

บทความวิจัย

## วิธีวิเคราะห์ปริมาณสารโมโนโครไซด์-5 ในน้ำตาลหล่อฮังก้วยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงพิเศษ-แมสสเปกโตรมิเตอร์แบบคู่

มนทกานต์ เอี่ยมแก้ว\* กมลชนก ศรีไทย สุภาพิชญ์ สารีท้าว กัลยรัตน์ สายคำมี และ ภัสสร พงษ์เสวี  
กรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

\* ผู้นิพนธ์ประสานงาน โทรศัพท์ 0 2201 7419 อีเมล: montakan.ak@gmail.com DOI: 10.14416/j.kmutnb.2026.08.001

รับเมื่อ 22 มกราคม 2569 แก้ไขเมื่อ 24 เมษายน 2569 ตอบรับเมื่อ 21 พฤษภาคม 2569 เผยแพร่ออนไลน์ 11 สิงหาคม 2569

© 2026 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved.

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการพัฒนาและประยุกต์ใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงพิเศษ-แมสสเปกโตรมิเตอร์แบบคู่ (UPLC-MS/MS) เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารโมโนโครไซด์-5 ซึ่งเป็นสารให้ความหวานตามธรรมชาติที่พบในผลหล่อฮังก้วย โดยมุ่งให้ได้วิธีวิเคราะห์ที่มีความจำเพาะ แม่นยำ และให้ผลซ้ำที่เชื่อถือได้ตามแนวทาง AOAC (2019) ผลการพัฒนายืนยันว่าเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับเตรียมตัวอย่าง และระบบวสุภาคเคลื่อนที่ที่เหมาะสมคือ น้ำผสมกรดฟอสฟอริกต่อเมทานอลในอัตราส่วน 90:10 ส่งผลให้สารโมโนโครไซด์-5 มีค่ารีเทนชันไทม์ (Retention Time) เท่ากับ 3.07 นาที ช่วงความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐานมีค่าสัมประสิทธิ์การกำหนด เท่ากับ 0.9999 และช่วงการใช้งานสำหรับตัวอย่างมีค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.9995 ขีดจำกัดในการตรวจพบ (LOD) เท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และขีดจำกัดในการวัดปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ความแม่นยำมีค่าการคืนกลับในช่วง 82.87–92.12% การวิเคราะห์ความเที่ยงแบบวันเดียวกันมีค่า %RSD, 1.45–5.60 ในขณะที่การวิเคราะห์ต่างวันมีค่า %RSD, 2.20–7.37 การประเมินความใช้ได้ของวิธีด้วยผลิตภัณฑ์น้ำตาลหล่อฮังก้วยจำนวน 10 ตัวอย่าง พบว่าผลการวิเคราะห์อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ดังนั้นวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นจึงมีความน่าเชื่อถือ และสามารถวิเคราะห์ปริมาณสารโมโนโครไซด์-5 ในตัวอย่างน้ำตาลหล่อฮังก้วยได้

**คำสำคัญ:** การตรวจสอบความถูกต้องของวิธี โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงพิเศษ สารโมโนโครไซด์-5 หล่อฮังก้วย

การอ้างอิงบทความ: มนทกานต์ เอี่ยมแก้ว, กมลชนก ศรีไทย, สุภาพิชญ์ สารีท้าว, กัลยรัตน์ สายคำมี และ ภัสสร พงษ์เสวี, “วิธีวิเคราะห์ปริมาณสารโมโนโครไซด์-5 ในน้ำตาลหล่อฮังก้วยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงพิเศษ-แมสสเปกโตรมิเตอร์แบบคู่,” วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ, ปีที่ 37, ฉบับที่ 1, หน้า 1–14, ม.ค.-มี.ค. 2570. เลขที่บทความ 271-078266, doi: 10.14416/j.kmutnb.2026.08.001.



Research Article

## The Quantification of Mogroside-V in Monk Fruit Sugar Using Ultra-High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (UPLC-MS/MS)

Montakan Aimkaew\*, Kamonchanok Srithai, Supapich Sareethao, Kanyarat Saikammee and Passorn Pongsaeve

Department of Science Service, Ministry of Higher Education, Science, Research and Innovation, Bangkok, Thailand

\*Corresponding Author, Tel. 0 2201 7419, E-mail: montakan.ak@gmail.com DOI: 10.14416/j.kmutnb.2026.08.001

Received 22 January 2026; Revised 24 April 2026; Accepted 21 May 2026; Published online: 11 August 2026

© 2026 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved.

### Abstract

The objective of this research was to develop and apply Ultra-High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (UPLC-MS/MS) for the quantitative analysis of mogroside-V, a natural sweetener found in monk fruit, in order to establish a specific, accurate, and reproducible analytical method in compliance with method validation guidelines. The analytical method was optimized for monk fruit sugar samples using 20% methanol as a suitable solvent, while the optimal mobile phase ratio for UPLC-MS/MS was 90:10 (formic acid solution to methanol). The retention time of mogroside-V was 3.07 minutes. Linearity testing demonstrated a coefficient of determination ( $R^2$ ) of 0.9999, while the working range for the samples showed an  $R^2$  value of 0.9995. The Limit of Detection (LOD) and Limit of Quantitation (LOQ) were determined to be 10 mg/kg and 30 mg/kg, respectively. Accuracy values, expressed as recovery percentages, ranged from 82.87% to 92.12%. Intra-day precision (%RSDr) ranged from 1.45% to 5.60%, while inter-day precision (%RSDr) ranged from 2.20% to 7.37%. Method applicability was further confirmed by analyzing ten commercially available monk fruit sugar samples, and the analytical results were found to be within acceptable criteria. The validation results of ten monk fruit sugar samples found that the analytical results met the acceptance criteria. Therefore, the developed UPLC-MS/MS method is reliable and suitable for the quantitative determination of mogroside-V in monk fruit sugar samples.

**Keywords:** Method Validation, Ultra-High Performance Liquid Chromatography, Mogroside-V, Monk Fruit

Please cite this article as: M. Aimkaew, K. Srithai, S. Sareethao, K. Saikammee, and P. Pongsaeve, "The quantification of mogroside-v in monk fruit sugar using ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS)," *The Journal of KMUTNB*, vol. 37, no. 1, pp. 1-14, Jan.-Mar. 2027 (in Thai), Art. no. 271-078266, doi: 10.14416/j.kmutnb.2026.08.001.

## 1. บทนำ

พืชทางเลือกไทยมีคุณลักษณะหรืออัตลักษณ์โดดเด่นเฉพาะตัว โดยเฉพาะคุณลักษณะด้านกลิ่นรสรสชาติ สารให้ประโยชน์เชิงหน้าที่ที่มีสรรพคุณทางยา และเป็นอาหารสุขภาพ เช่น ชিং หล่อฮังก้วย ชาเขียวว่านหางจระเข้ และเห็ด หล่อฮังก้วยเป็นพืชที่นำมาใช้ประโยชน์เป็นสมุนไพรอย่างกว้างขวาง มีฤทธิ์เย็น บรรเทาอาการไอ เจ็บคอ ขับเสมหะ สามารถรักษาอาการอักเสบต่าง ๆ และบำรุงหัวใจ มีสารอาหารที่ให้ประโยชน์เชิงหน้าที่ ได้แก่ สารโมโกรไซด์-5 (Mogroside-V) เป็นสารในกลุ่มไตรเทอร์พีน ไกลโคไซด์ (Triterpene Glycosides) มีโครงสร้างหลักทางเคมีคือ โมโกร (Mogrol) และประกอบด้วยหน่วยของกลูโคส (Glucose Units) หรือไกลโคไซด์ (Glycoside) เป็นสารให้ความหวานที่ไม่มีแคลอรีซึ่งโมโกรไซด์-5 เป็นสารให้ความหวานหลักในหล่อฮังก้วยโดยมีปริมาณสูงสุดถึงร้อยละ 0.5 ของน้ำหนักผลแห้ง และให้ความหวานกว่าน้ำตาลทรายประมาณหนึ่งร้อยถึงสี่ร้อยเท่า ปัจจุบันน้ำตาลหล่อฮังก้วยถือเป็นหนึ่งในตัวเลือกสารทดแทนความหวานที่ได้จากธรรมชาติสำหรับบริโภค เต็มแต่งในอาหารหรือเครื่องดื่ม ได้รับการยอมรับจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาสหรัฐอเมริกา (FDA) ใน พ.ศ. 2553 ว่าปลอดภัยเหมาะสำหรับผู้ป่วยเบาหวานที่ต้องการควบคุมระดับน้ำตาล ไม่ส่งผลกระทบต่ออินซูลินรวมทั้งผู้ที่รักสุขภาพต้องการควบคุมน้ำหนักหรือจำกัดปริมาณการบริโภคน้ำตาลในชีวิตประจำวัน [1]–[4] ด้วยความนิยมน้ำตาลหล่อฮังก้วยมาใช้ในการอาหารมากขึ้น และผู้ประกอบการนิยมผลิตผงหล่อฮังก้วยมากขึ้นจึงจำเป็นต้องมีผลการตรวจสอบทางวิทยาศาสตร์ถึงปริมาณสารให้ประโยชน์เชิงหน้าที่

ในหล่อฮังก้วย เพื่อนำไปสู่มาตรฐานของหล่อฮังก้วย เช่นเดียวกับพืชเศรษฐกิจที่มีสรรพคุณทางยาและเป็นอาหารสุขภาพ การนำวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเข้ามาช่วยในการวิจัยพื้นฐานที่เกี่ยวกับกลิ่นรสรสชาติ และสารให้ประโยชน์เชิงหน้าที่ของอาหารไทยมีความสำคัญในการขับเคลื่อนให้เกิดนวัตกรรมอาหารอย่างต่อเนื่องและยั่งยืนอันเป็นผลดีต่ออุตสาหกรรมอาหารไทยในภาพรวมโดยกลิ่นรส รสชาติ และสารให้ประโยชน์เชิงหน้าที่ของอาหารที่ต่างกันมาจากวัตถุดิบแหล่งที่มา และกระบวนการแปรรูปอาหารที่ต่างกัน [5] การใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์ขั้นสูงทำให้สามารถระบุชนิด และปริมาณสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบกลิ่นรส รสชาติ และสารให้ประโยชน์เชิงหน้าที่ที่มีความจำเพาะเจาะจงสูง รวดเร็ว และมีความน่าเชื่อถือ เช่น การวิเคราะห์สารให้กลิ่นด้วยเครื่อง Gas Chromatography– Massspectrometry (GC–MS) [6] การวิเคราะห์รสชาติด้วยเครื่อง Taste Sensing System (TSS) [7] การวิเคราะห์สารองค์ประกอบรสชาติ และสารให้ประโยชน์เชิงหน้าที่ด้วยเครื่อง High–Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (HPLC–MS/MS) [8] การวิเคราะห์สารให้ความหวานด้วยเครื่อง LC–MS/MS [9]

งานวิจัยนี้มีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ตรวจหาอัตลักษณ์สารให้ประโยชน์เชิงหน้าที่หรือสารออกฤทธิ์ที่ให้กลิ่นรสของอาหารจากพืชทางเลือกหล่อฮังก้วยโดยวิเคราะห์ปริมาณสารโมโกรไซด์-5 ด้วย UPLC–MS/MS ซึ่งดัดแปลงวิธีการเตรียมตัวอย่างและสภาวะสำหรับการวิเคราะห์ตามงานวิจัย [9]–[12] โดยเทคนิค UPLC–MS/MS เป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพของการแยกสารสูงและใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้น

มีความไวในการตรวจวัดสูงกว่า (Sensitivity) เทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวประสิทธิภาพสูง (HPLC) [13] และทำการเตรียมตัวอย่างน้ำตาลหล่อแข็งด้วยตัวทำละลายเมทานอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และศึกษาสภาวะการสกัดปริมาณสารโมโนโครไซด์-5 ที่เหมาะสมรวมถึงตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ เพื่อให้ได้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง แม่นยำ มีความน่าเชื่อถือและเป็นวิธีมาตรฐานที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

## 2. วิธีการทดลอง

### 2.1 ตัวอย่างน้ำตาล

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์น้ำตาลหล่อแข็งก๊วยที่จำหน่ายในท้องตลาด จำนวน 10 ตัวอย่าง และน้ำตาลทรายแดง ตรามิตรผล

### 2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (Ultra-High Performance Liquid Chromatography; UPLC) รุ่น Acquity UPLC H-Class system ยี่ห้อ Waters ประเทศสหรัฐอเมริกา ใช้คอลัมน์สำหรับ UPLC-TQD รุ่น ACQUITY® UPLC BEH C18 ขนาด  $2.1 \times 50$  มิลลิเมตร บรรจุด้วย C18 ขนาดอนุภาค 1.7 ไมโครเมตร ยี่ห้อ Waters ประเทศสหรัฐอเมริกา เครื่องทำน้ำปราศจากไอออน (Deionizer) รุ่น Smart 2 pure 6 UV ยี่ห้อ Thermo Scientific ประเทศสหรัฐอเมริกา เครื่องชั่งไฟฟ้า (Electronic Analytical Balance) รุ่น Quintix224-1S ยี่ห้อ Sartorius ประเทศเยอรมนี เครื่องอัลตราโซนิก (Ultrasonic Bath) รุ่น XUB ยี่ห้อ Grant Instruments ประเทศสหราชอาณาจักร

### 2.3 สารเคมี

สารมาตรฐานโมโนโครไซด์-5 ชั้นคุณภาพวิเคราะห์

HPLC ยี่ห้อ PhytoLab ประเทศเยอรมนี กรดฟอร์มิก ชั้นคุณภาพวิเคราะห์ AR ประเทศสหรัฐอเมริกา เมทานอล ชั้นคุณภาพวิเคราะห์ HPLC ยี่ห้อ Merck ประเทศสหรัฐอเมริกา น้ำปราศจากไอออน (Deionized Water,  $H_2O$ ) มีความต้านทานไฟฟ้าไม่น้อยกว่า  $18.2 M\Omega \cdot cm$

### 2.4 การเตรียมสารมาตรฐาน

ชั่งสารมาตรฐาน  $0.0100 \pm 0.0010$  กรัม บันทึกลงน้ำหนักที่แน่นอน นำมาละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอล (ความเข้มข้นร้อยละ 20 50 และ 80) ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร จะให้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นปิเปตต์สารละลายมาตรฐานโมโนโครไซด์-5 ที่ได้แล้วเจือจางด้วยตัวทำละลายเมทานอล (ความเข้มข้นร้อยละ 20 50 และ 80) ในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร จำนวน 7 ความเข้มข้น โดยให้อยู่ในช่วงความเข้มข้น 100–5,000 ไมโครกรัมต่อลิตร

### 2.5 การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมแปลงค์ของตัวอย่างน้ำตาลโดยชั่งตัวอย่างน้ำตาลทรายแดง ตรามิตรผล  $0.2500 \pm 0.0010$  กรัม บันทึกลงน้ำหนักที่แน่นอน ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมตัวทำละลายเมทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปิดขวดด้วยอลูมิเนียมฟลอยด์ และพันด้วยพาราฟิล์ม นำไปสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เสร็จแล้วลงในขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายเมทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 20 กรองสารละลายผ่านเมมเบรนชนิดไนลอน ขนาด 0.22 ไมโครเมตร และเตรียมตัวอย่างน้ำตาล

โดยชั่งตัวอย่างน้ำตาลหล่อฮังก้วย  $0.2500 \pm 0.0005$  กรัม บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมตัวทำละลายเมทานอล (ความเข้มข้นร้อยละ 20 50 และ 80) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปิดขวดด้วยอลูมิเนียมฟลอยด์ และพันด้วยพาราฟิล์ม นำไปสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เติมน้ำตาลหล่อฮังก้วยลงในขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายเมทานอล (ความเข้มข้นร้อยละ 20 50 และ 80) กรองสารละลายผ่านเมมเบรนชนิดไนลอน ขนาด 0.22 ไมโครเมตร [10]

## 2.6 วิธีดำเนินงาน

2.6.1 การศึกษาประสิทธิภาพของตัวทำละลาย ในการเตรียมสารมาตรฐาน และตัวอย่างน้ำตาลหล่อฮังก้วยโดยใช้เมทานอลที่มีความเข้มข้นร้อยละ 20 50 และ 80 เปรียบเทียบการละลายของสารมาตรฐาน โมโนโครไซด์-5 และน้ำตาลหล่อฮังก้วย โดยการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค UPLC-MS/MS มีสถานะของการทดสอบ ดังแสดงในตารางที่ 1 [11]–[12]

**ตารางที่ 1** สถานะสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสาร โมโนโครไซด์-5 ด้วยเทคนิค UPLC-MS/MS

| สภาวะ            | รายละเอียด                                                         |
|------------------|--------------------------------------------------------------------|
| เครื่องตรวจจับ   | Triple Quadrupoles Detector                                        |
| คอลัมน์          | UPLC-TQD รุ่น ACQUITY® UPLC BEH C18 ขนาด $2.1 \times 50$ มิลลิเมตร |
| อัตราการไหล      | 0.3 มิลลิลิตรต่อนาที                                               |
| เวลาที่ใช้ฉีดสาร | 8 นาที                                                             |
| ปริมาตรตัวอย่าง  | 5 ไมโครลิตร                                                        |
| วัฏภาคเคลื่อนที่ | A : น้ำผสมกรดฟอร์มิกร้อยละ 0.1<br>B : เมทานอล                      |
| อุณหภูมิคอลัมน์  | 40 องศาเซลเซียส                                                    |

**ตารางที่ 1** สถานะสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสาร โมโนโครไซด์-5 ด้วยเทคนิค UPLC-MS/MS (ต่อ)

| สภาวะ                   | รายละเอียด                   |
|-------------------------|------------------------------|
| การไอออไนซ์             | โหมดลบ (Negative Ionization) |
| มวลโมเลกุลของสาร        | $1285.7 > 1123.73$           |
| โมโนโครไซด์-5 ( $m/z$ ) | $1285.7 > 961.65$            |
| วัฏภาคเคลื่อนที่        |                              |
| 0.0–2.5 นาที            | A เท่ากับ 90 : B เท่ากับ 10  |
| 2.5–3.7 นาที            | A เท่ากับ 10 : B เท่ากับ 90  |
| 3.7–5.0 นาที            | A เท่ากับ 90 : B เท่ากับ 10  |
| 5.0–8.0 นาที            | A เท่ากับ 90 : B เท่ากับ 10  |

### 2.6.2 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

#### 1) ศึกษาความจำเพาะเจาะจงของวิธี (Specificity)

วิเคราะห์สารละลายมาตรฐานโมโนโครไซด์-5 ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยเครื่อง UPLC-MS/MS เพื่อตรวจสอบการแยกของสารมาตรฐาน โมโนโครไซด์-5 โดยต้องมีพีคแยกจากกันอย่างชัดเจน

#### 2) ศึกษาความเป็นเส้นตรง (Linearity)

เตรียมสารมาตรฐานโมโนโครไซด์-5 ที่ความเข้มข้น 100 500 1,000 2,000 3,000 4,000 และ 5,000 ไมโครกรัมต่อลิตร ทดสอบความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ( $n=3$ ) แล้วพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโมโนโครไซด์-5 (แกน x) กับพื้นที่ใต้กราฟของสารละลายมาตรฐานโมโนโครไซด์-5 (แกน y) จากค่าสัมประสิทธิ์การกำหนด (Coefficient of Determination;  $R^2$ ) โดยเกณฑ์การยอมรับได้อยู่ในช่วง 0.990 [14]

#### 3) ศึกษาช่วงการใช้งาน (Working Range)

เตรียมสารมาตรฐานโมโนโครไซด์-5 ที่เติมลงใน แบลงค์ของตัวอย่างน้ำตาลที่ความเข้มข้น 7 ระดับคือ

40 200 400 800 1,200 1,600 และ 2,000 มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม ทดสอบความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ (n=3) พิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ สารละลายมาตรฐานโมโรไซด์-5 (แกน x) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโมโรไซด์-5 ที่เติม ในตัวอย่าง (แกน y) จากค่าสัมประสิทธิ์การกำหนด โดยเกณฑ์การยอมรับได้อยู่ในช่วง 0.990 [14]

4) การทดสอบขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) [15]–[16]

วัดแปลงค์ของตัวอย่างน้ำตาล 10 ซ้ำ (n=10) และ แปลงค์ของตัวอย่างน้ำตาลที่เติมสารมาตรฐาน โมโรไซด์-5 (Spiked Sample Blank) ที่ระดับความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 10 ซ้ำ (n=10) คำนวณส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย ( $S'_0$ ) เพื่อหาขีดจำกัดในการตรวจพบ และขีดจำกัดในการวัด ปริมาณ ดังสมการที่ (1)

$$\begin{aligned} LOD &= 3 \times S'_0 \\ LOQ &= 10 \times S'_0 \end{aligned} \quad (1)$$

เมื่อ  $S'_0$  คือ  $S_0 \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{n}}$

$S'_0$  คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

$S_0$  คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

$n$  คือ จำนวนของการวัดตัวอย่างซ้ำ

5) การยืนยันค่าขีดจำกัดในการวัดปริมาณ

วัดแปลงค์ของตัวอย่างน้ำตาลที่เติมสารละลาย มาตรฐานโมโรไซด์-5 ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกับค่า ขีดจำกัดในการวัดปริมาณ จำนวน 10 ซ้ำ (n=10) พิจารณาความแม่นยำ (Accuracy) โดยประเมินจากค่า ร้อยละการคืนกลับ (% Recovery) และความเที่ยง

(Precision) โดยประเมินจากการทวนซ้ำ ที่แสดง ด้วยค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative Standard Deviation; %RSD,) และค่า HORRAT (Horwitz's Ratio) ที่คำนวณจากอัตราส่วน ระหว่างค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ กับค่า Predicted Relative Standard Deviation

6) การทดสอบความแม่นยำ

วัดแปลงค์ของตัวอย่างน้ำตาลที่เติมสารละลาย มาตรฐานโมโรไซด์-5 ที่ระดับความเข้มข้น 3 ระดับ [17] คือ 40 800 และ 2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ทดสอบความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ (n=10) ประเมินความแม่นยำจากค่าร้อยละการคืนกลับ

7) การทดสอบความเที่ยง

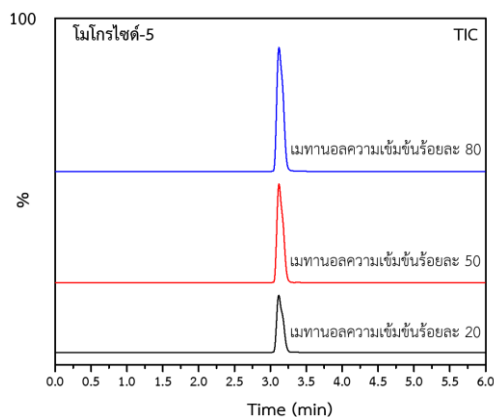
วัดแปลงค์ของตัวอย่างน้ำตาลที่เติมสารละลาย มาตรฐานโมโรไซด์-5 ที่ระดับความเข้มข้น 3 ระดับ ได้แก่ ต่ำ กลาง และสูง (ความเข้มข้น 40 800 และ 2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ตามลำดับ ทดสอบความเข้มข้น ละ 10 ซ้ำ (n=10) ทดสอบความเที่ยงในวันเดียวกัน (Intra-day Precision) และต่างวัน (Inter-day Precision) โดยเปลี่ยนวันที่ทำการทดสอบ เป็นเวลา 3 วัน ประเมินความเที่ยงจากการทวนซ้ำ ที่แสดงด้วยค่า ร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ไม่เกิน ร้อยละ 7.3 และค่า HORRAT ที่มีค่าน้อยกว่า 2 [18]

8) การทดสอบความใช้ได้ของวิธีโดยการสุ่มเก็บ ตัวอย่างน้ำตาลหล่อฮังถั่วที่จำหน่ายตามท้องตลาด จำนวน 10 ตัวอย่าง แล้วนำมาทดสอบตามวิธีการทดสอบ ปริมาณสารโมโรไซด์-5 ในน้ำตาลหล่อฮังถั่ว โดย ทดสอบจำนวน 3 ซ้ำ

### 3. ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

#### 3.1 ผลการศึกษาตัวทำละลายในการเตรียมสารมาตรฐานโมโกรไซด์-5 และตัวอย่างน้ำตาลหล่อฮังก้วย

จากการศึกษาการละลายสารมาตรฐานโมโกรไซด์-5 ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยใช้ตัวทำละลายเมทานอลที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน ได้แก่ ความเข้มข้นร้อยละ 20 50 และ 80 ต่อประสิทธิภาพการละลายของสารมาตรฐานโมโกรไซด์-5 โดยพิจารณาพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค UPLC-MS/MS พบว่าโครมาโทแกรมของตัวทำละลายเมทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 80 มีพื้นที่ใต้กราฟมากกว่าความเข้มข้นร้อยละ 20 และ 50 (รูปที่ 1) จึงเลือกใช้ตัวทำละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 ในการเตรียมสารมาตรฐานโมโกรไซด์-5 เพื่อวิเคราะห์ขั้นตอนต่อไป ในขณะที่การศึกษาการละลายตัวอย่างน้ำตาลหล่อฮังก้วยโดยใช้ตัวทำละลายเมทานอลที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน ได้แก่ ความเข้มข้นร้อยละ 20 50 และ 80 ต่อประสิทธิภาพการละลายของตัวอย่างน้ำตาลหล่อฮังก้วยพบว่าเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 สามารถละลายตัวอย่างได้อย่างสมบูรณ์ โดยสารละลายที่ได้มีลักษณะใส ไม่มีตะกอน (รูปที่ 2) ในขณะที่เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 สามารถละลายตัวอย่างน้ำตาลหล่อฮังก้วยได้ดีแต่สารละลายที่ได้มีลักษณะขุ่น (รูปที่ 3) ในขณะที่เมทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 80 ไม่สามารถละลายน้ำตาลได้สมบูรณ์ สารละลายที่ได้ใส แต่พบการตกตะกอนของก้อนน้ำตาล (รูปที่ 4) ดังนั้นเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 จึงเหมาะสมสำหรับใช้เป็นตัวทำละลายในการเตรียมตัวอย่าง น้ำตาลหล่อฮังก้วยเพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารโมโกรไซด์-5 ด้วยเทคนิค UPLC-MS/MS



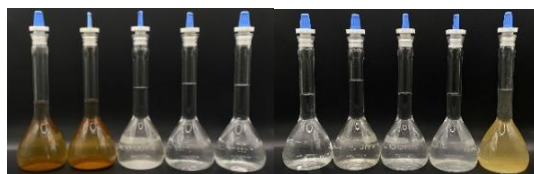
รูปที่ 1 โครมาโทแกรมสารมาตรฐานโมโกรไซด์-5 ที่ใช้ตัวทำละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 50 และ 80



รูปที่ 2 ตัวอย่างน้ำตาลหล่อฮังก้วยที่ละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 20

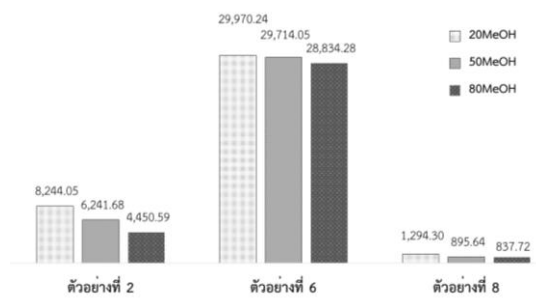


รูปที่ 3 ตัวอย่างน้ำตาลหล่อฮังก้วยที่ละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 50



รูปที่ 4 ตัวอย่างน้ำตาลหล่อฮังก้วยที่ละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 80

สุ่มตัวอย่างน้ำตาลหล่อฮังก้วย 3 ชนิด คือ ตัวอย่างที่เป็นผงหล่อฮังก้วยร้อยละ 100 ตัวอย่างที่เป็นผงละเอียดได้จากการสกัดผลหล่อฮังก้วย และตัวอย่างที่เป็นเกล็ดละเอียดมาละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 20 50 และ 80 นำไปทดสอบหาปริมาณสารโมโนโครไซด์-5 ด้วยเทคนิค UPLC-MS/MS พบว่าตัวอย่างที่ละลายด้วยเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 ให้สัญญาณโครมาโทแกรมสูงสุด โดยคำนวณออกมาเป็นปริมาณสารโมโนโครไซด์-5 ดังแสดงในรูปที่ 5



รูปที่ 5 ปริมาณโมโนโครไซด์-5 ในตัวอย่างน้ำตาลหล่อฮังก้วยที่ละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

### 3.2 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

#### 3.2.1 การตรวจสอบความจำเพาะเจาะจงของวิธี

จากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานโมโนโครไซด์-5 ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับแปลงค์ของตัวอย่าง และตัวอย่าง ด้วยเครื่อง UPLC-MS/MS ได้โครมาโทแกรมแสดงดังรูปที่ 6 โดยมีคาร์เท็นชันไทม์ (Retention Time) เท่ากับ 3.07 นาที ทั้งนี้ การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค UPLC-MS/MS นั้นจะถูกทำให้เป็นไอออนบวกและลบ โดย Electrospray Ionization (ESI) ไอออนที่ได้จะถูกวิเคราะห์ด้วยโหมด Multiple Reaction Monitoring (MRM) โดยมีสภาวะของ Mass Spectrometer ดังตารางที่ 1 ซึ่งแสดงให้เห็นความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์ปราศจากเมทริกซ์รบกวน

#### 3.2.2 ผลการศึกษาความเป็นเส้นตรง

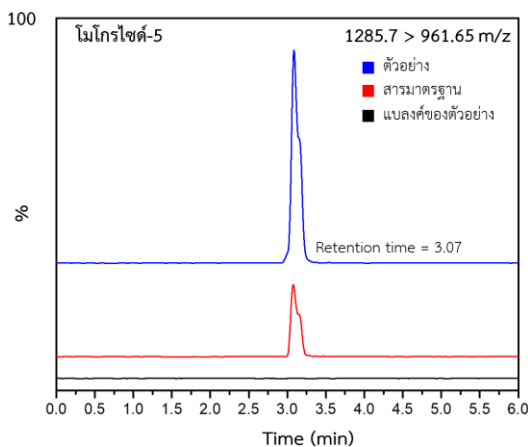
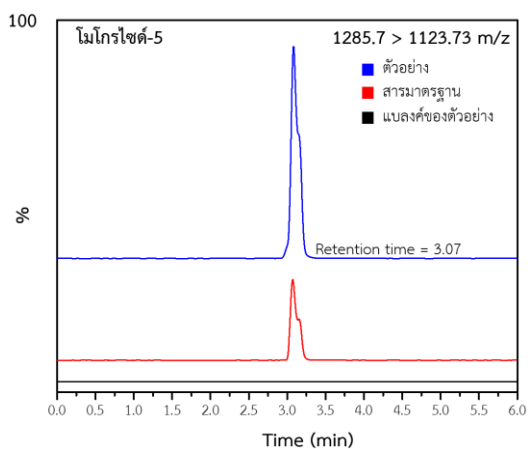
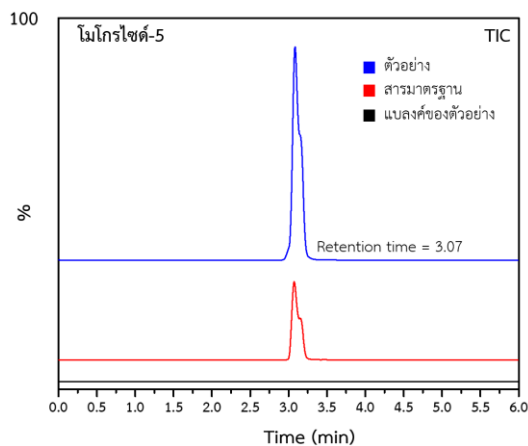
ทดสอบความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐานโมโนโครไซด์-5 ที่ความเข้มข้น 7 ระดับคือ 100 500 1,000 2,000 3,000 4,000 และ 5,000 ไมโครกรัมต่อลิตร ทดสอบความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ พบว่าให้กราฟเส้นตรงสมการ  $y = 3.0359x + 423.93$  มีค่าสัมประสิทธิ์การกำหนด เท่ากับ 0.9999 แสดงดังรูปที่ 7 ในขณะที่การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC-MS/MS ได้ค่าสัมประสิทธิ์การกำหนด เท่ากับ 0.9967 [19]

#### 3.2.3 ผลการศึกษาช่วงของการใช้งาน

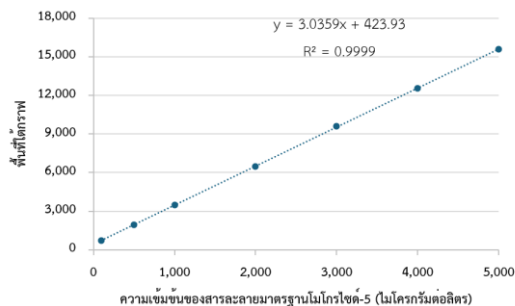
เตรียมแปลงค์ของตัวอย่างน้ำตาลโดยเติมสารมาตรฐานโมโนโครไซด์-5 ที่ความเข้มข้น 7 ระดับคือ 40 200 400 800 1,200 1,600 และ 2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทดสอบความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ (n=3) ให้กราฟเส้นตรงสมการ  $y = 1.0154x - 14.986$  มีค่าสัมประสิทธิ์การกำหนด เท่ากับ 0.9995 แสดงดังรูปที่ 8

#### 3.2.4 ผลการศึกษาขีดจำกัดในการตรวจพบและขีดจำกัดในการวัดปริมาณ

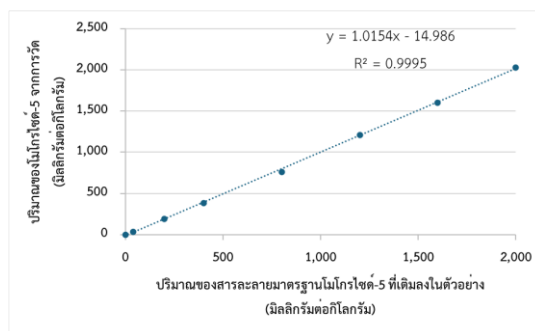
จากการเตรียมแปลงค์ของตัวอย่างน้ำตาลจำนวน 10 ซ้ำ (n=10) และแปลงค์ของตัวอย่างน้ำตาลที่เติมสารมาตรฐานโมโนโครไซด์-5 ที่ระดับความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 10 ซ้ำ (n=10) คำนวณค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย เท่ากับ 2.40 คำนวณขีดจำกัดในการตรวจพบ และขีดจำกัดในการวัดปริมาณ ตามสมการที่ (1) พบว่าขีดจำกัดในการตรวจพบ และขีดจำกัดในการวัดปริมาณ เท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ



รูปที่ 6 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานเปรียบเทียบกับ  
กับแบลคซ์ของตัวอย่าง และตัวอย่าง



รูปที่ 7 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นของสารละลาย  
มาตรฐานโมโกรไซด์-5 กับพื้นที่ใต้กราฟ



รูปที่ 8 กราฟแสดงช่วงการใช้งานของโมโกรไซด์-5  
ในแบลคซ์ของตัวอย่างน้ำตาล

เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาชี้แจงจำกัดในการตรวจพบ  
ที่ได้จากการวิเคราะห์สารโมโกรไซด์-5 ในผลิตภัณฑ์  
หล่อฮังก้วยด้วยเทคนิค HPLC และ HPLC-UV พบว่า  
การใช้เทคนิค UPLC-MS/MS ให้ชี้แจงจำกัดในการตรวจพบ  
ต่ำกว่า (มิลลิกรัมต่อลิตร) เนื่องจากมีประสิทธิภาพของ  
การแยกสารสูงและใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้น มีความไว  
ในการตรวจวัดสูงกว่า [17]–[20]

### 3.2.5 ผลการศึกษาการยืนยันค่าชี้แจงจำกัดในการ วัดปริมาณ

จากการเตรียมแบลคซ์ของตัวอย่างน้ำตาลที่เติม  
สารมาตรฐานโมโกรไซด์-5 ระดับความเข้มข้น 30

มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 10 ซ้ำ ( $n=10$ ) คำนวณค่าร้อยละการคืนกลับ ร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ และค่า HORRAT พบว่าแปลงค์ของตัวอย่างน้ำตาลที่เติมสารละลายมาตรฐานโมโกรไซด์-5 มีค่าร้อยละการคืนกลับ อยู่ในช่วง 84.61–106.28 มีค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ เท่ากับ 8.18 และค่า HORRAT เท่ากับ 1.28 อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ตามข้อกำหนด AOAC [18]

3.2.6 ผลการศึกษาการทดสอบความแม่นยำ จากการเตรียมแปลงค์ของตัวอย่างน้ำตาลที่เติมสารมาตรฐานโมโกรไซด์-5 ที่ 3 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ ต่ำ กลาง และสูง (ความเข้มข้น 40 800 และ 2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ตามลำดับ ทดสอบความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ ( $n=10$ ) พบว่ามีค่าร้อยละการคืนกลับ อยู่ในช่วง 82.87–92.12 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ตามข้อกำหนด AOAC Guidelines for Single Laboratory, Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals [18] แสดงดังตารางที่ 2 ทั้งนี้ ค่าร้อยละการคืนกลับที่ได้มีค่าต่ำกว่า 100 อาจเนื่องมาจากชนิดของเมทริกซ์ วิธีการเตรียมตัวอย่าง หรือความเข้มข้นของสารวิเคราะห์ [21]

### 3.2.7 ผลการศึกษาการทดสอบความเที่ยง

1) การทดสอบความเที่ยงจากการวิเคราะห์วันเดียวกัน จากการเตรียมแปลงค์ของตัวอย่างน้ำตาลที่เติมสารมาตรฐานโมโกรไซด์-5 ที่ 3 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ ต่ำ กลาง และสูง (ความเข้มข้น 40 800 และ 2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ตามลำดับ ทดสอบความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ ( $n=10$ ) แล้วคำนวณค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ และค่า HORRAT จากผลการทดสอบในวันเดียวกัน ได้ค่าร้อยละของส่วน

เบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ เท่ากับ 5.60 2.79 และ 1.45 ตามลำดับ และค่า HORRAT เท่ากับ 0.89 0.70 และ 0.42 ตามลำดับ ซึ่งผลการทดสอบมีค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ และค่า HORRAT  $\leq 2$  อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ตามข้อกำหนด AOAC [18] แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 2 ค่าร้อยละการคืนกลับของวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารโมโกรไซด์-5 ในแปลงค์ของตัวอย่างน้ำตาล

| ความเข้มข้นของสารมาตรฐานโมโกรไซด์-5 (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) | ร้อยละการคืนกลับ (%) | %RSD <sub>r</sub> |
|------------------------------------------------------------|----------------------|-------------------|
| 40                                                         | 86.91 $\pm$ 4.86     | 5.60              |
| 800                                                        | 82.87 $\pm$ 2.31     | 2.79              |
| 2,000                                                      | 92.12 $\pm$ 1.34     | 1.45              |

ตารางที่ 3 การทดสอบความเที่ยงจากการวิเคราะห์วันเดียวกันของสารมาตรฐานโมโกรไซด์-5 ในแปลงค์ของตัวอย่างน้ำตาล

| สารมาตรฐานโมโกรไซด์-5 (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) | การทดสอบความเที่ยงจากการวิเคราะห์วันเดียวกัน ( $n = 10$ ) |        |
|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|--------|
|                                              | %RSD <sub>r</sub>                                         | HORRAT |
| 40                                           | 5.60                                                      | 0.89   |
| 800                                          | 2.79                                                      | 0.70   |
| 2,000                                        | 1.45                                                      | 0.42   |

2) การทดสอบความเที่ยงจากการวิเคราะห์ต่างวัน จากการเตรียมแปลงค์ของตัวอย่างน้ำตาลที่เติมสารมาตรฐานโมโกรไซด์-5 ที่ 3 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ ต่ำ กลาง และสูง (ความเข้มข้น 40 800 และ

2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ตามลำดับ ทดสอบความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ (n=10) แล้วคำนวณค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ และค่า HORRAT จากผลการทดสอบวิเคราะห์ต่างวัน ได้ค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ เท่ากับ 7.37 6.83 และ 2.20 ค่า HORRAT เท่ากับ 1.20 1.74 และ 0.65 ซึ่งผลการทดสอบมีค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ และค่า HORRAT  $\leq 2$  อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ตามข้อกำหนด AOAC [18] แสดงดังตารางที่ 4

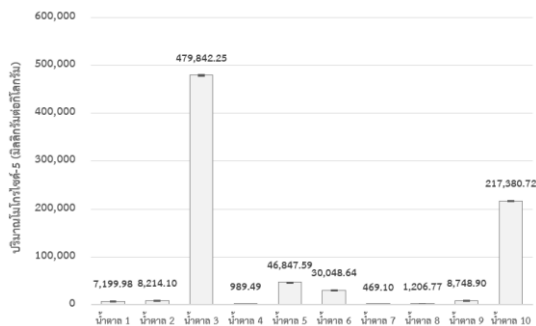
**ตารางที่ 4** การทดสอบความเที่ยงจากการวิเคราะห์ต่างวัน ของสารมาตรฐานโมโนโครไซด์-5 ในแปลงค์ของตัวอย่างน้ำตาล

| สารมาตรฐานโมโนโครไซด์-5<br>(มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) | การทดสอบความเที่ยง<br>จากการวิเคราะห์ต่างวัน<br>(n = 30) |        |
|---------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|--------|
|                                                   | %RSD <sub>r</sub>                                        | HORRAT |
| 40                                                | 7.37                                                     | 1.20   |
| 800                                               | 6.83                                                     | 1.74   |
| 2,000                                             | 2.20                                                     | 0.65   |

3.2.8 การทดสอบความใช้ได้ของวิธีโดยการสุ่มเก็บตัวอย่างที่จำหน่ายตามท้องตลาด

ทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบโดยการสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำตาลหล่อฮังก้วยที่วางจำหน่ายตามท้องตลาดจำนวน 10 ตัวอย่าง นำมาทดสอบความใช้ได้ของวิธีพบว่าตัวอย่างน้ำตาลหล่อฮังก้วยมีปริมาณสารโมโนโครไซด์-5 อยู่ในช่วง 469.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ถึง 479,842.25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แสดงดังรูปที่ 9

เมื่อพิจารณาปริมาณสารโมโนโครไซด์-5 ที่พบในตัวอย่างน้ำตาลหล่อฮังก้วยทั้ง 10 ตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างที่ได้จากการสกัดผลหล่อฮังก้วยแล้วนำไปทำ



**รูปที่ 9** ปริมาณสารโมโนโครไซด์-5 ในตัวอย่างน้ำตาลหล่อฮังก้วยที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด

แห้งจะมีปริมาณสารเท่ากับ 30,048.64–479,842.64 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในขณะที่ตัวอย่างที่มีลักษณะเหมือนน้ำตาลทรายที่ผสมสารให้ความหวานชนิดอิริทริทอล (Erythritol) มีปริมาณสารเท่ากับ 469.10–8,748.90 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และตัวอย่างที่ได้จากผงหล่อฮังก้วยร้อยละ 100 มีปริมาณสารเท่ากับ 7,199.98–8,214.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แสดงให้เห็นว่าสูตรและกรรมวิธีการผลิตรวมถึงความเข้มข้นมีผลต่อปริมาณสารโมโนโครไซด์-5 ที่พบในตัวอย่างน้ำตาลหล่อฮังก้วย

#### 4. สรุปผลการทดลอง

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารโมโนโครไซด์-5 ในน้ำตาลหล่อฮังก้วยด้วยเทคนิค UPLC-MS/MS พบว่าตัวทำละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 สามารถละลายตัวอย่างน้ำตาลหล่อฮังก้วยได้อย่างสมบูรณ์ ได้สารละลายใส ไม่มีตะกอน จึงเหมาะสมสำหรับใช้เป็นตัวทำละลายในการเตรียมตัวอย่างน้ำตาลหล่อฮังก้วย สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารโมโนโครไซด์-5 ด้วยเทคนิค UPLC-MS/MS สารละลายมาตรฐานโมโนโครไซด์-5 มีคาร์เท็นซินโทมเท่ากับ 3.07 นาที



ช่วงความเป็นเส้นตรงมีค่าสัมประสิทธิ์การกำหนดเท่ากับ 0.9999 ช่วงการใช้งานมีค่าสัมประสิทธิ์การกำหนด เท่ากับ 0.9995 ชีตจำกัดในการตรวจพบ เท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ชีตจำกัดในการวัด ปริมาณ เท่ากับ 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ความแม่นยำ มีค่าร้อยละการคืนกลับอยู่ในช่วง 82.87–92.12 ความเที่ยง จากการวิเคราะห์วันเดียวกัน มีค่าร้อยละของส่วน เบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ อยู่ในช่วง 1.45–5.60 และการวิเคราะห์ต่างวัน มีค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐานสัมพัทธ์ อยู่ในช่วง 2.20–7.37 ซึ่งผลวิเคราะห์ เป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐาน Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods, 2014 ทดสอบความใช้ได้ของวิธีในตัวอย่างน้ำตาลหล่อฮั้งก้วย ที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด จำนวน 10 ตัวอย่าง พบว่า ตัวอย่างน้ำตาลหล่อฮั้งก้วยมีปริมาณสารโมโนโครไซด์-5 อยู่ในช่วง 469.10–479,842.25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม วิธีที่พัฒนานี้มีความเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์เชิง ปริมาณสารโมโนโครไซด์-5 ในผลิตภัณฑ์หล่อฮั้งก้วย และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในงานควบคุมคุณภาพและ งานวิจัยต่อไป

## 5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณกรมวิทยาศาสตร์บริการและสำนักงาน คณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (สกสว.) ที่สนับสนุนห้องปฏิบัติการและงบประมาณ และขอขอบคุณนายพิริยะ ศรีเจ้า นักวิทยาศาสตร์ ชำนาญการ ที่ให้คำแนะนำในการดำเนินงานวิจัยนี้

## เอกสารอ้างอิง

- [1] A. Sylvetsky, K. I. Rother, and R. Brown, “Artificial sweetener use among children: Epidemiology, recommendations, metabolic outcomes,. And future directions,” *Clinical Biochemistry Pediatric Clinics of North America*, vol. 58, no. 6, pp. 1467–1480, Oct. 2011, doi: 10.1016/j.pcl.2011.09.007.
- [2] C. Liu, L. Dai, Y. Liu, D. Dou, Y. Sun, and L. Ma, “Pharmacological activities of mogrosides,” *Future Medicinal Chemistry*, vol. 10, no. 8, pp. 845–850, Feb. 2018, doi: 10.4155/fmc-2017-0255.
- [3] United States Food and Drug Administration. (2017, Aug.). Determination of the Generally Recognized as Safe (GRAS) Status of *Siraitia grosvenorii* swingle ( Luo Han Guo) fruit extract as a food ingredient, NutraSource, Inc, MD, USA, GRAS Notice (GRN) No. 706 with amendments. [Online]. Available: <https://www.fda.gov/media/109982/download>
- [4] S. Bhusari, C. Rodriguez, S. M. Tarka Jr., D. Kwok, G. Pugh, J. Gujral, and D. Tonucci, “Comparative *In vitro* metabolism of purified mogrosides derived from monk fruit extracts,” *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, vol. 120, Dec. 2020, Art. no. 104856, doi: 10.1016/j.yrtph.2020.104856.
- [5] D. Martirosyan, T. Lampert and M. Lee, “A comprehensive review on the role of food bioactive compounds in functional food science,” *Functional Food Science*, vol. 3, no. 2, pp. 64–78, Mar. 2022, doi: 10.31989/ffs.v2i3.906.
- [6] P. N. Wahjudi, M. E. Patterson, S. Lim, J. K. Yee, C. S. Mao, and W. N. P. Lee, “Measurement

- of glucose and fructose in clinical samples using gas chromatography/mass,” *Clinical Biochemistry*, vol. 43, no. 1–2, pp. 198–207, Jan. 2010, doi: 10.1016/j.clinbiochem.2009.08.028.
- [7] X. Wu, H. Onitake, T. Haraguchi, Y. Tahara, R. Yatabe, M. Yoshida, T. Uchida, H. Ikezaki, and K. Toko, “Quantitative prediction of bitterness masking effect of high-potency sweeteners using taste sensor,” *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 235, pp. 11–17, Nov. 2016, doi: 10.1016/j.snb.2016.05.009.
- [8] C. Yin, L. Tian, J. Li, Y. Cao, X. Dong, Y. Zhang, and D. Qi, “Dynamic analysis of UPLC-MS/MS for sugar and organic acid components of pears with different flesh texture types during development,” *Agronomy*, vol. 14, no. 11, pp. 1–12, Oct. 2024, doi: 10.3390/agronomy14112494.
- [9] B. Wang, Z. Yang, Z. Xin, G. Ma, Y. Qian, T. Xie, and I. Prakash. “Analysis of mogrosides in *Siraitia grosvenorii* Fruits at different stages of maturity,” *Sage Journals*, vol. 14, no. 9, pp. 1–5, Sep. 2019, doi: 10.1177/1934578X19878621.
- [10] N. Masumoto, K. Ishizuki, Y. Nishizaki, T. Ohtsuki, M. Kuroe, T. Yamazaki, M. Numata, H. Matsufuji, N. Sugimoto, and K. Sato, “Determination of mogroside V in Luohanguo extract for daily quality control operation using relative molar sensitivity to single-reference caffeine,” *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, vol. 69, no. 1, pp. 18–25, 2021, doi: 10.1248/cpb.c20-00245.
- [11] A. Muñoz-Labrador, S. Azcarate, R. Lebrón-Aguilar, J. E. Quintanilla-López, P. Galindo-Iranzo, S. Kolida, L. Methven, R. A. Rastall, F. J. Moreno, and O. Hernandez-Hernandez, “High-yield synthesis of transglycosylated mogrosides improves the flavor profile of monk fruit extract sweeteners,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 69, no. 3, pp. 1011–1019, Jan. 2021, doi: 10.1021/acs.jafc.0c07267.
- [12] Z. Luo, H. Shi, K. Zhang, X. Qin, Y. Guo, and X. Ma, “Liquid chromatography with tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of multiple sweet mogrosides in the fruits of *Siraitia grosvenorii* and its marketed sweeteners,” *Journal of Separation Science*, vol. 39, no. 21, pp. 4124–4135, Sep. 2016, doi: 10.1002/jssc.201600563.
- [13] A. de Villiers, F. Lestremieu, R. Szucs, S. Gélébart, F. David, and P. Sandra, “Evaluation of ultra performance liquid chromatography: Part I. possibilities and limitations,” *Journal of Chromatography A*,



- vol. 1127, no. 1-2, pp. 60-69, Sep. 2006, doi: 10.1016/j.chroma.2006.05.071.
- [14] *Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals*, AOAC Guidelines, 2002.
- [15] *Setting and Using Target Uncertainty in Chemical Measurement*, Eurachem/CITAC Guide First edition, 2015.
- [16] *The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*, Eurachem Guide Second Edition, 2014.
- [17] F. Deng, X. Liang, L. Yang, Q. Liu, and H. Liu, "Analysis of mogroside V in *Siraitia grosvenorii* with micelle-mediated cloud-point extraction," *Phytochemical Analysis*, vol. 24, no. 4, pp. 381-385, Jan. 2013, doi: 10.1002/pca.2420.
- [18] *Guidelines for Single-Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals*, AOAC Guidelines Appendix K, 2019.
- [19] J. Guo, Z. Han, H. Li, W. Zong, Y. Zhao, J. Zhao, C. Yang, M. Zhu, Z. Zhang, X. Huang, and Y. Tang, "Investigation of targeted bioactive compounds in selected chinese herbal liquors by HPLC-ESI-MS/MS," *Applied Food Research*, vol. 6, no. 1, pp. 1-9, Jan. 2026, doi: 10.1016/j.afres.2026.101746.
- [20] D. Hurum and J. Rohrer, "Mogroside V determination by HPLC with charged aerosol and UV detections," *Thermo Scientific, Sunnyvale, CA, USA, Application Note 184*, pp. 1-5.
- [21] P. L. Garcia, E. Buffoni, F. P. Gomes, and J. L. V. Quero, "Analytical method validation," in *Wide Spectra of Quality Control*, Rijeka, Croatia: InTech, 2011, pp. 3-20.