPLC คอลัมน์: Hypersil GOLD, 1.9 µm 100 x 2.1 mm
Mass Spectrometry (MS):

- Targeted Quantitation: สำหรับการใช้ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ จะใช้เครื่อง MS รุ่น Thermo Scientific™ TSQ Plus™, Triple quadrupole MS หรือ Thermo Scientific™ Orbitrap Exploris™, Q-Orbitrap MS
- Untargeted Screening: สำหรับการตรวจคัดกรองแบบไม่เจาะจงชนิดสารจะใช้เครื่อง MS รุ่น Thermo Scientific™ Orbitrap Exploris™, Q-Orbitrap MS

เตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างถูกเตรียมโดยใช้กระบวนการที่เหมาะสมเพื่อให้ได้สารสกัดที่มีความบริสุทธิ์สูงและเพื่อให้สอดคล้องกับข้อกำหนดของเครื่อง LC-MS/MS (รูปที่ 3)

LC Condition

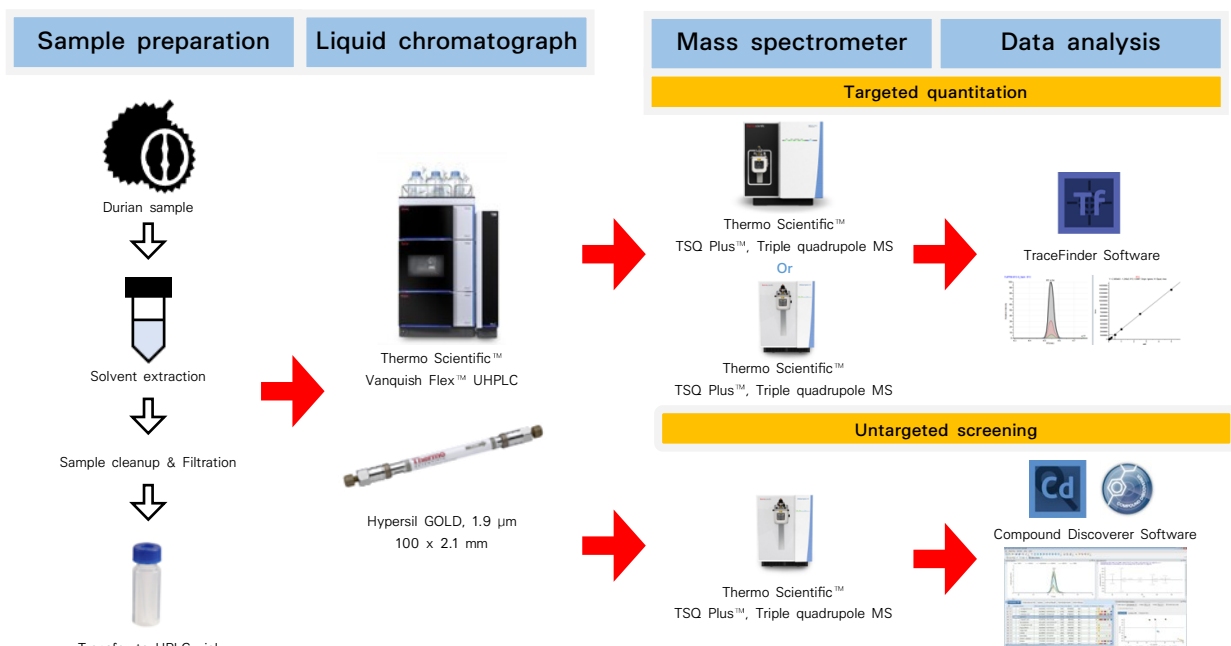
Column temperature	50 °C
Flow rate	0.3 ml/min
Injection volume	5 µL
Mobile phase	A: 0.1% formic acid in water B: 0.1% formic acid in acetonitrile

MS condition

	Targeted quantitation		Untargeted screening
Instrument	Triple Quadrupole MS	Q-Orbitrap MS	Q-Orbitrap MS
Ion source type	H-ESI	H-ESI	H-ESI
Spray voltage	4800 V	4800 V	4800 V
Polarity	Positive	Positive	Positive & Negative
Data acquisition mode	Selected reaction monitoring (SRM)	Full MS Scan + Product ion scan (PI)	Full/ddms2

ข้อมูลสาร Basic Yellow 2 สำหรับการตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Targeted quantitation)

	Targeted quantitation		Untargeted screening	
	RT	m/z	RT	m/z
Target peak	4.61	268 > 147	4.56	268.1808
Confirming peak 1	4.61	268 > 122	4.56	268.1808 > 147.0917
Confirming peak 2	-	-	4.56	268.1808 > 122.0964

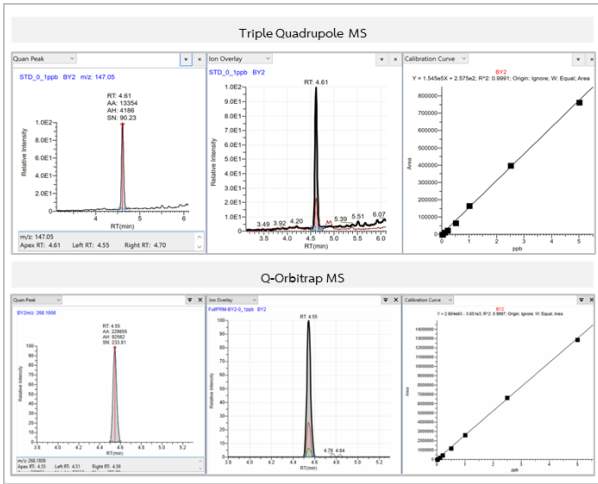


รูปที่ 3 แผนภาพแสดงภาพรวมขั้นตอนการวิเคราะห์สารปนเปื้อนในตัวอย่างทุเรียน

ผลการวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Targeted quantitation) ของสาร BY2 ในทุเรียน

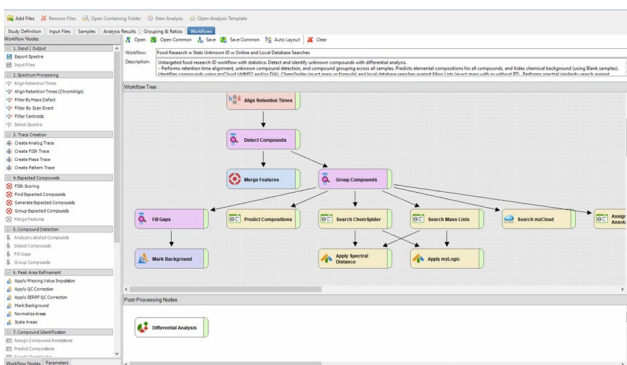
วิธีวิเคราะห์สาร BY2 ด้วยเครื่อง LC-Triple Quadrupole MS และ LC-Q-Orbitrap MS ที่พัฒนาขึ้นมีความจำเพาะและความไวในการวิเคราะห์สูงโดยสามารถวิเคราะห์ BY2 ได้ต่ำถึงระดับ sub-ppb และให้ค่าความเป็นเส้นตรงในช่วง 0.02-5 ppb (รูปที่ 4) ซึ่งเป็นระดับที่รองรับการตรวจวัดสาร BY2 ตามข้อกำหนดของกรมวิชาการเกษตร



รูปที่ 4 Extracted ion chromatogram (XIC), Ion overlay chromatogram ของการวิเคราะห์สาร BY2 ความเข้มข้น 0.1 ppb ในตัวอย่างทุเรียนสกัด และ calibration curve ของสาร BY2 ในช่วงความเข้มข้น 0.02-5 ppb ด้วยเครื่อง LC-Triple Quadrupole MS (บน) และ LC-Q-Orbitrap MS (ล่าง)

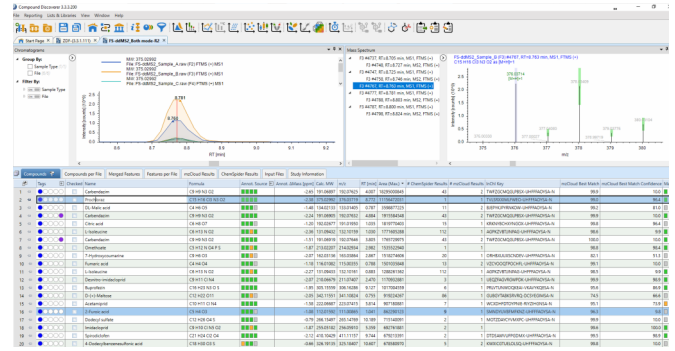
2. การตรวจคัดกรองแบบไม่เจาะจงชนิดสาร (Untargeted screening) เพื่อตรวจสอบสารปนเปื้อนในทุเรียน

ตัวอย่างทุเรียนสกัดได้ถูกนำมาตรวจคัดกรองเพื่อหาสารปนเปื้อนอื่นๆ โดยใช้โหมดการวิเคราะห์แบบ Full/ddms2 คู่กับการประมวลผลบนโปรแกรม Compound Discoverer โดยผู้ใช้งานสามารถออกแบบ workflow และเลือกฐานข้อมูลให้สอดคล้องกับกลุ่มสารที่ต้องการตรวจคัดกรองได้ (รูปที่ 5) โดยซอฟต์แวร์สามารถคำนวณหาสูตรทางเคมี (chemical formula) จากค่ามวลต่อประจุ ยืนยันสูตรทางเคมีจากรูปแบบไอโซโทปที่ตรวจพบ (fine isotopic pattern) และระบุชนิดสารจากการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลทั้งออนไลน์และออฟไลน์



รูปที่ 5 ตัวอย่าง workflow การประมวลผลด้วย Compound Discoverer software

โดยตัวอย่างทุเรียนที่นำมาทดสอบได้ถูกตรวจพบสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่มักใช้ในภาคเกษตรกรรม อาทิ เช่น prochloraz, carbofuran, carbendazim, acetamiprid เป็นต้น (รูปที่ 6) ซึ่งสามารถนำรายการสารประกอบเหล่านี้ไปใช้เป็นข้อมูลในการตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณในขั้นถัดไป เพื่อตรวจสอบว่าสารดังกล่าวมีการปนเปื้อนเกินระดับที่มาตรฐานกำหนดหรือไม่ หรือสามารถนำข้อมูลดังกล่าวมาใช้ในการศึกษาวิจัยในรูปแบบ comparative study ได้ เช่น ศึกษาสารปนเปื้อนตกค้างของทุเรียนจากแต่ละพื้นที่เพาะปลูก เป็นต้น



รูปที่ 6 ตัวอย่างผลการวิเคราะห์เพื่อตรวจคัดกรองสารปนเปื้อนอื่นด้วย Compound Discoverer software

นอกเหนือจากงานตรวจสอบความปลอดภัยของอาหารและสารปนเปื้อนแล้ว workflow สำหรับงาน untargeted screening นี้ยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับงานวิจัยที่หลากหลาย เช่น การตรวจสอบอาหารปลอมปน การศึกษาคุณภาพของอาหารในขั้นตอนการเพาะปลูกหรือแปรรูป การศึกษาความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ การศึกษาปฏิกิริยาทางเคมีที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการผลิตอาหาร เป็นต้น

สรุป

เครื่อง LC-Triple Quadrupole MS และ LC-Q-Orbitrap MS เป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพในการตรวจวิเคราะห์สารย้อมสี BY2 ในตัวอย่างทุเรียน โดยสามารถตรวจวิเคราะห์ได้ในระดับความเข้มข้นต่ำตามมาตรฐานกำหนด อีกทั้งเครื่อง LC-Q-Orbitrap MS ยังถูกนำมาใช้ในการตรวจสอบหาสารปนเปื้อนตกค้างอื่นๆในตัวอย่างได้ซึ่งเป็นแนวทางสำคัญในการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์และเพิ่มระดับความปลอดภัยให้แก่ผู้บริโภค

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สำหรับการให้ข้อมูลสนับสนุนผลการทดสอบ ตลอดจนการจัดทำเอกสารฉบับนี้

เอกสารอ้างอิง

[1] กรมวิชาการเกษตร. (2568, 9 มกราคม). ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง มาตรการควบคุมการปนเปื้อนสารห้ามใช้ในทุเรียนผลสดส่งออกไปสาธารณรัฐประชาชนจีน พ.ศ. ๒๕๖๘.

[2] กรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ. (2568, 15 มกราคม). ศูนย์กรเงินยกระดับการตรวจสอบการนำเข้าทุเรียนอย่างเข้มงวด. <https://www.ditp.go.th/post/193286>

[3] กรมวิชาการเกษตร. (2568, 18 กุมภาพันธ์). รายชื่อห้องปฏิบัติการที่ได้รับการยอมรับความสามารถและรายชื่อผู้ส่งมอบตัวอย่างพืชควบคุมเฉพาะ. https://www.doa.go.th/psco/?page_id=5691

ติดตามแอปพลิเคชันอื่น ๆ ได้ที่ <https://www.scispec.co.th>



บริษัท ชายนี่ สเปค จำกัด
10 ซอยกาญจนาภิเษก ซอย 0010 แยกสอง
เขตบางแค กทม. 10160
โทร 02 454 8533



scispec



@scispec

thermo
scientific

Authorized Distributor

ISSUED: