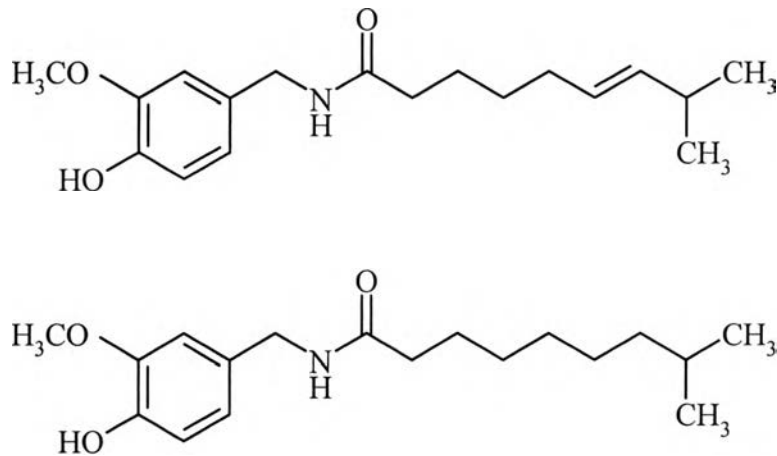




บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

พริกมีกลุ่มสารสำคัญที่ทำให้มีรสเผ็ดร้อนและมีกลิ่นฉุน คือ แคปไซซินอยด์ (capsaicinoids, CAPs) โดยองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นแคปไซซิน (capsaicin, CAP) และไดไฮโดรแคปไซซิน (dihydrocapsaicin, DCAP) สูตรโครงสร้างดังรูปที่ 1 ในอัตราส่วน 1 : 1 ถึง 1 : 2 ส่วน สาร CAPs อื่นๆ มีในปริมาณน้อย สารเหล่านี้พบมากที่ผนังชั้นในและรกของพริก [บัญญัติ สุขศรีงาม, 2527] CAP เป็นสารที่มีฤทธิ์ระคายเคืองผิวหนัง ช่วยบรรเทาอาการเจ็บปวดและป้องกันการอักเสบ ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย [มุลนิธิโกมลคีมทอง, 2527] กระตุ้นการทำงานของกระเพาะอาหารให้หลั่งกรดเกลือเพิ่มมากขึ้น ทำให้อัตราการหายใจ การเดินของชีพจรและความดันโลหิตเพิ่มขึ้น ทำให้ระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดลดลงได้ แต่พบว่าพริกทำให้เกิดแก๊สในตับได้ด้วย [นิจศิริ เรืองรังษี, 2534]



รูปที่ 1.1 สูตรโครงสร้างของแคปไซซินและไดไฮโดรแคปไซซิน

ได้มีรายงานว่าคนอินเดีย ไทยและเม็กซิกัน นิยมบริโภคอาหารรสเผ็ด คิดเป็น CAP 25 ถึง 200 mg/คน/วัน ในขณะที่คนอเมริกาและในยุโรปบริโภคอาหารรสเผ็ด คิดเป็น CAP ประมาณ 1.5 mg/คน/วัน เมื่อเร็วๆ นี้ สหภาพยุโรป (European Commission) ได้รายงานความคิดเห็นของคณะกรรมการวิทยาศาสตร์ทางอาหารเกี่ยวกับ CAP [Opinion of the Scientific Committee on Food on Capsaicin] โดยมีสาระที่สำคัญว่าคนอินเดียและเม็กซิกันที่บริโภคอาหารรสเผ็ดจัดมากมีความสัมพันธ์และความเสี่ยงของการเป็นโรคมะเร็งกระเพาะสูง ในขณะที่คนยุโรปที่บริโภคอาหาร

รสเผ็ดในระดับปกติ (1.5 mg/คน/วัน) ไม่พบว่ามีความเสี่ยงของโรคมะเร็งกระเพาะ แม้ว่าที่ประชุม ยังไม่ได้มีมติออกกฎควบคุมอาหารรสเผ็ดอย่างชัดเจน แต่เพื่อความปลอดภัย คณะกรรมการให้ ความเห็นของข้อจำกัดของ CAPs ซึ่งคิดเป็น CAP ในอาหารรสเผ็ดดังตารางที่ 1.1

อาหารไทยส่วนใหญ่มีพริกเป็นส่วนประกอบ รวมทั้งเป็นองค์ประกอบในเครื่องปรุงรส เช่น ซอสพริกและเครื่องแกงสำเร็จรูป จากข้อมูลของสถาบันอาหารรายงานว่าในปี 2547 จนถึง 2551 มีมูลค่าการส่งออกรวมของซอสพริกและเครื่องแกงเป็นมูลค่าหลายพันล้านบาท แสดงดัง ตารางที่ 1.2 [www.ops.moc.go.th]

ตารางที่ 1.1 ข้อกำหนดปริมาณแคปไซซินอยด์ในอาหารประเภทต่างๆ

ประเภทอาหาร	ปริมาณแคปไซซินอยด์ไม่เกิน (ppm)
อาหารและเครื่องดื่มทั่วไป	5
อาหารรสเผ็ด	10
Ketchup	20
Tabasaco, Harrissa, Hot pimento oil หรืออาหารอื่นในรูปแบบคล้ายๆ กัน	50

ตารางที่ 1.2 มูลค่าการส่งออกของซอสพริกและเครื่องแกง

ปี	2547	2548	2549	2550	2551
มูลค่า (ล้านบาท)	1573.4	1826.3	1939.7	1747.9	1605.1

จากนโยบายรัฐบาลในปี 2547 ที่สนับสนุนโครงการครัวไทยสู่ครัวโลก ทำให้มูลค่าการ ส่งออกของผลิตภัณฑ์เครื่องปรุงรสและสมุนไพร เพิ่มขึ้นร้อยละ 20.1 โดยตลาดที่สำคัญของไทย ได้แก่ ยุโรป อเมริกา ญี่ปุ่น ออสเตรเลียและประเทศอื่นๆ เครื่องแกงสำเร็จรูปเป็นลักษณะเฉพาะ ของอาหารไทย จึงจัดได้ว่าประเทศไทยต้องแข่งขันกับตัวเองทั้งในด้านคุณภาพและความปลอดภัย ของเครื่องแกงสำเร็จรูป ซึ่งในโลกของเศรษฐกิจยุคใหม่จำเป็นต้องตระหนักถึงข้อกำหนดเกี่ยวกับ องค์ประกอบของสารต่างๆ ในอาหาร แม้ว่าในปัจจุบันยังไม่มีข้อกำหนดของการติดฉลากระบุ ปริมาณ CAPs ในอาหาร แต่มีแนวโน้มว่าองค์การอาหารและยาของอเมริกาและยุโรปจะมี ข้อกำหนดดังกล่าวเพื่อความปลอดภัยและสุขอนามัยของประชาชน ดังนั้นการพัฒนาวิธีการแยก และตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ CAPs โดยเฉพาะอย่างยิ่ง CAP และ DCAP ในผลิตภัณฑ์พริกและ อาหารรสเผ็ดเป็นสิ่งที่จำเป็น แม้ว่าจะมีวิธียมาตรฐานของการวิเคราะห์สารดังกล่าวในพริกและส่วน สกัดของพริก แต่วิธีการแยกและวิเคราะห์รวมทั้งวิธีการเตรียมตัวอย่างที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพ

เป็นสิ่งที่จำเป็น โดยเฉพาะอาหารประเภทแกงต่างๆ ของไทยหรืออาหารไทยอื่นๆ ซึ่งจัดว่าเป็นตัวอย่างที่มีความซับซ้อนมากกว่าส่วนสกัดของพริก และประเทศไทยน่าจะเป็นผู้ริเริ่มพัฒนาวิธีการวิเคราะห์สารเหล่านี้ในอาหาร หากมีการกำหนดการติดฉลากระบุปริมาณ CAP ในอาหารดังกล่าว และประเทศไทยยังไม่มีวิธีมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์ จะทำให้สูญเสียรายได้การส่งออกหลายร้อยล้านบาท ซึ่งมีผลกระทบต่อผู้ผลิตอาหารสดและเกษตรกรที่ปลูกพริกโดยตรง ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะพัฒนาวิธีเตรียมตัวอย่าง วิธีการแยกและวิเคราะห์ปริมาณ CAP และ DCAP ในพริก ส่วนสกัดพริก ผลิตภัณฑ์พริก (เช่น เครื่องแกงและเครื่องปรุงต่างๆ) อาหารเสริมที่มีพริกเป็นองค์ประกอบ และอาหารสดเผ็ดต่างๆ (เช่น แกง ผัดพริกและต้มยำ)

ปัจจุบันเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิกวิดโครมาโทกราฟี (high-performance liquid chromatography, HPLC) ใช้สำหรับวิเคราะห์ CAP และ DCAP ในพริกและส่วนสกัดของพริก แต่มีวิธีการเตรียมตัวอย่างที่ยุ่งยาก ที่ต้องการขั้นตอน solid phase extraction (SPE) เพื่อกำจัดเมทริกซ์ที่อาจติดค้างในคอลัมน์ หรือรบกวนการวิเคราะห์สารตัวอย่าง จึงมีแนวความคิดที่จะพัฒนาเทคนิคอะพิลลารีอิเล็กโทรโฟริซิส (capillary electrophoresis, CE) สำหรับวิเคราะห์ CAP และ DCAP แบบไม่ต้องผ่านการเตรียมตัวอย่างที่ยุ่งยาก เปรียบเทียบกับแบบที่ต้องผ่านการเตรียมตัวอย่างด้วย SPE และเปรียบเทียบกับเทคนิค HPLC ซึ่ง CE จัดเป็นเทคนิคการแยกสารแบบใหม่ ที่มีประสิทธิภาพของการแยกสารที่ดี วิเคราะห์ได้รวดเร็ว ใช้สารเคมีในปริมาณน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับ HPLC และ CE ไม่เสี่ยงต่อการที่สารติดค้างในคอลัมน์

1.2 การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง

จากงานวิจัยที่ผ่านมา เทคนิคที่ใช้ในการแยกและวิเคราะห์หาปริมาณ CAP และ DCAP ดังตารางที่ 1.3 ได้แก่ ทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (thin-layer chromatography, TLC), แก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography, GC), ซุปเปอร์คริติคัลฟลูอิดโครมาโทกราฟี (supercritical fluid chromatography, SFC), HPLC, โวลแทมเมทรี (voltammetry) และ CE

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค TLC ทำได้โดยการ bromination สารที่จะวิเคราะห์ก่อน [Todd *et al.*, 1975; Suzuki *et al.*, 1980; Perucka and Oleszczek, 2000] เพื่อให้เกิดการแยกของสารต่างๆ แต่อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพการแยกไม่ค่อยดีนักและใช้ระยะเวลาาน ส่วนการใช้เทคนิค GC นั้นต้องมีการเตรียมให้อยู่ในรูปอนุพันธ์ของสารที่กลายเป็นไอได้ง่าย เช่น อนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ เนื่องจาก CAP และ DCAP เป็นสารที่กลายเป็นไอได้ยาก [Jurenitsch and Kampelmuhler, 1980; Hawer *et al.*, 1994; Thomas *et al.*, 1998; Spicer and Almirall, 2005; Pino *et al.*, 2007]

เทคนิคที่ใช้ทั่วไปในการแยกและวิเคราะห์หาปริมาณ CAP และ DCAP คือ เทคนิค HPLC ซึ่งส่วนใหญ่จะใช้คอลัมน์เป็น reversed phase-HPLC โดยมีเฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายผสม ได้แก่ เมทานอล:น้ำ [Sticher *et al.*, 1978; LopezHernandez *et al.*, 1996] น้ำ : อะซิโตไนไตรล์ : กรดฟอสฟอริก [James and Bradley, 2000], น้ำ : อะซิโตไนไตรล์ [Yao *et al.*, 1994], potassium dihydrogenphosphate:อะซิโตไนไตรล์ [Teruo *et al.*, 1985], เมทานอล : น้ำ : อะซิโตไนไตรล์ : กรดอะซีติก [Kaale *et al.*, 2002] และมีการเปลี่ยนสารให้อยู่ในรูปสารเชิงซ้อนกับซิลเวอร์ [Jurenitsch and Lcinmuller, 1980; Constant *et al.*, 1995] ส่วนเครื่องตรวจวัดที่ใช้ได้แก่ เครื่องตรวจวัดแบบ UV [Sticher *et al.*, 1978; Jurenitsch and Lcinmuller, 1980; Yao *et al.*, 1994; Constant *et al.*, 1995; LopezHernandez *et al.*, 1996; James and Bradley, 2000; Kaale *et al.*, 2002], electrochemical [Teruo *et al.*, 1985] และ fluorescence [Tucker, 2001] เป็นต้น

สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณ CAP และ DCAP ด้วยเทคนิค CE ที่ผ่านมานั้นได้มีรายงานโดยการใช้เทคนิค CE แบบ micellar electrokinetic chromatography (MEKC) [Laskaridou-Monnerville, 1999] ซึ่งมีการเติมสารลดแรงตึงผิวเป็น sodium dodecyl sulfate (SDS) ทำหน้าที่เป็น pseudo-stationary phase และสารละลายอิเล็กโทรไลต์ (background electrolyte, BGE) เป็นสารละลายผสมระหว่าง sodium tetraborate และ sodium dihydrogenphosphate ที่ pH 9.0 ที่ประกอบด้วยตัวทำละลายอินทรีย์เป็นเมทานอล โดยใช้เครื่องตรวจวัดแบบ UV โดยประยุกต์สำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างพริก แต่อย่างไรก็ตามวิธีนี้ยังต้องการขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างแบบ SPE ซึ่งยังไม่เข้าใจเหตุผลที่ชัดเจน อาจเป็นไปได้ว่าภาวะของ CE ที่เลือกใช้ไม่เหมาะสมต่อการแยกสารที่สนใจออกจากเมทริกซ์ตัวอย่าง หรือการตกตะกอนของเมทริกซ์เนื่องจากความไม่เหมาะสมของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้

ในการวิจัยจะเป็นการพัฒนาเทคนิค CE แบบ MEKC และ microemulsion electrokinetic chromatography (MEEKC) สำหรับแยกและวิเคราะห์ CAP และ DCAP โดยศึกษาผลของตัวทำละลายอินทรีย์และปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อการแยกของสาร ซึ่งโดยทั่วไป MEKC เหมาะสำหรับการแยกสารที่ละลายน้ำได้ ส่วน MEEKC เหมาะสำหรับทั้งสารที่ละลายน้ำได้และละลายน้ำได้ยาก

งานวิจัยที่ผ่านมาเกี่ยวข้องกับวิเคราะห์หาปริมาณ CAP และ DCAP ในตัวอย่างพริก (ทั้งพริกสดและพริกแห้ง) ส่วนสกัดพริก (capsicum oleoresin) รวมทั้งผลิตภัณฑ์ที่มีพริกเป็นส่วนประกอบ เช่น สเปรย์พริก ขานวด ซอสพริก อาหารที่มีพริกเป็นส่วนประกอบ เป็นต้น

ในการวิเคราะห์ตัวอย่างแต่ละชนิดที่ผ่านมานั้นจะต้องผ่านขั้นตอนหรือวิธีการเตรียมตัวอย่าง ได้แก่ ultrasound-assisted extraction, microwave-assisted extraction, supercritical fluid extraction (SFE), pressurized liquid extraction, magnetic stirring, SPE, solid-phase microextraction (SPME), soxhlet extraction และสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction หรือ liquid phase extraction)

ตารางที่ 1.3 ชนิดของตัวอย่างและเทคนิคการเตรียมตัวอย่างที่ผ่านมา

ตัวอย่าง	วิธีวิเคราะห์	เทคนิคการเตรียมตัวอย่าง	เอกสารอ้างอิง
พริกสด	HPLC, LC-MS	สกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน	Schweiggert <i>et. al.</i> , 2006, Sato <i>et. al.</i> , 1999
		SPE ด้วยเมทานอล	Laskaridou-Monnerville, 1999
	TLC	สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต	Suzuki <i>et. al.</i> , 1980
	HPLC	SFE ด้วย carbon dioxide	Yao <i>et. al.</i> , 1994
	HPLC	SFE ด้วย carbon dioxide	Uquiche <i>et. al.</i> , 2004
	HPLC	สกัดด้วยตัวทำละลายด้วย diethyl ether	Topuz and Ozdemir, 2007
	HPLC, TLC	สกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน:petroleum ether	Perucka and oleszek, 2000
	GC, GC/MS	สกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตนไนโตรส	Pino <i>et. al.</i> , 2007
	GC	สกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน	Cisncros-Pineda <i>et. al.</i> , 2007
	HPLC	pressurized liquid extraction ด้วยเมทานอล	Barbero <i>et. al.</i> , 2006; Barbero <i>et. al.</i> , 2008

ตัวอย่าง	วิธีวิเคราะห์	เทคนิคการเตรียมตัวอย่าง	เอกสารอ้างอิง
	HPLC	microwave-assisted extraction เอทานอล	Barbero <i>et. al.</i> , 2006
	HPLC	SPE ด้วยเมทานอล	Thompson <i>et. al.</i> , 2006
	HPLC	SFE ด้วย <i>n</i> -hexane	Duarte <i>et. al.</i> , 2004
พริกแห้ง	HPLC	สกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน	Weaver <i>et. al.</i> , 1984
	HPLC	สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล	Weaver and Awde, 1986; Batchelor and Jones, 2000
พริก	HPLC	ultrasound-assisted extraction ด้วยเมทานอล	Barbero <i>et. al.</i> , 2008
	GC	magnetic stirring ด้วยอะซิโตน	Thomas <i>et. al.</i> , 1998
	HPLC	magnetic stirring ด้วยเอทานอล	Davis <i>et. al.</i> , 2007
พริกและส่วนสกัดพริก	HPLC	SPE ด้วยอะซิโตนไนโตรล์ และ เฮกเซน	Attuquayefio and Buckle, 1987
ส่วนสกัดพริก	HPLC	สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล และ SPE ด้วยเฮกเซน	Cooper <i>et. al.</i> , 1991
สเปรย์พริก	HPLC	สกัดด้วยตัวทำละลาย diethyl ether	Wei and Zhao, 2008
	LC-MS, LC-MS-MS	SPME ด้วยเมทานอล	Reilly <i>et. al.</i> , 2001
	GC/MS	SPME ด้วยเอทิลอะซิเตต	Spicer and Almirall, 2005
พริก ซอสพริก และอาหารเผ็ด	HPLC, LC-MS	สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล	Kozukue <i>et. al.</i> , 2005
ซอสพริก	HPLC	สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล	Batchelor and Jones, 2000
	voltammetry	สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล	Kachoosangi <i>et. al.</i> , 2008
ขานวด	LC	สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน	Kaale <i>et. al.</i> , 2002

จะเห็นว่า การวิเคราะห์หาปริมาณ CAP และ DCAP ในตัวอย่างส่วนใหญ่ มักจะวิเคราะห์กับตัวอย่างพริก ไม่ว่าจะเป็นพริกสด หรือพริกแห้ง อีกทั้งวิธีการเตรียมตัวอย่างส่วนใหญ่ก็มักใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย ที่นิยมใช้ได้แก่ เอทานอล [Kachoosangi *et. al.*, 2008; Batchelor and Jones, 2000], เมทานอล [Cooper *et. al.*, 1991; Laskaridou-Monnerville, 1999; Kozukue *et. al.*, 2005],

เมทานอล : น้ำ [Kaale *et. al.*, 2002] อะซิโตน [Weaver *et. al.*, 1984; Weaver and Awde, 1986; Sato *et. al.*, 1999; Cisneros-Pineda *et. al.*, 2007], อะซิโตน : ปิโคลีเนียมไอโอดิเดต [Perucka and Oleszek, 2000], เฮกเซน [Kaale *et. al.*, 2002] เอทิลอะซิเตต [Suzuki *et. al.*, 1980; Schweiggert *et. al.*, 2006], ไดเอทิลอีเทอร์ [Wei and Zhao, 2008], อะซิโตนไนไตรล์ [Attuquayefio and Buckle, 1987; Topuz and Ozdemir, 2007; Pino *et. al.*, 2007] แต่อย่างไรก็ตามวิธีนี้ยังอาจต้องการขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างแบบ SPE แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC [Attuquayefio and Buckle, 1987; Cooper *et. al.*, 1991] หรือนำไปผ่านขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างแบบ SPE ก่อนการวิเคราะห์ด้วย CE [Laskaridou-Monncerville, 1999] ซึ่งยังไม่เข้าใจเหตุผลที่ชัดเจน อาจเป็นไปได้ว่าภาวะของ CE ที่เลือกใช้ไม่เหมาะสมต่อการแยกสารที่สนใจออกจากเมทริกซ์ตัวอย่าง หรือการตกตะกอนของเมทริกซ์เนื่องจากความไม่เหมาะสมของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้

จากการสืบค้นข้อมูลพบว่าการวิเคราะห์หาปริมาณ CAP และ DCAP ในตัวอย่างซอสพริก มีการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC [Batchelor and Jones, 2000; Kozukue *et. al.*, 2005] และเทคนิค โวแทมเมทรี [Kachosangi *et. al.*, 2008] ในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างนั้นจะทำการสกัดด้วยตัวทำละลายก่อน ยกตัวอย่างเช่น สกัดตัวอย่างซอสพริกด้วยเอทานอล จากนั้นนำไปต้มและคนเป็นเวลา 30 นาที แล้วปล่อยให้เย็น [Batchelor and Jones, 2000] อีกผลงานวิจัยหนึ่งได้ทำการสกัดซอสพริกด้วยเอทานอลเช่นกัน จากนั้นนำไป sonicate เป็นเวลา 10 นาที แล้วคนอีก 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไป centrifuge เป็นเวลา 20 นาที [Kachosangi *et. al.*, 2008] ซึ่งวิธีการสกัดแบบแรกเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดด้วยการให้ความร้อนโดยตรง [Batchelor and Jones, 2000] ส่วนอีกวิธีหนึ่งสกัดที่อุณหภูมิห้องแต่ก็ใช้เวลานาน [Kachosangi *et. al.*, 2008] ส่วนผลงานวิจัยของ Kozukue *et. al.* (2005) ได้ใช้เมทานอลในการสกัดซอสพริก จากนั้นนำไป sonicate เป็นเวลา 20 นาที แล้ว centrifuge ที่อุณหภูมิ 1 °C เป็นเวลา 10 นาที แม้ว่าวิธีการวิเคราะห์ปริมาณด้วยเครื่องมือทางโวแทมเมทรีจัดว่าให้ผลการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว แต่ต้องผ่านขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างที่ใช้เวลานานถึง 2.5 ชั่วโมง [Kachosangi *et. al.*, 2008] ซึ่งนานกว่าการแยกและการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ HPLC และ CE อย่างไรก็ตามการใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดก็ยังมีข้อด้อยอยู่คือ ต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในปริมาณมาก อีกทั้งเอทานอลยังมีราคาแพงเมื่อเทียบกับตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดอื่น นอกจากนี้เมทานอลและเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่สามารถละลายน้ำได้และซอสพริกมีน้ำเป็นส่วนประกอบประมาณ 50 % น่าจะมีผลทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดลดลง ดังนั้นงานวิจัยก่อนหน้านี้จึงใช้เวลาในการสกัดนานหรือเพิ่มความร้อนเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด นอกจากนี้ปริมาตรของส่วนสกัดจะเป็นปริมาตรรวมของตัวทำละลายที่ละลายน้ำได้รวมกับปริมาตรของน้ำ ดังนั้นปริมาตรของส่วนสกัดจะเพิ่มขึ้นตามปริมาตรของน้ำ หากนำส่วนสกัดไปวิเคราะห์โดยตรง ความเข้มข้นของสารในส่วนสกัดจะน้อยกว่าความเป็นจริง เมื่อคำนวณเป็น

ปริมาณสารในตัวอย่างซอสพริก ค่าที่ได้จะน้อยกว่าความเป็นจริง ดังนั้นการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณ CAP และ DCAP หรือ CAPs ควรจะทำให้ถูกต้องและเป็นที่ยอมรับ

1.3 ทฤษฎี สมมุติฐาน หรือกรอบแนวคิด

คะพิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส (capillary electrophoresis, CE) เป็นเทคนิคของการแยกสารภายใต้อิทธิพลของสนามไฟฟ้าในหลอดคะพิลลารีขนาดเล็กที่บรรจุสารละลายอิเล็กโทรไลต์ (background electrolyte, BGE) ข้อดีของเทคนิค CE ที่เหนือกว่าเทคนิคไฮเพอร์ฟอแมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี (high-performance liquid chromatography, HPLC) ได้แก่ ไม่ใช้หรือใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในปริมาณน้อย ไม่เสี่ยงต่อการทำลายหรือการอุดตันของคอลัมน์ ให้ประสิทธิภาพการแยก (the number of theoretical plates, N) ที่ดีกว่า ในกรณีที่สารผ่านการตรวจวัดแล้ว เทคนิค CE สามารถไล่สารอื่นที่อยู่ในคอลัมน์ได้ภายใน 30 วินาที ในขณะที่เทคนิค HPLC ใช้เวลา 5-30 นาที ดังนั้นเทคนิค CE จึงน่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับการวิเคราะห์ CAP และ DCAP

เทคนิค CE โดยปกติจะเหมาะกับการวิเคราะห์สารที่มีประจุและละลายน้ำได้ดี แต่สำหรับสารที่สนใจในงานวิจัยนี้ ได้แก่ CAP และ DCAP นั้นเป็นสารที่ไม่มีประจุและละลายน้ำได้น้อย ดังนั้นจึงเลือกใช้เทคนิค CE แบบ MEKC และ MEEKC ซึ่งเป็นเทคนิคที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารที่ไม่มีประจุ โดย BGE ของทั้งสองเทคนิคประกอบด้วย pseudo stationary phase ที่เป็น micelle phase สำหรับ MEKC และ microemulsion phase สำหรับ MEEKC โดยที่ micelle phase เป็นสารลดแรงตึงผิวที่อยู่ในสารละลาย BGE ส่วน microemulsion phase ประกอบไปด้วยหยดน้ำมัน สารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วม กลไกการแยกสารจะขึ้นอยู่กับความแตกต่างของ partitioning ของสารระหว่าง pseudo stationary phase และ aqueous phase ซึ่งกลไกคล้าย HPLC

ในการวิเคราะห์ตัวอย่างที่เป็นพริก ส่วนสกัดจากพริก เช่น capsicum oleoresin และซอสพริก ด้วยเทคนิค MEKC หรือ MEEKC น่าจะวิเคราะห์ได้โดยไม่ต้องมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง (ยกเว้นการละลาย เจือจางและการกรอง) ซึ่งจะง่ายกว่าเทคนิค HPLC ที่มีขั้นตอน SPE ทำให้สิ้นเปลืองเวลาและค่าใช้จ่าย ส่วนในตัวอย่างที่เป็นอาหารอาจต้องมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างโดยการสกัดด้วยตัวทำละลายหรือ SPE ที่เหมาะสม

จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมาเกี่ยวกับการวิเคราะห์หาปริมาณ CAP และ DCAP ในตัวอย่างซอสพริก ใช้เวลาในการเตรียมตัวอย่างที่นาน ใช้ปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ในปริมาณมาก ราคาแพง ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้มีการพัฒนาการเตรียมตัวอย่างซอสพริกให้ง่าย สะดวก รวดเร็ว ประหยัด และให้ความถูกต้องของปริมาณวิเคราะห์ด้วยเทคนิค MEKC หรือ MEEKC ที่ได้พัฒนาขึ้น

ดังนั้นเทคนิค CE แบบ MEKC หรือ MEEKC น่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของการวิเคราะห์หาปริมาณ CAP และ DCAP ในตัวอย่างซอสพริก และอาหารรสเผ็ด ซึ่งคาดว่าตัวอย่างที่แตกต่างกัน จะมีปริมาณของสารดังกล่าวแตกต่างกันและหากมีการระบุหรือติดฉลากปริมาณของสารในตัวอย่างดังกล่าวจะเป็นประโยชน์กับผู้ผลิตอาหารและผู้บริโภค

1.4 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

พัฒนาวิธีการของคะปิลารีอิเล็กโทรโฟรีซิสสำหรับปริมาณวิเคราะห์แคปไซซินและไดไฮโดรแคปไซซินในส่วนสกัดพริกและซอสพริก

1.5 ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้แบ่งเป็น 2 ขั้นตอน

ขั้นตอนที่ 1 เป็นการพัฒนาเทคนิค CE สำหรับการแยกและวิเคราะห์ CAP และ DCAP โดยใช้ CE แบบ MEKC และ MEEKC โดยเป็นการหาภาวะของ MEKC และ MEEKC ในการแยกและวิเคราะห์สารมาตรฐานและส่วนสกัดพริก การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีการ (validation of method) การเปรียบเทียบปริมาณวิเคราะห์ของ MEKC และ HPLC

ขั้นตอนที่ 2 เป็นการศึกษาและหาวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมตัวอย่างสำหรับปริมาณวิเคราะห์ CAP และ DCAP โดยประกอบด้วยการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ (organic extraction) โดยเป็นการหาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดตัวอย่างซอสพริก

1.6 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

ได้วิธีการของคะปิลารีอิเล็กโทรโฟรีซิสสำหรับปริมาณวิเคราะห์ของ CAP และ DCAP ในส่วนสกัดพริก และตัวอย่างซอสพริก เพื่อที่จะนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการอ้างอิงปริมาณของสารทั้งสองในพริกชนิดต่างๆ และการนำไปใช้เป็นวิธีการตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของพริกได้