



### ภาคผนวก ก ตัวอย่างเครื่องดื่มที่ใช้ในงานวิจัยนี้

ตัวอย่างเครื่องดื่มที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างจากร้านสะดวกซื้อ บริเวณพื้นที่รอบๆ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก โดยกลุ่มตัวอย่างเครื่องดื่มแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มน้ำอัดลม หรือชนิดอัดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์จำนวน 12 ตัวอย่าง และกลุ่มเครื่องดื่มบำรุงกำลังจำนวน 7 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 19 ตัวอย่าง ดังแสดงในตาราง 25

ตาราง 25 รายละเอียดของตัวอย่างเครื่องดื่มที่ใช้ในงานวิจัยนี้

ตัวอย่าง	รายละเอียด
A-1	น้ำอัดลมสีดำชนิดไม่มีน้ำตาล 1
A-2	น้ำอัดลมสีดำชนิดไม่มีน้ำตาล 2
A-3	น้ำอัดลมสีดำ 1
A-4	น้ำอัดลมสีดำ 2
A-5	น้ำอัดลมใสไม่มีสีชนิดไม่มีน้ำตาล 1
A-6	น้ำอัดลมใสไม่มีสี 1
A-7	น้ำอัดลมใสไม่มีสี 2
A-8	น้ำอัดลมสีเขียว 1
A-9	น้ำอัดลมสีเขียว 2
A-10	น้ำอัดลมสีแดง 1
A-11	น้ำอัดลมสีแดง 2
A-12	น้ำอัดลมสีส้ม 1
B-1	เครื่องดื่มบำรุงกำลัง 1
B-2	เครื่องดื่มบำรุงกำลัง 2
B-3	เครื่องดื่มบำรุงกำลัง 3
B-4	เครื่องดื่มบำรุงกำลัง 4
B-5	เครื่องดื่มบำรุงกำลัง 5
B-6	เครื่องดื่มบำรุงกำลัง 6
B-7	เครื่องดื่มบำรุงกำลัง 7

ภาคผนวก ข วิธีการคำนวณหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด ปริมาณต่ำสุดของ  
การตรวจวัด และการทดสอบแบบที่

ข.1 ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection หรือ LOD)

ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด เป็นความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สนใจในตัวอย่างที่วิธี  
ทดสอบสามารถตรวจวัดได้ด้วยความสำเร็จ 99% โดยที่ความเข้มข้นระดับนี้ไม่อาจบอกเป็น  
ปริมาณที่มีความถูกต้องและเที่ยงตรงในระดับที่ยอมรับได้ เนื่องจากความไม่แน่นอนมีค่าสูง

การคำนวณหาค่า LOD [71] สามารถหาได้จากข้อมูลของกราฟมาตรฐาน โดยใช้สูตร

$$y_{LOD} = y_B + 3s_B \dots\dots\dots(1)$$

เมื่อ  $y_{LOD}$  คือ ค่าสัญญาณที่นำไปใช้คำนวณหาค่า LOD

$y_B$  คือ จุดตัดแกน y (a) ที่คำนวณได้จากสมการเส้นตรง

$s_B$  คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณ

ตัวอย่าง การคำนวณหา LOD ค่าของสารละลายมาตรฐานเอซีซัลเฟม-เค ที่ความเข้มข้น 0.5-20 mg/L  
โดยใช้ผลการทดลองในตาราง 17 จะได้ผลการคำนวณดังตาราง 26 ดังนี้

จากสมการเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานเอซีซัลเฟม-เค

$$y = 0.0086x + 0.00003 \dots\dots\dots(2)$$

จะได้  $y_B = 0.00003$

ตาราง 26 การคำนวณหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection)

x	y	y <sub>i</sub>	y-y <sub>i</sub>	(y-y <sub>i</sub> ) <sup>2</sup>
0.25	0.0021	0.0022	-0.0001	1.1025E-08
0.50	0.0043	0.0043	0.0000	9.0000E-10
2.50	0.0215	0.0215	-0.0001	3.0250E-09
5.00	0.0430	0.0430	0.0000	2.5000E-11
10.00	0.0857	0.0860	-0.0003	9.3025E-08
20.00	0.1714	0.1720	-0.0006	3.9690E-07
$\sum (y-y_i)^2$				5.0490E-07
$\sum (y-y_i)^2 / N-2$				1.2623E-07
s <sub>B</sub>				0.0004
y <sub>B</sub>				0.00003
y <sub>LOD</sub> = y <sub>B</sub> + 3s <sub>B</sub>				0.0011
LOD หรือ x <sub>LOD</sub>				0.12

- เมื่อ x คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (mg/L)  
 y คือ ค่าสัญญาณที่ได้จากการทดลอง  
 y<sub>i</sub> คือ ค่าสัญญาณที่ได้จากการคำนวณจากการแทนค่า x ต่าง ๆ ในสมการ (2)  
 N คือ จำนวนครั้งที่ทดลอง  
 x<sub>LOD</sub> คือ ค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด หรือ LOD (mg/L)

จากตารางคำนวณได้ค่า s<sub>B</sub> จากสูตร

$$s_B = \sqrt{\frac{\sum (y - y_i)^2}{N - 2}}$$

$$s_B = \sqrt{\frac{5.0490E-07}{6-2}} = 0.0004$$

แทนค่า y<sub>B</sub> และ s<sub>B</sub> ลงในสมการ (1)

$$\begin{aligned} \text{จะได้} \quad y_{\text{LOD}} &= (0.00003) + 3(0.0004) \\ y_{\text{LOD}} &= 0.0011 \end{aligned}$$

นำค่า  $y_{\text{LOD}}$  ที่ได้ไปหาค่า LOD โดยแทนลงในสมการ (2) จะได้ค่า  $x_{\text{LOD}}$  ดังนี้

$$\begin{aligned} y_{\text{LOD}} &= 0.0086 x_{\text{LOD}} + 0.00003 \\ 0.0011 &= 0.0086(x_{\text{LOD}}) + 0.00003 \\ x_{\text{LOD}} &= 0.12 \end{aligned}$$

ดังนั้นค่า LOD ของการวิเคราะห์หาปริมาณเอซีซัลเฟม-เค มีค่าเท่ากับ 0.12 mg/L

## ข.2 ค่าปริมาณต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of quantitation หรือ LOQ)

ปริมาณต่ำสุดของการตรวจวัด เป็นความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สนใจในตัวอย่งที่มีวิธีทดสอบสามารถตรวจวัดได้ ที่ความเข้มข้นระดับนี้สามารถรายงานเป็นปริมาณที่มีความแม่นยำและเที่ยงตรงในระดับที่ยอมรับได้ (ประมาณ 30%)

การคำนวณหาค่า LOD [71] สามารถหาได้จากข้อมูลของกราฟมาตรฐาน โดยใช้สูตร

$$y_{\text{Loq}} = y_B + 10s_B \quad \dots\dots\dots(3)$$

เมื่อ  $y_{\text{Loq}}$  คือ ค่าสัญญาณที่นำไปใช้คำนวณหาค่า LOQ

จากข้อมูลในตาราง 26 สามารถนำมาคำนวณหาค่า LOQ ได้ โดยแทนค่า  $y_B$  และ  $s_B$  ลงในสมการ (3) จะได้

$$\begin{aligned} y_{\text{Loq}} &= y_B + 10s_B \\ y_{\text{Loq}} &= 0.00003 + 10(0.0004) \\ y_{\text{Loq}} &= 0.0036 \end{aligned}$$

นำค่า  $y_{\text{Loq}}$  ที่ได้ไปหาค่า LOQ โดยแทนลงในสมการ (3) จะได้ค่า  $x_{\text{Loq}}$  (ค่าปริมาณต่ำสุดของการตรวจวัด หน่วย mg/L) ดังนี้

$$\begin{aligned} y_{\text{Loq}} &= 0.0086 x_{\text{Loq}} + 0.00003 \\ 0.0036 &= 0.0086(x_{\text{Loq}}) + 0.00003 \\ x_{\text{Loq}} &= 0.42 \end{aligned}$$

ดังนั้นค่า LOD ของการวิเคราะห์หาปริมาณเอซีซัลเฟม-เค มีค่าเท่ากับ 0.42 mg/L

### ข.3 การทดสอบแบบที (The student t-test)

ค่า t สามารถคำนวณได้จาก

$$t = \frac{\bar{D}}{S_d} \sqrt{N}$$

เมื่อ  $D_i$  คือ ความแตกต่างของผลการวิเคราะห์โดยวิธีวิเคราะห์ทั้งสอง เมื่อวิเคราะห์สาร

ตัวอย่างชนิดเดียวกัน (คิดเครื่องหมายบวก)

$\bar{D}$  คือ ค่าเฉลี่ยของ  $D_i$  (คิดเครื่องหมายบวก)

N คือ จำนวนสารตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์

$S_d$  คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานรวม ( $S_d = \sqrt{\frac{\sum (D_i - \bar{D})^2}{N-1}}$ )

ตัวอย่าง การคำนวณหาค่า t สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณคาเฟอีนในตัวอย่างเครื่องดื่มด้วยวิธี HPLC และ DZS โดยใช้ผลการทดลองในตาราง 24 จะได้ผลการคำนวณดังตาราง 27 ดังนี้

ตาราง 27 แสดงการทดสอบแบบที (t-test) ระหว่างการวิเคราะห์คาเฟอีนด้วยวิธี HPLC และ DZS

สาร ตัวอย่าง	HPLC (mg/L)	DZS (mg/L)	$D_i$	$D_i - \bar{D}$	$(D_i - \bar{D})^2$
A-3	93.9	95.6	-1.7	-8.37	70.06
A-4	107.8	102.7	5.1	-1.57	2.46
B-1	478.8	457.2	21.6	14.93	222.90
B-2	321.2	316.6	4.6	-2.07	4.28
B-3	322.6	318.2	4.4	-2.27	5.15
B-4	480.0	461.7	18.3	11.63	135.26
B-5	328.8	321.6	7.2	0.53	0.28
B-6	329.3	331.3	-2.0	-8.67	75.17
B-7	306.2	303.7	2.5	-4.17	17.39
		$\Sigma(D_i)$	60.0	$\Sigma(D_i - \bar{D})^2$	532.96

$$\bar{D} = \frac{60.0}{9} = 6.67$$

$$S_d = \sqrt{\frac{532.96}{9-1}} = 8.16$$

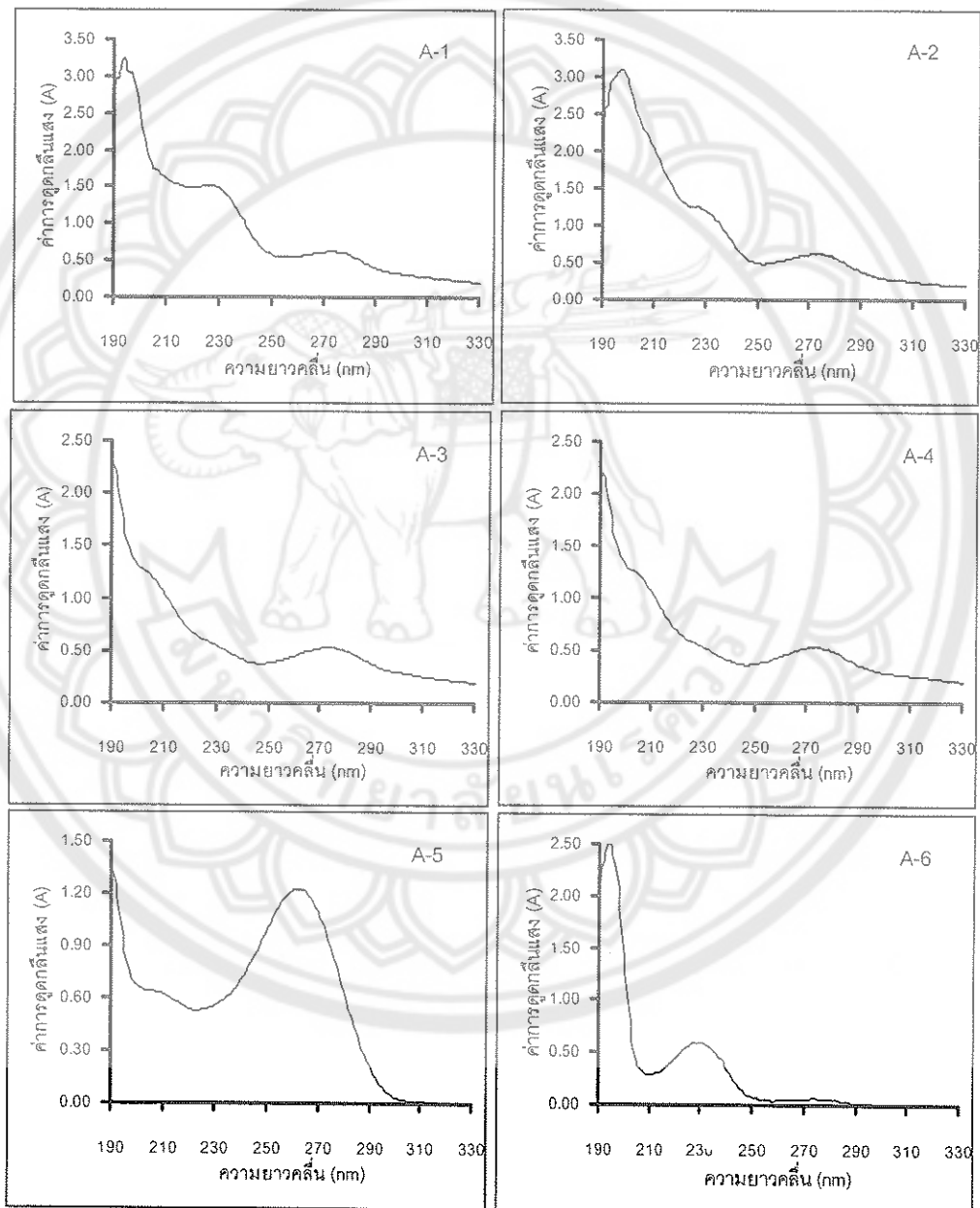
$$t = \frac{6.67}{8.16} \sqrt{9} = 2.45$$

จากตารางที่ลิมิตความเชื่อมั่นร้อยละ 98 ที่ระดับชั้นความเสรี = 8 ค่า t จากตาราง เท่ากับ 2.89 ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าวิธี HPLC และ DZS ให้ผลการวิเคราะห์ค่าเฟ้นที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ



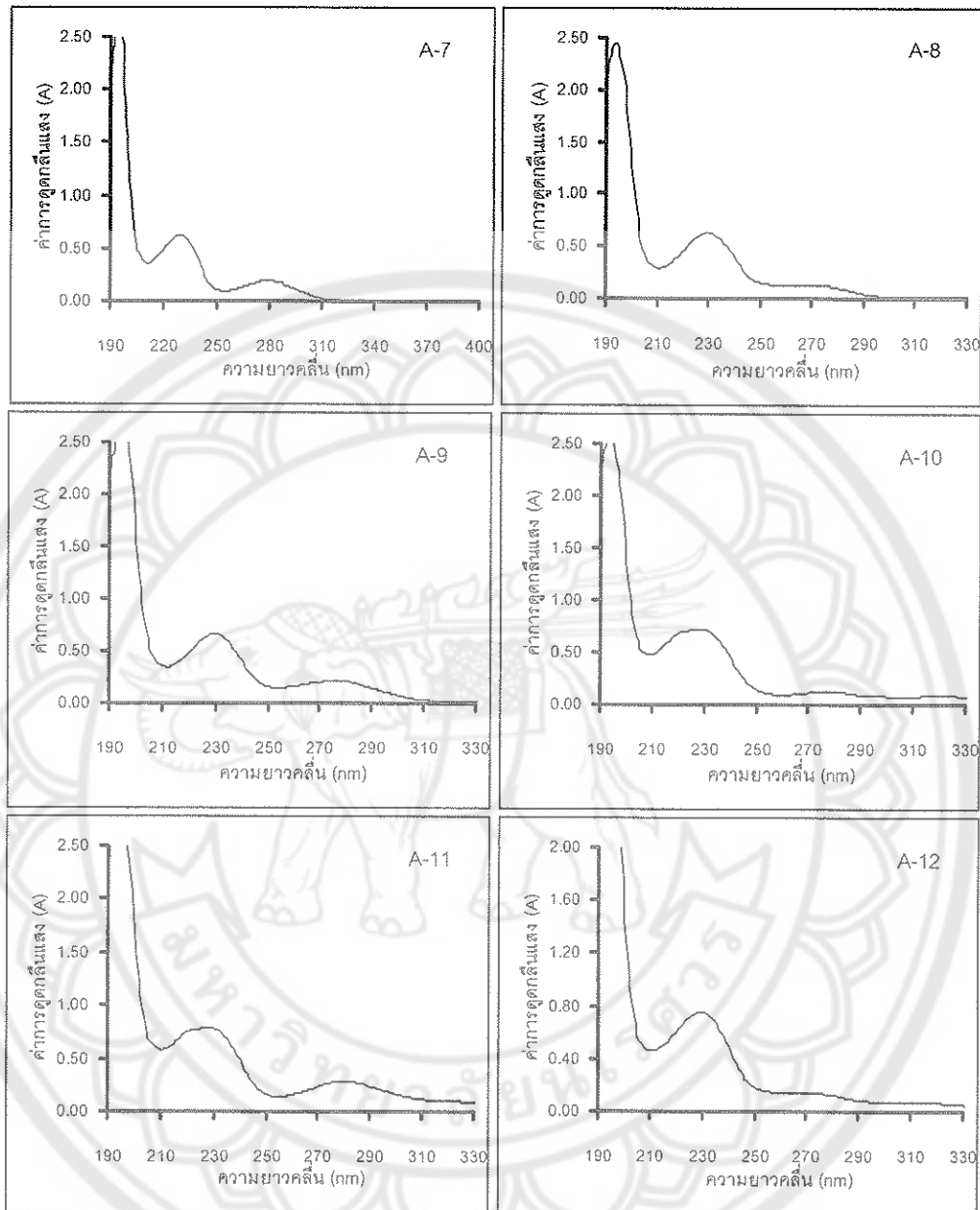
ภาคผนวก ค แอ็บซอร์ปชันสเปกตรัมของสารละลายตัวอย่างเครื่องดื่มที่ใช้ในงานวิจัยนี้

แอ็บซอร์ปชันสเปกตรัม ของสารละลายตัวอย่างเครื่องดื่มชนิดต่างๆ ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ (ดังภาคผนวก ก) สามารถแสดงดังภาพ 39 และ 40

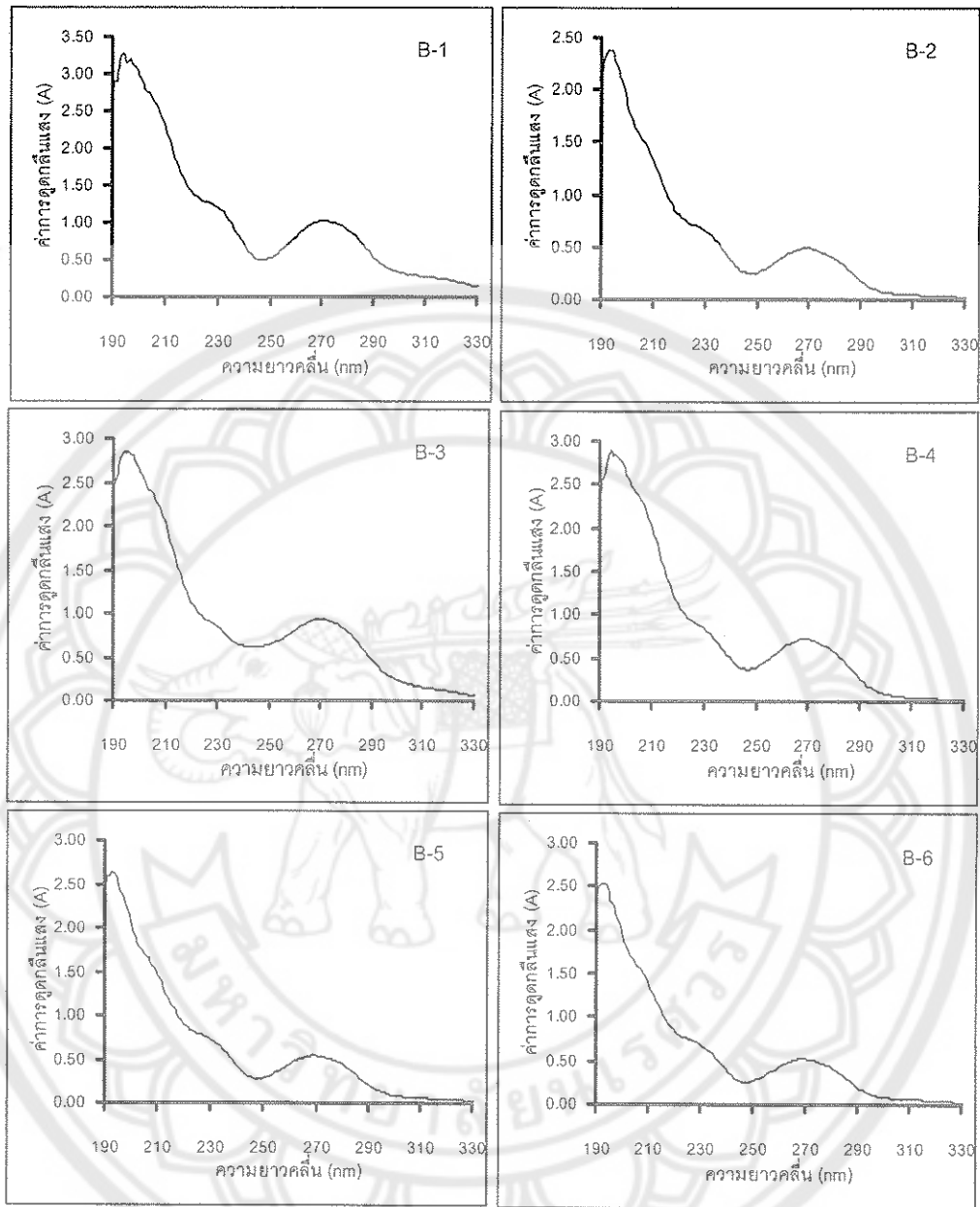


ภาพ 39 แอ็บซอร์ปชันสเปกตรัมของสารละลายตัวอย่างเครื่องดื่มน้ำอัดลมชนิดต่างๆ

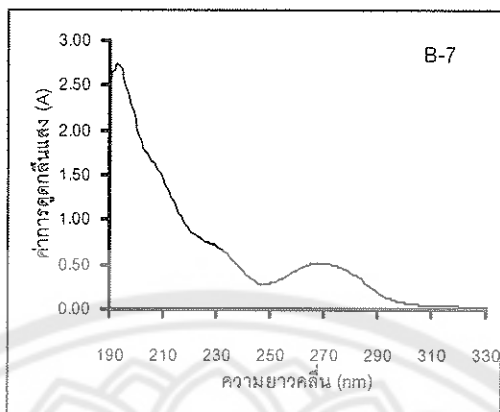




ภาพ 39 (ต่อ)



ภาพ 40 แอ็บซอร์ปชันสเปกตรัมของสารละลายตัวอย่างเครื่องตีบำรุงกำลังชนิดต่างๆ



ภาพ 40 (ต่อ)

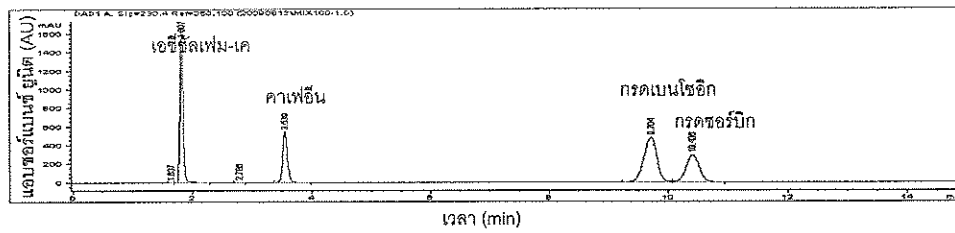


ภาคผนวก ง การวิเคราะห์หาปริมาณเอซีซัลเฟม-เค กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก และคาเฟอีน ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

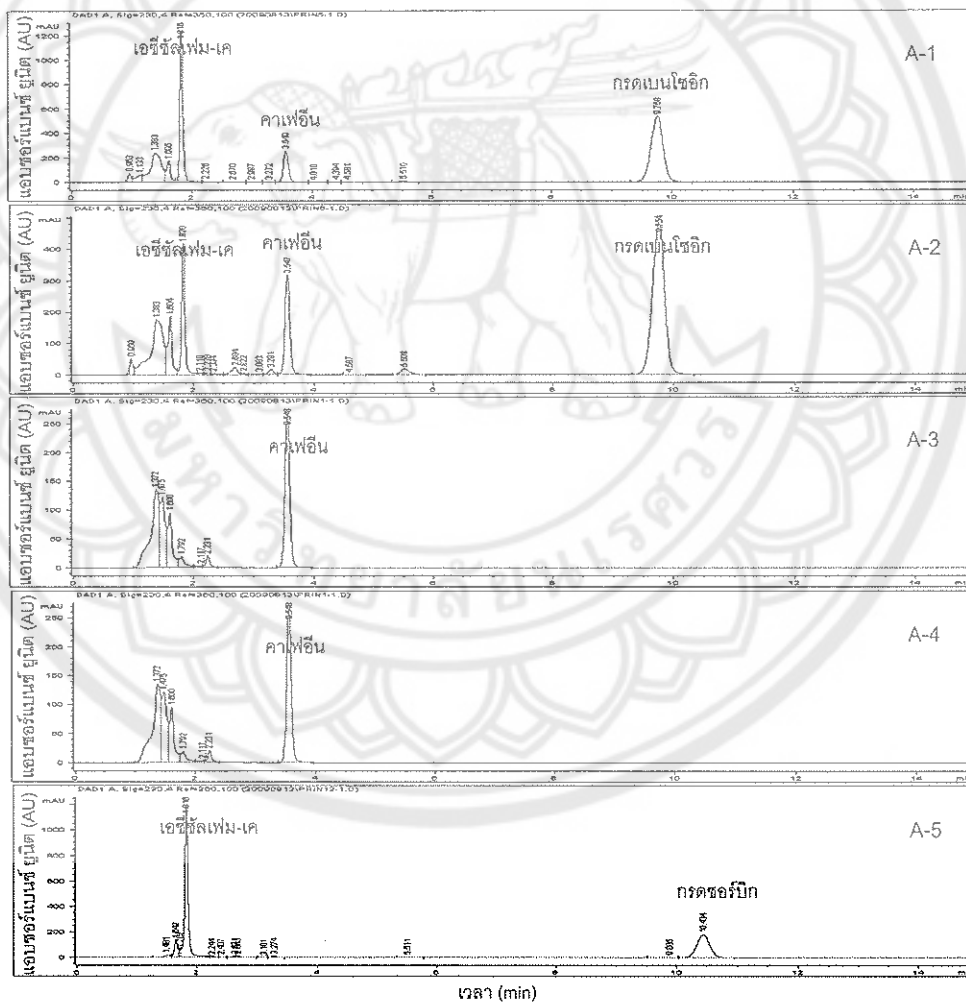
การวิเคราะห์หาปริมาณเอซีซัลเฟม-เค กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก และคาเฟอีน ในตัวอย่างเครื่องดื่มน้ำอัดลมและเครื่องดื่มบำรุงกำลังชนิดต่างๆ (ดังภาคผนวก ก) ด้วยวิธี HPLC เมื่อใช้สภาวะของการทดลองดังตาราง 28 [72] การทดลองทำโดยกรองสารละลายตัวอย่าง เครื่องดื่มข้างต้นด้วยไนลอนเมมเบรนเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 47 mm รูพรุนขนาด 0.45  $\mu\text{m}$  นำไปกำจัดแก๊สด้วยเครื่องอัลตราโซนิก เจือจางสารละลายตัวอย่างด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC ได้โครมาโทแกรมดังภาพ 41, 42 และ 43 จากผลการทดลองพบว่า ค่า  $t_r$  ของเอซีซัลเฟม-เค คาเฟอีน กรดเบนโซอิก และกรดซอร์บิก มีค่าเท่ากับ 1.81, 3.54, 9.68 และ 10.40 นาที ตามลำดับ (จากเครื่อง HPLC รุ่น 1100 Series) หรือมีค่าเท่ากับ 2.14, 3.71, 9.36 และ 10.25 นาที ตามลำดับ (จากเครื่อง HPLC รุ่น Waters 600E System) สารทั้ง 4 ชนิดมีช่วงความเป็นเส้นตรง 1-200 mg/L มีค่า  $r^2$  เท่ากับ 0.9997, 1.0000, 1.0000 และ 1.0000 สำหรับเอซีซัลเฟม-เค คาเฟอีน กรดเบนโซอิก และกรดซอร์บิก และค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด เท่ากับ 4.43, 0.67, 0.26 และ 0.66 mg/L สำหรับเอซีซัลเฟม-เค คาเฟอีน กรดเบนโซอิก และกรดซอร์บิก ตามลำดับ

ตาราง 28 สภาวะที่ใช้ในการทดลองของวิธี HPLC [72]

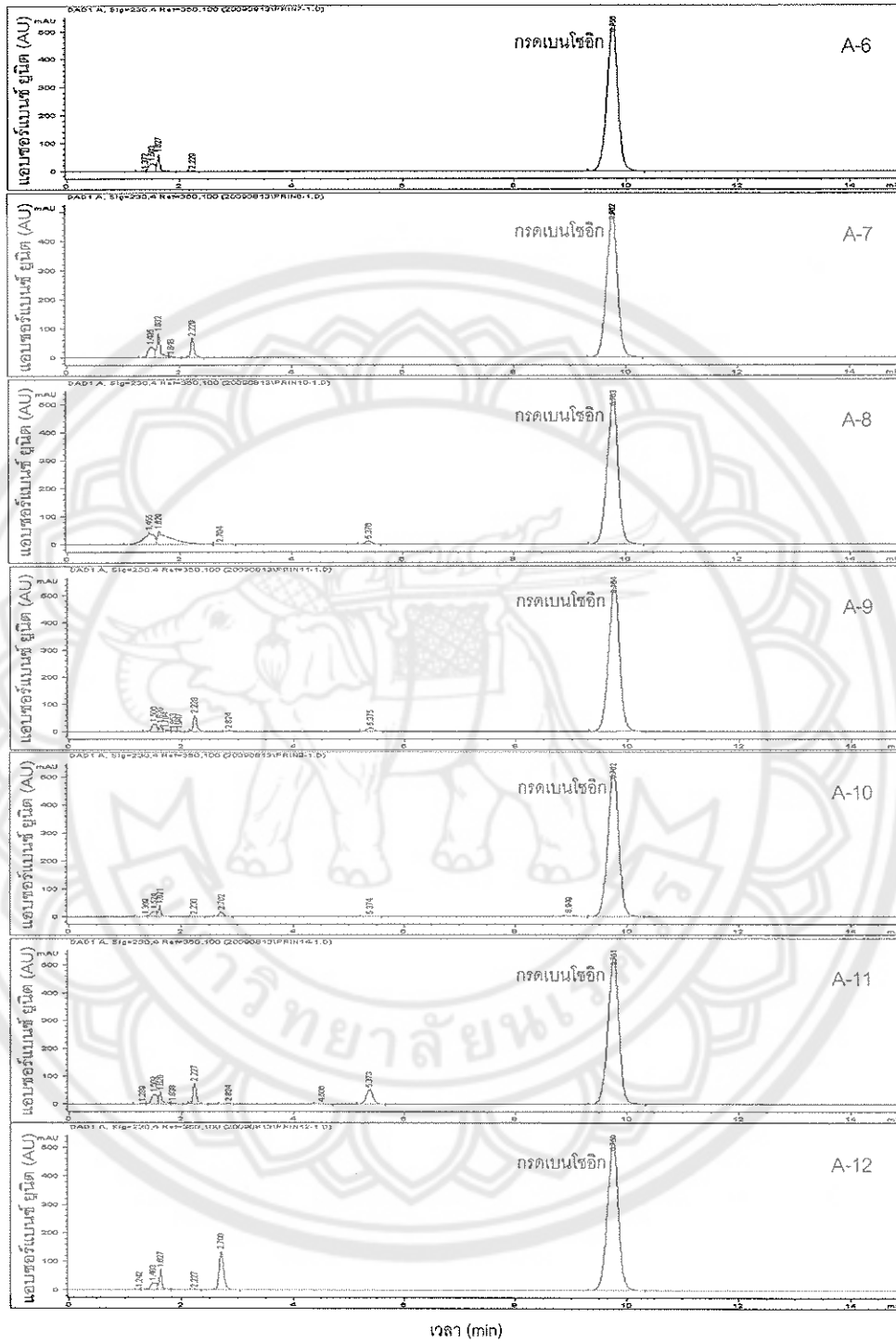
พารามิเตอร์	สภาวะเริ่มต้นที่ใช้ในการทดลอง
เฟสเคลื่อนที่	0.025 mol/L phosphate buffer : methanol อัตราส่วนเท่ากับ 60:40 (ใช้ระบบ isocratic elution)
อะนาไลติคอลคอลัมน์	C18 (ขนาด 5 $\mu\text{m}$ , 250 mm x 4.6 mm i.d.)
การ์ดคอลัมน์	C18 (ขนาด 5 $\mu\text{m}$ , 10 mm x 4.6 mm i.d.)
อัตราการไหล	1.0 mL/min
เครื่องตรวจวัด	PDA-UV ที่ 230 nm
ปริมาตรของสารละลายตัวอย่าง	20 $\mu\text{L}$
เวลาที่ใช้วิเคราะห์ต่อ 1 โครมาโทแกรม	15 min



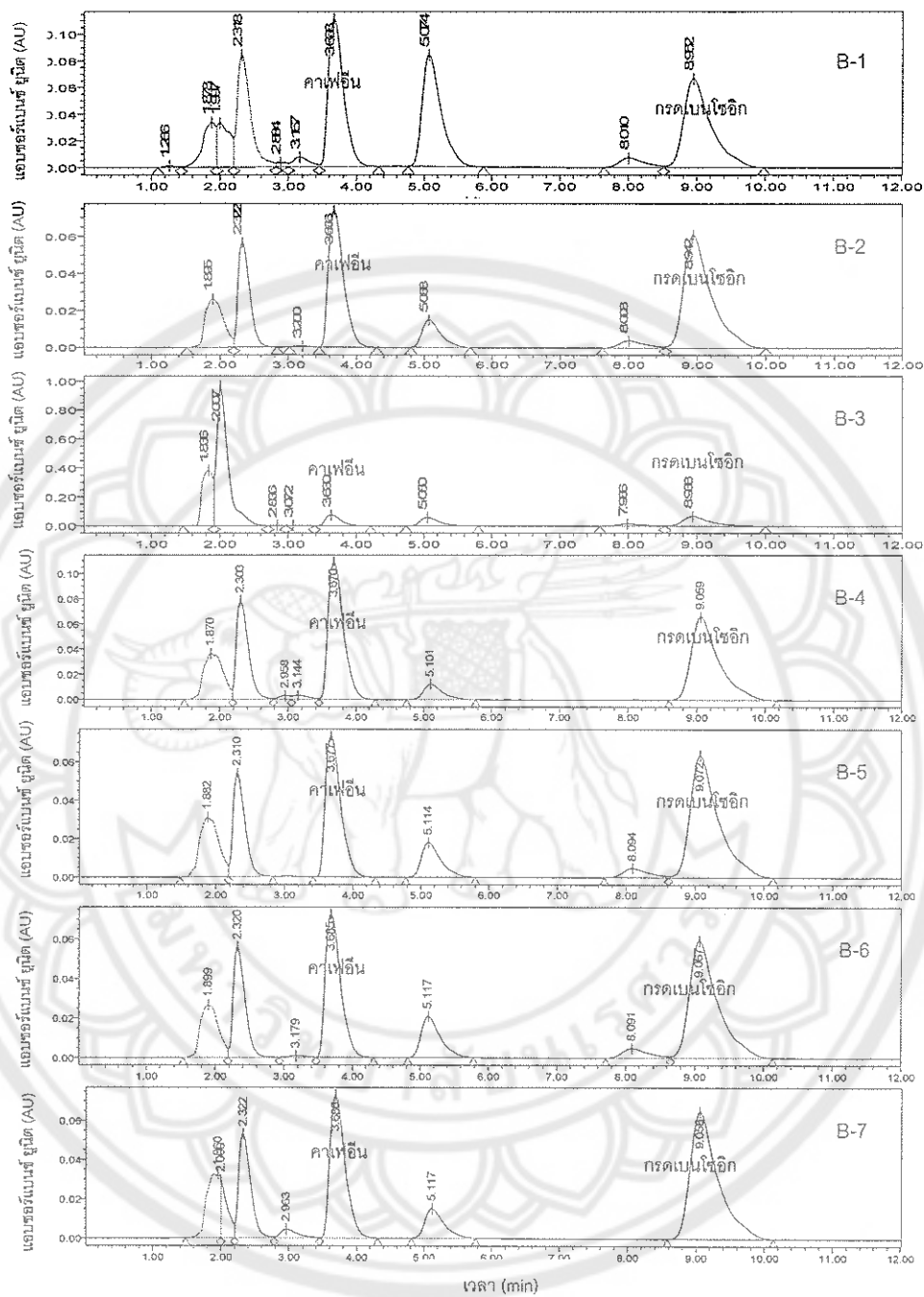
ภาพ 41 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมของเอซีซัลเฟม-เค กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก และคาเฟอีน เข้มข้นอย่างละ 100 mg/L (วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC: รุ่น 1100 Series)



ภาพ 42 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่างเครื่องดื่มน้ำอัดลมชนิดต่างๆ (วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC: รุ่น 1100 Series)



ภาพ 42 (ต่อ)



ภาพ 43 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่างเครื่องดื่มบำรุงกำลังชนิดต่าง ๆ (วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC: รุ่น Waters 600E System)