

การเปรียบเทียบการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ในปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันและ  
ปฏิกิริยาเมลลาร์ด และวิเคราะห์ปริมาณในเครื่องดื่มชูกำลังและเครื่องดื่มเกลือแร่



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา  
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

ตุลาคม 2556

การเปรียบเทียบการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ในปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันและ  
ปฏิกิริยาเมลลาร์ด และวิเคราะห์ปริมาณในเครื่องดื่มชูกำลังและเครื่องดื่มเกลือแร่



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

ตุลาคม 2556

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

การเปรียบเทียบการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ในปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันและ  
ปฏิกิริยาเมลลาร์ด และวิเคราะห์ปริมาณในเครื่องดื่มชูกำลังและเครื่องดื่มเกลือแร่



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

ตุลาคม 2556

ยลรวี วิวัฒน์ชาญกิจ. (2556). การเปรียบเทียบการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ ในปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันและปฏิกิริยาเมลลาร์ด และวิเคราะห์ปริมาณในเครื่องต้ม ชูกำลัง และเครื่องต้มเกลือแร่. ปริญญาานิพนธ์. วท.ม. (เคมี). กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญาานิพนธ์: รองศาสตราจารย์ ดร.พรพิมล ม่วงไทย, ผู้ช่วยศาสตราจารย์ดร.มะยุไซยะ ภูโน.

ปฏิกิริยาการเกิดสารสีน้ำตาล ที่เกิดขึ้นในอุตสาหกรรมอาหาร เป็นปฏิกิริยาที่ทำให้อาหาร สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เช่น สี กลิ่น และรส และคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร สารไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์เป็นสารพิษชนิดหนึ่งที่ได้พบได้ในปฏิกิริยาการเกิดสารสีน้ำตาล โดยสารนี้สามารถเกิดได้จาก 2 ปฏิกิริยา คือ ปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน และปฏิกิริยาเมลลาร์ด สารไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์นี้ถูกระบุว่าเป็นสารชนิดหนึ่งที่มีผลให้เกิดโรคมะเร็งและเป็น สารพิษ งานวิจัยนี้จะทำการศึกษาการเปรียบเทียบการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดี ไฮด์จากปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันและปฏิกิริยาเมลลาร์ดด้วยระบบต้นแบบ ทั้งนี้ได้ทำการศึกษาหา สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ด้วยเทคนิค โคโรมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง นอกจากนี้ได้ศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อการเกิดสารไฮดรอกซี เมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในระบบต้นแบบ ได้แก่ ชนิดน้ำตาล ชนิดกรดอะมิโน อุณหภูมิ และเวลาที่ใช้ ความร้อนในระบบ สุดท้ายได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในเครื่องต้ม ชูกำลังและเครื่องต้มเกลือแร่ ผลการทดลองศึกษาหาวิธีที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณสาร ไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ คือ การใช้คอลัมน์ชนิดรีเวิร์สเฟส C18 และชะสารด้วยระบบวัฏภาค เคลื่อนที่ คือ น้ำ : อะซีโตไนไตรล์ ในอัตราส่วน 90:10 โดยปริมาตร ซึ่งควบคุมอัตราการไหลที่ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที และตรวจวัดด้วยตัวตรวจวัดชนิดไดโอดอาร์เรย์ที่มีความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร วิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ มีขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจพบได้และขีดจำกัดต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้อยู่ที่ 0.00036 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.0012 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ค่าร้อยละการคืนกลับอยู่ที่ 110.2 และ ร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ มีค่า 0.55 ผลการศึกษากการเกิดสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัล ดีไฮด์ในระบบต้นแบบ พบว่า สารไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์มีแนวโน้มที่เกิดจากปฏิกิริยา คาราเมลไลเซชันได้มากกว่าเกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดในทุกระบบต้นแบบ และผลการวิเคราะห์หา ปริมาณสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ที่มีในเครื่องต้มชูกำลังและเครื่องต้มเกลือแร่จำนวน 36 ตัวอย่าง พบว่า ในเครื่องต้มชูกำลังมีสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์อยู่ในช่วงประมาณ 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร จนถึง 5.54 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนในเครื่องต้มเกลือแร่อยู่ที่ประมาณ 0.00 มิลลิกรัม ต่อลิตร จนถึง 0.71 มิลลิกรัมต่อลิตร

COMPARISON OF HYDROXYMETHYLFURFURALDEHYDE FORMATION IN  
CARAMELLIZATION AND MAILLARD REACTIONS, AND ITS QUANTITATIVE ANALYSIS IN  
ENERGY DRINK AND ELECTROLYTIC BEVERAGE



Present in Partial Fulfillment of the Requirements for the  
Master of Science Degree in Chemistry  
at Srinakharinwirot University

October 2013

Yonrawee Wiwatchankit. (2013). *Comparison of hydroxymethylfurfuraldehyde formation in caramelization and maillard reactions, and its quantitative analysis in energy drink and electrolytic beverage*. Master thesis. M.Sc. (Chemistry). Bangkok: Graduate School, Srinakharinwirot University. Advisor Committee: Associate Professor Dr. Pornpimol Muangthai and Assistant Professor Dr. Mayuso Kuno.

The browning reaction is one of the reactions in food industry which effect on the physical changes such as colors, flavours, taste and nutritional value in food. Hydroxymethylfurfuraldehyde (HMF) is one of toxic substance that found in browning reaction, this substance could be formed by two reactions as caramelization and Maillard reaction. HMF has been claimed to be a carcinogenic and toxic substance. The objective of this study was to compare the occurrence of hydroxymethylfurfuraldehyde from caramelization and Maillard reactions by model systems. The optimum condition for analysis of hydroxymethylfur- furaldehyde content was studied by high performance liquid chromatography. The factors such as sugar types, amino acid types, temperature and heating time that effect on the hydroxymethylfurfuraldehyde content in the systems were also studied. Finally, the hydroxymethylfurfuraldehyde content was determined in Energy drink and sports drink. The result for optimization studied showed that the hydroxymethylfurfuraldehyde could be analysed by reversed-phase liquid chromatography with a C18 column, eluated with the mixture water/acetonitrile (90:10, v/v) as the mobile phase solvent, controlled flow rate at 1.5 mL/min, detected by photodiode array detector (DAD) at 280 nm. The limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) were 0.00036 mg/L and 0.0012 mg/L, respectively. The percentage recovery was 110.2%. The relative standard deviation (%RSD) was 0.55%.The formation of hydroxymethylfurfuraldehyde in modeling system showed that hydroxymethylfurfuraldehyde trended to form from caramelization system more than from the Maillard reaction in all modeling systems. Then, the hydroxymethylfurfuraldehyde contents which were analysed in Energy drink and sports drink presented that hydroxymethylfurfuraldehyde contents in energy drink samples contained 0.03 to 6 mg/L, while in electrolytic beverage samples contained hydroxymethyl furfuraldehyde between 0.00 to 0.71mg/L.

ปริญญาานิพนธ์

เรื่อง

การเปรียบเทียบการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ในปฏิกิริยาการเมลไลเซชันและ  
ปฏิกิริยาเมลลาร์ด และวิเคราะห์ปริมาณในเครื่องดื่มชูกำลังและเครื่องดื่มเกลือแร่ของ  
ยลรวี วิวัฒน์ชาญกิจ

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.สมชาย สันติวัฒนกุล)

วันที่..... เดือน..... พ.ศ. 2556

อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญาานิพนธ์

คณะกรรมการสอบปากเปล่า

..... ที่ปรึกษาหลัก

..... ประธาน

(รองศาสตราจารย์ ดร.พรพิมล ม่วงไทย)

(ดร.พัชรินทร์ ชัยสุวรรณ)

..... ที่ปรึกษาร่วม

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มะยูโซ๊ะ ภูโน)

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรุณศิริ ชิตางกูร)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.พรพิมล ม่วงไทย)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มะยูโซ๊ะ ภูโน)

## ประกาศคุณูปการ

ปริญญาานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดี เนื่องจากผู้วิจัยได้รับคำแนะนำ ความช่วยเหลือ ความอนุเคราะห์อย่างยิ่งจากคณาจารย์ภาควิชาเคมีหลายท่าน ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.พรพิมล ม่วงไทย ประธานควบคุมปริญญาานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มະຍູໄຮ ກູໂນ คณะกรรมการควบคุมปริญญาานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำชี้แนะ ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ตลอดจนการแก้ปัญหาอันเกิดจากการวิจัยและการเขียนปริญญาานิพนธ์นี้ แก่ผู้วิจัยเป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณ ดร.พัชรินทร์ ชัยสุวรรณ ที่ให้ความกรุณาในการเป็นประธานกรรมการในการสอบปากเปล่าปริญญาานิพนธ์ ตลอดจนให้คำแนะนำต่างๆ เพื่อให้ปริญญาานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรุณศิริ ชิตางกูร ที่ให้ความกรุณาในการเป็นกรรมการในการสอบปากเปล่าปริญญาานิพนธ์ และขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาเคมีทุกท่านที่ได้ถ่ายทอดความรู้และให้ความเมตตาเอาใจใส่แก่ผู้วิจัยด้วยดีเสมอมา

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒที่ให้ทุนสนับสนุนการทำปริญญาานิพนธ์สำหรับนิสิตในระดับบัณฑิตศึกษาจากงบประมาณเงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์ ประจำปี พ.ศ. 2556 และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาเคมี ที่ให้คำแนะนำ ช่วยเหลืออำนวยความสะดวกแก่ผู้วิจัยตลอดการศึกษา ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาของทุกท่านเป็นอย่างยิ่ง

ผู้วิจัยขอโน้มรำลึกถึงพระคุณบิดา มารดา และญาติสนิททุกท่านที่ได้ อบรมเลี้ยงดูและให้การสนับสนุนในด้านการศึกษาแก่ผู้วิจัยตลอดมา และขอบพระคุณ อาจารย์ รวมถึงผู้ที่มีพระคุณทั้งหลายที่มีได้เอ่ยนามมา ณ ที่นี้ ที่มีส่วนช่วยให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้

ยลรวี วิวัฒน์ชาญกิจ



# สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ.....	1
ภูมิหลัง.....	1
ความมุ่งหมายของการวิจัย.....	3
ความสำคัญของงานวิจัย.....	3
ขอบเขตของการวิจัย.....	3
ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย.....	4
อภิธานศัพท์เฉพาะ.....	4
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
เครื่องตีพิมพ์กำลังและเครื่องตีพิมพ์เคลื่อนที่.....	5
ปฏิกิริยาการเกิดสารสีน้ำตาล.....	10
สารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์.....	16
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	20
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	27
อุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมี.....	27
วิธีดำเนินการวิจัย.....	29
ตอนที่ 1 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของอัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่ใน ระบบการวัดแบบโดยตรง.....	29
ตอนที่ 2 ศึกษาการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ในระบบ ต้นแบบของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน.....	30
ตอนที่ 3 ศึกษาการเกิดไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ในระบบต้นแบบ ของ ปฏิกิริยาเมลลาร์ด.....	32
ตอนที่ 4 การศึกษาหาปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ในตัวอย่าง เครื่องตีพิมพ์กำลังและผงเกลือแร่ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลว สมรรถนะสูง .....	35

## สารบัญ(ต่อ)

บทที่	หน้า
<b>4 ผลการทดลอง</b> .....	37
ตอนที่ 1 ผลการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของอัตราส่วนของวัฏภาค เคลื่อนที่ในระบบการวัดแบบโดยตรง.....	37
ตอนที่ 2 ผลการศึกษาการเกิดไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในระบบ ต้นแบบ ของปฏิกิริยาการเมลลไคเซชัน.....	40
ตอนที่ 3 ผลการศึกษาการเกิดไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในระบบ ต้นแบบ ของปฏิกิริยาเมลลาร์ด.....	43
ตอนที่ 4 ผลการศึกษาหาปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในตัวอย่าง เครื่องดื่มชูกำลังและผงเกลือแร่ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลว สมรรถนะสูง.....	46
<b>5 สรุปผล อภิปรายผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ</b> .....	49
สรุปผลการวิจัย.....	49
อภิปรายผลการวิจัย.....	51
ตอนที่ 1 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของอัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่ใน ระบบการวัดแบบโดยตรง.....	51
ตอนที่ 2 ศึกษาการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในระบบ ต้นแบบ ของปฏิกิริยาการเมลลไคเซชัน.....	52
ตอนที่ 3 ศึกษาการเกิดไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในระบบต้นแบบ ของปฏิกิริยาเมลลาร์ด.....	59
ตอนที่ 4 การศึกษาหาปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในตัวอย่าง เครื่องดื่มชูกำลังและผงเกลือแร่ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลว สมรรถนะสูง .....	67

## สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
บรรณานุกรม .....	68
ภาคผนวก.....	75
ประวัติย่อผู้วิจัย.....	87



## บัญชีตาราง

ตาราง	หน้า
1 ปริมาณความเข้มข้นของเกลือแร่และน้ำตาลในสูตรตำรับ Oral Rehydration Salts (เมื่อละลายน้ำตามปริมาณที่กำหนดแล้ว).....	7
2 เปรียบเทียบความหวานของน้ำตาลชนิดต่างๆ.....	9
3 แสดงงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์สารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ ในอาหารตั้งแต่ปี ค.ศ. 1981 – 2007.....	19
4 แสดงระยะเวลาการคงอยู่ในคอแลกซ์ของสารละลายมาตรฐานไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ ณ สภาวะต่างๆ ของภูมิภาคเคลื่อนที่.....	38 42
5 ผลของอุณหภูมิในการให้ความร้อนแก่น้ำตาลของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน.....	42
6 ผลของเวลาในการให้ความร้อนแก่น้ำตาลของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน.....	43
7 ผลของชนิดกรดอะมิโนในปฏิกิริยาเมลลาร์ด.....	45
8 แสดงผลของอุณหภูมิในการให้ความร้อนแก่น้ำตาลของปฏิกิริยาเมลลาร์ด.....	46
9 ผลของเวลาในการให้ความร้อนแก่น้ำตาลของปฏิกิริยาเมลลาร์ด.....	

## บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 Co-transport coupling mechanism ของ Glucose และ Na <sup>+</sup> ผ่านผนังลำไส้เล็กสู่ กระแสเลือด.....	8
2 กลไกการเกิดสารสีน้ำตาลแบบใช้เอนไซม์.....	11
3 การเกิดสารสีน้ำตาลเนื่องจากปฏิกิริยาการเมลไลเซชัน.....	11
4 ปฏิกิริยาการเมลไลเซชันของน้ำตาล.....	13
5 แผนภาพการเกิด amadori compound.....	14
6 แผนภาพการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ด..	15
7 สูตรโครงสร้างสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์.....	16
8 แสดงกลไกการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์.....	18
9 โครมาโทแกรมการวิเคราะห์สารไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในตัวอย่างเครื่องดื่ม ชูกำลัง โดยใช้สภาวะที่ 3.....	39
10 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ โดยใช้สภาวะที่ 3... จนถึง 7 ppm.....	39
11 กราฟมาตรฐานของสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ช่วงความเข้มข้นที่ 0.001 จนถึง 7 ppm.....	40
12 เปรียบเทียบการเกิดสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ของน้ำตาล 3 ชนิดใน ปฏิกิริยาการเมลไลเซชัน.....	41
13 เปรียบเทียบการเกิดสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ของน้ำตาล 3 ชนิดใน ปฏิกิริยาเมลลาร์ด.....	44
14 แสดงโครมาโทแกรมของปริมาณสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในตัวอย่าง เครื่องดื่มชูกำลัง.....	47
15 แสดงปริมาณของสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในเครื่องดื่มชูกำลัง 16 ชนิด... .....	47
16 แสดงโครมาโทแกรมของปริมาณสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในตัวอย่างผง เกลือแร่.....	48
17 แสดงปริมาณของสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในตัวอย่างผงเกลือแร่ 20 ชนิด.. .....	48

## บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
18 โครงสร้างทางเคมีของน้ำตาลกลูโคส น้ำตาลฟรักโทส และน้ำตาลซูโครส.....	52
19 ปฏิริยาการเมลไลเซชันของน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรักโทส.....	53
20 ปริมาณการเกิดสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ในน้ำตาลฟรักโทสที่อุณหภูมิ ต่างๆ ในปฏิริยาการเมลไลเซชัน.....	54
21 ปริมาณการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ในน้ำตาลกลูโคสที่ อุณหภูมิต่างๆ ในปฏิริยาการเมลไลเซชัน.....	55
22 ปริมาณการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ในน้ำตาลฟรักโทสที่เวลา ต่างๆ ในปฏิริยาการเมลไลเซชัน.....	56
23 ปริมาณการเกิดสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ในน้ำตาลกลูโคสที่เวลาต่างๆ ใน ปฏิริยาการเมลไลเซชัน.....	58
24 โครงสร้างทางเคมีของกรดอะมิโน 3 ชนิด.....	59
25 เปรียบเทียบปริมาณการเกิด HMF ของกรดอะมิโนชนิดต่างๆในปฏิริยาเมลลาร์ด...	60
26 ปริมาณการเกิดสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ในน้ำตาลฟรักโทสที่อุณหภูมิ ต่างๆ ในปฏิริยาเมลลาร์ด.....	61
27 ปริมาณการเกิดสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ในน้ำตาลกลูโคสที่อุณหภูมิต่างๆ ในปฏิริยาเมลลาร์ด.....	62
28 ปริมาณการเกิดสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ในน้ำตาลฟรักโทสที่เวลาต่างๆ ใน ปฏิริยาเมลลาร์ด.....	63
29 ปริมาณการเกิดสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ในน้ำตาลกลูโคสที่เวลาต่างๆ ใน ปฏิริยาเมลลาร์ด.....	64
30 เปรียบเทียบปริมาณสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ในน้ำตาลฟรักโทสระหว่าง ปฏิริยาการเมลไลเซชันกับปฏิริยาเมลลาร์ด.....	66
31 เปรียบเทียบปริมาณสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ในน้ำตาลกลูโคสระหว่าง ปฏิริยาการเมลไลเซชันกับปฏิริยาเมลลาร์ด.....	66
32 โครมาโทแกรมสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ที่เกิดจากน้ำตาลฟรักโทส ที่อุณหภูมิ 80°C 30 นาที ในปฏิริยาการเมลไลเซชัน.....	77

## บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
33 โครมาโทแกรมสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ที่เกิดจากน้ำตาลกลูโคสที่อุณหภูมิ 80 °C 30 นาที ในปฏิริยาการเมลไลเซชัน.....	77
34 โครมาโทแกรมของน้ำตาลซูโครสที่อุณหภูมิ 80 °C 30 นาที ในปฏิริยาการเมลไลเซชัน.....	78
35 โครมาโทแกรมสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ที่เกิดจากน้ำตาลฟรักโทสทำปฏิริยากับกรดอะมิโนไลซีน ที่อุณหภูมิ 80 °C 30 นาที ในปฏิริยาเมลลาร์ด...	78
36 โครมาโทแกรมสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ที่เกิดจากน้ำตาลกลูโคสทำปฏิริยากับกรดอะมิโนไลซีน ที่อุณหภูมิ 80 °C 30 นาที ในปฏิริยาเมลลาร์ด...	79
37 โครมาโทแกรมของน้ำตาลซูโครสทำปฏิริยากับกรดอะมิโนไลซีน ที่อุณหภูมิ 80 °C 30 นาที ในปฏิริยาเมลลาร์ด.....	79
38 โครมาโทแกรมสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ที่เกิดจากน้ำตาลฟรักโทสทำปฏิริยากับกรดอะมิโนโพรลีนที่อุณหภูมิ 80 °C 30 นาที ในปฏิริยาเมลลาร์ด..	80
39 โครมาโทแกรมสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ที่เกิดจากน้ำตาลฟรักโทสทำปฏิริยากับกรดอะมิโนทริปโทเฟนที่อุณหภูมิ 80 °C 30 นาที ในปฏิริยาเมลลาร์ด.....	80
40 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง).....	82
41 เครื่องอังไอน้ำที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ใช้ในการให้ความร้อน.....	82
42 ตัวอย่างเครื่องมือชั่งก้ำดังที่ใช้ในงานวิจัย.....	83
43 ตัวอย่างผงเกลือแร่ที่ใช้ในงานวิจัย.....	83
44 แสดงการวัดค่าความสูงพีคัลสัญญาณการวิเคราะห์ (H) และความสูงของพีคสารรบกวน (h) โดยภาพบนจะเป็นของขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด และภาพล่างจะเป็นของขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ ตามลำดับ.....	86

# บทที่ 1

## บทนำ

### ภูมิหลัง

สีของผลิตภัณฑ์มีความสำคัญในกระบวนการผลิตอาหาร เนื่องจากสามารถบ่งบอกถึงคุณภาพของอาหาร อีกทั้งยังมีอิทธิพลต่อประสาทการรับรู้ของผู้บริโภคอาหารด้วย โดยสีที่พบในอาหารอาจมาจากการปรุงแต่งหรือเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ ซึ่งสีในอาหารที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาตินั้นมักจะเป็นสีในโทนเหลืองจนถึงน้ำตาลดำ นอกจากนี้สีน้ำตาลที่เกิดขึ้นยังอาจเป็นสีจากสารที่เกิดจากปฏิกิริยาทางเคมีขององค์ประกอบต่างๆ ในอาหาร โดยเฉพาะสารประกอบที่เป็นอนุพันธ์ของฟูแรน (furan) ของน้ำตาลเฮกโซสจะได้อนุพันธ์ของฟูแรนที่เรียกว่าสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ (5-hydroxymethyl-2-furaldehyde; HMF) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งชนิดหนึ่ง (Hodge. 1953) โดยสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ที่เกิดขึ้นนี้เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแบบไมไซเอนไซม์ ซึ่งสามารถเกิดได้จาก 2 กลไก คือ เกิดผ่านปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน (caramelization) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาของน้ำตาลได้รับความร้อนสูงจนทำให้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเปลี่ยนรูปไปเป็นพอลิเมอร์ของสารประกอบคาร์บอนได้เป็นสารสีน้ำตาล หรือเกิดผ่านปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวกับกรดอะมิโนของโปรตีนแล้วได้ผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในรูปของสารประกอบกลูโคส-เอมีนที่มีสีน้ำตาล (Fayle. 2002)

เครื่องดื่มชูกำลัง เป็นเครื่องดื่มชนิดหนึ่งที่มีสารคาเฟอีนที่สกัดมาจากใบของต้นโคคา (Coca) ผสมอยู่ในองค์ประกอบ โดยเมื่อบริโภคจะทำให้เกิดการกระตุ้นประสิทธิภาพทางร่างกายและทางระบบประสาท (Barry. 2013) ส่วนใหญ่แล้วเครื่องดื่มชูกำลังนิยมบริโภคในหมู่ผู้ใช้แรงงาน นักกีฬา และผู้ที่ร่างกายอ่อนล้าเนื่องจากทำงานอย่างหนัก เพื่อชดเชยพลังงานที่เสียไปจากการอ่อนล้าหลังจากทำงานเสร็จ และทำให้รู้สึกกระปรี้กระเปร่า กระฉับกระเฉง พร้อมกลับมาทำงานได้อีกครั้งหนึ่ง (Howard. 2010) องค์ประกอบส่วนใหญ่ในเครื่องดื่มชูกำลังจะมีส่วนผสมที่สำคัญคือ น้ำ (ร้อยละ 90) น้ำตาลชนิดต่างๆ (ส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลกลูโคส) วิตามินบี ทอรีน และ สารกลูโคไลแล็คโทน ผู้ผลิตบางรายจะใส่น้ำตาลในปริมาณที่สูงเพื่อช่วยเพิ่มพลังงานได้มากขึ้น บางรายก็มีการใส่กรดอะมิโนลงไปในการผลิต ทั้งนี้คาดว่าจะช่วยซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอจากการทำงานของร่างกาย แต่องค์ประกอบเด่นของเครื่องดื่มชูกำลังก็คือ คาเฟอีน ซึ่งพบมากเช่นเดียวกับที่พบในชาและกาแฟ โดยการควบคุมเครื่องดื่มชูกำลังในประเทศไทยตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 214 พ.ศ. 2543 กำหนดว่า “เครื่องดื่มชูกำลังมีส่วนผสมของคาเฟอีนไม่เกิน 50 มิลลิกรัมต่อขวด โดยถ้าเป็นส่วนผสมเพิ่มเติมจะต้องมีปริมาณไม่เกินที่กระทรวงสาธารณสุขประกาศ”



เครื่องต้มเกลือแร่หรือผงเกลือแร่ เป็นเครื่องต้มอีกชนิดหนึ่งที่นิยมบริโภคกันในหมู่นักกีฬา และผู้ใช้แรงงาน รวมทั้งผู้ป่วยที่มีการสูญเสีย น้ำ เหตุผลเพื่อทดแทนการเสียน้ำและเกลือแร่ของร่างกาย ในรูปของเหงื่อ นอกจากนี้ยังช่วยรักษาระดับของน้ำตาลในร่างกายนให้คงที่จากการออกกำลังกายมากเกินไปจนเกินขอบเขตของร่างกายที่จะรับได้ (Casa. 2000)( Sawka. 2007) องค์ประกอบส่วนใหญ่ใน เครื่องต้มเกลือแร่จะประกอบด้วย น้ำ ซึ่งมีอยู่ปริมาณร้อยละ 92% น้ำตาลประมาณร้อยละ 7% ซึ่งมัก ใช้ในรูปของน้ำตาลกลูโคส เดกซ์โทรสและซูโครส เป็นหลัก น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวช่วยให้ร่างกายดูดซึม ไปใช้ได้เร็วและทำให้สดชื่นขึ้นในกรณีที่ร่างกายต้องการพลังงาน องค์ประกอบอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งก็คือ อิเล็กโทรไลต์ (Electrolytes) ซึ่งหมายถึงธาตุที่อยู่ในสถานะมีประจุได้แก่ โซเดียมและโพแทสเซียม โดยปริมาณโซเดียมสูงกว่าโพแทสเซียมประมาณ 4-5 เท่า นอกจากนี้บางยี่ห้ออาจระบุว่ามีคลอไรด์เป็นส่วนประกอบด้วย

จะเห็นได้ว่า เครื่องต้มชูกำลังและเครื่องต้มเกลือแร่ต่างก็มีน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเป็นส่วนผสมหลัก ซึ่งน้ำตาลดังกล่าวจัดเป็นสารตั้งต้นหลักในกระบวนการเกิดสารสีน้ำตาลทั้งในรูปแบบของปฏิกิริยาการเมลไลเซชันและปฏิกิริยาเมลลาร์ดได้ทั้งสิ้น โดยผลการวิเคราะห์ปริมาณ สารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ ที่พบในเครื่องต้มชูกำลังและเครื่องต้มเกลือแร่นั้นยังไม่มี ผู้ใดศึกษามาก่อน มีเพียง Cunha S.C. และคณะในปี 2011 ที่ได้เคยได้รายงานปริมาณของสารประกอบ ไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ ที่พบในน้ำอัดลมและเบียร์ดำ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะ เปรียบเทียบการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในปฏิกิริยาการเมลไลเซชันและ ปฏิกิริยาเมลลาร์ด และวิเคราะห์ปริมาณในเครื่องต้มชูกำลังและเครื่องต้มเกลือแร่ ด้วยเทคนิค โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography; HPLC) เพื่อนำ ข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการควบคุมและป้องกันการเกิดปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ ในเครื่องต้มชูกำลัง เครื่องต้มเกลือแร่ และในผลิตภัณฑ์อื่นต่อไป

### ความมุ่งหมายของการวิจัย

1. เพื่อเปรียบเทียบอัตราการเกิดปฏิกิริยาสารสีน้ำตาลจากระบบต้นแบบของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันและปฏิกิริยาเมลลาร์ด
2. เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มชูกำลังและเครื่องดื่มเกลือแร่

### ความสำคัญของการวิจัย

1. เพื่อทราบถึงอัตราการเกิดปฏิกิริยาสารสีน้ำตาลจากระบบต้นแบบของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันและปฏิกิริยาเมลลาร์ด
2. เพื่อทราบถึงปัจจัยแปรผันที่มีผลต่อการเกิดสารสีน้ำตาลประเภทสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันและเมลลาร์ด
3. เพื่อทราบปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มชูกำลังและเครื่องดื่มเกลือแร่

### ขอบเขตของการวิจัย

1. ทำการทดลองศึกษาหาวิธีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในตัวอย่างด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง
2. ทดลองในระบบต้นแบบ 2 ระบบ ได้แก่ ระบบน้ำตาลอย่างเดียว และ ระบบน้ำตาลผสมกรดอะมิโน
3. น้ำตาลที่นำมาทดลองในระบบต้นแบบ ได้แก่ น้ำตาลซูโครส, กลูโคส และฟรักโทส กรดอะมิโนที่นำมาทดลองในระบบต้นแบบ ได้แก่ กรดอะมิโนไลซีน กรดอะมิโนโพรลีน และกรดอะมิโนทริปโทเฟน
4. การศึกษาปัจจัยอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนในระบบต้นแบบทำการทดลองแปรผัน อุณหภูมิที่ 30, 50, 60, 80 และ 100 องศาเซลเซียส และทำการแปรผันระยะเวลาในการให้ความร้อนที่ 5, 10, 30, 60, 80 นาที
5. ศึกษาหาปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในตัวอย่าง เครื่องดื่มชูกำลัง และเครื่องดื่มเกลือแร่

## ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

1. ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของอัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่ในระบบการวัดแบบโดยตรง
2. ศึกษาการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริพอร์ฟิรัลดีไฮด์ในระบบต้นแบบ ของปฏิกิริยา คาราเมลไลเซชัน
3. ศึกษาการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริพอร์ฟิรัลดีไฮด์ในระบบต้นแบบ ของปฏิกิริยา เมลลาร์ด
4. การศึกษาหาปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริพอร์ฟิรัลดีไฮด์ในตัวอย่างเครื่องดื่ม ชูกำลังและเครื่องดื่มเกลือแร่ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

## อภิธานศัพท์เฉพาะ

- **Browning reaction** หมายถึงปฏิกิริยาการเกิดสารสีน้ำตาลเกิดขึ้นได้ระหว่างการแปรรูป และเก็บรักษา
- **caramelization** หมายถึง ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (non enzymatic browning reaction) ซึ่งเกิดจากการสลายตัวของโมเลกุลน้ำตาลด้วยความร้อนสูง
- **Maillard reaction** หมายถึง ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล ชนิดที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ เกิดระหว่างน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) กับกรดอะมิโน โปรตีน หรือสารประกอบไนโตรเจนอื่นๆ โดยมีความร้อนเร่งปฏิกิริยา
- **Energy drink** หมายถึง เครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของสารคาเฟอีน เป็นเครื่องดื่มที่เน้นไปทางด้านการให้พลังงาน โดยส่วนใหญ่แล้วเครื่องดื่มชนิดนี้จะนิยมดื่มในหมู่ผู้ใช้แรงงาน และคนที่ทำงานหนักเนื่องจากเมื่อทำงานเสร็จร่างกายจะอ่อนเพลีย จึงต้องการพลังงานชดเชยกลับมา
- **Electrolytic drink** หมายถึง เครื่องดื่มเกลือแร่ เป็นเครื่องดื่มที่ใช้สำหรับการชดเชยน้ำที่ร่างกายสูญเสียไป โดยเฉพาะระหว่างการออกกำลังกาย ส่วนประกอบสำคัญในเครื่องดื่มชนิดนี้คือน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและเกลือแร่ต่างๆ

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการวิจัยครั้งนี้เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัล ดีไฮด์ในระบบต้นแบบและการประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณในเครื่องต้มเกลือแร่ โดยผู้วิจัยได้ศึกษาค้นคว้าเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และนำเสนอตามหัวข้อต่างๆ ดังต่อไปนี้

1. เครื่องต้มชุกำลังและเครื่องต้มเกลือแร่
2. ปฏิกริยาการเกิดสารสีน้ำตาล
3. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### เครื่องต้มชุกำลังและเครื่องต้มเกลือแร่

เครื่องต้มชุกำลัง เป็นเครื่องต้มชนิดหนึ่งที่มีสารคาเฟอีนที่สกัดมาจากใบของต้นโคคา (Coca) ผสมอยู่ในองค์ประกอบ โดยเครื่องต้มชนิดนี้ส่วนใหญ่เน้นไปทางด้านการกระตุ้นประสิทธิภาพทางร่างกายและทางระบบประสาท (Barry. 2006) โดยส่วนใหญ่เครื่องต้มชุกำลังนิยมบริโภคในหมู่ผู้ใช้แรงงาน นักกีฬา และผู้ที่ร่างกายอ่อนล้าเนื่องจากทำงานอย่างหนักที่ต้องการพลังงานชดเชยจากการอ่อนล้าหลังจากทำงานเสร็จ ทำให้รู้สึกกระปรี้กระเปร่า พร้อมกลับมาทำงานได้อีกครั้งหนึ่ง (Howard; & Marcz. 2010 : 553-61) ในช่วงแรกเครื่องต้มชุกำลังจะถูกใช้เฉพาะในโรงพยาบาลในประเทศอังกฤษเพื่อช่วยเหลือผู้ป่วยให้กลับมาแข็งแรงเหมือนเดิม จนถึงช่วงยุคทศวรรษที่ 80 จุดประสงค์ของการต้มเครื่องต้มชุกำลังเปลี่ยนไป กลายมาเป็น "ต้มเพื่อชดเชยพลังงานที่สูญเสียไป" (Fred. 2009) สำหรับในประเทศไทยนั้น เครื่องต้มชุกำลังถูกนำเข้ามาเป็นครั้งแรก เมื่อปี พ.ศ. 2520 ในชื่อยี่ห้อ ลิโพวิตัน-ดี และหลังจากนั้นเครื่องต้มชุกำลังจึงได้รับความนิยมอย่างมาก (อายุศม์ ปัญญา มงคล และคณะ. 2008) องค์ประกอบส่วนใหญ่ในเครื่องต้มชุกำลังจะมีส่วนผสมที่สำคัญคือ น้ำ (ร้อยละ 90) น้ำตาลชนิดต่างๆ (ส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลกลูโคส) วิตามินบี ทอรีน และสารกลูโคไล แล็คโทน บางยี่ห้อก็ใส่ส่วนผสมเพิ่มเติม เช่น แปะก๊วย โสม บางยี่ห้อก็จะใส่น้ำตาลในปริมาณที่สูงเพื่อช่วยเพิ่มพลังงานแก่ร่างกาย บางยี่ห้อก็มีการใส่กรดอะมิโนลงไปเพื่อซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอจากการทำงานของร่างกาย แต่องค์ประกอบที่สำคัญของเครื่องต้มชุกำลังก็คือ คาเฟอีน ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญที่พบเช่นเดียวกับในชาและกาแฟ โดยการควบคุมเครื่องต้มชุกำลังในประเทศไทยตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 214 พ.ศ. 2543 กำหนดว่า “เครื่องต้มชุกำลังมีส่วนผสมของคาเฟอีนไม่เกิน 50 มิลลิกรัมต่อขวด และถ้าเป็นส่วนผสมชนิดอื่นๆเพิ่มเติมจะต้องมีปริมาณไม่เกินที่กระทรวงสาธารณสุขประกาศ”

เครื่องดื่มเกลือแร่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย เพราะเป็นทางเลือกทางหนึ่งเพื่อชดเชยการสูญเสียน้ำจากร่างกายไป โดยเฉพาะการสูญเสียน้ำขณะออกกำลังกาย ซึ่งการออกกำลังกายจะมีความร้อนเกิดขึ้นมากจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ สูงถึงร้อยละ 75 ของสมรรถภาพร่างกาย จะมีความร้อนเกิดขึ้นประมาณ 1,000-1,500 กิโลแคลอรี ซึ่งความร้อนที่เกิดขึ้นต้องระบายออกจากร่างกายในรูปของเหงื่อโดยการระเหยของเหงื่อ 1 ลิตรจะสามารถระบายความร้อนประมาณ 580 กิโลแคลอรี ในการออกกำลังกายจะเสียเหงื่อมากถึง 1-2 ลิตรต่อชั่วโมง (รัตนวดี ณ นคร. 2537 : 153) และการเสียเหงื่อในแต่ละครั้งก็จะมีเกลือแร่และอิเล็กโทรไลต์ออกมาด้วย โดยเกลือแร่ส่วนใหญ่เป็นโซเดียมที่อยู่ในรูปของสารละลายที่มีความเข้มข้นประมาณหนึ่งในสามของโซเดียมในพลาสมา ส่วนการสูญเสียน้ำในร่างกายอีกทางหนึ่งเกิดจากอาการท้องเสีย ซึ่งผู้ป่วยภาวะนี้จะมีอาการถ่ายเหลวมากกว่าปกติ และวันละไม่ต่ำกว่า 3 ครั้ง อาการท้องเสียอาจเกิดได้บ่อยและเกิดจากสาเหตุหลายประการ ส่วนใหญ่อาการจะไม่รุนแรงนักและมักหายได้เอง แต่บางครั้งอันตรายของท้องเสียอาจรุนแรงเนื่องจากภาวะขาดน้ำและเกลือแร่ในปริมาณมาก โดยเฉพาะในเด็กและผู้สูงอายุจะได้รับผลกระทบมากกว่าวัยอื่นๆ ดังนั้นผู้ที่มีสูญเสียน้ำปริมาณมากๆ จึงมีความจำเป็นจะต้องได้รับการชดเชยน้ำและเกลือแร่

เครื่องดื่มเกลือแร่ หมายถึง เครื่องดื่มที่มีน้ำและเกลือแร่เป็นส่วนประกอบหลัก ซึ่งเครื่องดื่มเกลือแร่นี้หมายความรวมถึงเครื่องดื่มเกลือแร่ชนิดผงด้วย เป็นเครื่องดื่มที่ช่วยชดเชยการสูญเสียน้ำสามารถรักษาและป้องกันอาการขาดน้ำ และทดแทนเกลือแร่ที่ร่างกายสูญเสียไปจากการถ่ายท้องเสียหรือการออกกำลังกาย ซึ่งของเหลวที่สูญเสียไปคือน้ำมากถึงร้อยละ 99 และมีเกลือแร่อีกร้อยละ 1 (จิราวรรณ ภิรมย์ไกรภักดิ์. 2540 : 4) ส่วนประกอบของเครื่องดื่มเกลือแร่ตามข้อกำหนดขององค์การอาหารและยาคำหนดไว้ว่าเครื่องดื่มเกลือแร่ 1 ลิตร ประกอบด้วย แร่ธาตุดังนี้

1. โซเดียม ไม่น้อยกว่า 460 มิลลิกรัม และไม่เกิน 920 มิลลิกรัม
2. น้ำตาลกลูโคส หรือฟรักโทส ไม่น้อยกว่าร้อยละ 2 ของน้ำหนัก หรือซูโครส ไม่น้อยกว่าร้อยละ 4 ของน้ำหนัก
3. โพแทสเซียม ไม่เกิน 195 มิลลิกรัม (ถ้ามี)
4. ไบคาร์บอเนต หรือซิเตรท ไม่เกิน 793 มิลลิกรัม (ถ้ามี)

เครื่องดื่มเกลือแร่ นอกจากจะมีส่วนประกอบหลักตามข้อ 1 และ 2 แล้วอาจใช้เกลือแร่อื่นนอกจากข้อ 3 และ 4 หรือน้ำตาลอื่นๆ ให้ใช้ได้ ในปริมาณที่ได้รับความเห็นชอบจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข. 2543)

ผงเกลือแร่ (Oral Rehydration Salts : ORS) เหมาะกับผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วง เนื่องจากมีการสูญเสียน้ำและเกลือแร่อย่างมากทางอุจจาระ ดังนั้นผู้ป่วยจำเป็นต้องได้น้ำและเกลือแร่เข้าไปทดแทน ซึ่งความเข้มข้นของเกลือแร่และน้ำตาลต้องอยู่ในระดับที่เหมาะสม ในกรณีที่เกิดอาการอุจจาระร่วง

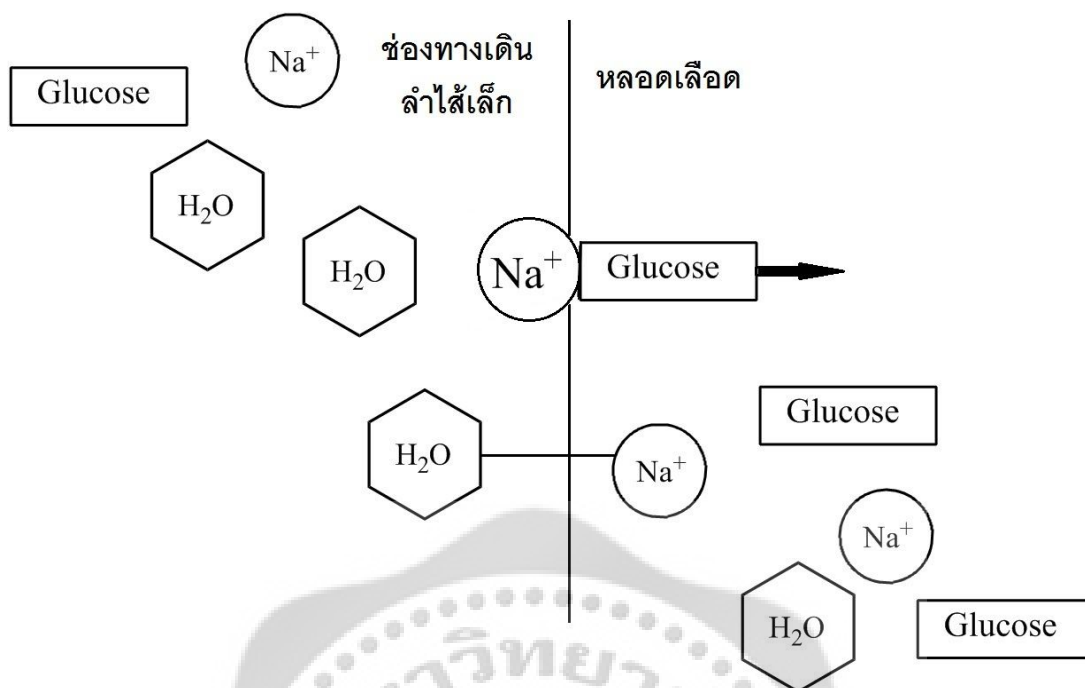
ผู้ป่วยจะมีการสูญเสียเกลือโซเดียม ( $\text{Na}^+$ ) ในอุจจาระอยู่ที่ความเข้มข้นประมาณ 50-60 มิลลิกรัมมุลต่อลิตรหรือ 100 มิลลิกรัมมุลต่อลิตรในกรณีติดเชื้ออหิวาตกโรค ดังนั้นปริมาณความเข้มข้นของโซเดียมในส่วนผสมของผงเกลือแร่ ที่ใช้อยู่จะมีประมาณ 90 มิลลิกรัมมุลต่อลิตรจึงเป็นปริมาณที่เหมาะสมที่สามารถคืนโซเดียมให้แก่ร่างกายได้ในภาวะอาการท้องร่วง โดยข้อกำหนดปริมาณส่วนประกอบของผงเกลือแร่ แสดงดังตาราง 1

ตาราง 1 ปริมาณความเข้มข้นของเกลือแร่และน้ำตาลในสูตรตำรับ Oral Rehydration Salts (เมื่อละลายน้ำตามปริมาตรที่กำหนดแล้ว)

ส่วนประกอบ	ความเข้มข้นของส่วนประกอบในสูตรตำรับ (meq/L)	
	ORS สูตร WHO และองค์การเภสัชกรรม	ช่วงความเข้มข้นที่ WHO ยอมรับ
$\text{Na}^+$	90	60-90
$\text{K}^+$	20	15-25
Citrate	10	8-12
$\text{Cl}^-$	90	50-80
Glucose	111	ไม่เกิน 111
Total osmolarity (mOsm/L)	311	311

ที่มา: ปรินญา (วิจัยและพัฒนาเภสัชกรรม) จาก <http://www.gpo.or.th/rdi/html/ors.html>

เกลือโซเดียมคลอไรด์ ( $\text{NaCl}$ ) เมื่อละลายน้ำจะแตกตัวเป็นประจุบวก  $\text{Na}^+$  และประจุลบ  $\text{Cl}^-$  เกลือที่ละลายน้ำและแตกตัวมีประจุไฟฟ้าเช่นนี้จึงเรียกว่า เกลือแร่ หรือ อิเล็กโทรไลต์ โดย  $\text{Na}^+$  และ  $\text{Cl}^-$  นั้นสามารถเกาะกับโมเลกุลของน้ำได้ถึง 3-4 โมเลกุล ดังนั้นเมื่อมีอาการท้องร่วงจะเกิดการสูญเสีย น้ำและสูญเสียเกลือแร่ในร่างกายไปด้วย ซึ่งในผงเกลือแร่มีการเติมกลูโคสเป็นส่วนประกอบ เนื่องจากกลูโคสสามารถเกิดกลไก co-transport coupling กับ  $\text{Na}^+$  ได้ โดยกลูโคส 1 โมเลกุลที่ถูกดูดซึม จะทำให้  $\text{Na}^+$  อีก 1 ไอออนถูกดูดซึมไปด้วย ส่งผลให้โมเลกุลของน้ำถูกดูดซึมผ่านผนังลำไส้ตาม  $\text{Na}^+$  เข้าไปสู่กระแสเลือด ดังแสดงในภาพประกอบ 1



ภาพประกอบ 1 Co-transport coupling mechanism ของ Glucose และ  $\text{Na}^+$  ผ่านผนังลำไส้เล็กสู่กระแสเลือด

ที่มา: ปริญญา (วิจัยและพัฒนาเภสัชกรรม) จาก <http://www.gpo.or.th/rdi/html/ors.html>

น้ำตาลเป็นหน่วยย่อยที่เล็กที่สุดของคาร์โบไฮเดรต ที่ให้พลังงานที่สำคัญที่สุดสำหรับร่างกาย อย่างไรก็ตามน้ำตาลก็มีทั้งประโยชน์และโทษต่อผู้บริโภค จึงต้องบริโภคให้พอเหมาะ ไม่มากเกินไปหรือน้อยเกินไป ในปัจจุบันน้ำตาลถูกเติมลงในอาหาร เครื่องดื่ม และยารักษาโรค อย่างเช่น น้ำเกลือและเกลือแร่ ซึ่งน้ำตาลแบ่งออกเป็น 3 ชนิดใหญ่ๆ คือ น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (Monosaccharide) น้ำตาลโมเลกุลคู่ (Disaccharide) และน้ำตาลโมเลกุลใหญ่ (Polysaccharides)

น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว มีลักษณะเป็นโมเลกุลที่ประกอบด้วยธาตุคาร์บอน 3-8 อะตอม ละลายน้ำได้ มีรสหวาน ร่างกายสามารถดูดซึมน้ำตาลชนิดนี้ไปใช้ได้ทันที เนื่องจากน้ำตาลมีขนาดโมเลกุลที่เล็กที่สุดแล้ว มีสูตรโครงสร้างเป็น  $(\text{CH}_2\text{O})_n$  โดยน้ำตาลสามารถจำแนกตามหมู่ฟังก์ชันได้เป็น น้ำตาลอัลโดสและคีโตส น้ำตาลอัลโดส เช่น กลูโคส แมนโนส และกาแลคโทส ส่วนน้ำตาลคีโตส เช่น ฟรักโทส และไซโกส แต่ละชนิดอาจมีสูตรโมเลกุลเหมือนกันเป็น  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$  โดยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวทั่วไปสามารถเกิดปฏิกิริยาการรวมตัวกันได้ เนื่องจากการจัดเรียงตัวภายในโมเลกุลมีทั้งหมู่อัลดีไฮด์และคีโตน ทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิลที่มีอยู่ในโมเลกุลเดียวกัน แล้วมีการปล่อยไฮโดรเจนไอออน ( $\text{H}^+$ ) ทำให้ค่าพีเอชของสารละลายลดลง โดยทั่วไปจะมีความเป็นกรดอ่อนอยู่ในช่วงค่าพีเอช 4-5 ซึ่ง

ปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันเกิดจากการแตกสลายของน้ำตาล เมื่อได้รับความร้อนสูง โดยอุณหภูมิที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาคือ อุณหภูมิที่สูงกว่า 120 °C และสภาวะที่มีตัวเร่งปฏิกิริยาเป็นกรดหรือเบส ที่ค่าพีเอชระหว่าง 3-9 (พิสมัย ศรีชาเยช. 2547 : 14)

น้ำตาลกลูโคส หรือเรียกอีกอย่างว่าน้ำตาลเดกซ์โทรส เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่จัดอยู่ในกลุ่มของอัลโดเฮกโซส คือน้ำตาลที่มีอะตอมของคาร์บอน 6 อะตอม และเป็นอนุพันธ์อัลดีไฮด์ คือหมู่คาร์บอนิลอยู่ที่ปลาย โดยแหล่งกลูโคสที่มีอยู่ทั่วไปจะอยู่ในรูปของน้ำตาลโมเลกุลคู่ เช่น ซูโครส และแลคโทส น้ำตาลเดกซ์โทรสนี้ใช้สำหรับ ผลิตเป็นเครื่องดื่มเกลือแร่ชนิดผงและชนิดน้ำ ส่วนชนิดที่เป็นกรดยาฉีด จะใช้ผลิตน้ำเกลือสำหรับฉีดเข้าเส้นเลือด (สุวรรณา ศรีสวัสดิ์. 2544) แต่น้ำตาลกลูโคสที่เป็นส่วนประกอบในเกลือแร่นั้นไม่ได้มีวัตถุประสงค์เพื่อช่วยเพิ่มพลังงานแต่มีหน้าที่หลักคือช่วยเพิ่มความสามารถของร่างกายในการดูดซึมเกลือโซเดียม โดยมีการศึกษาพบว่า การดูดซึมของเกลือโซเดียมเข้าสู่กระแสเลือด  $\text{Na}^+$ /Glucose co-transport mechanism ต้องมีกลูโคสเข้ามาเกี่ยวข้องอย่างน้อยในอัตราส่วน 1 : 1 ดังนั้น จึงต้องเติมน้ำตาลกลูโคสจึงมีความจำเป็นในส่วนผสมของผงเกลือแร่ด้วย

ส่วนน้ำตาลฟรักโทสเป็นน้ำตาลที่มีความหวานมากที่สุด พบมากในน้ำผึ้ง ผัก และผลไม้ โดยมักพบอยู่ร่วมกับน้ำตาลซูโครสและกลูโคส เป็นน้ำตาลที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการเผาผลาญอาหารของสิ่งมีชีวิต การละลายของน้ำตาลฟรักโทสในน้ำมีค่าสูง เมื่อเทียบกับน้ำตาลตัวอื่นในสภาวะสารละลายอิ่มตัว และละลายได้อย่างรวดเร็ว แม้ว่าอุณหภูมิจะต่ำ (ปรียา พวงสำลี. 2535) จุดเด่นของน้ำตาลฟรักโทส คือมีการจัดเรียงตัวของหมู่ไฮดรอกซิลและมีโครงสร้างชนิด D-fructopyranose ซึ่งสามารถให้ความหวานสูงกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำตาลทั่วไป (กล้าณรงค์ ศรีรอด. 2531) เมื่อมีการเปรียบเทียบความหวานโดยใช้ซูโครสเป็นมาตรฐานในการเปรียบเทียบ โดยให้ซูโครสมีค่าความหวานเป็น 100 ค่าที่ได้จากการเปรียบเทียบความหวาน เรียกว่า ความหวานสัมพัทธ์ ดังแสดงในตาราง 2

ตาราง 2 เปรียบเทียบความหวานของน้ำตาลชนิดต่างๆ

ชนิดของน้ำตาล	ความหวานสัมพัทธ์
ซูโครส	100
ฟรักโทส	140 - 175
กลูโคส	70 - 75
มอลโทส	30
แลคโทส	15

ที่มา: กนกอร อินทรพิเชษฐ์. (2523)



น้ำตาลโมเลกุลคู่ หมายถึง น้ำตาลที่เกิดจากน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว 2 โมเลกุลรวมกัน มีสูตรโมเลกุล  $C_{12}H_{22}O_{11}$  เช่น น้ำตาลซูโครส เป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ที่ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวคือน้ำตาลกลูโคสต่อกับน้ำตาลฟรักโทส เชื่อมต่อด้วยพันธะ  $\alpha(1-2)$  ทำให้ไม่มีหมู่อัลดีไฮด์และคีโตนอิสระ ซึ่งน้ำตาลซูโครสเป็น non-reducing sugar เพียงชนิดเดียว และไม่เกิดมิวตาโรเตชัน (mutarotation) เมื่ออยู่ในสารละลาย (นิธิยา รัตนานนท์. 2539)

น้ำตาลโมเลกุลใหญ่ หมายถึง คาร์โบไฮเดรตโมเลกุลใหญ่ๆที่เกิดจากน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหลาย ๆ โมเลกุลรวมกัน เช่น แป้ง ไกลโคเจน เซลลูโลส เป็นต้น สมการการรวมตัวของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเป็นน้ำตาลโมเลกุลใหญ่ น้ำตาลโมเลกุลใหญ่มีสูตรทั่วไปคือ  $(C_6H_{10}O_5)_n$  ไม่ละลายน้ำ และไม่มีรสหวาน

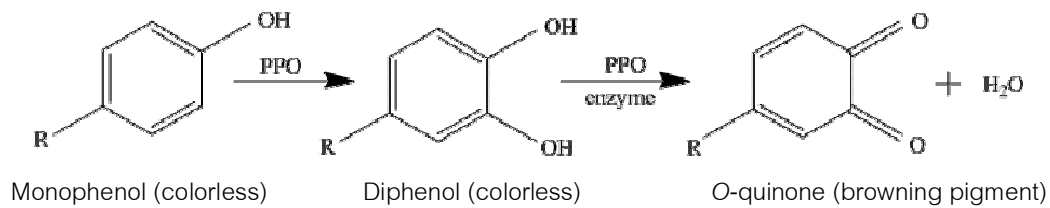
ในเครื่องดื่มชูกำลังและเครื่องดื่มเกลือแร่หรือผงเกลือแร่ต่างก็มีน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเป็นส่วนประกอบหลัก ซึ่งน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวนี้สามารถเป็นสารตั้งต้นหลักในกระบวนการเกิดสารสีน้ำตาลได้

## ปฏิกิริยาการเกิดสารสีน้ำตาล

ปฏิกิริยาการเกิดสารสีน้ำตาลในอาหาร แบ่งเป็น 2 ประเภท คือปฏิกิริยาการเกิดสารสีน้ำตาลแบบใช้เอนไซม์ (enzymatic browning reaction) และปฏิกิริยาการเกิดสารสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์ (nonenzymatic browning reaction)

### ปฏิกิริยาการเกิดสารสีน้ำตาลแบบใช้เอนไซม์

การเกิดสารสีน้ำตาลประเภทนี้ มักเกิดขึ้นในอาหารจำพวกผัก ผลไม้ และเนื้อสัตว์ โดยเกิดบริเวณผิวหน้าของอาหารที่มีการปอกเปลือกหรือหั่น ซึ่งผิวหน้าของผัก ผลไม้สัมผัสกับออกซิเจนในอากาศ ทำให้อาหารมีสีเข้มขึ้น ตัวอย่างเช่น การเปลี่ยนสีของผิวหน้าเนื้อกล้วยที่มีการปอกเปลือกแล้ว ซึ่งการเปลี่ยนสีเป็นผลมาจากสารประกอบจำพวกโมโนฟีนอลในเซลล์พืชหรือสัตว์ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส เกิดเป็นออโท-ไดฟีนอล (O-diphenol) และถูกออกซิเดชันต่อเป็นออโท-ควิโนน (O-quinone) เกิดผลิตภัณฑ์เป็นรงควัตถุประเภทต่างๆ อันเป็นสาเหตุของการเกิดสารสีน้ำตาลในอาหาร ดังแสดงในภาพประกอบ 2



ภาพประกอบ 2 กลไกการเกิดสารสีน้ำตาลแบบใช้เอนไซม์

ที่มา: Hornsey (2007)

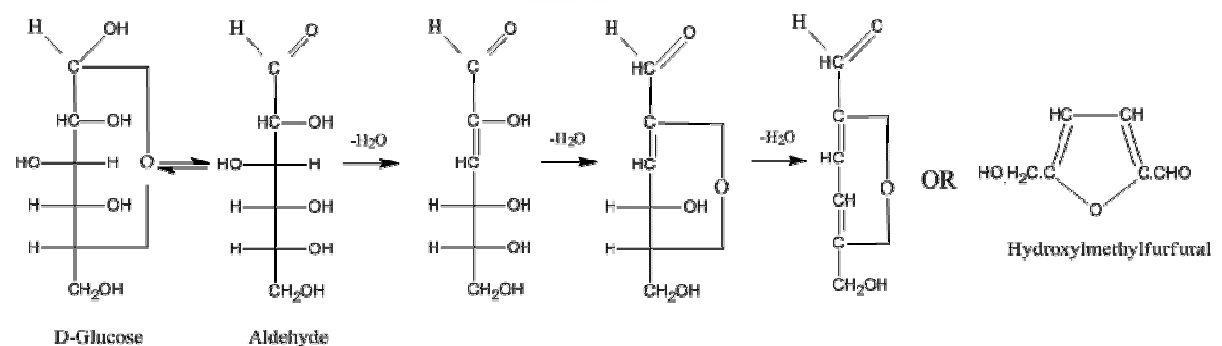
### ปฏิกิริยาการเกิดสารสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์

การเกิดสารสีน้ำตาลประเภทนี้ไม่มีเอนไซม์มาเกี่ยวข้อง มักพบในผลิตภัณฑ์อาหารที่ถูกให้ความร้อน เช่น เมล็ดโกโก้ ขนมปัง และน้ำตาล (Kamuf; et al. 2003 : 64-69) แบ่งได้เป็น 2 ปฏิกิริยาที่สำคัญ คือ

1. ปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน (caramelization reaction)
2. ปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction)

#### 1. ปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน (Caramelization reaction)

การเกิดสารสีน้ำตาลที่เกิดจากน้ำตาลได้รับความร้อนสูงเกินจุดหลอมเหลวและเกิดการสูญเสียน้ำ โดยไม่มีสารประกอบพวกโปรตีนและกรดอะมิโน ซึ่งน้ำตาลที่บริสุทธิ์จะเกิดปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันได้รวดเร็วที่อุณหภูมิสูง ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยานั้นขึ้นอยู่กับ อุณหภูมิ และเวลา โดยปฏิกิริยาขั้นแรกจะเกิด enolization dehydration มีการสูญเสียน้ำและเกิดแตกตัวเป็นไฮดรอกซีเมทิลเฟอรพีวรัลดีไฮด์ (HMF) (Berk. 1976 : 315) แสดงดังภาพประกอบ 3



ภาพประกอบ 3 การเกิดสารสีน้ำตาลเนื่องจากปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน

ที่มา: Braverman (1963 : 336)

## ปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันของน้ำตาล

น้ำตาลเป็นหน่วยย่อยที่เล็กที่สุดของคาร์โบไฮเดรต ที่ให้พลังงานที่สำคัญที่สุดสำหรับร่างกาย อย่างไรก็ตามน้ำตาลก็มีทั้งประโยชน์และโทษต่อผู้บริโภค จึงต้องบริโภคให้พอเหมาะ ไม่มากเกินไปหรือน้อยเกินไป ในปัจจุบันน้ำตาลถูกเติมลงในอาหาร เครื่องดื่ม และยารักษาโรค อย่างเช่น น้ำเกลือและเกลือแร่

กระบวนการเกิดปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันของน้ำตาลซูโครสมี 4 ขั้นตอน ได้แก่

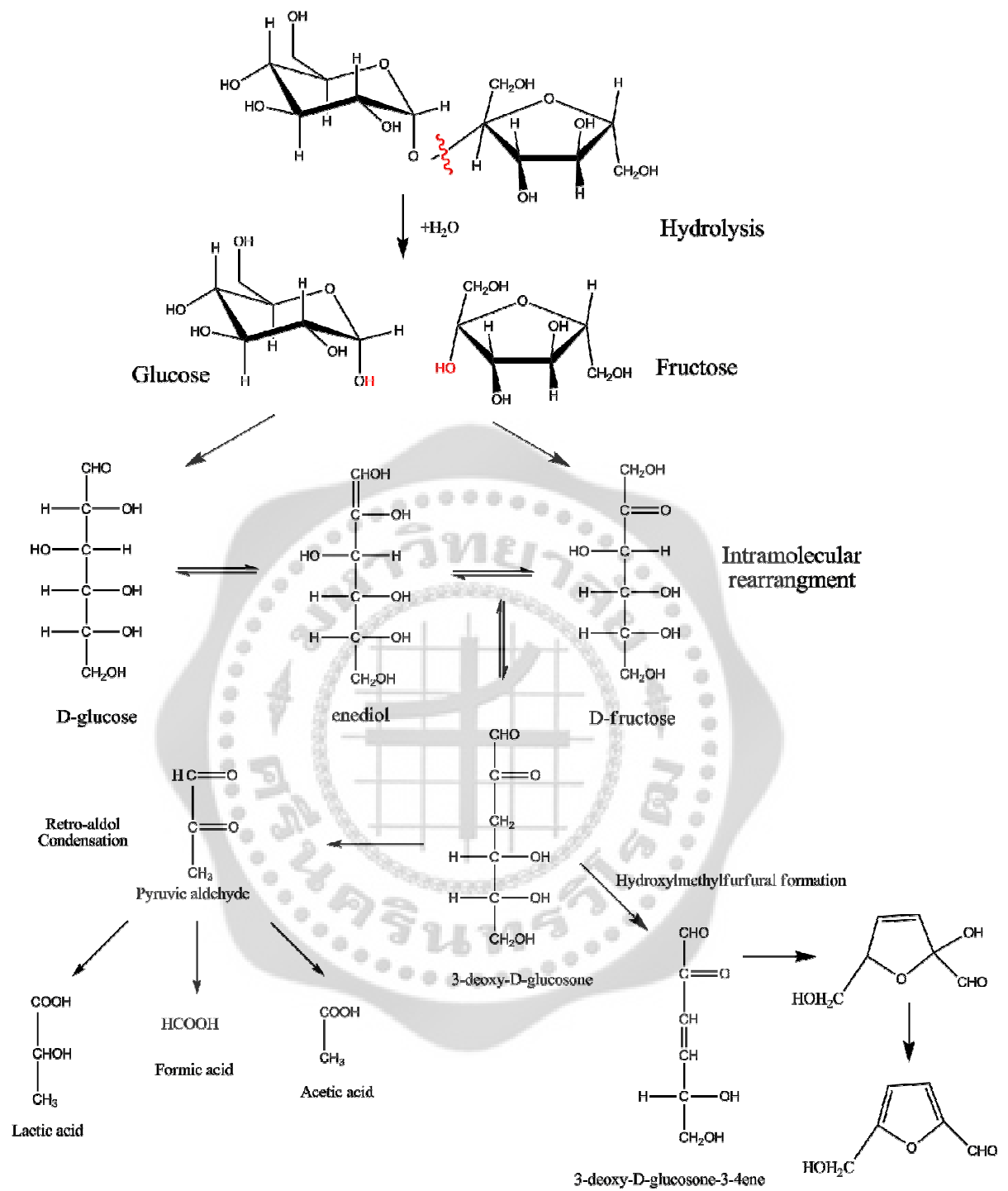
ขั้นที่ 1 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส เป็นปฏิกิริยาการสลายตัวของน้ำตาลซูโครส โดยมีน้ำมาเกี่ยวข้องทำให้น้ำตาลซูโครสกลายเป็นน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทส

ขั้นที่ 2 ปฏิกิริยาอินอลไลเซชัน คือ การเปลี่ยนแปลงภายในโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทสเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างสลับไปมาของอัลโดสและคีโตสที่เป็นอิพิเมอร์กัน และอยู่ในรูปของอินไดออล (enediol) (Fennema. 1985)

ขั้นที่ 3 ปฏิกิริยาการสลายตัว ปฏิกิริยาในขั้นตอนนี้เกิดการสลายตัวเนื่องจากการให้ความร้อนและเกิดการสูญเสียน้ำ เกิดเป็น 3-deoxy-D-glucosone หลังจากนั้นสามารถเกิดโครงสร้างวงแหวนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และตำแหน่งที่ 5 และสูญเสียน้ำ เกิดผลิตภัณฑ์เป็นไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ (Fennema. 1985)

ขั้นที่ 4 ปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน หรือปฏิกิริยาการรวมตัวของ deoxyhexosulose แบบอัลดอลย้อนกลับ ได้สารประกอบคาร์บอนิล ซึ่งจะได้สารประกอบที่ระเหยได้ เช่น กรดฟอร์มิก ซึ่งในขั้นนี้จะเกิดกลิ่นและสีที่เข้มขึ้น (Scarpellino; & Soukup. 1993)

โดยปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันของน้ำตาลซูโครสที่ทำให้เกิดสีและกรดอินทรีย์ ดังแสดงในภาพประกอบ 4



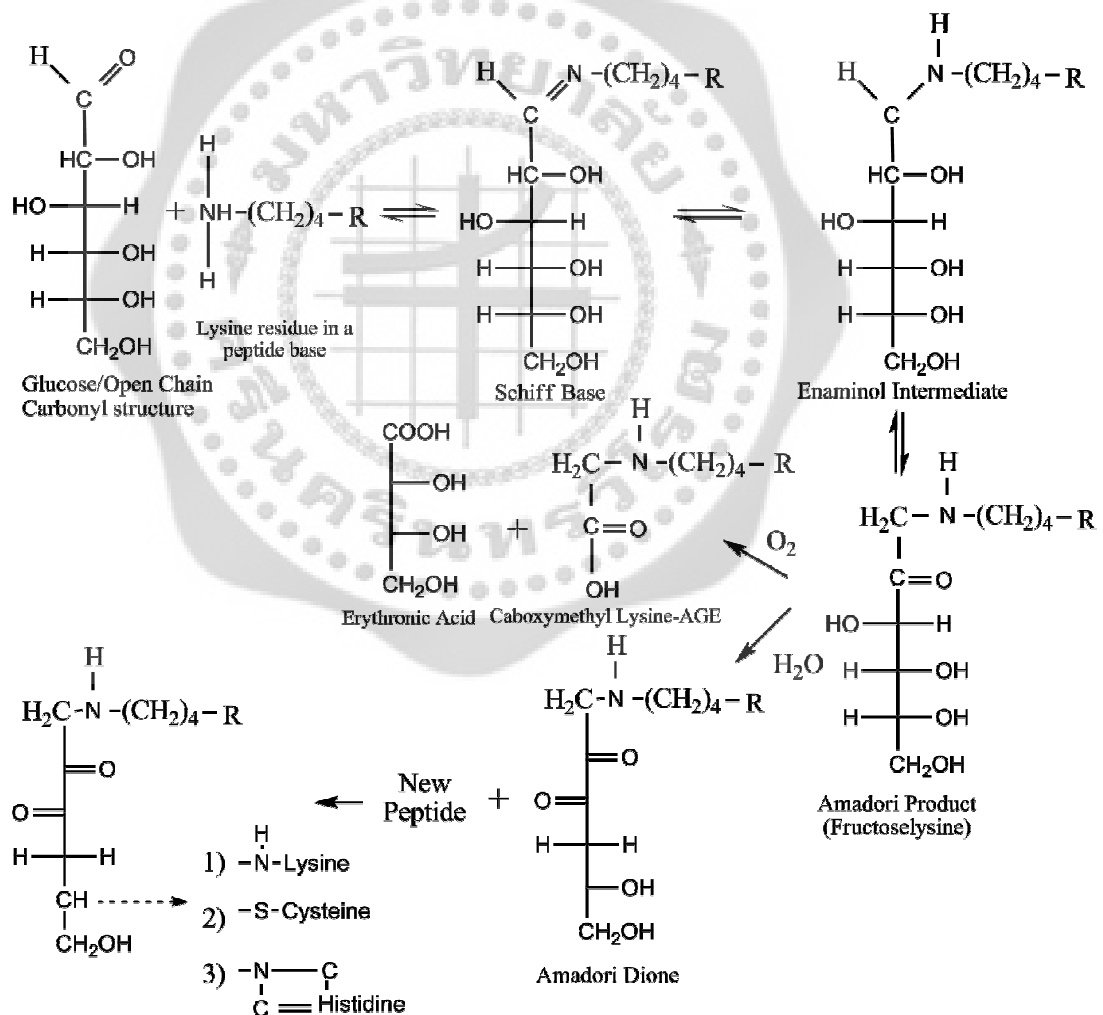
ภาพประกอบ 4 ปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันของน้ำตาล

ที่มา: ดัดแปลงจาก Fenneme (1985), Scarpellino; & Soukup (1993).

## 2. ปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction)

ปฏิกิริยาเมลลาร์ด เป็นปฏิกิริยาระหว่างหมู่อะมิโนของกรดอะมิโนกับหมู่คาร์บอนิลในน้ำตาล ค้นพบขึ้นครั้งแรกโดย Louis Camille Maillard ในปี ค.ศ.1912 ซึ่งผลิตผลจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดถ้าใช้สารตั้งต้นเป็นน้ำตาลกลูโคสมาทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนไกลซีน อาจได้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นมากกว่า 24 ชนิด (Reilly. 1982)

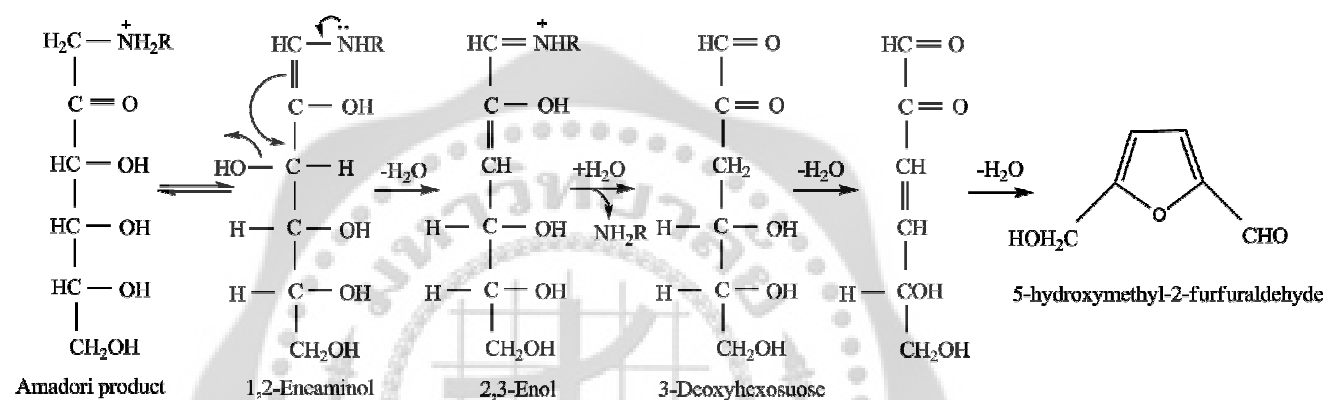
ปฏิกิริยาเมลลาร์ดนั้น จะเกิดขึ้น 3 ขั้นตอน โดยขั้นตอนที่ 1 จะเกิดปฏิกิริยาการรวมตัวหรือควบแน่น ระหว่างน้ำตาลกลูโคสกับกรดอะมิโน ที่เรียกว่า sugar amine condensation โดยผลที่ได้เป็นผลิตภัณฑ์ที่เรียกว่า N-substituted glycosylamine (Hodge. 1953 : 928-943) จากนั้นจะเข้าสู่ขั้นตอนที่ 2 โดยสาร N-substituted glycosylamine จะเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นสารประกอบอะมาโดรี (amadori compound) (Nursten. 2005 : 2-4) ดังภาพประกอบ 5



ภาพประกอบ 5 แผนภาพการเกิด amadori compound

ที่มา: Nursten (2005)

ขั้นตอนที่ 3 สารประกอบอะมาโดริเป็นสารผลิตภัณฑ์ที่สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงได้อย่างต่อเนื่องจึงสามารถเกิดปฏิกิริยาต่อไปได้อีกซึ่งมี การเกิดปฏิกิริยาได้ 4 แบบ ได้แก่ การสูญเสีย น้ำจากน้ำตาล(sugar dehydration) น้ำตาลเกิดการแตกเป็นส่วนๆ (sugar fragmentation) การเสียสภาพของกรดอะมิโน (amino acid degradation) และการเกิด strecker degradation โดยผ่านกลไก 1,2-enolization และ การเปลี่ยนแปลงผ่านกลไก 2, 3-enolization โดยการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาเมลลาร์ดในขั้นตอนสุดท้ายจะได้ผลิตภัณฑ์จำพวกสารเมลานอยด์อินซึ่งให้น้ำตาลเข้มหนึ่งในนั้นคือ สารไฮดรอกซีเมทิลเฟอรัลดีไฮด์ ดังแสดงในภาพประกอบ 6 (Fayle; & Gerrard. 2002)



ภาพประกอบ 6 แผนภาพการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอรัลดีไฮด์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ด

ที่มา: Fayle; & Gerrard (2002)

### ปัจจัยของการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด

1. ชนิดของกรดอะมิโน เนื่องจากกรดอะมิโนมีโครงสร้างและหมู่อะมิโนอิสระที่แตกต่างกัน จึงส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาที่อัตราต่างกัน ยกตัวอย่างเช่น กรดอะมิโนไลซีน เป็นหมู่อะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายและมีความไวในการเกิดปฏิกิริยา เนื่องจากมีหมู่  $\epsilon$ -NH<sub>2</sub> ที่มี reactivity ที่สูง (Ahmed; et al. 1986 : 4889-4894)

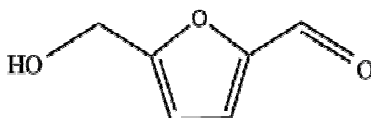
2. ชนิดของน้ำตาล น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยาได้ดี ดังนั้น น้ำตาลชนิดต่างกันสามารถเกิดปฏิกิริยาได้ต่างกัน (Naranjo; et al. 1998 : 309-313)

3. อุณหภูมิ เมื่อมีการให้ความร้อนที่สูงขึ้นจะเร่งปฏิกิริยาให้เกิดเร็วขึ้นด้วย

ปฏิกิริยาการเมลลาร์ดและปฏิกิริยาเมลลาร์ดเป็นปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดสารประกอบที่เป็นอนุพันธ์ของฟูแรน (furan) ของน้ำตาลเฮกโซสจะได้อนุพันธ์ของฟูแรนที่เรียกว่าสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอรัลดีไฮด์ (Hydroxymethylfurfuraldehyde ,HMF) (Hodge. 1953 : 928-943)

## สารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์

สารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ เป็นสารประกอบอินทรีย์สีเหลืองมีสูตรโครงสร้าง ดังภาพประกอบ 7



ภาพประกอบ 7 สูตรโครงสร้างสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์

สารนี้มีจุดหลอมเหลวที่ 30-34 °C (Rosatella; et al. 2011 : 754-793) จุดเดือดที่ 115 °C ละลายได้ในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ เช่น เมทานอล เอทานอล ไดเอทิลอีเทอร์ และอะซิโตน (รุ่งทิพย์ วงศ์ต่อม. 2549 : 30) โดยสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ เป็นสารประกอบที่เกิดจากปฏิกิริยาเคมีของน้ำตาล เป็นผลิตภัณฑ์หลักที่เกิดจากการสลายตัวของน้ำตาลเนื่องจากได้รับความร้อนสูง และเกิดการสูญเสียน้ำ โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้นี้เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันและปฏิกิริยามอลาร์ด ซึ่งสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ สร้างความเสียหายต่อคุณภาพของอาหารอย่างมาก

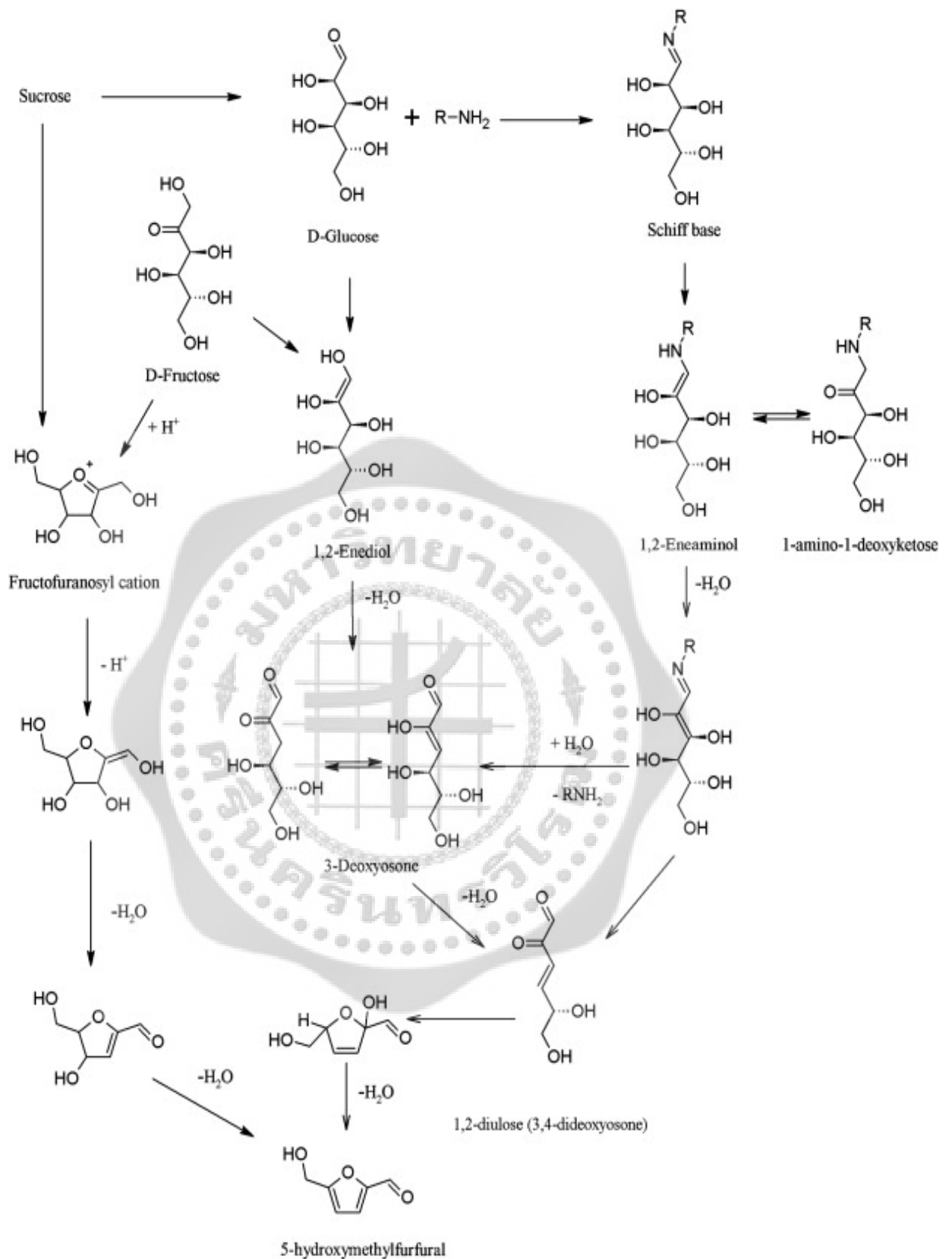
สำหรับอันตรายจากสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ มีรายงานระบุไว้มากมาย อาทิเช่น การได้รับสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในปริมาณ 0 – 40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในหนูทดลอง เป็นเวลา 11 เดือน พบว่าไม่เกิดการผิดปกติต่อร่างกายของหนู แต่เมื่อเพิ่มปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์สูงขึ้นในช่วง 80 - 160 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นเวลา 11 เดือน พบว่าการย่อยของเอนไซม์ tributyrinase ในตับผิดปกติ (Ulbricht; et al. 1984 : 843-853) ส่วนผลกระทบในการเป็นสารก่อมะเร็งของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์นั้น ได้มีรายงานระบุว่าเมื่อหนูทดลองได้รับปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ตั้งแต่ 1-500 มิลลิกรัมเข้าไปในระยะหนึ่งจะส่งผลให้เกิดเนื้องอกที่ไต (Schoental; et al. : 1971) และมีการทดลองในหนูเพศเมียซึ่งได้รับปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ทางปาก 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในหนึ่งครั้ง พบว่าเริ่มเกิดเซลล์เนื้องอกจุดเล็กๆ แล้วลามต่อมาเรื่อยๆ จนเกิดเป็นเซลล์มะเร็งและตายภายใน 30 วัน (Zhang; et al. 1993 : 773-775) สำหรับพิษแบบเฉียบพลันของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ โดยทดสอบในหนูระบุไว้ว่าต้องได้รับสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์เข้าไปสูงกว่า 2.5 g/kg ถึงจะเริ่มเกิดอันตราย (US EPA, 1992) ส่วนปริมาณที่แน่ชัดที่ส่งผลกระทบท่อมมนุษย์ยังไม่มีรายงานการวิจัยใดกล่าวถึง มีการรายงานเพียงว่า เมื่อได้รับปริมาณ

สารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ ความเข้มข้นสูงโดยทันที ก็เกิดอันตรายต่อเซลล์ผิวหนัง ตา และเยื่อหู (Ulbricht; et al. 1984 : 843-853) เมื่อมีการสูดดมกลิ่นของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์จะเกิดการระคายเคืองต่อระบบทางเดินหายใจ ผิวหนัง และเนื้อเยื่อ (Aldrich Chemical Co., 1994) และการได้รับสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์เข้าไปสามารถทำอันตรายต่อสารพันธุกรรมจนเกิดเป็นสารก่อมะเร็งได้ (Glatt; & Sommer. 2006 : 328-367) เมื่อสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์เข้าสู่ร่างกายด้วยการบริโภค จะถูกดูดซึมอย่างรวดเร็วโดยระบบทางเดินอาหารของร่างกายและเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของเฟอร์พิวรัลแอลกอฮอล์ (Edoardo; & Vincenzo. 2011 : 793-810)

โดยสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์สามารถเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติได้หลายกระบวนการ ทั้งผ่านปฏิกิริยาเมลลาร์ดหรือปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันก็ได้ แต่สารตั้งต้นหลักยังคงเป็นน้ำตาลเช่นเดียวกัน ดังแสดงในภาพประกอบ 8







ภาพประกอบ 8 แสดงกลไกการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์

ที่มา: Edoardo; & Vincenzo (2011)

ตาราง 3 แสดงงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์สารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ ในอาหารตั้งแต่ปี ค.ศ. 1981 – 2007

อาหารและเครื่องดื่ม	ปริมาณ HMF (mg/kg)
Coffee	100–1900
Coffee (instant)	400–4100
Coffee (decaffeinated)	430–494
Malt	100–6300
Barley	100–1200
Honey	10.4–58.8
Beer	3.0–9.2
Jam	5.5–37.7
Fruit juices	2.0–22.0
Wine (red)	1.0–1.3
Cookies	0.5–74.5
Bread (white)	3.4–68.8
Bread (snacks)	2.2–10.0
Breakfast cereals	6.9–240.5
Baby food (milk-based)	0.18–0.25
Baby food (cereal-based)	0–57.18
Dried fruits	25–2900
Roasted almond	9
Vinegar (wine)	0–21.5

ที่มา: Edoardo; & Vincenzo (2011)

## งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปี ค.ศ. 1977 เบน และคณะ (Ben; et al. 1997 : 165-176,177-183, 185-191) ได้นำเสนอ รายงาน 3 เรื่องลงในวารสาร Carbohydrate Research ที่ระบุว่า ผลของปัจจัยภายนอกบางประการ เช่น ปริมาณของน้ำที่มีในตัวอย่าง ชนิดของกรด ค่าของ pH ปริมาณของตัวเร่งปฏิกิริยาที่มีอยู่ในตัวอย่าง ล้วน มีผลต่อปัจจัยในการทำให้น้ำตาลฟรักโทส สามารถเกิดปฏิกิริยาดีไฮเดรชัน จนสลายตัว เกิดเป็นสารประกอบอย่างเช่น สาร 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ กรดลิวโอนิกและกรดฟอร์มิก ทั้งสิ้น

ในปี ค.ศ. 1997 ริชาร์ด และคณะ (Richard; et al. 1997: 67-74) ได้ใช้น้ำตาลฟรักโทสเป็น สารตั้งต้นในสังเคราะห์ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ จากปฏิกิริยาดีไฮเดรชัน โดยใช้สภาวะที่ อุณหภูมิ 150°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ในตัวทำละลาย DMSO ซึ่งเป็นตัวเป็นตัวเร่งในการเกิดปฏิกิริยา ดีไฮเดรชัน โดยจากวิธีการดังกล่าว ทำให้เขาสามารถสังเคราะห์ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ได้ ผลิตภัณฑ์สูงถึงร้อยละ 92.0

ในปี ค.ศ. 1998 แวน (Van. 1998: 403-414) ได้ทำการศึกษาปฏิกิริยาเมลลาร์ดที่เกิดขึ้นใน ผลิตภัณฑ์นม ในสภาวะที่ถูกเร่งจากปัจจัยภายนอกที่แตกต่างกัน โดยผลการศึกษาพบว่า ใน ผลิตภัณฑ์นมมีสารตั้งต้นของปฏิกิริยาเมลลาร์ดอยู่มากอย่างเช่น น้ำตาลแลคโตส และกรดอะมิโน ไลซีน ซึ่งเมื่อได้รับผลจากความร้อนเป็นเวลานานจะสามารถช่วยในการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดแล้ว ได้ผลิตภัณฑ์หลายชนิดอย่างเช่น lysylpyrraline, pentosidine, hydroxymethylfurfural, (iso)maltol, furfurals และ formic acid เป็นต้น

ในปี ค.ศ. 1998 ฟาร์เรติน และคณะ (Fahrettin; et al. 1998: 196–200) ได้ทำการศึกษา อันตรกิริยาของปฏิกิริยาเมลลาร์ดในตัวอย่างน้ำองุ่นต้ม โดยมีพารามิเตอร์ที่ใช้ทดสอบคือ ชนิดของ กรดอะมิโน ชนิดของน้ำตาล ความร้อนและเวลา ซึ่งจากผลการทดสอบพบว่า นอกจากความร้อนและ เวลาที่จะมีผลต่อปัจจัยในการเร่งการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดแล้ว ยังพบว่าชนิดกรดอะมิโนและน้ำตาลที่ มีอยู่ในตัวอย่าง มีผลต่อปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ที่ได้จากปฏิกิริยา เมลลาร์ดอีกด้วย

ในปี ค.ศ. 1998 โมแลล และคณะ (Morales; et al. 1998: 907–915) ได้ทำการศึกษาแบบ ต้นแบบในการเกิดสารสีน้ำตาลที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีของน้ำนมเมื่อได้รับอุณหภูมิที่ 110°C และ

150°C จากผลของของปฏิกิริยาเมลลาร์ด ซึ่งเขาได้ใช้เทคนิค spectrophotometrically และ tristimulus colorimeter ในการติดตามสารสีน้ำตาลที่เกิดขึ้น ซึ่งผลการวิเคราะห์พบว่า การเกิดสีน้ำตาลในตัวอย่างนั้นมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิและเวลาเป็นหลัก

ในปี ค.ศ. 1999 ก็อคเมน และเอการ์ (Gokmen; & Acar. 1999: 69-74) ได้ทำการตรวจวิเคราะห์สารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์พิวรัลดีไฮด์และพาทุลินในน้ำแฉับเป็ดด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยตัวตรวจวัดแบบไดโอดอะเรย์ ใช้คอลัมน์แบบ C-18 ทำการชะสารด้วยสารละลายผสมของน้ำต่ออะซิโตนไทรอิลในอัตราส่วนร้อยละ 99:1 โดยปริมาตร มีอัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ได้ค่าร้อยละการกลับคืนของ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์พิวรัลดีไฮด์อยู่ในช่วง 86-100 โดยมีค่าเฉลี่ยที่ร้อยละ 94 และมีค่าร้อยละการกลับคืนของพาทุลินอยู่ในช่วง 94-125 โดยมีค่าเฉลี่ยที่ร้อยละ 103 วิธีนี้ให้ค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดน้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตรของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ และน้อยกว่า 5 ไมโครกรัมต่อลิตร ของสารพาทุลินในตัวอย่างน้ำแฉับเป็ด

ในปี ค.ศ. 2000 เฟอร์เรอร์และคณะ (Ferrer; et al. 2000: 599-606) ได้ทำการศึกษาปริมาณสารประกอบในกลุ่มเฟอร์พิวรัลทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากผลของปฏิกิริยาเมลลาร์ดในน้ำนมโค โดยอาศัยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงที่ใช้ตัวตรวจเป็นวัดยูวี-วิสิเบิล ในการตรวจวิเคราะห์ โดยผลการวิเคราะห์พบว่าในตัวอย่างน้ำนมมีปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์อยู่ในช่วง 0.29 ถึง 0.41 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในตัวอย่างน้ำนม

ในปี ค.ศ. 2001 โนซาล และคณะ (Nozal; et al. 2001: 95-103) ทำการพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์สารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์พิวรัลดีไฮด์, 2-เฟอร์พิวรัลดีไฮด์, ฟิวแรน-2-คาร์บอกซิลิกแอซิด, ฟิวแรน-3-คาร์บอกซิลิกแอซิด, ฟิวแรน-3-คาร์บอกซาลดีไฮด์ และ 2-อะมิโนเบนโซอิกแอซิด เมทิลเอสเทอร์ในน้ำผึ้ง ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยได้ทำการกำจัดสิ่งรบกวนและสารปนเปื้อนด้วย micro solid-phase extraction จากนั้นจึงนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยใช้คอลัมน์แบบ C-18 ซึ่งทำการชะสารแบบเกรเดียนท์ (gradient) โดยใช้สารละลายผสม A คือ 1% สารละลายกรดอะซิติกอะซิโตนไทรอิลในอัตราส่วนร้อยละ 97:3 โดยปริมาตร และสารละลายผสม B คือ อะซิโตนไทรอิลต่อน้ำในอัตราส่วนร้อยละ 50:50 โดยปริมาตร ทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยตัวตรวจวัดแบบอัลตราไวโอเล็ต ที่ความยาวคลื่น 250 นาโนเมตร นอกจากนี้ยังได้นำไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างยาที่ได้จากพืชอีกด้วย

ในปี ค.ศ. 2002 แอนตัน และคณะ (Anton; et al. 2002: 275-278) ได้สนใจที่จะทำการศึกษาอัตราของการเกิดปฏิกิริยาการเกิดสารสีน้ำตาลในขั้นตอนกระบวนการผลิตน้ำตาลจากมะพร้าวและต้นปาล์มในระบบอุตสาหกรรม โดยผลจากระบบต้นแบบระบุว่ายิ่งใช้เวลาในขั้นตอนการผลิตมากเท่าไร ยิ่งเกิดสารสีน้ำตาลมากขึ้นเท่านั้น ซึ่งอัตราการเกิดสารสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นเป็นแบบ zero order reaction โดยมีค่า k ของสมการเท่ากับ  $0.87 \times 10^{-3}$ ,  $4.46 \times 10^{-3}$ ,  $6.58 \times 10^{-3}$  Astronomical unit per minute สำหรับปฏิกิริยาที่ใช้อุณหภูมิเท่ากับ 105, 115 และ  $121^{\circ}\text{C}$  ตามลำดับ

ในปี ค.ศ. 2002 เฟร์เรอร์ และคณะ (Ferrer; et al. 2002: 85-95) ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบเฟอร์ฟิวรัลที่เปลี่ยนแปลงไปในกระบวนการให้ความร้อนและการเก็บรักษาน้ำนมด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง จากการศึกษาพบว่าปริมาณสารประกอบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์, 2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ พบว่าปริมาณสารทั้งสองชนิด มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยอย่างไม่มีนัยสำคัญ ทางสถิติ โดยผู้วิจัยให้เหตุผลว่ามีสาเหตุมาจากความแตกต่างของโปรตีนและธาตุเหล็กในน้ำนม

ในปี ค.ศ. 2002 โทชิ และคณะ (Tosi; et al. 2002: 71-74) ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิกับเวลาในการให้ความร้อนน้ำผึ้งต่อปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ โดยให้อุณหภูมิในการให้ความร้อนอยู่ในช่วง  $100-160^{\circ}\text{C}$  และเวลาในการให้ความร้อนที่ 14 – 60 วินาที พบว่าระยะเวลาในการให้ความร้อนกับน้ำผึ้งมีความสัมพันธ์เชิงเส้นแบบเอ็กโพเนนเชียลกับปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิล เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ แต่ที่อุณหภูมิต่ำๆ ความชันของกราฟจะน้อยกว่าที่อุณหภูมิสูงๆ แสดงว่าที่อุณหภูมิต่ำ การเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ จะมีปริมาณน้อยกว่าที่อุณหภูมิสูง

ในปี ค.ศ. 2004 พรพิมล และคณะ (Pornpimol; et al. 2004: 11) ได้ศึกษาการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดที่เกิดขึ้นในระบบต้นแบบโดยใช้ น้ำตาลมาตรฐานกลูโคส แลคโทส ซูโครส กับ กรดอะมิโนมาตรฐาน ไลซีน ซิสเตอีน ที่นำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ เพื่อศึกษาความไวในการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด โดยวิเคราะห์หาปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง พบว่ากรดอะมิโนซิสเตอีนมีความไวในการทำปฏิกิริยากับน้ำตาลทั้ง 3 ชนิดมากกว่า กรดอะมิโนไลซีน ที่สภาวะเดียวกัน

ในปี ค.ศ. 2005 สุมายา และคณะ (Sumaya; et al. 2005 : 1045-1050) ทำการศึกษาผลของ อุณหภูมิในการให้ความร้อนกับน้ำตาลในกระเพาะปลาทูน่า ต่อการต้านอนุมูลอิสระของปฏิกิริยา เมลลาร์ด โดยให้อุณหภูมิในการให้ความร้อนอยู่ในช่วง 35 – 115°C เป็นเวลา 17 ชั่วโมง พบว่าเมื่อ อุณหภูมิเพิ่มขึ้นมีผลต่อการต้านอนุมูลอิสระมากขึ้น แสดงว่าที่อุณหภูมิสูงขึ้นการเกิดปฏิกิริยา เมลลาร์ดสูงขึ้นด้วยเช่นกัน

ในปี ค.ศ. 2006 เฮเนร และคณะ (Henares; et al. 2006: 63-66) ได้ทำการวิเคราะห์ ปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ เฟอร์ฟิวรัล และ กลูโคซิลไอโซมอลทอล (GIM) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารเข้าจากธัญพืช 60 โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ทำการตรวจวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร และใช้วัฏภาคเคลื่อนที่น้ำต่อ อะซิโตนไนโตรเจนในอัตราส่วนร้อยละ 95 : 5 โดยปริมาตร

ในปี ค.ศ. 2006 เอมอล และคณะ (Ameur; et al. 2006: 790-796) ได้ศึกษาการเกิด สารประกอบ ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการให้ความร้อนอาหาร เนื่องจาก มีรายงานการวิจัยอื่น ๆ ว่าเป็นสารก่อมะเร็ง จึงได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิล เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในผลิตภัณฑ์อาหารจากธัญพืช ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยตรวจวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 284 นาโนเมตร ผู้วิจัยใช้สารละลายโซเดียมอะซิเตตต่อ สารละลายเมทานอล ในอัตราส่วนร้อยละ 80:20 โดยปริมาตร เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ พบว่าปริมาณ สารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ มีความสัมพันธ์เชิงเส้นแบบเอ็กโพเนนเชียลกับอุณหภูมิ ในการให้ความร้อน และปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ที่ตรวจพบในตัวอย่าง อาหารอยู่ในช่วง 0.5-74.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ในปี ค.ศ. 2006 แอลคาซอล และคณะ (Alcazar; et al. 2006: 22-28) ได้ทำการพัฒนาวิธี การวิเคราะห์สารประกอบ 2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ และ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในเครื่องดื่ม แอลกอฮอล์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยใช้คอลัมน์แบบ C-18 และทำการชะ สารด้วยสารละลายผสมของน้ำกับอะซิโตนไนโตรเจน พบว่าวิธีการนี้มีค่าร้อยละการคืนกลับอยู่ในช่วง 98-103% โดยมีค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดอยู่ที่ 0.005 µg/ml

ในปี ค.ศ. 2006 สุธาสนี (สุธาสนี บุญเชียงมาและคณะ. 2550: ไม่ปรากฏเลขหน้า) ได้ ศึกษาการเกิดสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในน้ำผึ้ง โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลว

สมรรถนะสูง และศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล ซึ่งเป็นสารมัธยันต์ของปฏิกิริยาเมลลาร์ด ในน้ำผึ้งได้แก่ อุณหภูมิ เวลา และแสงสว่าง นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาปริมาณของน้ำตาลและกรดอะมิโน ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยาเมลลาร์ด โดยการวิเคราะห์น้ำตาลใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง แบบแลกเปลี่ยนไอออน และการวิเคราะห์กรดอะมิโนหลังการทำอนุพันธ์ด้วย 9-ฟลูออรีนิลเมทิลคลอโรฟอร์มเมท (FMOC-CI) โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง พบว่าสีและปริมาณของไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรัลของตัวอย่างน้ำผึ้งเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บไว้นาน และเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่เก็บ ในขณะที่น้ำตาลรีดิวซ์ซึ่ง (กลูโคสและ ฟรักโทส) และกรดอะมิโนมีปริมาณลดลง

ในปี ค.ศ. 2006 สเปนโน และคณะ (Spano; et al. 2006: 1390-1395) ได้ทำการวิเคราะห์ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์พิวรัลดีไฮด์ ในตัวอย่างน้ำผึ้งที่ได้จากต้นสตรอบเบอรี่ ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง พบว่าในน้ำผึ้งตัวอย่างมีปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ อยู่ในช่วง 5-140 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้อยู่ที่ 1.9 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ในปี ค.ศ. 2006 แอลเจลลา และคณะ (Angela; et al. 2006: 22-28) ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์พิวรัลดีไฮด์ และเฟอร์พิวรัล ในเครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ คอลัมน์ C-18 วัฏภาคเคลื่อนที่เป็นอะซิโตนในไตรลต์อน้ำ ทำการชะแบบ Isocratic และตัวตรวจวัดเป็นยูวี-วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร โดยวิธีที่พัฒนาขึ้นมีความจำเพาะเจาะจงและมีความไวสูง มีค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดอยู่ที่ 0.005  $\mu\text{g/mL}$  มีค่าร้อยละการคืนกลับอยู่ที่ 94-103% และความแม่นยำ (%RSD) เมื่อทำการวิเคราะห์ที่ทิ้งช่วงห่างกันเป็นเวลา 2 เดือนอยู่ที่ 0.8 และ 0.4 สำหรับ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์พิวรัลดีไฮด์ และเฟอร์พิวรัล ตามลำดับ

ในปี ค.ศ. 2008 ลาร็อก และคณะ (Laroque; et al. 2008: 1032-1042) ได้ทำการศึกษาอัตราการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด โดยใช้ชนิดของน้ำตาลเป็นปัจจัยแปรผันซึ่งใช้น้ำตาล 5 ชนิดในการทดลอง คือ ไรโบส ไชโลส อะราบิโนส กลูโคส และฟรักโทส ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55°C pH 6.5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำมาวิเคราะห์ปริมาณสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น โดยใช้เทคนิค size-exclusion chromatography และทำการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 294

นาโนเมตร พบว่าน้ำตาลทั้ง 5 ชนิดมีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาตามลำดับดังนี้ ฟรักโทส ~ กลูโคส < อะราบินอส < ซาโลส < ไรโบส

ในปี ค.ศ. 2010 เดอร์แมส และ ก็อคเมน (Durmas; & Gokmen ; 2010: 912-916) ได้ทำการสกัดน้ำมันจากพืชที่มีเมล็ดให้น้ำมัน 7 ชนิด โดยใช้เทคนิคการสกัดของเหลว-ของเหลว (liquid-liquid extraction) ใช้สารละลายเมทานอล ร้อยละ 70 เป็นตัวทำละลาย แล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 180°C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ และ 2-เฟอร์ฟิวรัล (2-furfural) ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยใช้คอลัมน์แบบ C-18 วัฏภาคเคลื่อนที่เป็นสารละลายกรดฟอร์มิก 10 มิลลิโมลาร์ กับ อะซิโตไนไทรล์ ในอัตราส่วนร้อยละ 90:10 โดยปริมาตร และตรวจวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 285 นาโนเมตร พบว่ามีปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิล เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ อยู่ในช่วง 0.8-13.8 mg/kg และพบ 2-เฟอร์ฟิวรัล อยู่ในช่วง 1.4-8.7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ในปี ค.ศ. 2010 คาร์ลิล และคณะ (Khalil; et al. 2010: 1390-1395) ได้นำเสนอการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในน้ำผึ้ง โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงเพื่อแก้ปัญหาความไม่จำเพาะเจาะจงและลดปัญหาสัญญาณการรบกวนในตัวอย่าง พบว่าน้ำผึ้งที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 3-6 เดือนมีปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ อยู่ในช่วง 2.80-24.87 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ค่ามาตรฐานสากลกำหนดไว้ที่ 80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) แต่น้ำผึ้งที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12-24 เดือนให้ค่าปริมาณสารประกอบ สารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ เกินค่ามาตรฐานกำหนด คืออยู่ในช่วง 128.19-1131.76 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ในปี ค.ศ. 2012 วินสัน และคณะ (Windson; et al. 2012 : 21-25) ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในน้ำผึ้งในตัวอย่งน้ำผึ้งของประเทศออสเตรเลีย โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง พบว่าน้ำผึ้งที่ไม่มีการให้ความร้อนมีปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์น้อยกว่าน้ำผึ้งที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 60 วัน พบว่ามีปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในช่วง 155±91 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม



ในปี ค.ศ. 2013 ทาคาชิ และคณะ (Takashi; et al. 2013: 1-5) ได้ใช้เทคนิคของ phase separation ของสารละลายน้ำต่ออะซิโตนไทรล์ มาช่วยในการสังเคราะห์ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ จากน้ำตาลฟรักโทส โดยใช้ 1-methyl-3-(butyl-4-chlorosulfonyl) imidazolium chlorosulfate ([MBCIm]SO<sub>3</sub>Cl) ซึ่งเป็น Acidic ionic liquid ในการเป็นตัวเร่งของปฏิกิริยา โดยทำการสังเคราะห์ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงได้ใช้ alumina ในการสกัด 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ที่เกิดขึ้น ซึ่งวิธีการดังกล่าวทำให้เราสามารถสังเคราะห์ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ แล้วได้ ผลิตภัณฑ์สูงถึงร้อยละ 88.7

สำหรับในประเทศไทยยังไม่มีรายงานการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มชูกำลังและผงเกลือแร่ นอกจากนี้ปริมาณการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์มีแนวโน้มที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาเมลลาร์ดและปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มชูกำลังและผงเกลือแร่ในท้องตลาด เพื่อประโยชน์ต่อการควบคุมปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มชูกำลัง ผงเกลือแร่ และผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่อาจมีแนวโน้มในการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ต่อไป

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### อุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมี

##### 1. อุปกรณ์และเครื่องมือ

- เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (บริษัท Hewlett-Packard รุ่น HP 1100) และใช้ตัวตรวจวัดแบบ diode array

- คอลัมน์ C18 (VertiSepTM pHendure ) 5  $\mu$ m ขนาด 4.6 x 250 mm
- เครื่องอัลตราไวโอเลตวิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (บริษัท Shimadzu รุ่น UV-2401 PC)
- เครื่องผลิตน้ำปราศจากไอออน(บริษัท Siemensรุ่น LaboStar)
- เครื่องอ่งไอน้ำ (บริษัท Memmert)
- ไมโครปิเปตต์ขนาด 1000 ไมโครลิตร
- กระดาษกรอง Whatman No.4
- เยื่อกรองเซลลูโลสอะซิเตต (บริษัท Vertical) ขนาด 0.45 ไมครอน

##### 2. สารเคมี

- สารมาตรฐานไฮดรอกซีเมทิลเฟอริพิวรัลดีไฮด์ (Chromatography grade, Fluka)
- สารละลายโพแทสเซียมเฟอร์โรไซยาไนด์ (Carrez I) (AR grade, บริษัท Fluka)
- สารละลายซิงค์อะซิเตต (Carrez II) (AR grade, บริษัท Fluka)
- อะซิโตนไทรล (HPLC grade บริษัท Merck)

##### 3. ตัวอย่างเครื่องดื่มชูกำลัง 16 ชนิด

- ED 1 เครื่องดื่มชูกำลัง ยี่ห้อ ลิโพ
- ED 2 เครื่องดื่มชูกำลัง ยี่ห้อ ลิโพพลัส
- ED 3 เครื่องดื่มชูกำลัง ยี่ห้อ กระทิงแดง
- ED 4 เครื่องดื่มชูกำลัง ยี่ห้อ M150
- ED 5 เครื่องดื่มชูกำลัง ยี่ห้อ M150 Storm
- ED 6 เครื่องดื่มชูกำลัง ยี่ห้อ คาราบาวแดง
- ED 7 เครื่องดื่มชูกำลัง ยี่ห้อ WE
- ED 8 เครื่องดื่มชูกำลัง ยี่ห้อ Gatorade (Blue)

- ED 9 เครื่องดื่มชูกำลัง ยี่ห้อ Gatorade (Lemon)
- ED 10 เครื่องดื่มชูกำลัง ยี่ห้อ Hang (Original)
- ED 11 เครื่องดื่มชูกำลัง ยี่ห้อ Hang (Foreplay)
- ED 12 เครื่องดื่มชูกำลัง ยี่ห้อ Hang (Vergin)
- ED 13 เครื่องดื่มชูกำลัง ยี่ห้อ เวดดี
- ED 14 เครื่องดื่มชูกำลัง ยี่ห้อ เวดดีซูท
- ED 15 เครื่องดื่มชูกำลัง ยี่ห้อ Msport
- ED 16 เครื่องดื่มชูกำลัง ยี่ห้อ MsportPlus

#### 4. ตัวอย่างผงเกลือแร่ 20 ชนิด

- EE 1 ผงเกลือแร่ ยี่ห้อ ออริต้า
- EE 2 ผงเกลือแร่ ยี่ห้อ Acta
- EE 3 ผงเกลือแร่ ยี่ห้อ D-Lyte (Grape)
- EE 4 ผงเกลือแร่ ยี่ห้อ D-Lyte (Strawberry)
- EE 5 ผงเกลือแร่ ยี่ห้อ D-Lyte (Orange)
- EE 6 ผงเกลือแร่ ยี่ห้อ ORS (GPO)
- EE 7 ผงเกลือแร่ ยี่ห้อ Power Plus
- EE 8 ผงเกลือแร่ ยี่ห้อ Cera (Orange)
- EE 9 ผงเกลือแร่ ยี่ห้อ Cera (Mix Fruit)
- EE 10 ผงเกลือแร่ ยี่ห้อ Dechamp
- EE 11 ผงเกลือแร่ ยี่ห้อ Dechamp (Orange)
- EE 12 ผงเกลือแร่ ยี่ห้อ Royal-D
- EE 13 ผงเกลือแร่ ยี่ห้อ Royal-D (Orange)
- EE 14 ผงเกลือแร่ ยี่ห้อ Stronk-K
- EE 15 ผงเกลือแร่ ยี่ห้อ O-Lyte (Orange)
- EE 16 ผงเกลือแร่ ยี่ห้อ Sea-Lyte (Lemon)
- EE 17 ผงเกลือแร่ ยี่ห้อ Sea ORS (Orange)
- EE 18 ผงเกลือแร่ ยี่ห้อ Olyne-Dek (Orange)
- EE 19 ผงเกลือแร่ ยี่ห้อ Mucilin (Orange)
- EE 20 ผงเกลือแร่ ยี่ห้อ Smecta (Orange/Vanilla)

## วิธีดำเนินการวิจัย

ตอนที่ 1 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของอัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่ในระบบการวัดแบบโดยตรง

1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้น 1 ppm

1.2 นำสารละลายที่เตรียมได้ไปกรองผ่านไซรินจ์ฟิลเตอร์เมมเบรนของเซลลูโลสอะซิเตตขนาด 0.45 ไมครอน

1.3 ฉีดสารละลายที่มีความเข้มข้นต่างๆ เข้าสู่ระบบของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงมีสภาวะของระบบวัฏภาคเคลื่อนที่ 4 สภาวะ ดังนี้

สภาวะที่ 1 ใช้ น้ำ : อะซีโตไนไตรล์ ในอัตราส่วนร้อยละ 97 : 3

สภาวะที่ 2 ใช้ น้ำ : อะซีโตไนไตรล์ ในอัตราส่วนร้อยละ 95 : 5

สภาวะที่ 3 ใช้ น้ำ : อะซีโตไนไตรล์ ในอัตราส่วนร้อยละ 90 : 10

สภาวะที่ 4 ใช้ น้ำ : อะซีโตไนไตรล์ ในอัตราส่วนร้อยละ 80 : 20

1.4 บันทึกโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานที่ได้จากการศึกษาผลขององค์ประกอบของวัฏภาคเคลื่อนที่และทำการสร้างกราฟมาตรฐาน

โดยการศึกษาสภาวะที่เหมาะสม ได้กำหนดสภาวะของระบบโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงไว้ ดังนี้

- คอลัมน์ C18 (VertiSep™ pHendure 5  $\mu$ m ขนาด 4.6 x 250 mm)
- องค์ประกอบวัฏภาคเคลื่อนที่ของอัตราส่วนน้ำต่ออะซีโตไนไตรล์ ร้อยละ 90 : 10
- อัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที
- ตัวตรวจวัดแบบอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร
- ปริมาตรต่อหนึ่งตัวอย่างการวิเคราะห์เท่ากับ 20 ไมโครลิตร (1 loop)

### การสร้างกราฟมาตรฐาน

การเตรียมสารละลายมาตรฐานไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์

ชั่งสารมาตรฐานไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ 0.01 กรัม ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100.00 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเขย่าจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จะได้สารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 100 ppm นำไปเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 4°C ก่อนที่จะนำไปใช้เป็นสารละลายมาตรฐานตั้งต้น

1) เตรียมสารละลายมาตรฐานไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้นในช่วง 0.001 – 7 ppm

- 2) นำสารละลายที่ได้ไปกรองผ่านไซริงจ์ฟิลเตอร์เมมเบรนของเซลลูโลสอะซิเตตขนาด 0.45 ไมครอน
- 3) จากนั้นฉีดสารละลายที่ได้สู่เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ตามสภาวะที่เหมาะสมข้างต้น
- 4) บันทึกโครมาโทแกรมเพื่อนำไปสร้างกราฟมาตรฐานของสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอรัฟิวรัลดีไฮด์

### การหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด และค่าของขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์

ฉีดสารละลายมาตรฐานไฮดรอกซีเมทิลเฟอรัฟิวรัลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้น 0.001 ppm เข้าสู่ระบบเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง จำนวน 10 ครั้ง บันทึกโครมาโทแกรม แล้วนำข้อมูลของสัญญาณการวิเคราะห์ที่ได้มาคำนวณหาค่าของ ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (LOD; S/N > 3) และขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (LOQ; S/N > 10) ตามสมการ (Shrivastava และ Gupta, 2011)

$$DL/QL = \frac{F \times SD}{b}$$

**หมายเหตุ**

DL คือ ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด

QL คือ ขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์

F คือ แฟคเตอร์ในการคำนวณ โดย สำหรับ DL มีค่าเท่ากับ 3.3 และสำหรับ QL มีค่าเท่ากับ 10 ตามลำดับ

b คือ ความชันที่ได้จากสมการกราฟมาตรฐานความเข้มข้นที่ได้จากการศึกษาข้างต้น

SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานไฮดรอกซีเมทิลเฟอรัฟิวรัลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้น 0.001 ppm จำนวน 10 ซ้ำ

## ตอนที่ 2 ศึกษาการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอรัฟิวรัลดีไฮด์ในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน

### การเตรียมสารละลาย

เตรียมสารละลายมาตรฐานน้ำตาล 3 ชนิด คือ ซูโครส, กลูโคส และฟรักโทส ที่ความเข้มข้น 1% โดยชั่งสารมาตรฐานของน้ำตาล 0.50 กรัม นำมาเติมน้ำกลั่นจนครบปริมาตร 50.00 มิลลิลิตร เขย่าจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จะได้สารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 1% (W/V) นำไปเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 4°C ก่อนที่จะนำไปใช้เป็นสารละลายมาตรฐานตั้งต้น

## 2.1 การศึกษาผลของชนิดน้ำตาลในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาकारาเมลไลเซชัน

2.1.1 บีบอัดสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 1% ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองที่มีฝาปิด โดยหลอดที่ 1-5 เป็นน้ำตาลซูโครส หลอดที่ 6 – 10 เป็นน้ำตาลกลูโคส และหลอดที่ 11 – 15 เป็นน้ำตาลฟรักโทส

2.1.2 นำไปอุ่นด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 30 นาที

2.1.3 นำหลอดทดลองขึ้นจากอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ นำมาแช่อ่างน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อหยุดปฏิกิริยา

2.1.4 นำสารละลายที่ได้ไปกรองผ่านไซรินจ์ฟิลเตอร์เมมเบรนของเซลลูโลสอะซิเตต ขนาด 0.45 ไมครอน

2.1.5 จากนั้นฉีดสารละลายที่ได้สู่เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ตามสภาวะที่เหมาะสมข้างต้น เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ทำการบันทึกโครมาโทแกรม แล้วนำค่าพื้นที่ใต้พีคมาคำนวณความเข้มข้นของปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน

## 2.2 การศึกษาผลของอุณหภูมิในการให้ความร้อน

2.2.1 บีบอัดสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 1% ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองที่มีฝาปิด โดยหลอดที่ 1-5 เป็นน้ำตาลซูโครส หลอดที่ 6 – 10 เป็นน้ำตาลกลูโคส และหลอดที่ 11 – 15 เป็นน้ำตาลฟรักโทส

2.2.2 ทำการควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิห้อง, 50, 60, 80 และ 100 °C ตามลำดับ เป็นเวลา 30 นาที

2.2.3 นำหลอดทดลองขึ้นจากอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ นำมาแช่อ่างน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อหยุดปฏิกิริยา

2.2.4 นำสารละลายที่ได้ไปกรองผ่านไซรินจ์ฟิลเตอร์เมมเบรนของเซลลูโลสอะซิเตต ขนาด 0.45 ไมครอน

2.2.5 จากนั้นฉีดสารละลายที่ได้สู่เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ตามสภาวะที่เหมาะสมข้างต้น เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ทำการบันทึกโครมาโทแกรม แล้วนำค่าพื้นที่ใต้พีคมาคำนวณความเข้มข้นของปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน

## 2.3 การศึกษาผลของเวลาในระบบต้นแบบ

2.3.1 ปิเปตสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 1% ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองที่มีฝาปิด โดยหลอดที่ 1-5 เป็นน้ำตาลซูโครส หลอดที่ 6 – 10 เป็นน้ำตาลกลูโคส และหลอดที่ 11 – 15 เป็นน้ำตาลฟรักโทส

2.3.2 นำไปอุ่นด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 5, 10, 30, 60 และ 80 นาที ตามลำดับ

2.3.3 นำหลอดทดลองขึ้นจากอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ นำมาแช่อ่างน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อหยุดปฏิกิริยา

2.3.4 นำสารละลายที่ได้ไปกรองผ่านไซรินจ์ฟิลเตอร์เมมเบรนของเซลลูโลสอะซิเตต ขนาด 0.45 ไมครอน

2.3.5 จากนั้นฉีดสารละลายที่ได้สู่เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ตามสภาวะที่เหมาะสมข้างต้น เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ ทำการบันทึกโครมาโทแกรม แล้วนำค่าพื้นที่ใต้พีคมาคำนวณความเข้มข้นของปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน

## ตอนที่ 3 ศึกษาการเกิดไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาเมลลาร์ด

### การเตรียมสารละลาย

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโน 3 ชนิด คือ กรดอะมิโนไลซีน, กรดอะมิโนโพรีลีน และกรดอะมิโนทรีปโทเฟน ที่ความเข้มข้น 2%

โดยทำการชั่งสารมาตรฐานกรดอะมิโน 2.00 กรัม นำมาเติมน้ำกลั่นจนครบปริมาตร 100.00 มิลลิลิตร เขย่าจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จะได้สารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 2% (w/v) นำไปเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 4 °C ก่อนที่จะนำไปใช้เป็นสารละลายมาตรฐานตั้งต้น

2. เตรียมสารละลายมาตรฐานน้ำตาล 3 ชนิด คือ ซูโครส, กลูโคส และฟรักโทส ที่ความเข้มข้น 2%

โดยชั่งสารมาตรฐานของน้ำตาล 2.00 กรัม นำมาเติมน้ำกลั่นจนครบปริมาตร 100.00 มิลลิลิตร เขย่าจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จะได้สารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 2% (W/V) นำไปเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 4 °C ก่อนที่จะนำไปใช้เป็นสารละลายมาตรฐานตั้งต้น

### 3.1 การศึกษาผลของชนิดของกรดอะมิโนในระบบต้นแบบ

3.1.1 ปีเปตสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโน 3 ชนิด คือ กรดอะมิโนไลซีน, กรดอะมิโนโพรลีน และกรดอะมิโนทริปโทเฟน ที่ความเข้มข้น 2% มา 1.00 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองที่มีฝาปิด โดยหลอดที่ 1-5 เป็นกรดอะมิโนไลซีน หลอดที่ 6 – 10 เป็นกรดอะมิโนทริปโทเฟน และหลอดที่ 11 – 15 เป็นกรดอะมิโนโพรลีน

3.1.2 ปีเปตสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 2% ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองข้างต้น ผสมให้เข้ากัน

3.1.3 นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 30 นาที

3.1.4 นำหลอดทดลองขึ้นจากอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ นำมาแช่อ่างน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อหยุดปฏิกิริยา

3.1.5 นำสารละลายที่ได้ไปกรองผ่านไซรินจ์ฟิลเตอร์เมมเบรนของเซลลูโลสอะซิเตต ขนาด 0.45 ไมครอน

3.1.6 จากนั้นฉีดสารละลายใส่ที่ได้สู่เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ตามสภาวะที่เหมาะสมข้างต้น เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ทำการบันทึกโครมาโทแกรม แล้วนำค่าพื้นที่ใต้พีคมาคำนวณความเข้มข้นของปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน

3.1.7 ทำการทดลองตามวิธีข้างต้นแต่เปลี่ยนสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสเป็นน้ำตาลฟรักโทสและน้ำตาลซูโครส

### 3.2 การศึกษาผลของชนิดน้ำตาลในระบบต้นแบบ

3.2.1 ปีเปตสารละลายมาตรฐานน้ำตาล 3 ชนิด คือ ซูโครส กลูโคส และฟรักโทส ที่ความเข้มข้น 2% มา 1.00 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองที่มีฝาปิด โดยหลอดที่ 1-5 เป็นน้ำตาลซูโครส หลอดที่ 6 – 10 เป็นน้ำตาลกลูโคส และหลอดที่ 11 – 15 เป็นน้ำตาลฟรักโทส

3.2.2 ปีเปตสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโนไลซีนความเข้มข้น 2% ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองข้างต้น ผสมให้เข้ากัน

3.2.3 นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 30 นาที

3.2.4 นำหลอดทดลองขึ้นจากอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ นำมาแช่อ่างน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อหยุดปฏิกิริยา

3.2.5 นำสารละลายที่ได้ไปกรองผ่านไซรินจ์ฟิลเตอร์เมมเบรนของเซลลูโลสอะซิเตต ขนาด 0.45 ไมครอน



3.2.6 จากนั้นฉีดสารละลายใส่ที่ได้สู่เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ตามสภาวะที่เหมาะสมข้างต้น เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ทำการบันทึกโครมาโทแกรม แล้วนำค่าพื้นที่ใต้พีคมาคำนวณความเข้มข้นของปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน

### 3.3 การศึกษาผลของอุณหภูมิในระบบต้นแบบ

3.3.1 ปิเปตสารละลายมาตรฐานน้ำตาล 3 ชนิด คือ ซูโครส กลูโคส และฟรักโทส ที่ความเข้มข้น 2% มา 1.00 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองที่มีฝาปิด โดยหลอดที่ 1-5 เป็นน้ำตาลซูโครส หลอดที่ 6 – 10 เป็นน้ำตาลกลูโคส และหลอดที่ 11 – 15 เป็นน้ำตาลฟรักโทส

3.3.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโนไลซีนความเข้มข้น 2% ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองข้างต้น ผสมให้เข้ากัน

3.3.3 โดยควบคุมที่อุณหภูมิห้อง, 50, 60, 80 และ 100 °C ตามลำดับ เป็นเวลา 30 นาที

3.3.4 นำหลอดทดลองขึ้นจากอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ นำมาแช่อ่างน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อหยุดปฏิกิริยา

3.3.5 นำสารละลายที่ได้ไปกรองผ่านไซรินจ์ฟิลเตอร์เมมเบรนของเซลลูโลสอะซิเตต ขนาด 0.45 ไมครอน

3.3.6 จากนั้นฉีดสารละลายใส่ที่ได้สู่เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ตามสภาวะที่เหมาะสมข้างต้น เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ทำการบันทึกโครมาโทแกรม แล้วนำค่าพื้นที่ใต้พีคมาคำนวณความเข้มข้นของปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน

### 3.4 การศึกษาผลของเวลาในระบบต้นแบบ

3.4.1 ปิเปตสารละลายมาตรฐานน้ำตาล 3 ชนิด คือ ซูโครส กลูโคส และฟรักโทส ที่ความเข้มข้น 2% มา 1.00 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองที่มีฝาปิด โดยหลอดที่ 1-5 เป็นน้ำตาลซูโครส หลอดที่ 6 – 10 เป็นน้ำตาลกลูโคส และหลอดที่ 11 – 15 เป็นน้ำตาลฟรักโทส

3.4.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโนไลซีนความเข้มข้น 2% ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองข้างต้น ผสมให้เข้ากัน

3.4.3 นำไปอุ่นด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 5, 10, 30, 60 และ 80 นาที ตามลำดับ

3.4.4 นำหลอดทดลองขึ้นจากอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ นำมาแช่อ่างน้ำแข็งที่อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$  เพื่อหยุดปฏิกิริยา

3.4.5 นำสารละลายที่ได้ไปกรองผ่านไซรินจ์ฟิลเตอร์เมมเบรนของเซลลูโลสอะซิเตต ขนาด 0.45 ไมครอน

3.4.6 จากนั้นฉีดสารละลายใส่ที่ได้สู่เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ตามสภาวะที่เหมาะสมข้างต้น เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ทำการบันทึกโครมาโทแกรม แล้วนำค่าพื้นที่ใต้พีคมาคำนวณความเข้มข้นของปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน

#### ตอนที่ 4 การศึกษาหาปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในตัวอย่างเครื่องดื่มชูกำลังและผงเกลือแร่ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

##### การเตรียมสารละลาย

1. สารละลาย Carrez I (Carrez. 1909 : 187-189)

ซึ่งสารโพแทสเซียมเฟอร์โรไซยาไนด์  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  15 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 100.00 มิลลิลิตร

2. สารละลาย Carrez II (Carrez. 1909 : 187-189)

ซึ่งสารซิงค์อะซิเตต  $\text{Zn}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  15 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 100.00 มิลลิลิตร

3. ผงเกลือแร่

ผงเกลือแร่ 1 ซอง ลงในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่นตามปริมาตรที่กำหนดไว้บนซอง

##### วิธีการทดลอง

4.1 เก็บตัวอย่างเครื่องดื่มชูกำลังและผงเกลือแร่ที่มีขายในท้องตลาด จำนวน 36 ชนิด

4.2 ปิเปตสารละลายตัวอย่างแต่ละชนิดปริมาตร 5.00 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองแต่ละหลอด จำนวน 3 หลอด

4.3 ปิเปตสารละลาย Carrez I 1.00 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และปิเปตสารละลาย Carrez II 1.00 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 50.00 มิลลิลิตร

4.4 นำสารละลายที่ได้ไปกรองผ่านไซรินจ์ฟิลเตอร์เมมเบรนของเซลลูโลสอะซิเตตขนาด 0.45 ไมครอน

4.5 จากนั้นฉีดสารละลายใส่ที่ได้สู่เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ตามสภาวะที่เหมาะสมข้างต้น เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ทำการบันทึก

โครมาโทแกรม แล้วนำค่าพื้นที่ใต้พีคมาคำนวณความเข้มข้นของปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน

#### การหาค่าความถูกต้อง

- 1) ฉีดสารละลายมาตรฐานไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้น 0.5 ppm จำนวน 10 ซ้ำ เข้าสู่เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง บันทึกโครมาโทแกรม
- 2) ปิเปตตัวอย่างเครื่องดื่มชูกำลังปริมาตร 5.00 มิลลิลิตร เติมสารละลายมาตรฐานไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ความเข้มข้น 1 ppm (spike = 0.5 ppm)
- 3) ปิเปตสารละลาย Carrez I 1.00 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และปิเปตสารละลาย Carrez II 1.00 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
- 4) นำสารละลายที่ได้ไปกรองผ่านไซรินจ์ฟิลเตอร์เมมเบรนของเซลลูโลสอะซิเตตขนาด 0.45 ไมครอน
- 5) จากนั้นฉีดสารละลายใส่ที่ได้สู่เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ตามสภาวะที่เหมาะสมข้างต้น บันทึกโครมาโทแกรม แล้วนำข้อมูลของสัญญาณการวิเคราะห์ที่ได้มาคำนวณหาค่าร้อยละการคืนกลับ (%Recovery) โดยการคำนวณ แสดงดังสมการที่ 1

$$\text{ค่าร้อยละการคืนกลับ} = \frac{(C_A \text{ in sample} + C_A \text{ added}) - C_A \text{ in sample}}{C_A \text{ added}} \times 100 \quad \text{-----(1)}$$

หมายเหตุ  $C_A$  in sample = ความเข้มข้นของสารที่สนใจวิเคราะห์ในตัวอย่าง

$C_A$  added = ความเข้มข้นของสารที่สนใจวิเคราะห์ที่เติมในระบบ

#### การหาค่าความแม่นยำ

- 1) ปิเปตตัวอย่างเครื่องดื่มชูกำลังปริมาตร 5.00 มิลลิลิตร
- 2) ปิเปตสารละลาย Carrez I 1.00 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และปิเปตสารละลาย Carrez II 1.00 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 50.00 มิลลิลิตร
- 3) นำสารละลายที่ได้ไปกรองผ่านไซรินจ์ฟิลเตอร์เมมเบรนของเซลลูโลสอะซิเตตขนาด 0.45 ไมครอน
- 4) จากนั้นฉีดสารละลายใส่ที่ได้สู่เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ตามสภาวะที่เหมาะสมข้างต้น บันทึกโครมาโทแกรม แล้วนำข้อมูลของสัญญาณการวิเคราะห์ที่ได้มาคำนวณหาค่าร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) โดยการคำนวณ แสดงดังสมการที่ 2

$$\text{ร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์} = \frac{\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน}}{\text{ค่าเฉลี่ย}} \times 100 \quad \text{----- (2)}$$

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

ในการวิจัยครั้งนี้ได้ทำการศึกษการเปรียบเทียบการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันและปฏิกิริยาเมลลาร์ด และวิเคราะห์ปริมาณในเครื่องต้มชูกำลังและเครื่องต้มเกลือแร่ โดยใช้วิธีวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ผู้วิจัยแสดงผลการทดลองดังนี้

1. ผลการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของอัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่
2. ผลการศึกษการเกิดไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในระบบต้นแบบ ของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน
  - 2.1 ผลของชนิดน้ำตาลในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน
  - 2.2 ผลของอุณหภูมิในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน
  - 2.3 ผลของเวลาในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน
3. ผลการศึกษการเกิดไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในระบบต้นแบบ ของปฏิกิริยาเมลลาร์ด
  - 3.1 ผลของชนิดของกรดอะมิโนในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาเมลลาร์ด
  - 3.2 ผลของชนิดน้ำตาลในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาเมลลาร์ด
  - 3.3 ผลของอุณหภูมิในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาเมลลาร์ด
  - 3.4 ผลของเวลาในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาเมลลาร์ด
4. ผลการศึกษาหาปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในตัวอย่างเครื่องต้มชูกำลังและผงเกลือแร่ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

#### ตอนที่ 1 ผลการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของอัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่ในระบบการวัดแบบโดยตรง

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง มีอัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณด้วยตัวตรวจจับแบบอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ทำการเปลี่ยนแปลงวัฏภาคเคลื่อนที่ 4 สภาวะ ดังนี้

- สภาวะที่ 1 ใช้น้ำ : อะซีโตไนไตรล์ ในอัตราส่วนร้อยละ 97 : 3  
 สภาวะที่ 2 ใช้น้ำ : อะซีโตไนไตรล์ ในอัตราส่วนร้อยละ 95 : 5  
 สภาวะที่ 3 ใช้น้ำ : อะซีโตไนไตรล์ ในอัตราส่วนร้อยละ 90 : 10  
 สภาวะที่ 4 ใช้น้ำ : อะซีโตไนไตรล์ ในอัตราส่วนร้อยละ 80 : 20

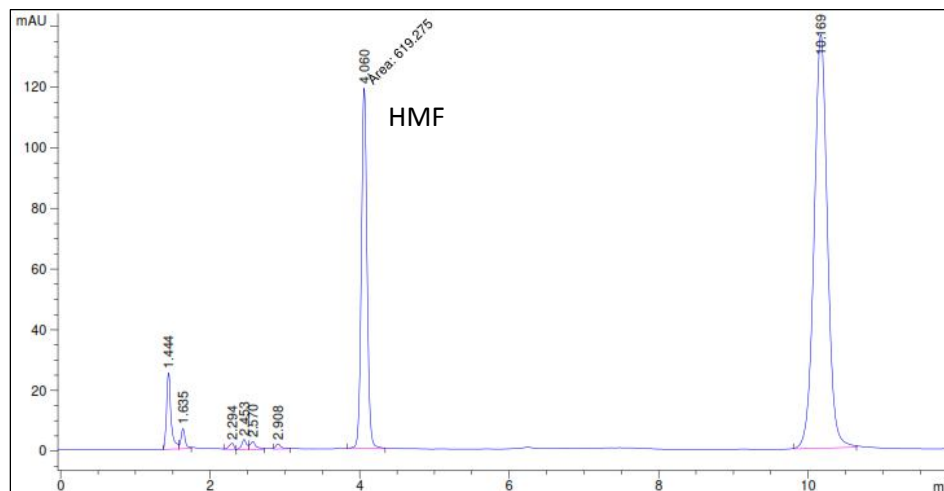
ผลการทดลองแสดงเวลาในการคงอยู่ในคอลัมน์ (retention time) ของสารละลายมาตรฐานไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ ในสภาวะต่างๆ ดังแสดงในตาราง 4

ตาราง 4 แสดงระยะเวลาการคงอยู่ในคอลัมน์ของสารละลายมาตรฐานไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ ณ สภาวะต่างๆ ของวัฏภาคเคลื่อนที่

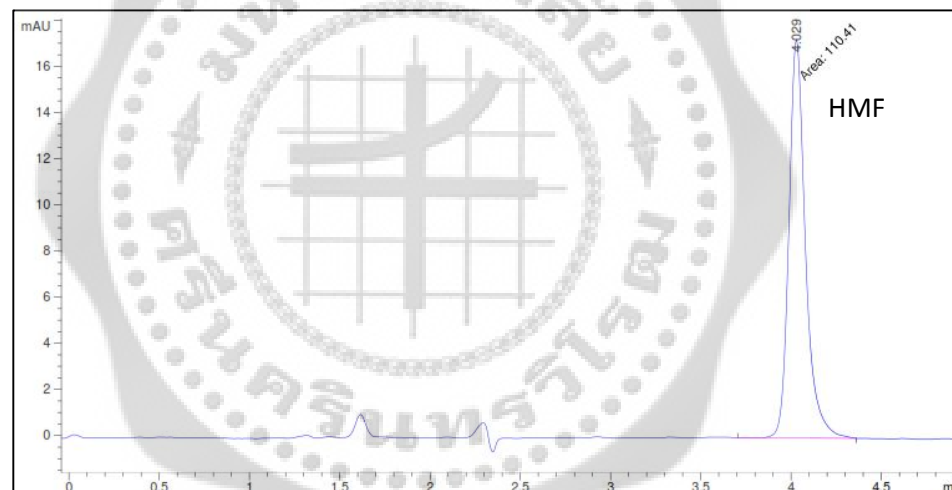
สภาวะ	เวลาในการคงอยู่ในคอลัมน์ (นาที)
1	$9.3 \pm 0.010$
2	$6.6 \pm 0.100$
3	$4.0 \pm 0.006$
4	$2.6 \pm 0.002$

หมายเหตุ ทำการทดลองซ้ำ มีค่า  $n = 5$

จากผลการทดลองในตารางที่ 4 พบว่าระยะเวลาในการคงอยู่ในคอลัมน์ของสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ แตกต่างกัน ซึ่งสภาวะที่ 4 พบพีคของสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ ที่ระยะเวลาน้อยที่สุด แต่เมื่อนำไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างเครื่องสำอางค์กำลังพบว่าโครมาโทแกรมเกิดการซ้อนทับระหว่างพีคของสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์กับพีคอื่นๆ ดังนั้นจึงเลือกที่สภาวะที่ 3 เป็นสภาวะที่เหมาะสม ซึ่งจะพบพีคของไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ที่เวลาประมาณ 4 นาที โดยโครมาโทแกรมที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสมจะแสดงดังภาพประกอบ 9



ภาพประกอบ 9 โครมาโทแกรมการวิเคราะห์แยกสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริพิวรัลดีไฮด์ในตัวอย่างเครื่องดื่มชูกำลัง โดยใช้สภาวะที่ 3



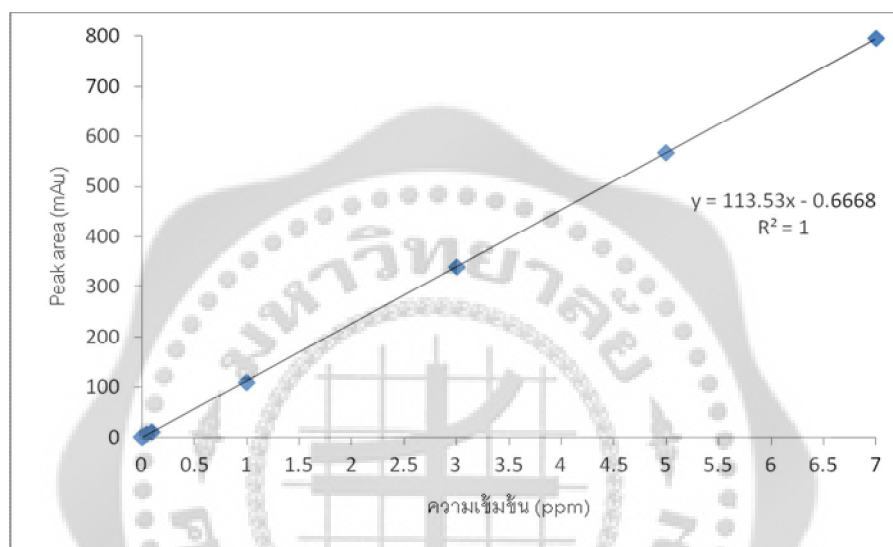
ภาพประกอบ 10 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานไฮดรอกซีเมทิลเฟอริพิวรัลดีไฮด์ โดยใช้สภาวะที่ 3

จากเหตุผลดังกล่าวข้างต้น ผู้วิจัยจึงเลือกสภาวะของระบบโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ดังนี้

- คอลัมน์ C18 (VertiSep™ pHendure 5µm ขนาด 4.6 x 250 mm)
- องค์ประกอบวัฏภาคเคลื่อนที่ของอัตราส่วนน้ำต่ออะซิโตนไทรล์ ร้อยละ 90 : 10
- อัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที
- ตัวตรวจวัดแบบอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร
- ปริมาตรต่อหนึ่งตัวอย่างการวิเคราะห์เท่ากับ 20 ไมโครลิตร (1 loop)

### การสร้างกราฟมาตรฐาน

เมื่อนำสภาวะดังกล่าวมาใช้ในการวัดปริมาณสารมาตรฐานไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้น ตั้งแต่ 0.001, 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 1, 3, 5 และ 7 ppm นำข้อมูลพื้นที่ใต้กราฟของโครมาโทแกรมมาใช้ในการหาความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟกับความเข้มข้นในรูปของสมการเส้นตรง พบว่า สมการเส้นตรงที่ได้มีค่าเท่ากับ  $y = 113.53x - 0.6668$  โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $R^2$ ) อยู่ที่ 1 ดังแสดงในภาพประกอบ 11



ภาพประกอบ 11 กราฟมาตรฐานของสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ ช่วงความเข้มข้นที่ 0.001-7 ppm

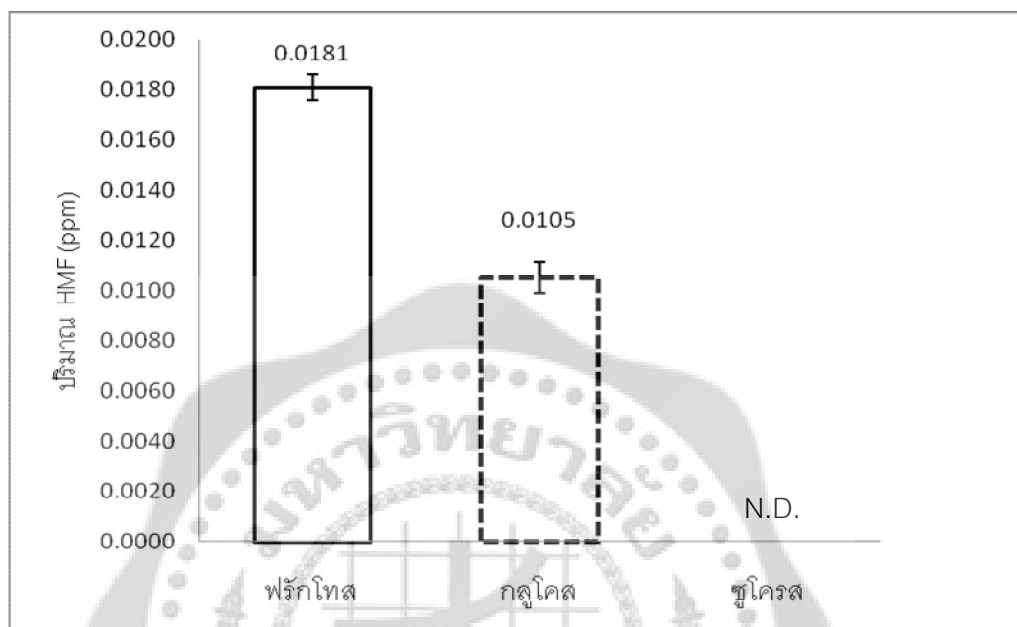
จากสภาวะที่เหมาะสมข้างต้น เมื่อกำหนดหาค่าขีดความสามารถต่ำสุดในการตรวจวัด (LOD) และค่าขีดความสามารถต่ำสุดในการวิเคราะห์ (LOQ) ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารเกิดไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ พบว่าได้ค่า LOD ( $S/N > 3$ ) เท่ากับ 0.00036 ppm และค่า LOQ ( $S/N > 10$ ) เท่ากับ 0.0012 ppm ตามลำดับ

## ตอนที่ 2 ผลการศึกษาการเกิดไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในระบบต้นแบบ ของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน

### 2.1 ผลของชนิดน้ำตาลในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน

ผลของชนิดน้ำตาลในการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน ได้ทำการวิเคราะห์โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมข้างต้นในตอนที่ 1 ด้วย

เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยทำการทดลองกับน้ำตาลทั้ง 3 ชนิด คือ น้ำตาลซูโครส น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลฟรักโทส โดยมีการให้ความร้อนแก่น้ำตาลที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 30 นาที ผลที่ได้แสดงดังภาพประกอบ 12



ภาพประกอบ 12 เปรียบเทียบการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ ของน้ำตาล 3 ชนิด ในปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน

จากการศึกษาพบว่า ปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ที่เกิดจากน้ำตาลฟรักโทส มากกว่าน้ำตาลกลูโคส และไม่สามารถตรวจหาสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในระบบของน้ำตาลซูโครส

## 2.2 ผลของอุณหภูมิในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน

ผลของอุณหภูมิในการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน โดยมีการให้ความร้อนแก่น้ำตาล 3 ชนิด ที่อุณหภูมิ 35, 50, 60, 80 และ 100 °C เป็นเวลา 30 นาที ให้ผลดังแสดงในตาราง 5



ตาราง 5 ผลของอุณหภูมิในการให้ความร้อนแก่น้ำตาลของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน

อุณหภูมิ(°C)	ปริมาณสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ (ppm) ± SD ในระบบน้ำตาล		
	ฟรักโทส	กลูโคส	ซูโครส
35	0.0151 ± 0.0002	0.0082 ± 0.0006	N.D.
50	0.0162 ± 0.0009	0.0104 ± 0.0011	N.D.
60	0.0183 ± 0.0007	0.0106 ± 0.0003	N.D.
80	0.0181 ± 0.0005	0.0105 ± 0.0006	N.D.
100	0.0518 ± 0.0019	0.0129 ± 0.0005	N.D.

หมายเหตุ 1) N.D. หมายถึง มีปริมาณน้อยมากจนไม่สามารถตรวจวัดได้ด้วยวิธีการที่นำเสนอ

2) จำนวนชุดการทดลอง มีค่า n = 5

จากตาราง 5 เมื่อมีการเพิ่มอุณหภูมิในระบบให้สูงขึ้น ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์มีแนวโน้มสูงขึ้น โดยปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ที่เกิดจากน้ำตาลฟรักโทส มากกว่าน้ำตาลกลูโคส แต่ในระบบของน้ำตาลซูโครสไม่พบปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์

### 2.3 ผลของเวลาในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน

ผลของเวลาในการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน ในน้ำตาลทั้ง 3 ชนิด คือ น้ำตาลซูโครส น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลฟรักโทส โดยมีการให้ความร้อนแก่น้ำตาลที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 5, 10, 30, 60 และ 80 นาที ให้ผลดังแสดงในตาราง 6

ตาราง 6 ผลของเวลาในการให้ความร้อนแก่น้ำตาลของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน

เวลา (นาที)	ปริมาณสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ (ppm) ± SD ในระบบน้ำตาล		
	ฟรักโทส	กลูโคส	ซูโครส
5	0.0162 ± 0.0005	0.0092 ± 0.0002	N.D.
10	0.0160 ± 0.0009	0.0093 ± 0.0003	N.D.
30	0.0181 ± 0.0005	0.0105 ± 0.0006	N.D.
60	0.0184 ± 0.0013	0.0107 ± 0.0007	N.D.
80	0.0205 ± 0.0007	0.0122 ± 0.0018	N.D.

หมายเหตุ 1) N.D. หมายถึง มีปริมาณน้อยมากจนไม่สามารถตรวจวัดได้ด้วยวิธีการที่นำเสนอ

2) จำนวนชุดการทดลอง มีค่า  $n = 5$

จากตาราง 6 เมื่อให้ความร้อนแก่ระบบเป็นเวลานานขึ้น ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์มีแนวโน้มสูงขึ้น เนื่องจากน้ำตาลเกิดการสูญเสียน้ำออกจากโมเลกุลอย่างต่อเนื่อง จึงเกิดเป็นสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์มากขึ้น (Berk, 1976 : 315)

### ตอนที่ 3 ผลการศึกษาการเกิดไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ในระบบต้นแบบ ของปฏิกิริยาเมลลาร์ด

#### 3.1 ผลของชนิดของกรดอะมิโนในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาเมลลาร์ด

การเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ ในปฏิกิริยาเมลลาร์ด เป็นการเกิดปฏิกิริยาระหว่างหมู่อะมิโนของกรดอะมิโนกับหมู่คาร์บอนิลในน้ำตาล ซึ่งในการทดลองนี้ได้เลือกใช้กรดอะมิโน 3 ชนิด คือ กรดอะมิโนไลซีน, กรดอะมิโนโพรลีน และกรดอะมิโนทริปโทเฟน มาทำปฏิกิริยากับน้ำตาลทั้ง 3 ชนิด คือ น้ำตาลซูโครส, น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลฟรักโทส ที่อุณหภูมิ  $80^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 30 นาที ให้ผลดังแสดงในตาราง 7

ตาราง 7 ผลของชนิดกรดอะมิโนในปฏิกิริยาเมลลาร์ด

กรดอะมิโน	ปริมาณสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ (ppm) $\pm$ SD ในระบบน้ำตาล		
	ฟรักโทส	กลูโคส	ซูโครส
ไลซีน	$0.0117 \pm 0.0008$	$0.0108 \pm 0.0005$	N.D.
โพรลีน	$0.0107 \pm 0.0006$	$0.0103 \pm 0.0005$	N.D.
ทริปโทเฟน	$0.0080 \pm 0.0006$	$0.0025 \pm 0.0006$	N.D.

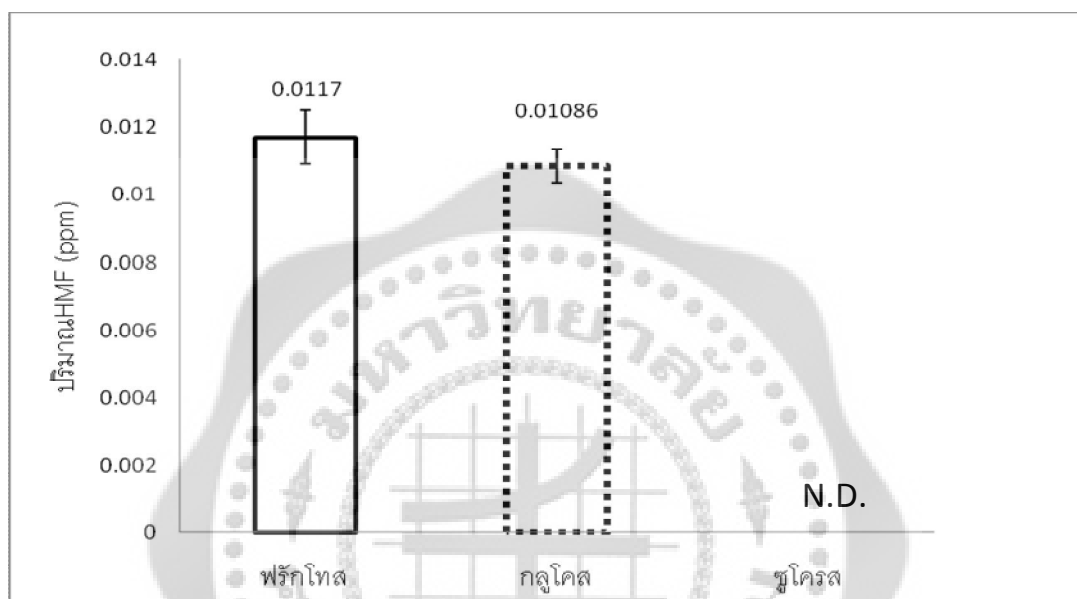
หมายเหตุ 1) N.D. หมายถึง มีปริมาณน้อยมากจนไม่สามารถตรวจวัดได้ด้วยวิธีการที่นำเสนอ

2) จำนวนชุดการทดลอง มีค่า  $n = 5$

จากตาราง 7 พบว่าปริมาณของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ที่เกิดขึ้นระหว่างกรดอะมิโนไลซีนกับน้ำตาล มีค่ามากกว่ากรดอะมิโนโพรลีน และทริปโทเฟน

### 3.2 ผลของชนิดน้ำตาลในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาเมลลาร์ด

ผลของชนิดน้ำตาลในการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาเมลลาร์ด โดยทำการทดลองกับน้ำตาล 3 ชนิด คือ น้ำตาลซูโครส น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลฟรักโทส กับกรดอะมิโนไลซีน ที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 30 นาที ให้ผลดังแสดงในภาพประกอบ 13



ภาพประกอบ 13 เปรียบเทียบการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ของน้ำตาล 3 ชนิดในปฏิกิริยาเมลลาร์ด

จากภาพประกอบที่ 13 ชนิดของน้ำตาลมีผลต่อการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ เมื่อน้ำตาลแต่ละชนิดทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนไลซีนที่มีความไวในการทำปฏิกิริยามากที่สุด ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ที่เกิดจากน้ำตาลฟรักโทสมากกว่าน้ำตาลกลูโคส และไม่สามารถตรวจหาสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในระบบของน้ำตาลซูโครส

### 3.3 ผลของอุณหภูมิในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาเมลลาร์ด

ผลของอุณหภูมิในการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาเมลลาร์ด โดยทำการทดลองกับน้ำตาลทั้ง 3 ชนิด คือ น้ำตาลซูโครส น้ำตาลกลูโคส และ

น้ำตาลฟรักโทส กับกรดอะมิโนไลซีน โดยมีการให้ความร้อนแก่น้ำตาลที่อุณหภูมิ 35, 50, 60, 80 และ 100 °C เป็นเวลา 30 นาที ให้ผลดังแสดงในตาราง 8

ตาราง 8 แสดงผลของอุณหภูมิในการให้ความร้อนแก่น้ำตาลของปฏิกิริยาเมลลาร์ด

อุณหภูมิ(°C)	ปริมาณสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอรฺ์ฟิวรัลดีไฮด์ (ppm) ± SD ในระบบน้ำตาล		
	ฟรักโทส	กลูโคส	ซูโครส
35	0.0037 ± 0.0003	0.0075 ± 0.0001	N.D.
50	0.0065 ± 0.0006	0.0080 ± 0.0008	N.D.
60	0.0066 ± 0.0005	0.0081 ± 0.0002	N.D.
80	0.0117 ± 0.0008	0.0109 ± 0.0005	N.D.
100	0.0255 ± 0.0000	0.0137 ± 0.0008	N.D.

หมายเหตุ 1) N.D. หมายถึง มีปริมาณน้อยมากจนไม่สามารถตรวจวัดได้ด้วยวิธีการที่นำเสนอ

2) จำนวนชุดการทดลอง มีค่า n = 5

จากตารางที่ 8 เมื่อมีการเพิ่มอุณหภูมิในระบบเมลลาร์ดให้สูงขึ้น ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอรฺ์ฟิวรัลดีไฮด์มีแนวโน้มสูงขึ้น โดยอุณหภูมิ 100°C ปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอรฺ์ฟิวรัลดีไฮด์ที่เกิดจากน้ำตาลฟรักโทส มากกว่าน้ำตาลกลูโคส แต่ในระบบของน้ำตาลซูโครสไม่พบปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอรฺ์ฟิวรัลดีไฮด์ ซึ่งมีแนวโน้มการเกิดเช่นเดียวกับปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน

### 3.4 ผลของเวลาในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาเมลลาร์ด

การเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอรฺ์ฟิวรัลดีไฮด์ในปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและเวลา ซึ่งในการทดลองของปฏิกิริยาเมลลาร์ดนี้จึงทดลองแปรผันเวลา โดยทำการทดลองกับน้ำตาล 3 ชนิดคือ น้ำตาลซูโครส น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลฟรักโทส กับกรดอะมิโนไลซีน ให้ความร้อนแก่น้ำตาลที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 5, 10, 30, 60 และ 80 นาที ให้ผลดังแสดงในตาราง 9

ตาราง 9 ผลของเวลาในการให้ความร้อนแก่น้ำตาลของปฏิกิริยาเมลลาร์ด

เวลา (นาที)	ปริมาณสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ (ppm) $\pm$ SD ในระบบน้ำตาล		
	ฟรักโทส	กลูโคส	ซูโครส
5	0.0105 $\pm$ 0.0008	0.0095 $\pm$ 0.0006	N.D.
10	0.0106 $\pm$ 0.0012	0.0100 $\pm$ 0.0008	N.D.
30	0.0117 $\pm$ 0.0008	0.0109 $\pm$ 0.0005	N.D.
60	0.0127 $\pm$ 0.0012	0.0110 $\pm$ 0.0004	N.D.
80	0.0146 $\pm$ 0.0012	0.0112 $\pm$ 0.0005	N.D.

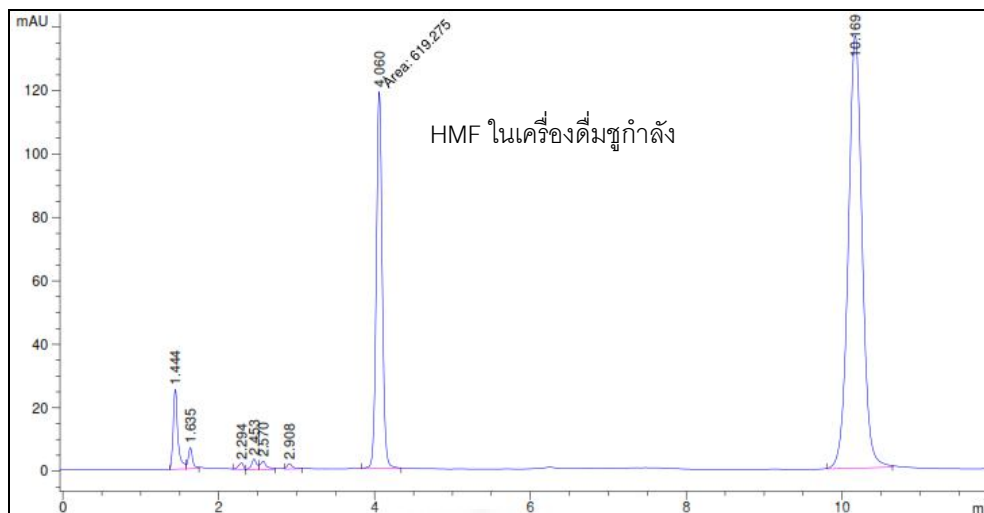
หมายเหตุ 1) N.D. หมายถึง มีปริมาณน้อยมากจนไม่สามารถตรวจวัดได้ด้วยวิธีการที่นำเสนอ

2) จำนวนชุดการทดลอง มีค่า n = 5

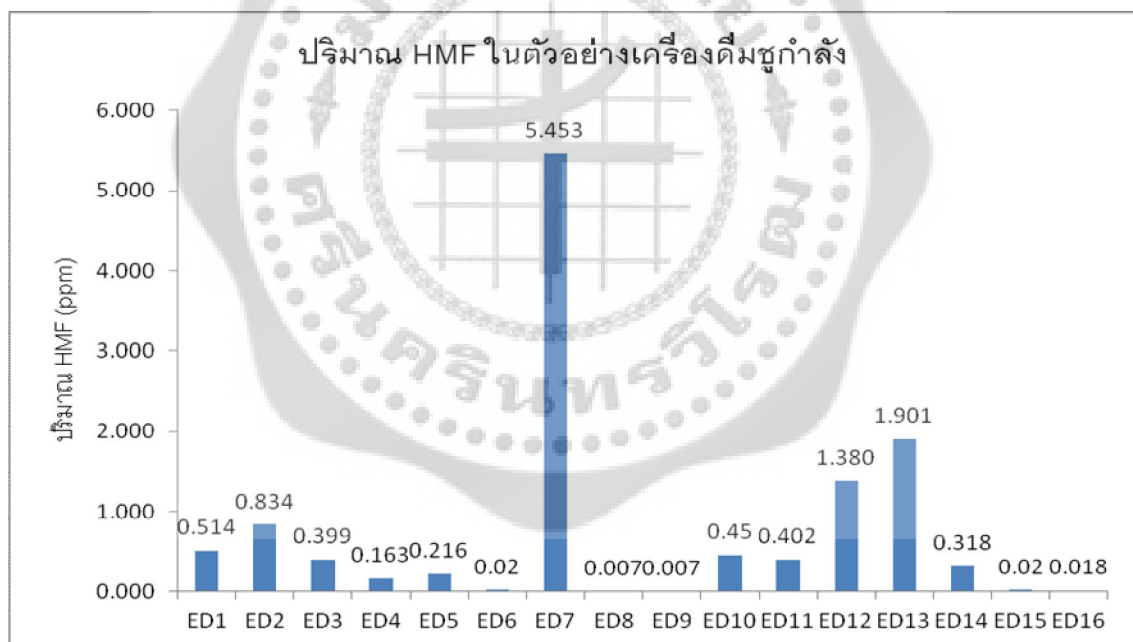
จากตาราง 9 เมื่อให้ความร้อนแก่ระบบเมลลาร์ดเป็นเวลานานขึ้น ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์มีแนวโน้มสูงขึ้น ซึ่งเวลาที่ 80 นาที มีปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ที่เกิดจากน้ำตาลฟรักโทสและน้ำตาลกลูโคสมากที่สุด

#### ตอนที่ 4 ผลการศึกษาหาปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในตัวอย่างเครื่องดื่มชูกำลังและผงเกลือแร่ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

จากข้อมูลของสภาวะที่เหมาะสมที่ได้ในตอน 1 จึงได้นำสภาวะดังกล่าวมาใช้ในวัดปริมาณสารมาตรฐานของไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในเครื่องดื่มชูกำลังและเครื่องดื่มเกลือแร่ โดยจากข้อมูลทางสถิติที่ได้พบว่าสภาวะดังกล่าวมีค่าของร้อยละการคืนกลับ (% Recovery) อยู่ที่ 102-115% และมีความแม่นยำในการตรวจวิเคราะห์ในรูปของ (%RSD) อยู่ที่ 0.55% เมื่อนำไปวิเคราะห์ในตัวอย่างจะพบพีคของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์แยกตัวออกจากพีคสารรบกวนในตัวอย่างชัดเจนและใช้เวลาวิเคราะห์ในแต่ละตัวอย่างทั้งสิ้นประมาณ 12 นาที ดังแสดงโครมาโทแกรมในภาพประกอบ 14 โดยผลของการตรวจวิเคราะห์ปริมาณของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในเครื่องดื่มชูกำลัง 16 ชนิด ดังแสดงในภาพประกอบ 15

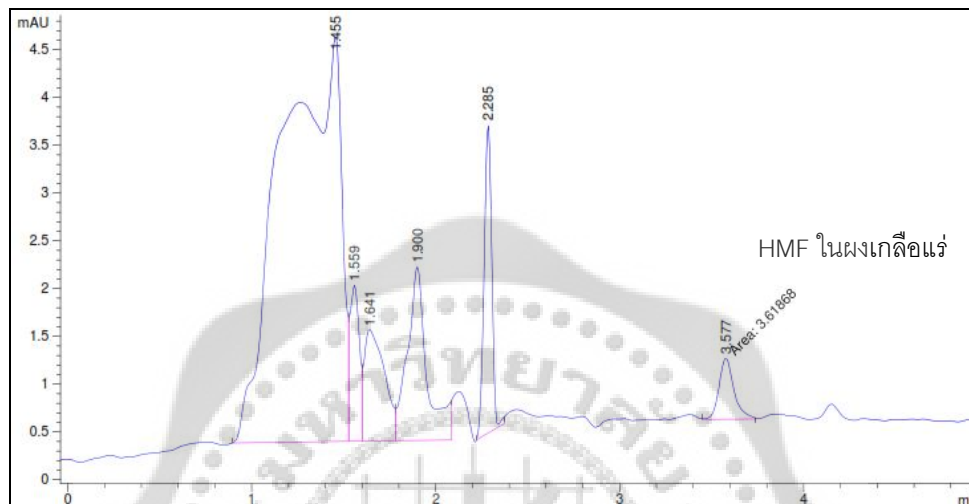


ภาพประกอบ 14 แสดงตัวอย่างโครมาโทแกรมของปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ ในตัวอย่างเครื่องต้มชูกำลัง

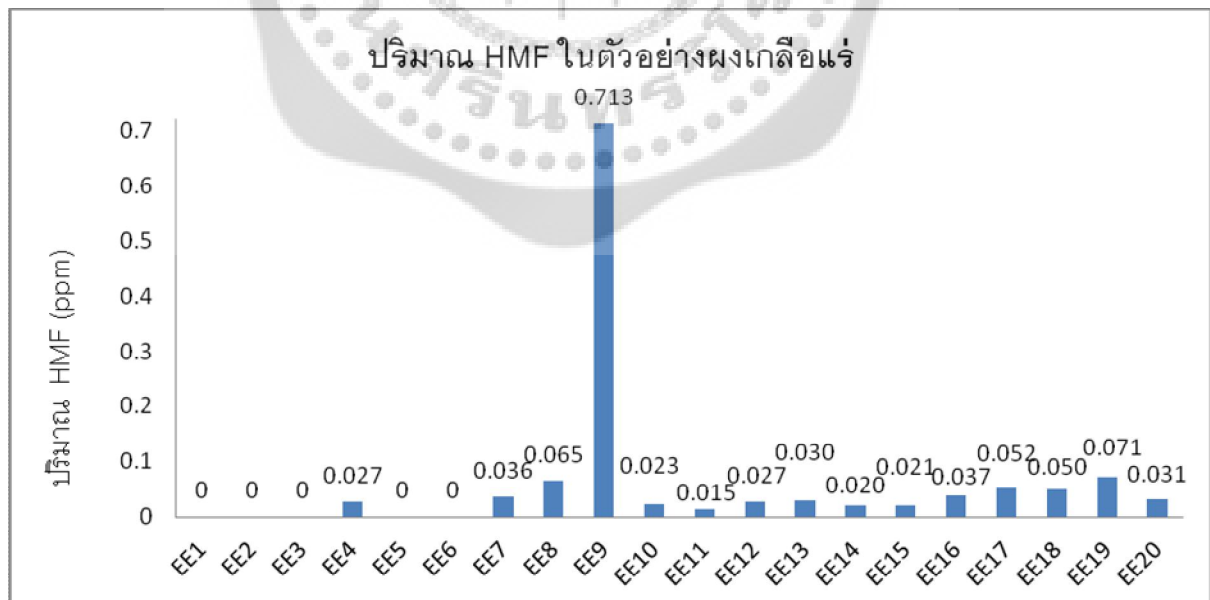


ภาพประกอบ 15 แสดงปริมาณของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในเครื่องต้มชูกำลัง 16 ชนิด

เมื่อนำไปวิเคราะห์ในตัวอย่างผงเกลือแร่จะพบพีกของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัล ดีไฮด์แยกตัวออกจากพีกสารรบกวนในตัวอย่างชัดเจนและใช้เวลาวิเคราะห์ในแต่ละตัวอย่างทั้งสิ้น ประมาณ 5 นาที ดังแสดงโครมาโทแกรมในภาพประกอบ 16 โดยผลของการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ ของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในผงเกลือแร่ 20 ชนิด ดังแสดงในภาพประกอบ 17



ภาพประกอบ 16 แสดงตัวอย่างโครมาโทแกรมของปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัล ดีไฮด์ ในตัวอย่างผงเกลือแร่



ภาพประกอบ 17 แสดงปริมาณของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในตัวอย่างผงเกลือแร่ 20 ชนิด

## บทที่ 5

### สรุปผล อภิปรายผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

ในการวิจัยครั้งนี้ได้ทำการศึกษาการเปรียบเทียบการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ในปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันและปฏิกิริยาเมลลาร์ด และวิเคราะห์ปริมาณในเครื่องดื่มชูกำลังและเครื่องดื่มเกลือแร่ โดยใช้วิธีวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ซึ่งจะสรุปผล อภิปรายผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ ดังนี้

#### สรุปผลการวิจัย

**ตอนที่ 1** ผลการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของอัตราส่วนของวัตถุดิบที่อยู่ในระบบการวัดแบบโดยตรง พบว่าสภาวะที่ 3 เป็นวัตถุดิบที่ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ ซึ่งมีอัตราส่วนน้ำต่ออะซิโตนในโวลล์ ร้อยละ 90 : 10

**ตอนที่ 2** ผลการศึกษาการเกิดไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ในระบบต้นแบบ ของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน

2.1 ชนิดน้ำตาลในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน ผลการศึกษาพบว่า การเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ในระบบของน้ำตาลแตกต่างกัน โดยปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ที่เกิดจากน้ำตาลฟรักโทสมากกว่าน้ำตาลกลูโคสและไม่สามารถตรวจพบในระบบของน้ำตาลซูโครส

2.2 อุณหภูมิในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน ผลการศึกษาพบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิให้แก่ระบบสูงขึ้น ปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์มีแนวโน้มสูงขึ้นด้วย ซึ่งปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ที่เกิดจากระบบของน้ำตาลฟรักโทสมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแบบสมการเอ็กซ์โพเนนเชียล ส่วนปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ที่เกิดจากระบบของน้ำตาลกลูโคส มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแบบสมการเส้นตรง

2.3 เวลาในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน ผลการศึกษาพบว่าเมื่อเพิ่มเวลาในการให้ความร้อนนานขึ้น ปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์มีแนวโน้มสูงขึ้นด้วยซึ่งปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ที่เกิดจากระบบของน้ำตาลฟรักโทสมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแบบสมการเส้นตรง ส่วนปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ที่เกิดจากระบบของน้ำตาลกลูโคส มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแบบสมการเอ็กซ์โพเนนเชียล



**ตอนที่ 3** การศึกษาการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาเมลลาร์ด

3.1 ชนิดของกรดอะมิโนในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาเมลลาร์ด ผลการศึกษาพบว่าชนิดของกรดอะมิโนมีผลต่อการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ โดยกรดอะมิโนไลซีนมีความไวในการทำปฏิกิริยากับน้ำตาลมากกว่ากรดอะมิโนโพรีนและกรดอะมิโนทริปโทเฟน

3.2 ชนิดน้ำตาลในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาเมลลาร์ด ผลการศึกษาพบว่าสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในระบบของน้ำตาลต่างกัน โดยปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ที่เกิดจากน้ำตาลฟรักโทสกับกรดอะมิโนไลซีนมากกว่าน้ำตาลกลูโคสกับกรดอะมิโนไลซีน และไม่สามารถตรวจพบในระบบของน้ำตาลซูโครส

3.3 อุณหภูมิในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาเมลลาร์ด ผลการศึกษาพบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิให้แก่ระบบปฏิกิริยาเมลลาร์ดสูงขึ้น ปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์มีแนวโน้มสูงขึ้นด้วย ซึ่งปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ที่เกิดจากระบบของน้ำตาลฟรักโทสและน้ำตาลกลูโคสมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแบบสมการเอ็กซ์โพเนนเชียลเช่นเดียวกัน

3.4 เวลาในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาเมลลาร์ด ผลการศึกษาพบว่าเมื่อเพิ่มเวลาในการให้ความร้อนแก่ระบบปฏิกิริยาเมลลาร์ดนานขึ้น ปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์มีแนวโน้มสูงขึ้นด้วย ซึ่งปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ที่เกิดจากระบบของน้ำตาลฟรักโทสมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแบบสมการเอ็กซ์โพเนนเชียล ส่วนปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ที่เกิดจากระบบของน้ำตาลกลูโคส มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแบบสมการลอการิทึม

**ตอนที่ 4** การศึกษาหาปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในตัวอย่างเครื่องดื่มชูกำลังและผงเกลือแร่ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ผลการศึกษาพบว่าปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในตัวอย่างเครื่องดื่มชูกำลังในท้องตลาด อยู่ในช่วง 0.02 ถึง 5.45 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วทำการเก็บตัวอย่างเครื่องดื่มชูกำลังไว้เป็นเวลา 3 เดือน พบว่ามีปริมาณของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์เพิ่มขึ้น และในตัวอย่างเครื่องดื่มเกลือแร่ในท้องตลาด มีปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์อยู่ในช่วง 0.00 ถึง 0.71 มิลลิกรัมต่อลิตร

## อภิปรายผลการวิจัย

### ตอนที่ 1 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของอัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่ในระบบการวัดแบบโดยตรง

จากผลการทดลองการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง พบว่า

การใช้สภาวะที่ 1 (น้ำต่ออะซิโตนในโวลุ่ม ร้อยละ 97 : 3) และสภาวะที่ 2 (น้ำต่ออะซิโตนในโวลุ่ม ร้อยละ 95 : 5) เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ จะให้เวลาในการคงอยู่ของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์บนคอลัมน์เป็นเวลานานเกินไป ทำให้เสียเวลาและสิ้นเปลืองตัวทำละลาย

สำหรับการใช้สภาวะที่ 4 (น้ำต่ออะซิโตนในโวลุ่ม ร้อยละ 80 : 20) เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ ให้เวลาในการคงอยู่บนคอลัมน์น้อย แต่พีคของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์เกิดการซ้อนทับกับพีคอื่นๆ

ในการเลือกใช้สภาวะที่ 3 (น้ำต่ออะซิโตนในโวลุ่ม ร้อยละ 90 : 10) เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ แม้ว่า จะใช้เวลาในการวิเคราะห์สารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์นานกว่าสภาวะที่ 4 แต่เมื่อทำการวิเคราะห์กับตัวอย่าง เครื่องดื่มชูกำลังและเครื่องดื่มเกลือแร่กลับเป็นสภาวะที่เกิดการแยกของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ออกจากพีคอื่นๆได้อย่างสมบูรณ์ ดังนั้นจึงเลือกใช้สภาวะนี้ ในการวิเคราะห์

จากเหตุผลดังกล่าวผู้วิจัยจึงได้กำหนดสภาวะของระบบโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงไว้ดังนี้

- คอลัมน์ C18 (VertiSep™ pHendure 5  $\mu$ m ขนาด 4.6 x 250 mm)
- องค์ประกอบวัฏภาคเคลื่อนที่ของอัตราส่วนน้ำต่ออะซิโตนในโวลุ่ม ร้อยละ 90 : 10
- อัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที
- ปริมาตรต่อหนึ่งตัวอย่างการวิเคราะห์เท่ากับ 20 ไมโครลิตร (1 loop)
- ตัวตรวจวัดแบบอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ซึ่งเป็นค่าความยาวคลื่นที่สารมีการดูดกลืนพลังงานมากที่สุด

### การสร้างกราฟมาตรฐาน

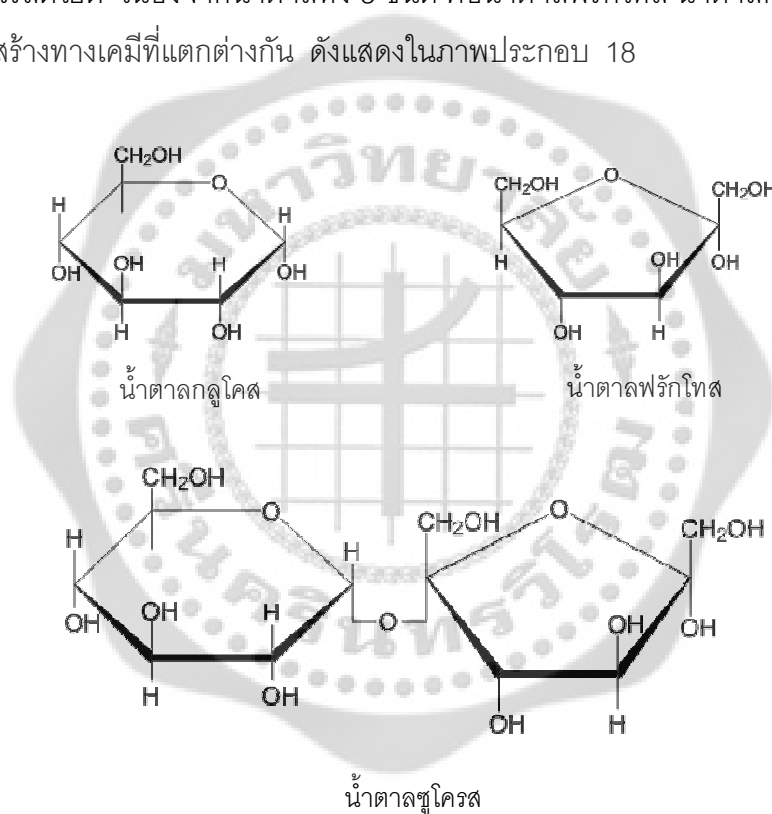
เมื่อนำสภาวะดังกล่าวมาใช้ในการวัดปริมาณสารมาตรฐานไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ที่มีความเข้มข้น ในช่วง 0.001 - 7 ppm เมื่อคำนวณหาค่าขีดความสามารถต่ำสุดในการตรวจวัด (LOD) และค่าขีดความสามารถต่ำสุดในการวิเคราะห์ (LOQ) ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบ

เกิดไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ พบว่าได้ค่า LOD (S/N > 3) เท่ากับ 0.00036 ppm และค่า LOQ (S/N > 10) เท่ากับ 0.0012 ppm ตามลำดับ

## ตอนที่ 2 ศึกษาการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ในระบบต้นแบบ ของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน

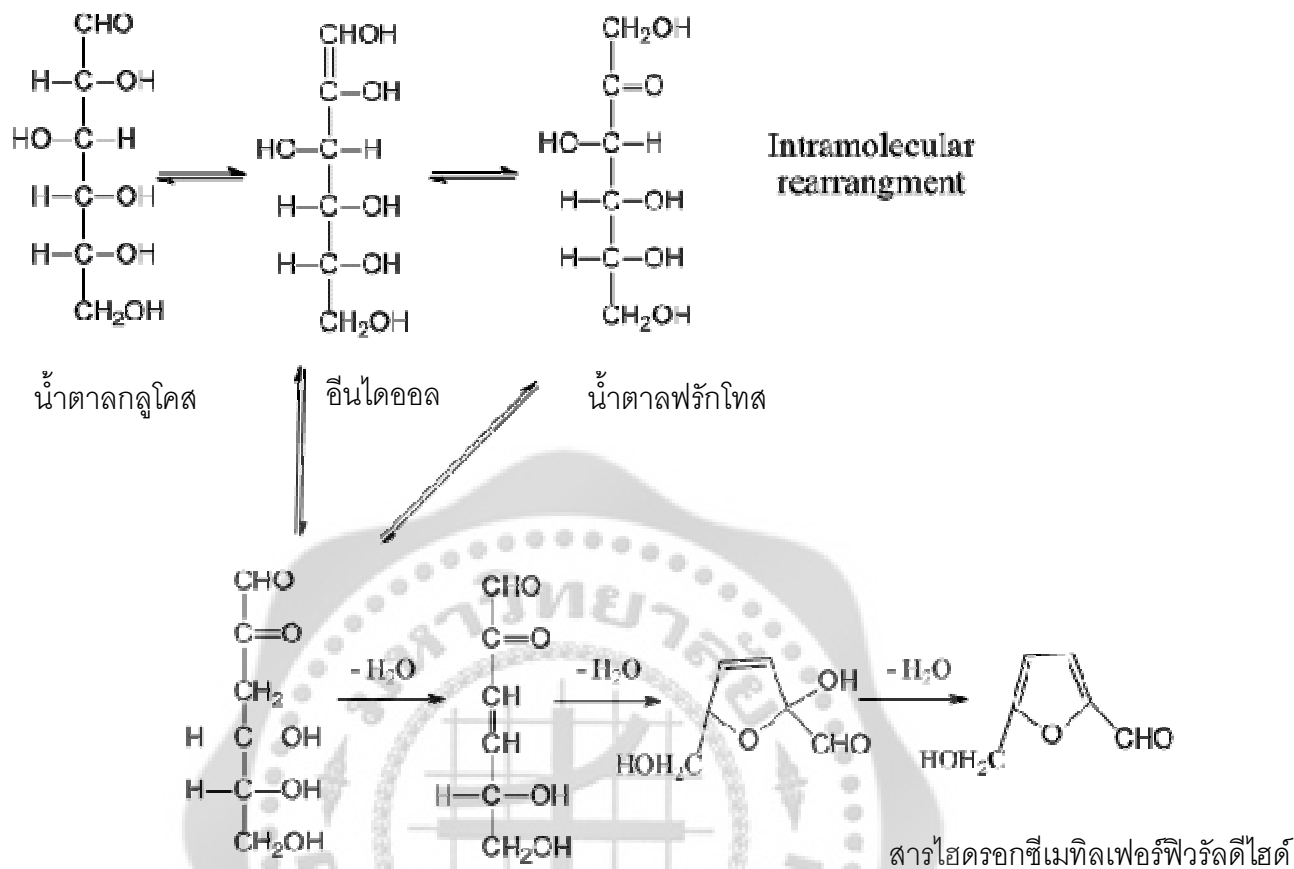
### 2.1 การศึกษาผลของชนิดน้ำตาลในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาน้ำตาลในการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัล ดีไฮด์ของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน พบว่าชนิดของน้ำตาลมีผลต่อการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ เนื่องจากน้ำตาลทั้ง 3 ชนิด คือน้ำตาลฟรักโทส น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลซูโครส มีโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ดังแสดงในภาพประกอบ 18



ภาพประกอบ 18 โครงสร้างทางเคมีของน้ำตากลูโคส น้ำตาลฟรักโทส และน้ำตาลซูโครส

ซึ่งน้ำตากลูโคส เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่จัดอยู่ในกลุ่มของอัลโดเฮกโซส ส่วนน้ำตาลฟรักโทส จัดอยู่ในกลุ่มของคีโตเฮกโซส และน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ที่ประกอบด้วยน้ำตากลูโคสและน้ำตาลฟรักโทส จากโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกันนี้จึงมีผลทำให้น้ำตาลฟรักโทสที่เป็นน้ำตาลคีโตสเกิดปฏิกิริยาการสูญเสียน้ำได้เร็วกว่าจึงมีผลทำให้น้ำตาลฟรักโทสสามารถเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ได้มากกว่าน้ำตากลูโคส (Siqueira; & 2013 : 71-82) ดังแสดงในภาพประกอบ 19



ภาพประกอบ 19 ปฏิกริยาคาราเมลไลเซชันของน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรักโทส

ที่มา: ดัดแปลงจาก Fenneme (1985), Scarpellino; & Soukup (1993)

ในส่วนของน้ำตาลซูโครสซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ ที่ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสต่อกับน้ำตาลฟรักโทสด้วยพันธะ  $\alpha(1-2)$  เป็นน้ำตาลนอนรีดิวิซ์เพียงชนิดเดียว และไม่สามารถถูกออกซิไดซ์ได้ เนื่องจากไม่มีกลุ่มอัลดีไฮด์และกลุ่มคีโตนที่เป็นอิสระ และไม่เกิดมิวตาโรเตชัน (mutarotation) เมื่ออยู่ในสารละลาย (นิธิยา. 2539) จึงทำให้น้ำตาลซูโครสไม่สามารถเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ได้ จากผลการทดลองพบว่าการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในน้ำตาลแตกต่างกันตามลำดับ ดังนี้ น้ำตาลฟรักโทส > น้ำตาลกลูโคส > น้ำตาลซูโครส

## 2.2 การศึกษาผลของอุณหภูมิในการให้ความร้อน

จากผลของอุณหภูมิในการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในระบบต้นแบบของปฏิกริยาคาราเมลไลเซชัน โดยมีการให้ความร้อนแก่น้ำตาล 3 ชนิด ที่อุณหภูมิ 35, 50, 60, 80

และ 100 °C เป็นเวลา 30 นาที พบว่าอุณหภูมิมีผลต่อการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ เนื่องจากการให้ความร้อนแก่น้ำตาลที่อุณหภูมิสูงๆ น้ำตาลจะเกิดปฏิกิริยาการสูญเสียน้ำออก จากโมเลกุลอย่างรวดเร็ว ที่เรียกว่า enolization dehydration และเกิดการแตกตัวเป็นไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ (Berk. 1976 : 315)

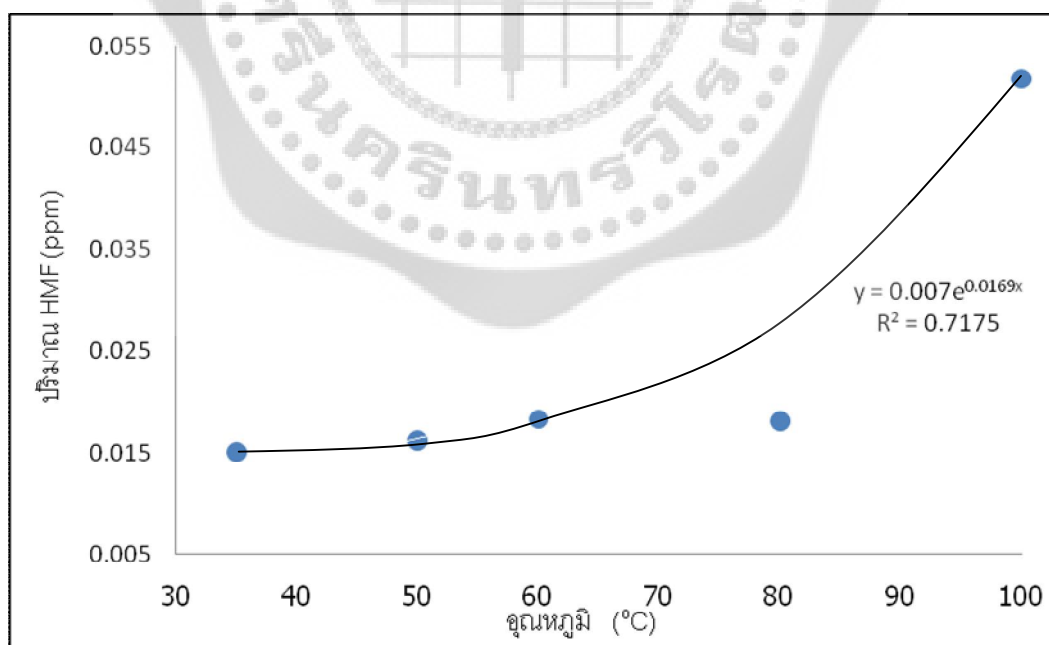
เมื่อนำปริมาณการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ของน้ำตาลฟรักโทสในปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันมาพลอตกราฟ พบว่ามีแนวโน้มของการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในรูปแบบต่างๆ ดังนี้

แนวโน้มแบบเอ็กซ์โพเนนเชียล มีค่า  $R^2 = 0.7175$

แนวโน้มแบบเชิงเส้นตรง มีค่า  $R^2 = 0.667$

ส่วนแนวโน้มแบบยกกำลัง มีค่า  $R^2 = 0.6029$

จากค่า R-squared ( $R^2$ ) พบว่าเส้นแนวโน้มลงตัวกับสมการแบบเอ็กซ์โพเนนเชียล ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเกิดของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์มีอัตราการเพิ่มขึ้นแบบทวีคูณ คือที่อุณหภูมิต่อการเกิดของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์จะเกิดอย่างช้าๆ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นพบว่าการเกิดของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์เพิ่มขึ้นแบบทวีคูณ ดังแสดงในภาพประกอบ 20



ภาพประกอบ 20 ปริมาณการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในน้ำตาลฟรักโทสที่อุณหภูมิต่างๆ ในปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน

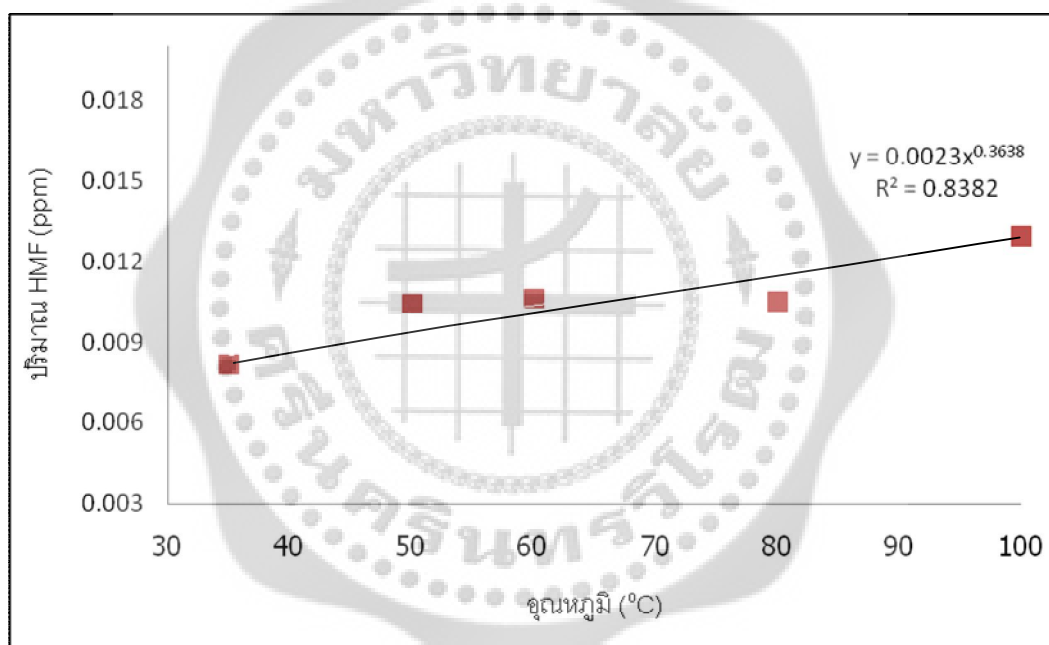
เมื่อนำปริมาณการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ของน้ำตาลกลูโคสในปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันมาพลอตกราฟ พบว่ามีแนวโน้มของการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ในรูปแบบต่างๆ ดังนี้

แนวโน้มแบบเอ็กซ์โพเนนเชียล มีค่า  $R^2 = 0.8006$

แนวโน้มแบบเชิงเส้นตรง มีค่า  $R^2 = 0.8193$

ส่วนแนวโน้มแบบยกกำลัง มีค่า  $R^2 = 0.8382$

จากค่า R-squared ( $R^2$ ) พบว่าเส้นแนวโน้มลงตัวกับสมการแบบยกกำลัง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเกิดของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์มีการเพิ่มขึ้นในอัตราได้อัตราหนึ่งโดยเฉพาะ ดังแสดงในภาพประกอบ 21



ภาพประกอบ 21 ปริมาณการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ในน้ำตาลกลูโคสที่อุณหภูมิต่างๆ ในปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน

### 2.3 การศึกษาผลของเวลาในระบบต้นแบบ

จากผลของเวลาในการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์ในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน ในน้ำตาลทั้ง 3 ชนิด คือ น้ำตาลซูโครส น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลฟรักโทส โดยมีการให้ความร้อนแก่น้ำตาลที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 5, 10, 30, 60 และ 80 นาที พบว่าเวลาที่มี

ผลต่อการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ เนื่องจากน้ำตาลเกิดการสูญเสีย น้ำออก จากโมเลกุลอย่างต่อเนื่อง จึงเกิดเป็นสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์มากขึ้น (Berk, 1976 : 315)

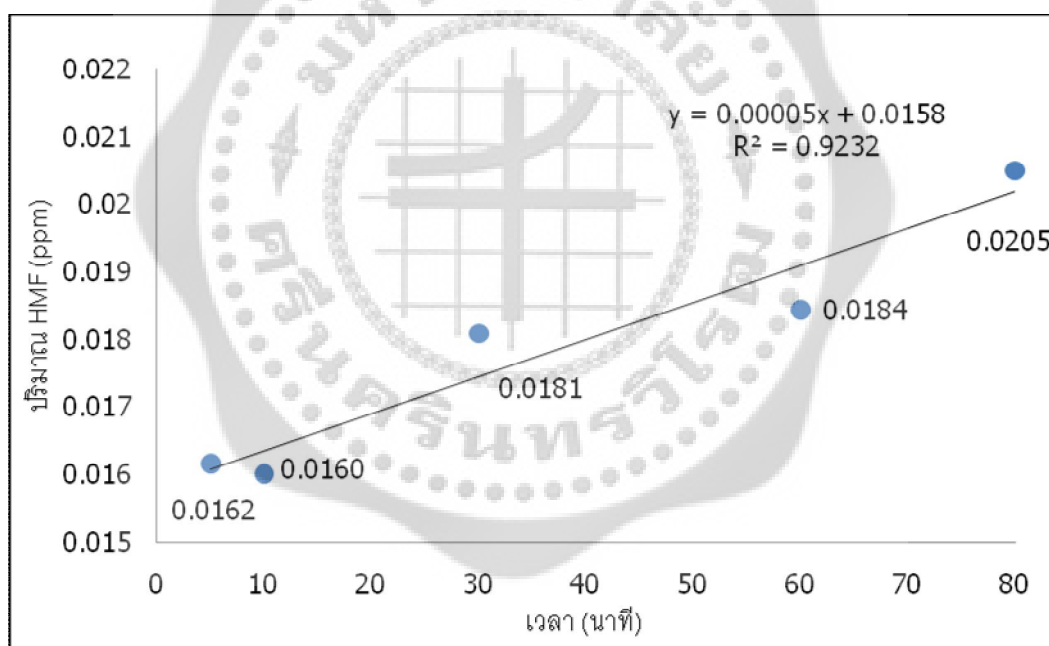
เมื่อนำปริมาณการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ของน้ำตาลฟรักโทสใน ปฏิริยาคาราเมลไลเซชันมาพลอตกราฟ พบว่ามีแนวโน้มของการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิล เฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในรูปแบบต่างๆ ดังนี้

แนวโน้มแบบเอ็กซ์โพเนนเชียล มีค่า  $R^2 = 0.923$

แนวโน้มแบบเชิงเส้นตรง มีค่า  $R^2 = 0.9232$

ส่วนแนวโน้มแบบยกกำลัง มีค่า  $R^2 = 0.8681$

จากค่า R-squared ( $R^2$ ) พบว่าเส้นแนวโน้มลงตัวกับสมการแบบเชิงเส้นตรง ซึ่งแสดงให้เห็น ว่าการเกิดของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์มีการเพิ่มขึ้นในอัตราคงที่เมื่อให้ความร้อน เป็นเวลานาน ดังแสดงในภาพประกอบ 22



ภาพประกอบ 22 ปริมาณการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในน้ำตาลฟรักโทสที่ เวลาต่างๆ ในปฏิริยาคาราเมลไลเซชัน

จากกราฟเมื่อนำมาหาอัตราการเกิดของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ จะแสดง ดังสมการดังต่อไปนี้

$$\begin{aligned} \text{อัตรา} &= \text{ความชันของกราฟที่ลากระหว่างจุดสองจุดในช่วงเวลานั้นๆ} \\ &= \frac{\Delta[\text{HMF}]}{\Delta t} \end{aligned}$$

พบว่าอัตราการเกิดของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในช่วงเวลาต่างๆมีดังนี้

$$\text{อัตราการเกิดในช่วงเวลา 10 – 30 นาที} = \frac{0.0181 - 0.0160}{30 - 10} = \frac{0.0021 \text{ ppm}}{20 \text{ min}} = 0.0001 \text{ ppm/min}$$

$$\text{อัตราการเกิดในช่วงเวลา 60 – 80 นาที} = \frac{0.0205 - 0.0184}{80 - 60} = \frac{0.0021 \text{ ppm}}{20 \text{ min}} = 0.0001 \text{ ppm/min}$$

จากการคำนวณอัตราการเกิดของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ต่อหนึ่งหน่วยเวลา ซึ่งในช่วงต้นของการศึกษาอัตราการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์มีค่าประมาณ 0.0001 ppm ต่อนาที และช่วงหลังอัตราการเกิดมีค่าประมาณ 0.0001 ppm ต่อนาที ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีการเพิ่มขึ้นแบบคงที่ โดยมีแนวโน้มไปในทางเดียวกับสมการเส้นตรง

ในส่วนของน้ำตาลกลูโคสเมื่อนำปริมาณการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันมาพลอตกราฟ พบว่ามีแนวโน้มของการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในรูปแบบต่างๆ ดังนี้

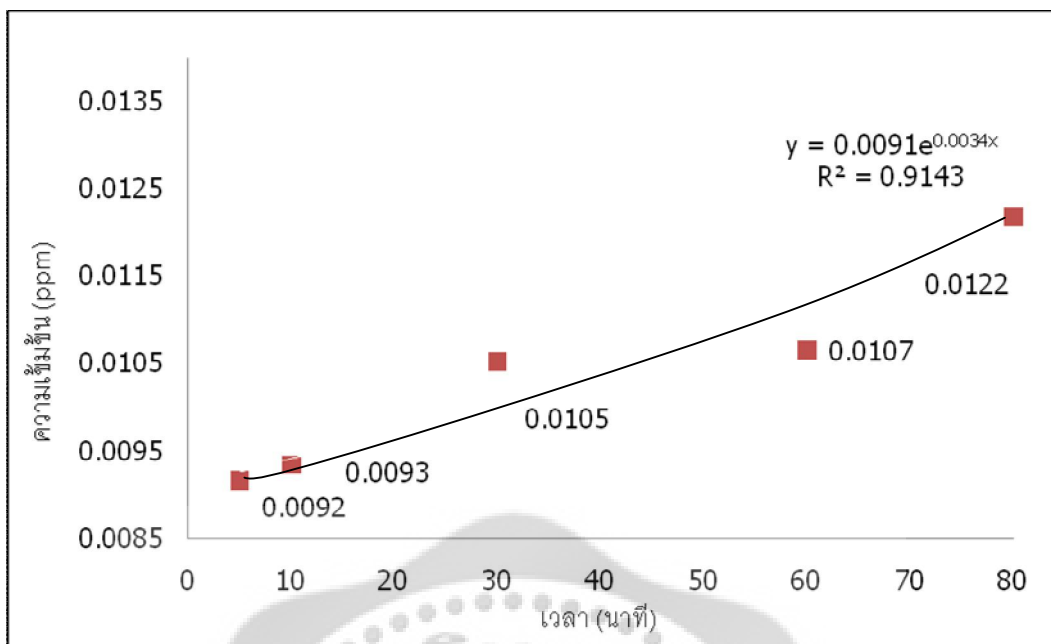
$$\text{แนวโน้มแบบเอ็กซ์โพเนนเชียล} \quad \text{มีค่า } R^2 = 0.9143$$

$$\text{แนวโน้มแบบเชิงเส้นตรง} \quad \text{มีค่า } R^2 = 0.9099$$

$$\text{ส่วนแนวโน้มแบบยกกำลัง} \quad \text{มีค่า } R^2 = 0.8729$$

จากค่า R-squared ( $R^2$ ) พบว่าเส้นแนวโน้มลงตัวกับสมการแบบเอ็กซ์โพเนนเชียล ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเกิดของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์มีอัตราการเพิ่มขึ้นแบบทวีคูณเมื่อให้ความร้อนเป็นเวลานาน ดังแสดงในภาพประกอบ 23





ภาพประกอบ 23 ปริมาณการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในน้ำตาลกลูโคสที่เวลาต่างๆ ในปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน

จากกราฟเมื่อนำมาหาอัตราการเกิดของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ พบว่าอัตราการเกิดของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในช่วงเวลาต่างๆมีดังนี้

$$\text{อัตราการเกิดที่ช่วงเวลา } 10 - 30 \text{ นาที} = \frac{0.0105 - 0.0093}{30 - 10} = \frac{0.0012 \text{ ppm}}{20 \text{ min}} = 6 \times 10^{-5} \text{ ppm/min}$$

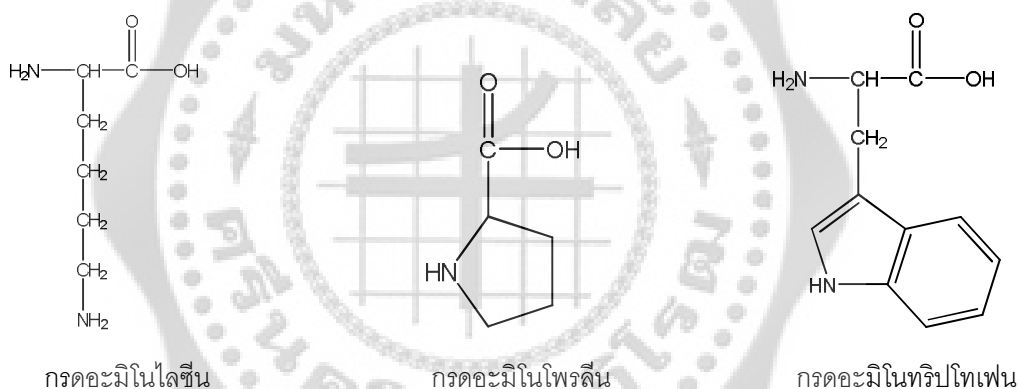
$$\text{อัตราการเกิดที่ช่วงเวลา } 60 - 80 \text{ นาที} = \frac{0.0122 - 0.0107}{80 - 60} = \frac{0.0015 \text{ ppm}}{20 \text{ min}} = 8 \times 10^{-5} \text{ ppm/min}$$

จากการคำนวณอัตราการเกิดของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ต่อหนึ่งหน่วยเวลา ซึ่งในช่วงต้นของการศึกษาอัตราการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์มีค่าประมาณ  $6 \times 10^{-5}$  ppm ต่อนาที และช่วงหลังอัตราการเกิดมีค่าประมาณ  $8 \times 10^{-5}$  ppm ต่อนาที ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีอัตรา การเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในช่วงหลังเพิ่มขึ้น จึงมีแนวโน้มไปทางเดียวกับสมการแบบเอ็กซ์โพเนนเชียล

### ตอนที่ 3 ศึกษาการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในระบบต้นแบบ ของปฏิกิริยาเมลลาร์ด

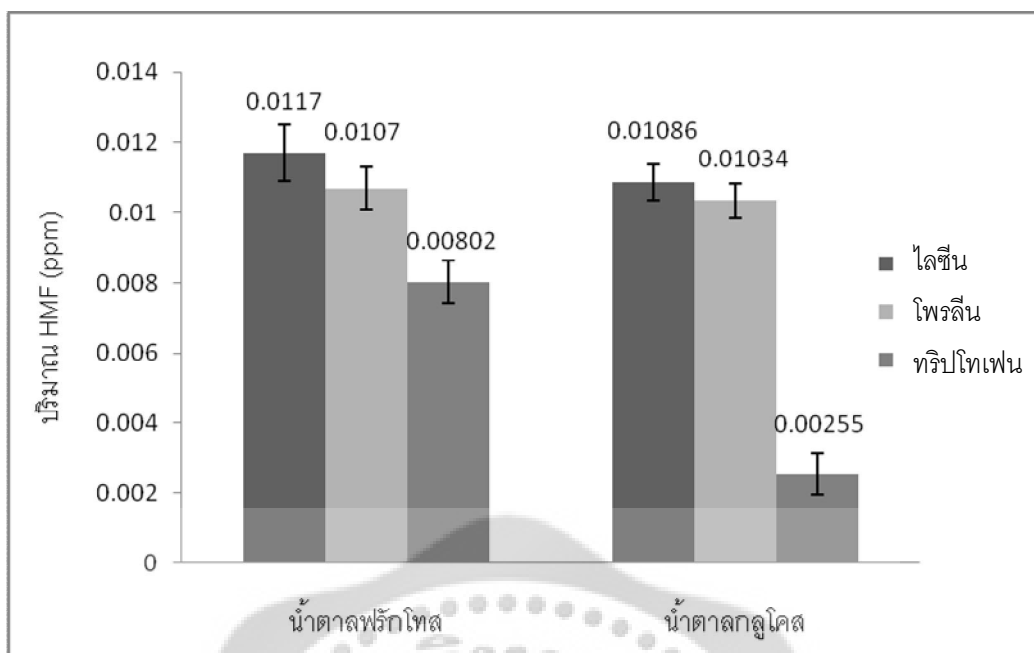
#### 3.1 การศึกษาผลของชนิดของกรดอะมิโนในระบบต้นแบบ

การเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาเมลลาร์ด เป็นการเกิดปฏิกิริยาระหว่างหมู่อะมิโนของกรดอะมิโนกับหมู่คาร์บอนิลในน้ำตาล ซึ่งในการทดลองนี้ ได้เลือกใช้กรดอะมิโน 3 ชนิด คือ กรดอะมิโนไลซีน, กรดอะมิโนไพโรลีน และกรดอะมิโน ทริปโทเฟน มาทำปฏิกิริยากับน้ำตาลทั้ง 3 ชนิด คือ น้ำตาลซูโครส, น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลฟรักโทส ที่อุณหภูมิ  $80^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 30 นาที พบว่าการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ที่เกิดขึ้นระหว่างกรดอะมิโนไลซีนกับน้ำตาล มีค่ามากกว่ากรดอะมิโนไพโรลีน และทริปโทเฟน แสดงให้เห็นว่าชนิดของกรดอะมิโนมีผลต่อการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ เนื่องจากโครงสร้างและหมู่อะมิโนอิสระของกรดอะมิโนที่แตกต่างกัน ดังแสดงในภาพประกอบ 24



ภาพประกอบ 24 โครงสร้างทางเคมีของกรดอะมิโน 3 ชนิด

ซึ่งกรดอะมิโนที่แตกต่างกันก่อให้เกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในปฏิกิริยาเมลลาร์ดที่แตกต่างกัน โดยกรดอะมิโนไลซีนเป็นหมู่อะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายและมีความไวในการเกิดปฏิกิริยา เนื่องจากมีหมู่  $\epsilon\text{-NH}_2$  ที่มี reactivity ที่สูง (Ahmed; et al. 1986 : 4889-4894) และมีหมู่อะมิโนที่พร้อมจะเกิดปฏิกิริยาถึง 2 หมู่ (Labuza; & Baisier. 1992) ในส่วนกรดอะมิโนไพโรลีน และทริปโทเฟนเป็นกรดอะมิโนขนาดใหญ่ และมีลักษณะไม่ชอบน้ำ เมื่อมีการรวมตัวกับน้ำตาลจะเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ได้น้อย ดังแสดงในภาพประกอบ 25



ภาพประกอบ 25 เปรียบเทียบปริมาณการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ของกรดอะมิโนชนิดต่างๆในปฏิกิริยาเมลลาร์ด

### 3.2 การศึกษาผลของชนิดน้ำตาลในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาเมลลาร์ด

การเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาเมลลาร์ดเป็นการเกิดปฏิกิริยาระหว่างกรดอะมิโนกับน้ำตาลรีดิวซ์ ซึ่งน้ำตาลฟรักโทสและน้ำตาลกลูโคสเป็นน้ำตาลรีดิวซ์จึงสามารถรวมตัวกับหมู่อะมิโนของกรดอะมิโนได้ดี (Naranjo; et. al. 1998 : 309-313) เกิดเป็นไกลโคซิลเอมีนซึ่งสามารถเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ได้ ส่วนน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ที่ไม่มีหมู่อัลดีไฮด์ และคีโตนอิสระ เป็นน้ำตาลนอนรีดิวซ์เพียงชนิด จึงทำให้น้ำตาลซูโครสไม่สามารถทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนของกรดอะมิโนในปฏิกิริยาเมลลาร์ดได้ (นิธิยา. 2539) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าชนิดของน้ำตาลมีผลต่อการเกิดสารประกอบสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในปฏิกิริยาเมลลาร์ด ดังแสดงในภาพประกอบ 13

### 3.3 การศึกษาผลของอุณหภูมิในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาเมลลาร์ด

จากผลของอุณหภูมิในการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาเมลลาร์ด พบว่าเมื่อให้ความร้อนแก่น้ำตาลที่อุณหภูมิสูงๆ น้ำตาลจะเกิดปฏิกิริยาการสูญเสียน้ำออกจากโมเลกุลอย่างรวดเร็ว ที่เรียกว่า sugar dehydration โดยขั้นตอนสุดท้ายจะได้ผลิตภัณฑ์จำพวกสารเมลานอยด์ดินซึ่งให้น้ำตาลเข้มหนึ่งในนั้นคือสารประกอบไฮดรอกซีเมทิล

เฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ (Fayle; & Gerrard. 2002) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าคุณณหภูมิมิผลต่อการสสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์เช่นเดียวกับปฏิกิริยาการเมลลาร์ด

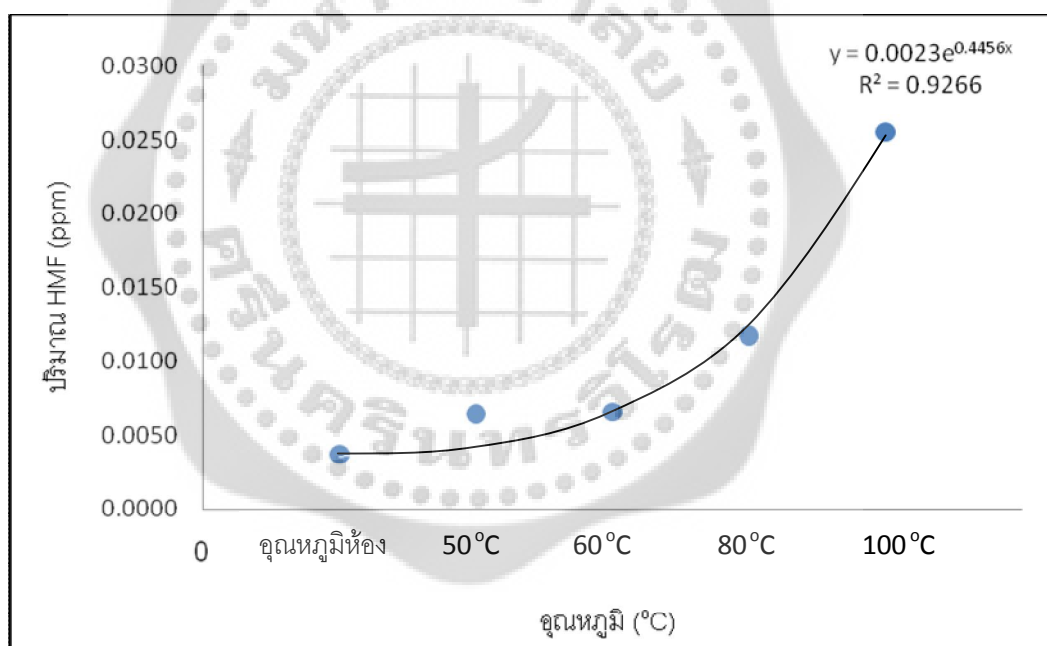
เมื่อนำปริมาณการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ของน้ำตาลฟรักโทสในปฏิกิริยาเมลลาร์ดมาพลอตกราฟ พบว่ามีแนวโน้มของการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในรูปแบบต่างๆ ดังนี้

แนวโน้มแบบเอ็กซ์โพเนนเชียล มีค่า  $R^2 = 0.9266$

แนวโน้มแบบเชิงเส้นตรง มีค่า  $R^2 = 0.7846$

ส่วนแนวโน้มแบบยกกำลัง มีค่า  $R^2 = 0.8211$

จากค่า R-squared ( $R^2$ ) พบว่าเส้นแนวโน้มลงตัวกับสมการแบบเอ็กซ์โพเนนเชียล ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเกิดของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์มีอัตราการเพิ่มขึ้นแบบทวีคูณ ดังแสดงในภาพประกอบ 26



ภาพประกอบ 26 ปริมาณการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในน้ำตาลฟรักโทสที่อุณหภูมิต่างๆ ในปฏิกิริยาเมลลาร์ด

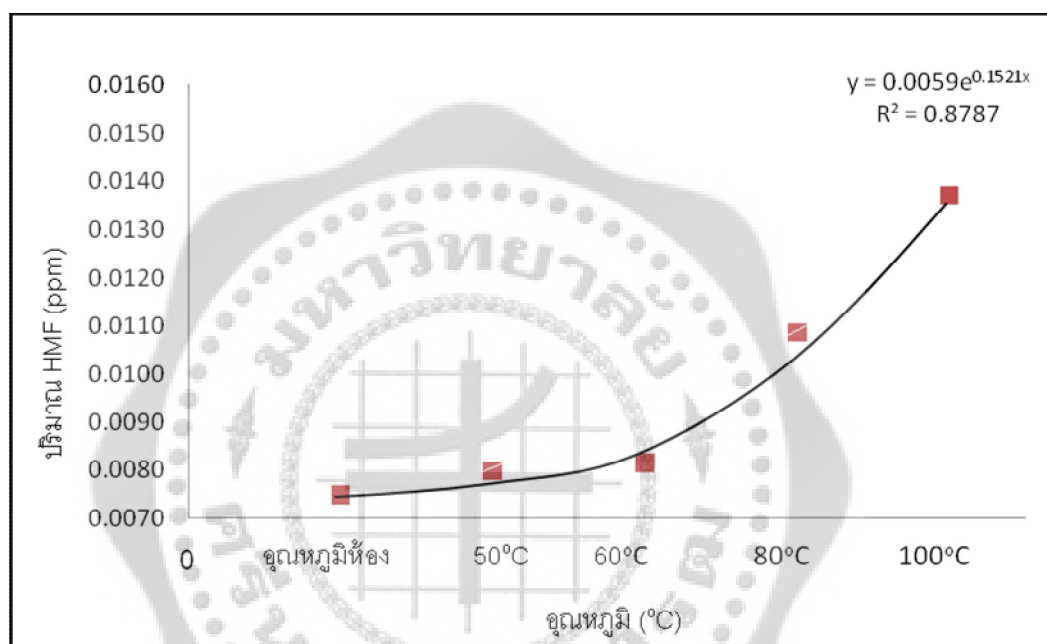
เมื่อนำปริมาณการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ของน้ำตาลกลูโคสในปฏิกิริยาเมลลาร์ดมาพลอตกราฟ พบว่ามีแนวโน้มของการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในรูปแบบต่างๆ ดังนี้

แนวโน้มแบบเอ็กซ์โพเนนเชียล มีค่า  $R^2 = 0.8787$

แนวโน้มแบบเชิงเส้นตรง มีค่า  $R^2 = 0.8491$

ส่วนแนวโน้มแบบยกกำลัง มีค่า  $R^2 = 0.7112$

จากค่า R-squared ( $R^2$ ) พบว่าเส้นแนวโน้มลงตัวกับสมการแบบเอ็กซ์โพเนนเชียล ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเกิดของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์มีอัตราการเพิ่มขึ้นแบบทวีคูณ ดังแสดงในภาพประกอบ 27



ภาพประกอบ 27 ปริมาณการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในน้ำตาลกลูโคสที่อุณหภูมิต่างๆ ในปฏิกิริยาเมลลาร์ด

### 3.4 การศึกษาผลของเวลาในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาเมลลาร์ด

จากผลของเวลาในการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในระบบต้นแบบของปฏิกิริยาเมลลาร์ด พบว่าเมื่อให้ความร้อนแก่น้ำตาลเป็นเวลานาน น้ำตาลจะเกิดปฏิกิริยาการสูญเสีย น้ำออกจากโมเลกุลอย่างต่อเนื่อง เกิดเป็นสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์สูงขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเวลา มีผลต่อการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์เช่นเดียวกับปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน

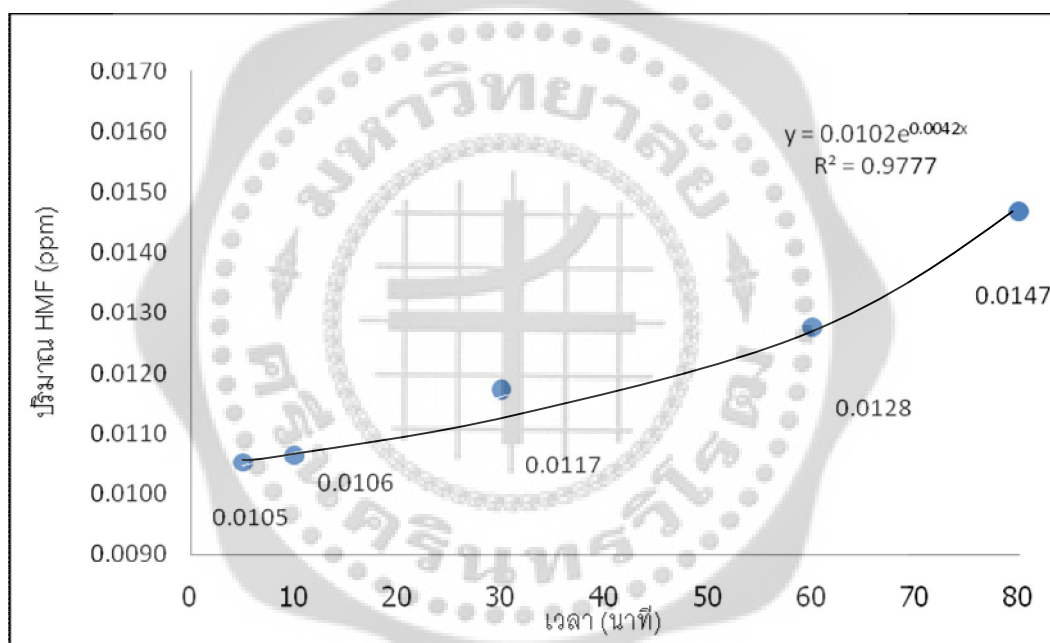
เมื่อนำปริมาณการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ของน้ำตาลฟรักโทสในปฏิกิริยาเมลลาร์ดมาพลอตกราฟ พบว่ามีแนวโน้มของการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในรูปแบบต่างๆ ดังนี้

แนวโน้มแบบเอ็กซ์โพเนนเชียล มีค่า  $R^2 = 0.9777$

แนวโน้มแบบเชิงเส้นตรง มีค่า  $R^2 = 0.9661$

ส่วนแนวโน้มแบบยกกำลัง มีค่า  $R^2 = 0.8601$

จากค่า R-squared ( $R^2$ ) พบว่าเส้นแนวโน้มลงตัวกับสมการแบบเอ็กซ์โพเนนเชียล ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเกิดของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์มีอัตราการเพิ่มขึ้นแบบทวีคูณ ดังแสดงในภาพประกอบ 28



ภาพประกอบ 28 ปริมาณการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในน้ำตาลฟรักโทสที่เวลาต่างๆ ในปฏิกิริยาเมลลาร์ด

จากกราฟเมื่อนำมาหาอัตราการเกิดของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ พบว่าอัตราการเกิดของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในช่วงเวลาต่างๆ มีดังนี้

$$\text{อัตราการเกิดในช่วงเวลา 10 – 30 นาที} = \frac{0.0117 - 0.0106}{30 - 10} = \frac{0.0011 \text{ ppm}}{20 \text{ min}} = 6 \times 10^{-5} \text{ ppm/min}$$

$$\text{อัตราการเกิดในช่วงเวลา 60 – 80 นาที} = \frac{0.0147 - 0.0128}{80 - 60} = \frac{0.0019 \text{ ppm}}{20 \text{ min}} = 1 \times 10^{-4} \text{ ppm/min}$$

จากการคำนวณอัตราการเกิดของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ต่อหนึ่งหน่วยเวลา ซึ่งในช่วงต้นของการศึกษาอัตราการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์มีค่าประมาณ  $6 \times 10^{-5}$  ppm ต่อนาที และช่วงหลังอัตราการเกิดมีค่าประมาณ  $1 \times 10^{-4}$  ppm ต่อนาที ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีอัตราการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในช่วงหลังเพิ่มขึ้น จึงมีแนวโน้มไปทางเดียวกับสมการแบบเอ็กซ์โพเนนเชียล

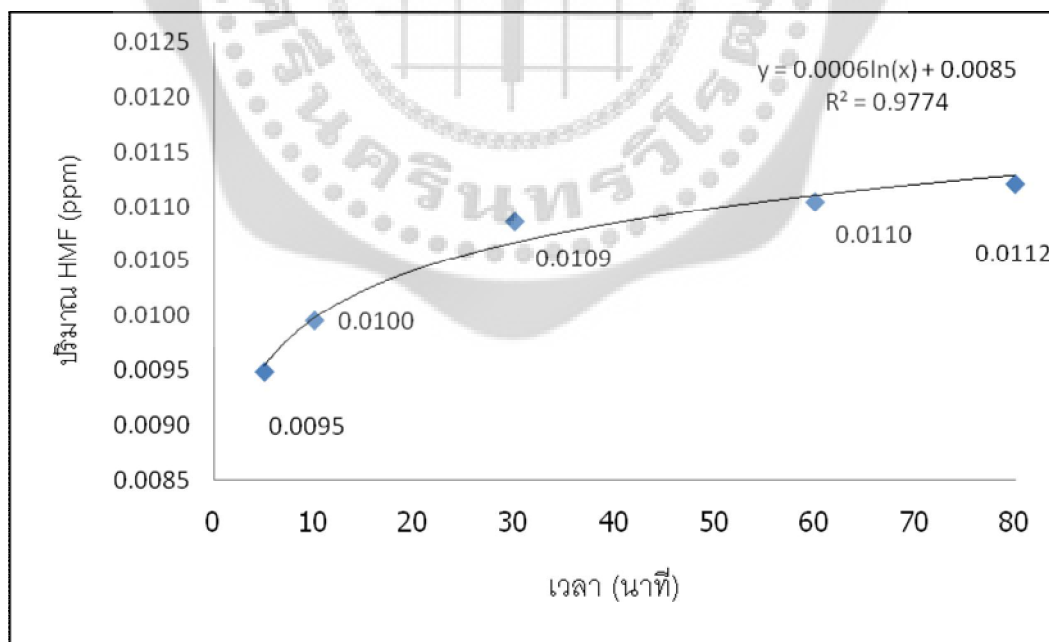
ในส่วนของน้ำตาลกลูโคส เมื่อนำปริมาณการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในปฏิกิริยาเมลลาร์ดมาพลอตกราฟ พบว่ามีแนวโน้มของการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในรูปแบบต่างๆ ดังนี้

แนวโน้มแบบเชิงเส้นตรง มีค่า  $R^2 = 0.8141$

แนวโน้มแบบยกกำลัง มีค่า  $R^2 = 0.9742$

ส่วนแนวโน้มแบบลอการิทึม มีค่า  $R^2 = 0.9774$

จากค่า R-squared ( $R^2$ ) พบว่าเส้นแนวโน้มลงตัวกับสมการแบบลอการิทึม ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเกิดของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์มีอัตราการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วแล้วอยู่ในระดับคงที่เมื่อให้ความร้อนเป็นเวลานาน ดังแสดงในภาพประกอบ 29



ภาพประกอบ 29 ปริมาณการเกิดสารไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในน้ำตาลกลูโคสที่เวลาต่างๆ ในปฏิกิริยาเมลลาร์ด

จากกราฟเมื่อนำมาหาอัตราการเกิดของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ พบว่าอัตราการเกิดของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในช่วงเวลาต่างๆมีดังนี้

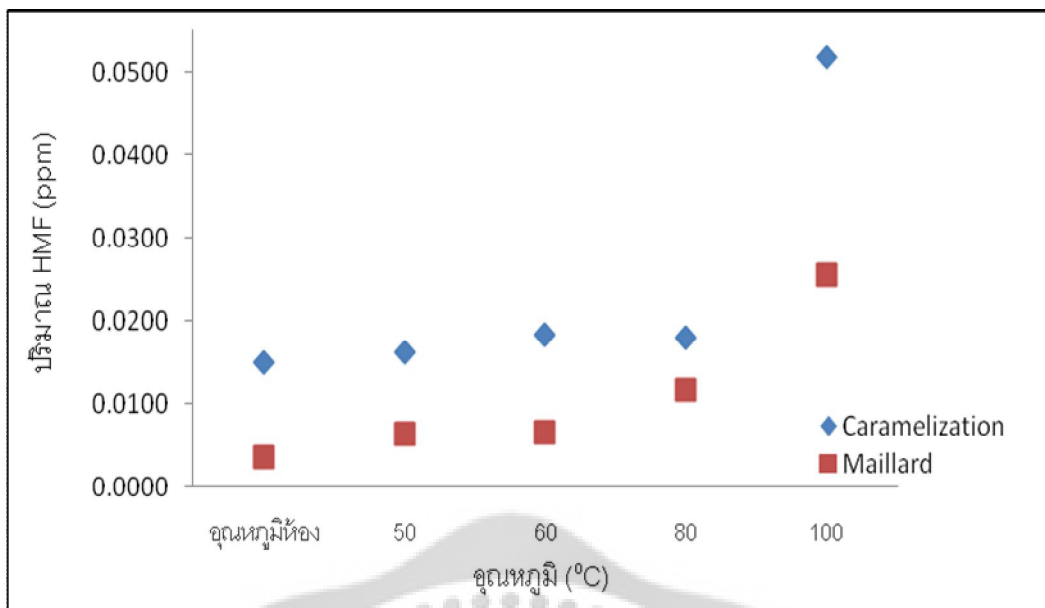
$$\text{อัตราการเกิดที่ช่วงเวลา } 10 - 30 \text{ นาที} = \frac{0.0109 - 0.0100}{30 - 10} = \frac{0.0009 \text{ ppm}}{20 \text{ min}} = 5 \times 10^{-5} \text{ ppm/min}$$

$$\text{อัตราการเกิดที่ช่วงเวลา } 60 - 80 \text{ นาที} = \frac{0.0112 - 0.0110}{80 - 60} = \frac{0.0002 \text{ ppm}}{20 \text{ min}} = 1 \times 10^{-5} \text{ ppm/min}$$

จากการคำนวณอัตราการเกิดของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ต่อหนึ่งหน่วยเวลา ซึ่งในช่วงต้นของการศึกษาอัตราการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์มีค่าประมาณ  $5 \times 10^{-5}$  ppm ต่อนาที และช่วงหลังอัตราการเกิดมีค่าประมาณ  $1 \times 10^{-5}$  ppm ต่อนาที ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีการเกิดของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์อย่างรวดเร็ว แต่เมื่อเวลาผ่านไป อัตราการเกิดของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์เริ่มน้อยลงและอยู่ในระดับคงที่ซึ่งมีแนวโน้มไปทางเดียวกันกับสมการแบบลอการิทึม

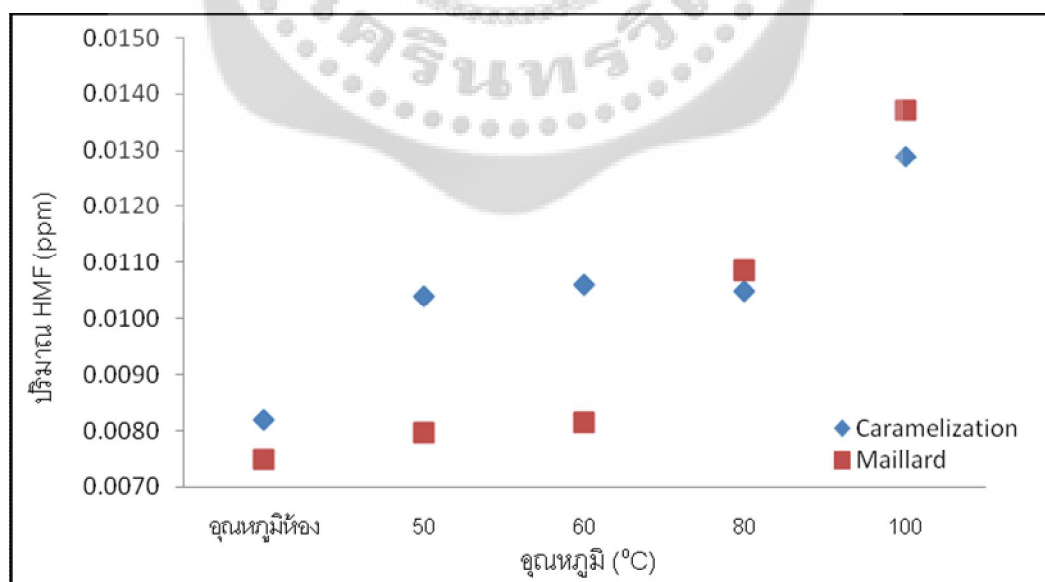
จากผลการทดลองทั้งหมดผู้วิจัยได้รวบรวมข้อมูลและทำการเปรียบเทียบการเกิดสารไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันและปฏิกิริยาเมลลาร์ด พบว่าปริมาณการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในน้ำตาลฟรักโทสของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันมีมากกว่าปฏิกิริยาเมลลาร์ด ดังแสดงในภาพประกอบ 30 เนื่องจากปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันมีสารตั้งต้นเพียงน้ำตาลอย่างเดียว และอาศัยอุณหภูมิที่สูงทำให้เกิดสารสีน้ำตาล อย่างเช่นสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ แต่ในส่วนของปฏิกิริยาเมลลาร์ด ต้องประกอบด้วยสารตั้งต้น คือ น้ำตาลรีดิวซ์ และกรดอะมิโน เกิดปฏิกิริยาการรวมตัวหรือควบแน่น แล้วเกิดการเปลี่ยนแปลงหลายขั้นตอน จนเกิดเป็นสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ ซึ่งการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ทั้ง 2 ปฏิกิริยามีแนวโน้มการเกิดแบบเอ็กโพเนนเชียล ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Tosi และคณะ (Tosi; et. al. 2002: 71-74) ซึ่งมีการให้ความร้อนเป็นเวลา 14 - 60 วินาที พบว่าระยะเวลาในการให้ความร้อนกับน้ำผึ้งมีความสัมพันธ์เชิงเส้นแบบเอ็กโพเนนเชียลกับปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ แต่ที่อุณหภูมิต่างๆ ความชันของกราฟจะน้อยกว่าที่อุณหภูมิสูงๆ แสดงว่าที่อุณหภูมิต่ำการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ จะมีปริมาณน้อยกว่าที่อุณหภูมิสูง





ภาพประกอบ 30 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในน้ำตาลฟรักโทส ระหว่างปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันกับปฏิกิริยาเมลลาร์ด

ในส่วนของน้ำตาลกลูโคส พบว่าในช่วงของอุณหภูมิ 35 – 60°C ปริมาณการเกิดสารไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ของปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันเกิดได้มากกว่าปฏิกิริยาเมลลาร์ด แต่เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นในช่วงประมาณ 80 – 100°C ปริมาณการเกิดไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ของปฏิกิริยาเมลลาร์ด สามารถเกิดได้มากกว่าปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน ดังแสดงในภาพประกอบ 31



ภาพประกอบ 31 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ในน้ำตาลกลูโคส ระหว่างปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชันกับปฏิกิริยาเมลลาร์ด

#### ตอนที่ 4 การศึกษาหาปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในตัวอย่างเครื่องดื่มชูกำลังและผงเกลือแร่ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

ในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในตัวอย่างเครื่องดื่มชูกำลังและเครื่องดื่มเกลือแร่ที่มีจำหน่ายทั่วไปในท้องตลาด พบว่าในเครื่องดื่มชูกำลังมีปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์อยู่ในช่วง 0.02 – 5.45 ไมโครกรัมต่อกรัม และในตัวอย่างผงเกลือแร่ มีปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์อยู่ในช่วง 0.00 – 0.71 ไมโครกรัมต่อกรัม ซึ่งในแต่ละประเทศมีข้อกำหนดปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ในช่วงที่แตกต่างกัน ซึ่งค่ามาตรฐานสากลกำหนดไว้ที่ 80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Khalil; et al. 2010: 1390-1395)

ซึ่งการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง พบว่ามีค่าขีดความสามารถต่ำสุดในการตรวจวัด (LOD) เท่ากับ 0.00036 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และค่าขีดความสามารถต่ำสุดในการวิเคราะห์ (LOQ) เท่ากับ 0.0012 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีค่าเฉลี่ยร้อยละการคืนกลับ (%Recovery) เท่ากับ 110.2 และร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เท่ากับ 0.55 วิธีนี้สามารถนำไปตรวจหาสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ได้สะดวก รวดเร็วและแม่นยำ และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวิเคราะห์กับตัวอย่างอื่นได้

#### ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการปรับปรุงภูมิในการให้ความร้อนที่สูงขึ้น ในระบบต้นแบบเพื่อศึกษาคุณสมบัติที่ส่งผลต่อการเกิดสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัลดีไฮด์ที่มากที่สุด
2. ควรศึกษาความเข้มข้นของชนิดของกรดอะมิโนและความเข้มข้นของน้ำตาล
3. ควรศึกษาตัวอย่างในวงกว้างมากขึ้น เพื่อประโยชน์ทางด้านสุขภาพของผู้บริโภค โดยศึกษาจากตัวอย่างเครื่องดื่มประเภทอื่นๆ



บรรณานุกรม

## บรรณานุกรม

- กนกอร อินทรพิเชษฐ์. (2523). *เคมีอาหาร*. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะทรัพยากรธรรมชาติ. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- กล้าณรงค์ ศรีรอด. (2531). น้ำตาลฟรุคโตส คุณสมบัติและเทคโนโลยีที่เกี่ยวข้อง. *วารสารน้ำตาล* 24(1) : 17-30.
- กระทรวงสาธารณสุข. (2543). *เครื่องดื่มเกลือแร่*. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 195.
- จิราวรรณ ภิรมย์ไกรภักดี. (2540). *เปรียบเทียบการหาปริมาณคลอไรด์ในเครื่องดื่มเกลือแร่โดยการไทเทรตและการทำให้ตกตะกอน*. เคมีศึกษาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. สถาบันราชภัฏเพชรบุรี. หน้า 4-5.
- นิธิยา รัตนานนท์. (2539). *คาร์โบไฮเดรตในเคมีอาหาร*. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- นิธิยา รัตนานนท์. (2549). *เคมีอาหาร*. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.
- ปรียา พวงลำลี. (2535). *การตรวจสอบสภาวะกระบวนการผลิตสำหรับแยกน้ำตาลฟรุคโตสจากน้ำอ้อยโดยวิธีโครมาโตกราฟฟิก ชนิดแลกเปลี่ยนประจุ*. เทคโนโลยีชีวภาพ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พิศมัย ศรีชาเยช. (2547). *ผลของสภาวะการผลิตและกระบวนการให้ความร้อนต่อคุณลักษณะทางกายภาพและเคมีของคาราเมล*. ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร. มหาวิทยาลัยศิลปากร. หน้า 14.
- รัตนวดี ณ นคร. (2537). *อาหาร น้ำ และเกลือแร่สำหรับนักกีฬา*. กีฬาเวชศาสตร์. กรุงเทพฯ : พี.บี. ฟอเรนบุคส์ เซนเตอร์. หน้า 153.
- รุ่งทิพย์ วงศ์ต่อม. (2549). *การเกิดปฏิกิริยาน้ำตาลในกระบวนการอบแห้งลำไย (Euphoria longana Lam.) แบบแห้งผล*. ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร. มหาวิทยาลัยศิลปากร. หน้า 30.
- สุธาสิณี บุญเชียงมา; และคนอื่นๆ. (2550). *การวิเคราะห์เชิงปริมาณของไฮดรอกซีเมทิลเฟอรูฟิวรัลในน้ำผึ้ง*. ในการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 33 (วทท. 33). นครศรีธรรมราช: สมาคมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทยในพระบรมราชูปถัมภ์และมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์.
- สุวรรณา ศรีสวัสดิ์. (2544). *เดกซ์โทรส*. ปทุมธานี : สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.

- อายุศรั บัญญามงคล; และคนอื่นๆ. (2008). *บทวิเคราะห์เรื่องเครื่องดื่มชูกำลัง*. สืบค้นเมื่อ 14 มกราคม 2555, จาก [http://inside.cm.mahidol.ac.th/mkt/index.php?option=com\\_content&view=article&id=119:2008-09-05-15-11-52&catid=1:mk-articles&Itemid=11](http://inside.cm.mahidol.ac.th/mkt/index.php?option=com_content&view=article&id=119:2008-09-05-15-11-52&catid=1:mk-articles&Itemid=11).
- Ahmed, U.M., Thorpe, S.R.; & J.W. Baynes. 1986. Identification of N-carboxymethyllysine as a degradation product of fructoselysine in glycation protein. *Journal of Biol.Chem.* 261 (11):4889-4894.
- Alcazar, A.; et al. (2006). HPLC determination of 2-furaldehyde and 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde in alcoholic beverages. *Journal of Microchemical Journal.* 82: 22-28.
- Aldrich Chemical Co. (1994) *Material Safety Data Sheet: 5-(Hydroxymethyl)furfural,99%*, Milwaukee, WI.
- Ameur, L.; et al. (2006). Accumulation of 5-hydroxymethyl-2-furfural in cookies during the backing process: Validation of an extraction method. *Journal of Food Chemistry.* 98: 790-796.
- Angela, A.; et al. (2006). HPLC determination of 2-furaldehyde and 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde in alcoholic beverages. *Journal of Microchemical Journal.* 82(1): 22-28.
- Anton, A.; et al. (2002). Rate of browning reaction during preparation of coconut and palm sugar. *Journal of International Congress Series.* 1245 : 275-278.
- Barry, M. (2013). *Energy Drinks Promise Edge, but Experts Say Proof Is Scant*. The New York Times. Retrieved January 2, 2013, from <http://www.nytimes.com/2013/01/12/business/more-emergency-room-visits-linked-to-energy-drinks-report-says.html>.
- Ben, F. M. K.; & Hessel, S.V.D.B. (1977). The influence of the initial and catalyst concentrations on the dehydration of d-fructose. *Journal of Carbohydrate Research.* 54(2):165-176.
- Ben, F. M. K. (1977). The influence of water concentration on the dehydration of d-fructose. *Journal of Carbohydrate Research.* 54(2):177-183.
- Ben, F. M. K.; & Herman, M. G. T. (1977). The influence of pH and weak-acid anions on the dehydration of d-fructose. *Journal of Carbohydrate Research.* 54(2):185-191.
- Berk, Z. (1976). *Braverman's Introduction to the Biochemistry of Food*. Elsevier Scientific. Amsterdam : New York. 315p.

- Braverman, J. B. S. (1963). *Introduction to the biochemistry of food*. Elsevier Publishing Company. New York. 336p.
- Carrez, M. C. (1909). *Annales de chimie analytique*. 14 : 187-189.
- Casa, D.J. (2000). National Athletic Trainers' Association position statement: Fluid replacement for athletes. *J. Athl. Train.* (35): 212–224.
- Cunha, S.C.; et al. (2011). Assessment of 4-(5-)methylimidazole in soft drinks and dark beer. *Journal of Food Composition and Analysis*. (24) : 609-614.
- Doty, T.E.; & Vanninen, E. (1975). Crystalline Fructose : Use as a food ingredient expected to increase. *Journal of Food Technol.* 19 : 34-38.
- Durmaz, G.; & Gokmen, V. (2010). Determination of 5-hydroxymethyl-2-furfural and 2-furfural in oils as indicators of heat pre -treatment. *Journal of Food Chemistry*. (123): 912-916.
- Edoardo, C.; & Vincenzo, F. (2011). Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural(HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies. *Journal of LWT-Food Science and Technology*. 44(4):793-810.
- Fahrettin, G., Huseyin, B.; & Sami, E. (1998). Kinetics of Maillard Reactions Between the Major Sugars and Amino Acids of Boiled Grape Juice. *Journal of LWT-Food Science and Technology*. 21 : 196-200.
- Fayle, E.; & Gerrard, J. A., (2002). *The Maillard Reaction*. Royal society of Chemistry, Cambridge.
- Ferrer, E.; Alegría, A.; Courtois, G. .; & Farré, R. (2000). High-performance liquid chromatographic determination of Maillard compounds in store-brand and name-brand ultra-high-temperature-treated cows' milk. *Journal of Chromatography A*. 881: 599-606
- Ferrer, E.; et al. (2002). High-performance liquid chromatographic determination of furfural compounds in infant formulas changes during heat treatment and storage . *Journal of Chromatography A*. 947: 85-95.
- Fennema, O.R. (1985). *Food Chemistry*. 2<sup>nd</sup> ed. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Fred, S. W. (2009). *The Place Setting*. Macon : Georgia.

- Glatt, H. R.; & Sommer, Y. (2006). Health risks by 5-hydroxymethylfurfural (HMF) and related compounds. K. Skog, J. Alexander (Eds.), *Acrylamide and other health hazardous compounds in heat-treated foods*. Woodhead Publishing, Cambridge. pp. 328–357.
- Gokmen, V.; & Acar, J. (1999). Simultaneous determination of 5-hydroxymethylfurfural and patulin in apple juice by reversed-phase liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 847: 69-74.
- Henares, J. A. R.; et al. (2006). Analysis of heat-damage indices in breakfast cereals :Influence of composition. *Journal of Cereal Science*. 43: 63-69.
- Hodge, J. E. (1953). Chemistry of browning reactions in model systems. *Journal of Agric. Food Chem.* V.1. pp. 928-943.
- Hornsey, I. (2007). The chemistry and biology of winemaking. *The Royal Society of Chemistry*. Cambridge, UK.
- Howard, M. A.; & Marczinski, C. A. (2010). Acute effects of a glucose energy drink on behavioral control. *Journal of Experimental and Clinical Psychopharmacology*. 18(6): 553–61.
- Kamuf, W.; et al. (2003). Overview of caramel colors. *Cereal Food World*. 48(2):64-69.
- Khalil, M .I.; et al. (2010). High 5-hydroxymethylfurfural concentrations are found in Malaysian honey samples stored for more than one year. *Journal of Food and Chemical Toxicology*. 48: 2388-2392.
- Labuza, P. T.; & Baisier, W. M. (1992). The kinetic of nonenzymatic browning, In G.H. Schwartzberg and R.W. Hartel, eds. *Journal of Physical Chemistry of Foods*. Marcel Dekker, Inc., New York. pp. 596-649.
- Laroque, D.; et al. (2008). Kinetic study on the Maillard reaction. Consideration of sugar reactivity. *Journal of Food Chemistry*. 111: 1032-1042.
- Morales, F. J.; & Van, B. M. A. J. S. (1998). A Study on Advanced Maillard Reaction in Heated Casein/Sugar Solution : Colour Formation. *Journal of International Dairy Journal*. 8(10-11) : 907 – 915.

- Muangthai, P.; et al. (2004). *Study of Maillard reaction in model systems between standard sugar and amino acid*. In 30 th Congress on Science and Technology of Thailand, 19 –21 October 2004. pp.11.
- Naranjo, B.G., L.S. Malec.; & M.S. Vigo. 1998. Reducing sugars effect on available lysine loss of casein by moderate heat treatment. *Journal of Food Chem.* 62(3): 309-313.
- Nozal, M. J.; et al. (2001). High-performance liquid chromatographic determination of methyl anthranilate, hydroxymethylfurfural and related compounds in honey. *Journal of Chromatography A.* 917: 95-103.
- Nursten, H. (2005). The Maillard Reaction. Chemistry, Biochemistry and Implication. *The Royal society of Chemistry*. Cambridge. 2-4.
- Reilly, R. O. (1982). *The nature of the chemical grouping responsible for the colour of products of the Maillard reaction*. The University of Reading.
- Richard, M. M.; & Raphael, M.M. (1987). The preparation of 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde (HMF) from d-fructose in the presence of DMSO. *Journal of Biomass.* 13 : 67-74.
- Rosatella, S.; et al. (2011). The Maillard Reaction. *Journal of Green Chem.* 13 : 754–793.
- Sawka, M. N. (2007). American College of Sports Medicine position stand: Exercise and fluid replacement. *Med. Sci. Sports Exerc.* 39: 377–390.
- Scarpellino, R.; & Soukup, R.J. (1993). Key flavor from heat reactions of food ingredients. In Flavor Science. *American Chemical Society*. Washington, DC. 310-335.
- Schoental, R., Hard, G. C.; & Gibbard, S. (1971). Histopathology of renal lipomatous tumors in rats treated with the "natural" products, pyrrolizidine alkaloids and  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated aldehydes.
- Shrivastava, A.; & Gupta, V. B. (2011). Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. *Chron Young Sci* [serial online] [cited 2013 Sep 17];2:21-5. Available from: <http://www.cysonline.org/text.asp?2011/2/1/21/79345>.
- Siqueira, B. G.; et al. (2013). Synthesis of HMF from glucose in aqueous medium using niobium and titanium oxides. *Brazilian Journal of Petroleum and gas.* 7 : 71-82.
- Spano, N.; et al. (2006). An RP-HPLC determination of 5-hydroxymethylfurfural in honey The case of strawberry tree honey. *Journal of Talanta.* 68: 1390-1395.



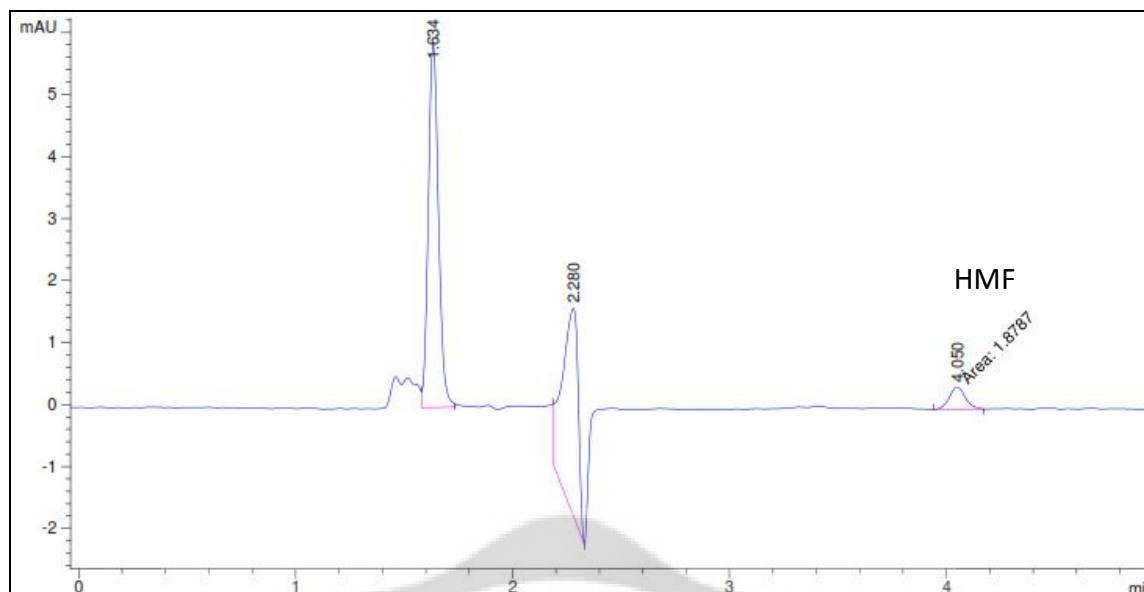
- Sumaya, M. M. T. ; et al. (2006). Effect of Maillard reaction conditions on browning and antiradical activity of sugar–tuna stomach hydrolysate model system. *Journal of Food Research International*. 38 : 1045–105.
- Takashi, O.; et al. (2013). Dehydration of fructose to 5-hydroxymethylfurfural (HMF) in an aqueous acetonitrile biphasic system in the presence of acidic ionic liquids. *Applied Catalysis A : General*. 451 : 1-5.
- Tosi, E.; et al. (2002). Honey thermal treatment effects on hydroxymethylfurfural content. *Journal of Food Chemistry*. 77: 71-74.
- Ulbricht, R. J., Northup, S. J.; & Thomas, J. A. (1984). A review of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) in parenteral solutions. *Journal of Fundamental and Applied Toxicology*. 4 : 843–853.
- US EPA. Initial submission. (1992). Acute oral LD50 study with 5-hydroxymethylfurfural in rats. Cover letter dated 073192, EPA/OTS. Doc. #88-920005429, Chicago, Illinois, USA
- Van, B. M. A. J. S. (1998). Effect of heating on Maillard reactions in milk. *Journal of Food Chemistry*. 62 : 403-414.
- Windson, S., Kavazos, K.; & Brooks, P. (2012). The quantitation of hydroxymethylfurfural in Australian *Leptospermum* honeys. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*. 5 : 21-25.
- Zhang. X-M.; et al. (1993). Initiation and promotion of colonic aberrant crypt foci in rats by 5-hydroxymethyl-2furaldehyde in thermolyzed sucrose. *Journal of Carcinogenesis*, 14 (4) : 773-775.



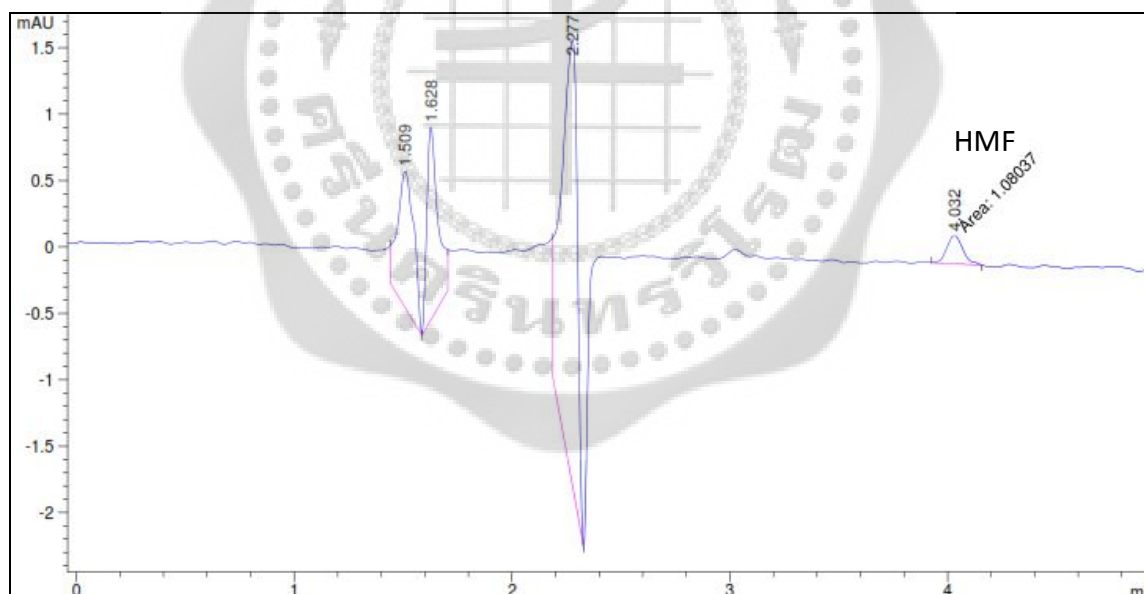


ภาคผนวก ก

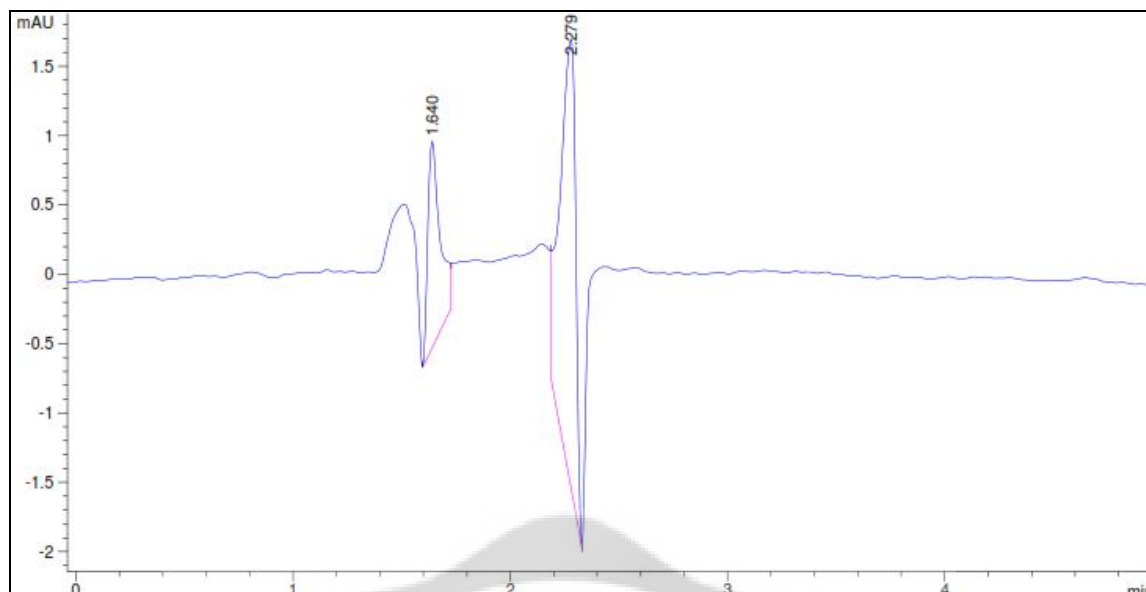
โครมาโทแกรมของสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์พิวรัลดีไฮด์  
ในระบบต้นแบบ



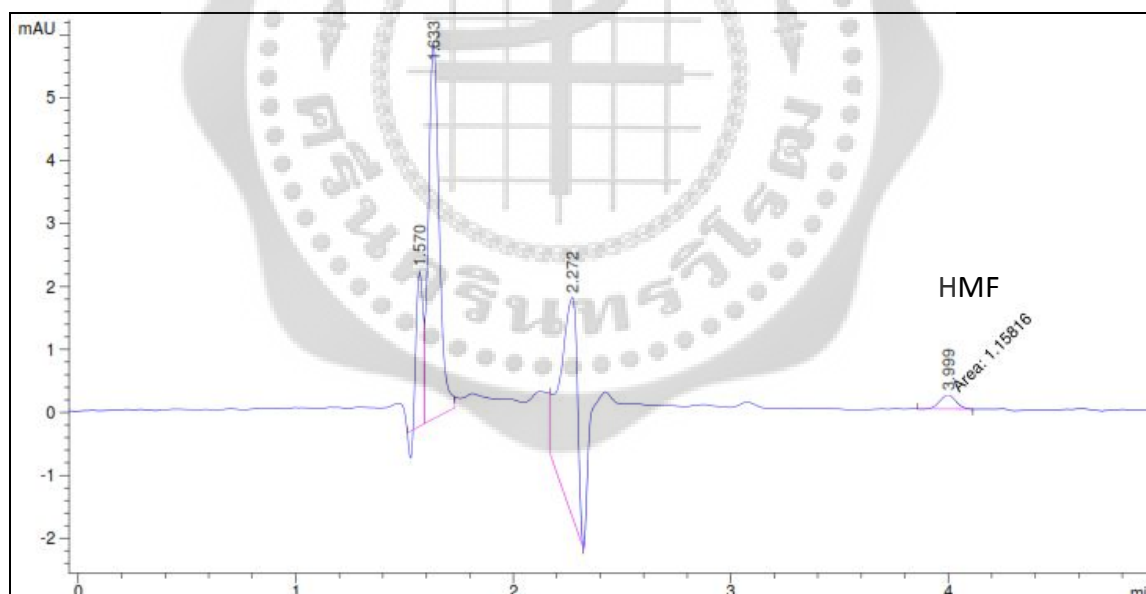
ภาพประกอบ 32 โครมาโทแกรมสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ที่เกิดจากน้ำตาลฟรักโทสที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 30 นาที ในปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน



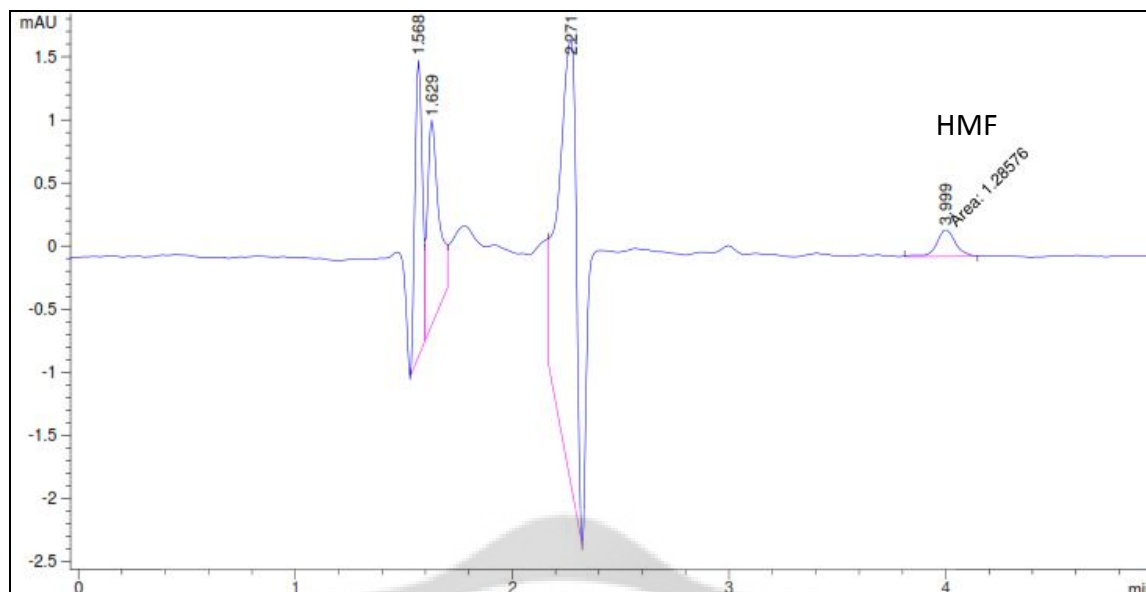
ภาพประกอบ 33 โครมาโทแกรมสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ที่เกิดจากน้ำตาลกลูโคสที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 30 นาที ในปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน



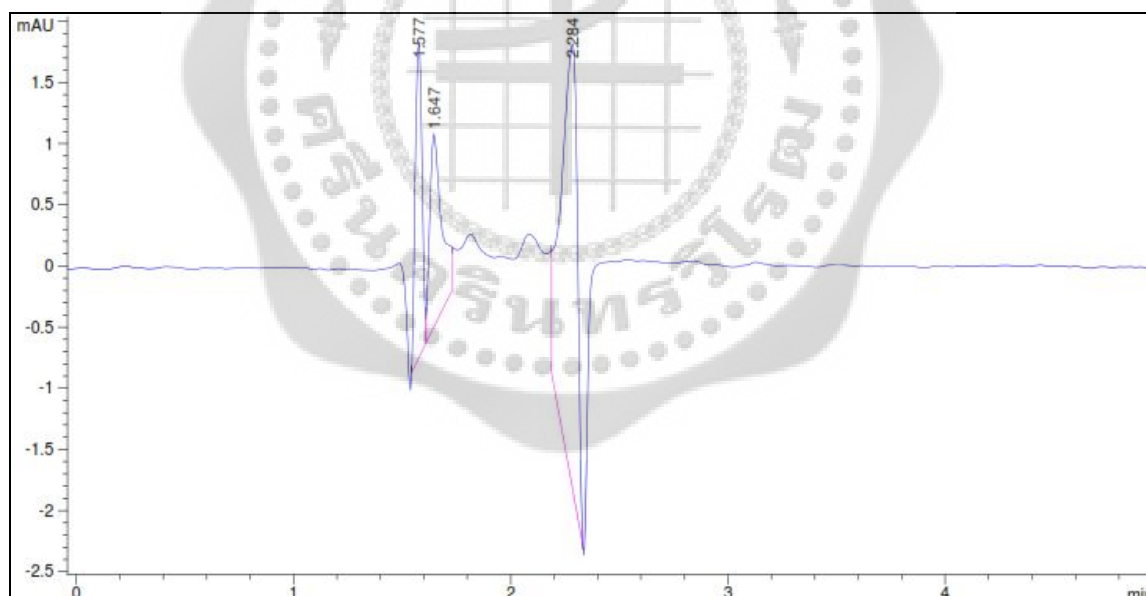
ภาพประกอบ 34 โครมาโทแกรมของน้ำตาลซูโครสที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 30 นาที ในปฏิกิริยา คาราเมลไลเซชัน



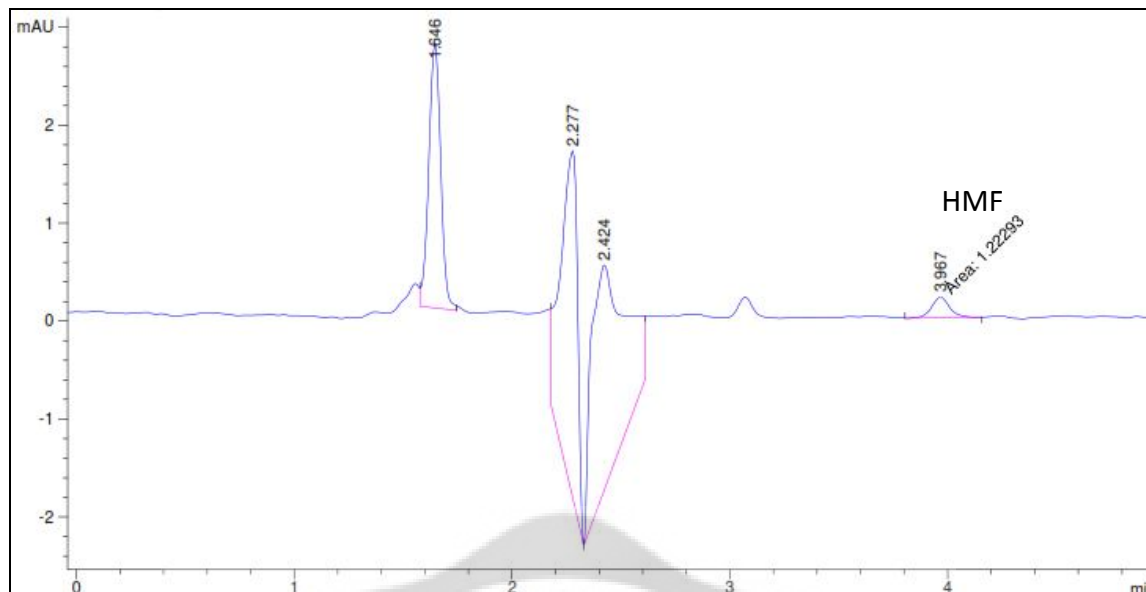
ภาพประกอบ 35 โครมาโทแกรมสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ที่เกิดจากน้ำตาล ฟรักโทสทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนไลซีน ที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 30 นาที ในปฏิกิริยามอลดาร์ด



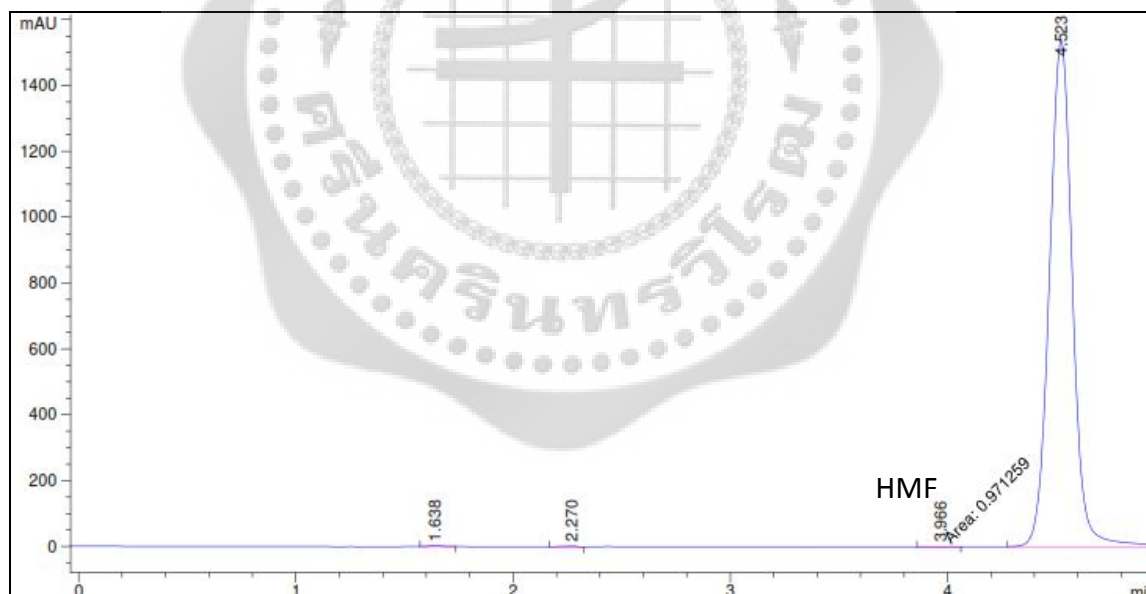
ภาพประกอบ 36 โครมาโทแกรมสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ที่เกิดจากน้ำตาลกลูโคส ทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนไลซีน ที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 30 นาที ในปฏิกิริยาเมลลาร์ด



ภาพประกอบ 37 โครมาโทแกรมของน้ำตาลซูโครสทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนไลซีน ที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 30 นาที ในปฏิกิริยาเมลลาร์ด



ภาพประกอบ 38 โครมาโทแกรมสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอรัลดีไฮด์ที่เกิดจากน้ำตาลฟรักโทส ทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนโพรลีนที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 30 นาที ในปฏิกิริยาเมลลาร์ด



ภาพประกอบ 39 โครมาโทแกรมสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอรัลดีไฮด์ที่เกิดจากน้ำตาลฟรักโทส ทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนทริปโทเฟน ที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 30 นาที ในปฏิกิริยาเมลลาร์ด

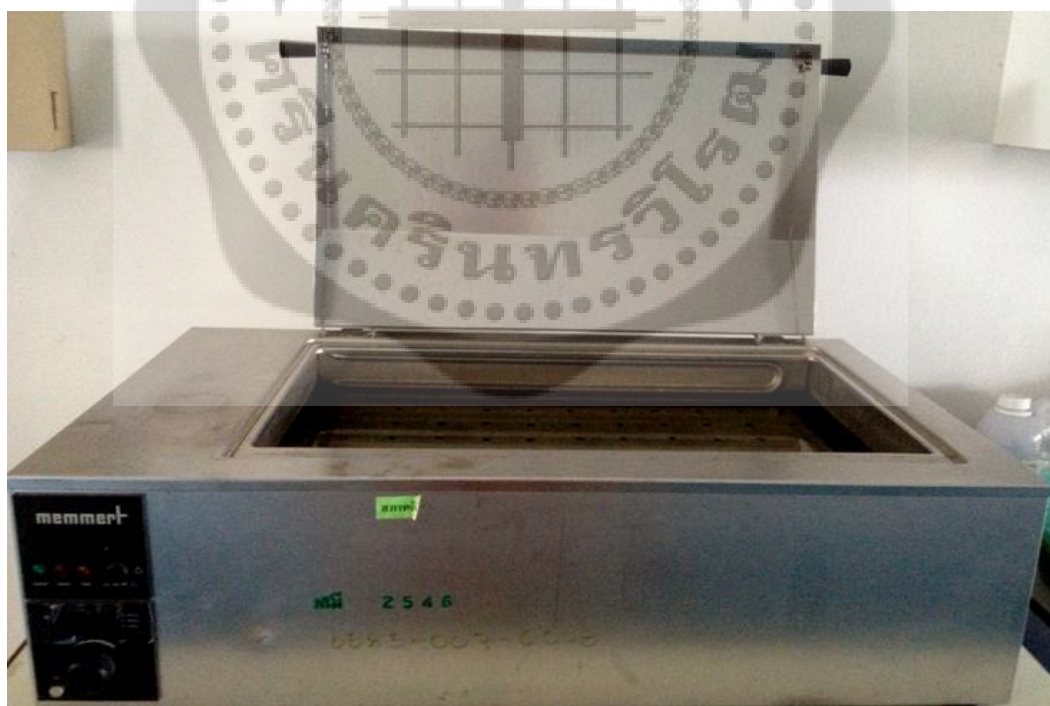
ภาคผนวก ข  
เครื่องมือ อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย







ภาพประกอบ 40 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง



ภาพประกอบ 41 เครื่องอ่างน้ำที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ใช้ในการให้ความร้อน



ภาพประกอบ 42 ตัวอย่างเครื่องดื่มชูกำลังที่ใช้ในงานวิจัย



ภาพประกอบ 43 ตัวอย่างผงเกลือแร่ที่ใช้ในงานวิจัย

ภาคผนวก ค  
การวิเคราะห์ผลทางสถิติ และค่าพารามิเตอร์ในการวิเคราะห์



## ภาคผนวก ค

### การวิเคราะห์ผลทางสถิติ และค่าพารามิเตอร์ในการวิเคราะห์

#### การหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด และค่าของขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์

ฉีดสารละลายมาตรฐานไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ที่ความเข้มข้น 0.001 ppm เข้าสู่ระบบเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง จำนวน 10 ครั้ง บันทึกโครมาโทแกรม แล้วนำข้อมูลของสัญญาณการวิเคราะห์ที่ได้มาคำนวณหาค่าของ ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (LOD;  $S/N > 3$ ) และขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (LOQ;  $S/N > 10$ ) ตามสมการ

$$DL/QL = \frac{F \times SD}{b}$$

#### หมายเหตุ

DL คือ ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด

QL คือ ขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์

F คือ แฟคเตอร์ในการคำนวณ โดย สำหรับ DL มีค่าเท่ากับ 3.3 และสำหรับ QL มีค่าเท่ากับ 10 ตามลำดับ

b คือ ความชันที่ได้จากสมการกราฟมาตรฐานความเข้มข้นที่ได้จากการศึกษาข้างต้น

SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ที่ความเข้มข้น 0.001 ppm จำนวน 10 ซ้ำ

สำหรับ SD ที่ใช้ในการคำนวณหาค่า นั้นจะ วัดจากค่าของ signal-to-noise ที่พบในบริเวณ retention time ของพีคสารประกอบไฮดรอกซีเมทิลเฟอริฟิวรัลดีไฮด์ ตามสมการ

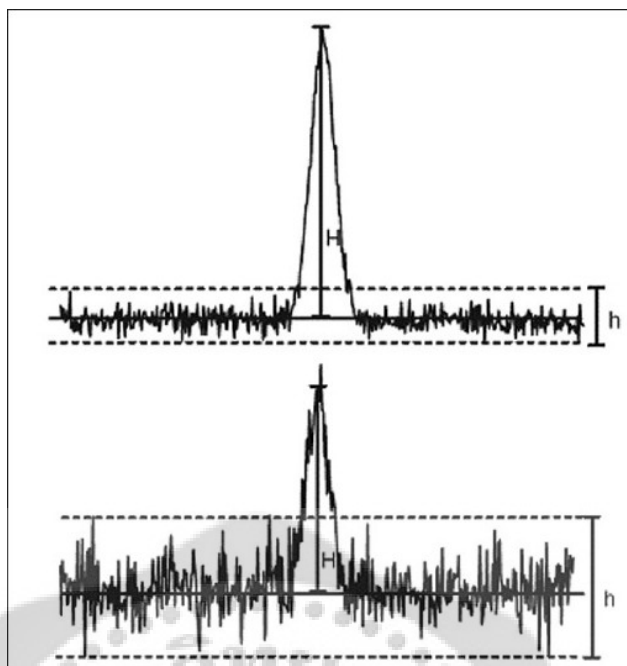
$$S/D = \frac{2H}{h}$$

#### หมายเหตุ

S/D คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณการวิเคราะห์

H คือ ความสูงของพีคสัญญาณการวิเคราะห์ ดังแสดงตามรูป

h คือ ความสูงของพีคสัญญาณสารรบกวน ดังแสดงตามรูป



ภาพประกอบ 44 แสดงการวัดค่าความสูงพีคสัญญาณการวิเคราะห์ (H) และความสูงของพีคสารรบกวน (h) โดยภาพบนจะเป็นของขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด และภาพล่างจะเป็นของขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ ตามลำดับ

ที่มา Shrivastava; & Gupta Methods (2011)

## ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ นางสาวยลรวี วิวัฒน์ชาญกิจ  
 วันเดือนปีเกิด 23 กันยายน พ.ศ. 2530  
 สถานที่เกิด จังหวัดสระบุรี  
 สถานที่อยู่ปัจจุบัน บ้านเลขที่ 234 เซิงสะพานกรุงธน ถ.ราชวิถี แขวงวชิระ เขตดุสิต กทม.10300

### ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2548 โรงเรียนเบญจมราชาลัย ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดกรุงเทพมหานคร  
 พ.ศ. 2552 วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเคมี จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ  
 พ.ศ. 2556 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

