

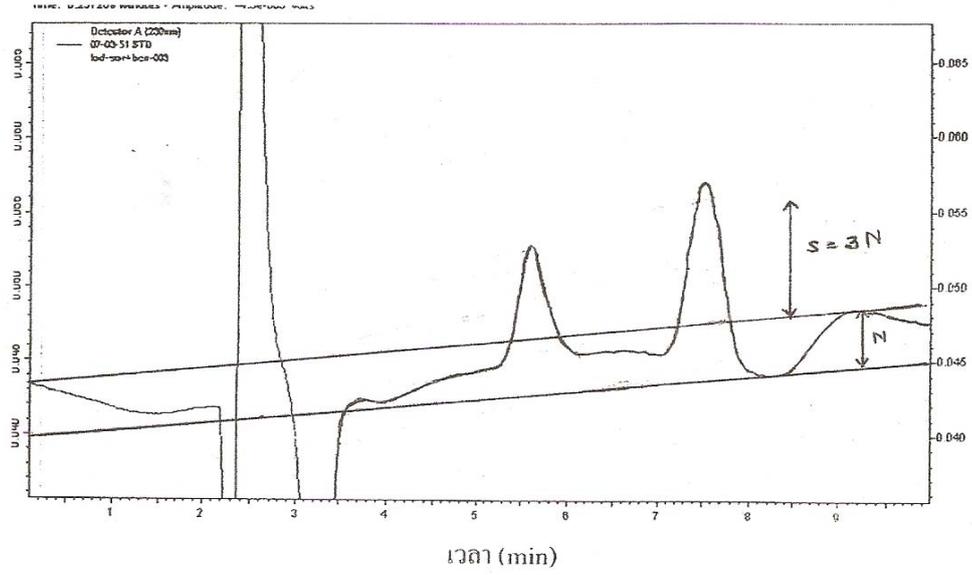
บทที่ 4

ผลการทดลอง

การพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกโดยการสกัดด้วยอะซิเตตบัฟเฟอร์ เข้มข้น 0.005 โมลาร์ pH 4.4 แล้ววิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ใช้คอลัมน์ ชนิด C_{18} เครื่องตรวจวัดชนิดยูวี วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร อัตราการไหล 0.7 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้เมทานอลและอะซิเตตบัฟเฟอร์ เข้มข้น 0.01 โมลาร์ pH 4.5 - 4.6 เป็นเฟสเคลื่อนที่ ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองเพื่อใช้ในการวิเคราะห์กรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกในน้ำพริก ในขั้นต้นได้ทำการศึกษาความน่าเชื่อถือในการวิเคราะห์ โดยทำการหาช่วงความเป็นเส้นตรงในการวิเคราะห์ ค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ด้วยเครื่องมือ ค่าร้อยละการกลับคืน จากนั้นจึงทำการวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกในน้ำพริกที่ผลิตในจังหวัดนครสวรรค์ จากแหล่งผลิต 5 แห่ง ได้แก่ 1. น้ำพริกแม่บุญเรือง 2. กลุ่มแม่บ้านบึงหลวง 3. กลุ่มแม่บ้านเกษตรกรพนมรอก 4. ร้านจันทร์สุวรรณ 5. ตลาดบ่อนไก่ โดยทำการเก็บตัวอย่างในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2551 ซึ่งมีตัวอย่างรวมทั้งหมด 11 ตัวอย่าง ได้ผลการทดลองดังนี้

4.1 ค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง (lower limit of detection ; LOD)

คือ ขีดจำกัดต่ำสุดที่เครื่องสามารถตรวจวัดได้ หาได้จากค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายมาตรฐานที่ทำให้พิกของสัญญาณวิเคราะห์ (signal) มีความสูงเป็น 3 เท่าของสัญญาณรบกวน (noise) ในโครมาโทแกรม ศึกษาโดยเริ่มฉีดสารละลายมาตรฐานผสมของกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกที่มีความเข้มข้น 100 mg/L และทำการเจือจางลง แล้วทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง พบว่าที่ความเข้มข้น 0.05 mg/L เป็นความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกที่ทำให้พิกของสัญญาณวิเคราะห์มีความสูงเป็น 3 เท่าของสัญญาณรบกวน ดังแสดงในรูปที่ 4.1



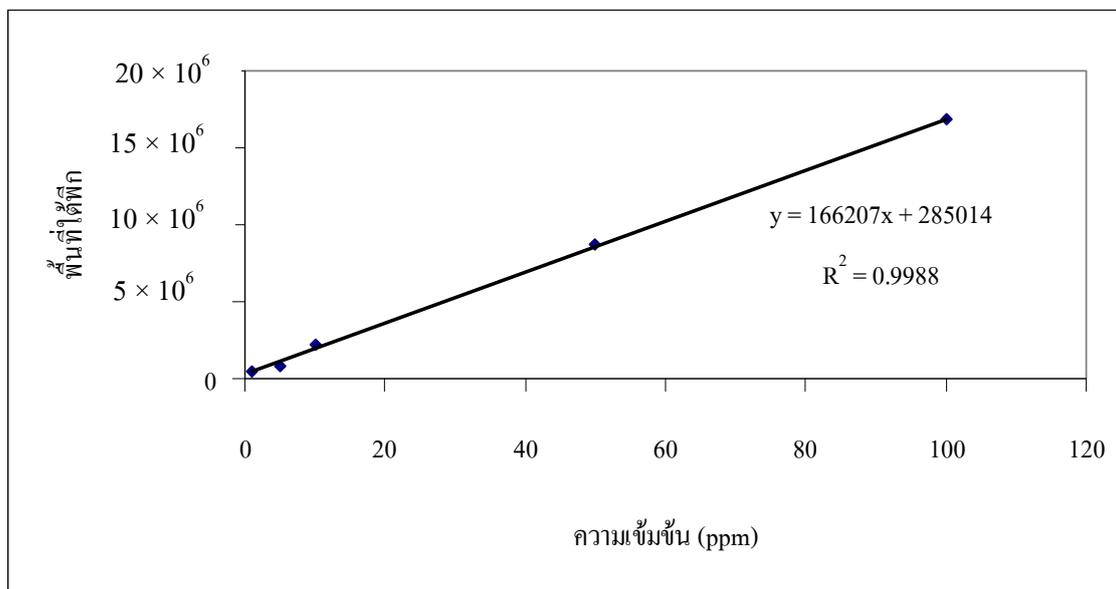
รูปที่ 4.1 แสดงโครมาโทแกรมของค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์กรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกที่ความเข้มข้น 0.05 mg/L

4.2 ช่วงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่ให้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรง

จากการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงในการวิเคราะห์กรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิก โดยการนำสารละลายมาตรฐานผสมของกรดดังกล่าวที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 1, 10, 50, 100, 200, 400, 600, 800 และ 1,000 mg/L มาวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง แล้วนำมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับพื้นที่ใต้พีคของกรด ดังแสดงในตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.2 สำหรับกรดเบนโซอิก และตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.3 สำหรับกรดซอร์บิก พบว่าช่วงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกที่ให้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรง คือ 1 - 100 mg/L

ตารางที่ 4.1 แสดงพื้นที่ใต้พีค ของสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิกที่ความเข้มข้น 1 - 100 mg/L

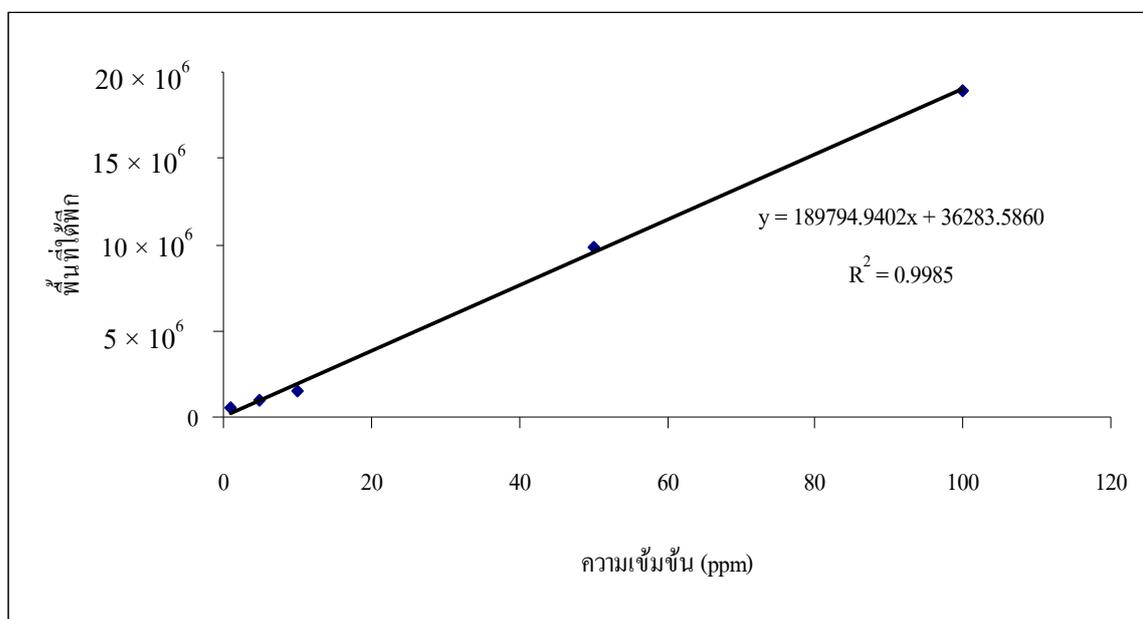
สารละลายมาตรฐาน	ความเข้มข้น (mg/L)	พื้นที่ใต้พีค
1	1	0.47×10^6
2	5	0.76×10^6
3	10	2.26×10^6
4	50	8.66×10^6
5	100	16.85×10^6



รูปที่ 4.2 กราฟแสดงช่วงที่ทำให้เป็นเส้นตรงต่อกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิก

ตารางที่ 4.2 แสดงพื้นที่ที่ได้ฟักของสารละลายมาตรฐานกรดซอร์บิกที่ความเข้มข้น 1 - 100 mg/L

สารละลายมาตรฐาน	ความเข้มข้น (mg/L)	พื้นที่ที่ได้ฟัก
1	1	0.50×10^6
2	5	0.95×10^6
3	10	1.49×10^6
4	50	9.82×10^6
5	100	18.91×10^6



รูปที่ 4.3 กราฟแสดงช่วงที่ทำให้เป็นเส้นตรงต่อกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดซอร์บิก

4.3 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่าง

ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำพริกจากแหล่งผลิต 5 แหล่ง ได้แก่ 1. น้ำพริกแม่บุญเรือง 2. กลุ่มแม่บ้านบึงหลวง 3. กลุ่มแม่บ้านเกษตรกรพนมรอก 4. ร้านจันทร์สุวรรณ 5. ตลาดบ่อนไก่ ดังตารางที่ 4.3 , 4.4 , 4.5 , 4.6 และ 4.7 ซึ่งน้ำพริกทั้ง 11 ตัวอย่างไม่พบกรดซอร์บิกแต่พบกรดเบนโซอิก 10 ตัวอย่างยกเว้นน้ำพริกเผากุ้งจากร้านจันทร์สุวรรณ โดยปริมาณกรดเบนโซอิกที่พบไม่เกินมาตรฐานของกระทรวงสาธารณสุขกำหนดไว้ (1,000 mg/kg)

ตารางที่ 4.3 แสดงปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกที่วิเคราะห์ได้ ในตัวอย่างน้ำพริกจากแหล่งที่ 1 (น้ำพริกแม่บุญเรือง 112/3 ต. เกษไชย อ. ชุมแสง จ. นครสวรรค์ 60120)

ตัวอย่างน้ำพริก	ปริมาณกรดเบนโซอิก (mg/L)	ปริมาณกรดเบนโซอิก (mg/kg)
1. น้ำพริกเผปลา	60.32	603.28
2. น้ำพริกเผปลา - แมงดา	49.66	496.64

ตารางที่ 4.4 แสดงปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกที่วิเคราะห์ได้ ในตัวอย่างน้ำพริกจากแหล่งที่ 2 (กลุ่มแม่บ้านบึงหลวง 1/1 หมู่ 6 ต. เกษไชย อ. ชุมแสง จ. นครสวรรค์ 60120)

ตัวอย่างน้ำพริก	ปริมาณกรดเบนโซอิก (mg/L)	ปริมาณกรดเบนโซอิก (mg/kg)
1. น้ำพริกเผปลา	50.41	504.07
2. น้ำพริกเผแมงดา	80.46	804.56

ตารางที่ 4.5 แสดงปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกที่วิเคราะห์ได้ ในตัวอย่างน้ำพริกจากแหล่งที่ 3 (กลุ่มแม่บ้านเกษตรกรพนมรอก ต. พนมรอก อ. ท่าตะโก จ. นครสวรรค์ 60160)

ตัวอย่างน้ำพริก	ปริมาณกรดเบนโซอิก (mg/L)	ปริมาณกรดเบนโซอิก (mg/kg)
1. น้ำพริกปลาข้าง	81.93	819.27
2. น้ำพริกเผผัด	78.51	785.10
3. น้ำพริกแมงดา	80.01	800.15

ตารางที่ 4.6 แสดงปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกที่วิเคราะห์ได้ ในตัวอย่างน้ำพริกจากแหล่งที่ 4 (น้ำพริกจากร้านจันทร์สุวรรณ ต.นครสวรรค์ต. อ. เมือง จ. นครสวรรค์ 60000)

ตัวอย่างน้ำพริก	ปริมาณกรดเบนโซอิก (mg/L)	ปริมาณกรดเบนโซอิก (mg/kg)
1. น้ำพริกเผากุ้ง	ND	ND
2. น้ำพริกกากหมู	2.78	27.77

ตารางที่ 4.7 แสดงปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกที่วิเคราะห์ได้ ในตัวอย่างน้ำพริกจากแหล่งที่ 5 (น้ำพริกจากตลาดบ่อนไก่ ถนน โกสีย์ ต. ปากน้ำโพธิ์ อ. เมือง จ. นครสวรรค์ 60000)

ตัวอย่างน้ำพริก	ปริมาณกรดเบนโซอิก (mg/L)	ปริมาณกรดเบนโซอิก (mg/kg)
1. น้ำพริกเผาคัด	5.40	54.02
2. น้ำพริกแมงดา	16.40	164.01

4.4 สรุปผลการวิเคราะห์กรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกในน้ำพริกจากแหล่งต่าง ๆ

ตารางที่ 4.8 แสดงปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกที่วิเคราะห์ได้ ในตัวอย่างน้ำพริกจาก 5 แหล่งผลิต

แหล่งผลิต	ชนิดของน้ำพริกตัวอย่าง	ปริมาณกรดเบนโซอิก ในตัวอย่าง (mg/kg)	ปริมาณกรดซอร์บิก ในตัวอย่าง (mg/kg)
1. น้ำพริกแม่บุญเรือง	1.1 น้ำพริกเผาปลา	60.32	ND ⁽¹⁾
	1.2 น้ำพริกเผาปลา-แมงดา	49.66	ND
2. กลุ่มแม่บ้านบึงหลวง	1.1 น้ำพริกเผาปลา	50.41	ND
	1.2 น้ำพริกเผาแมงดา	80.46	ND
3. กลุ่มแม่บ้านเกษตรกร พนมรอก	1.1 น้ำพริกปลาอย่าง	81.93	ND
	1.2 น้ำพริกเผาผัด	78.51	ND
	1.3 น้ำพริกแมงดา	80.01	ND
4. ร้านจันทร์สุวรรณ	1.1 น้ำพริกเผากุ้ง	ND	ND
	1.2 น้ำพริกกากหมู	2.78	ND
5. ตลาดบ่อนไก่	1.1 น้ำพริกเผาผัด	54.02	ND
	1.2 น้ำพริกแมงดา	164.01	ND

⁽¹⁾ND: ตรวจไม่พบที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 0.05 mg/L

4.5 ค่าร้อยละการกลับคืนของการสกัด

ผลของการหาค่าร้อยละการกลับคืนของการสกัดกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกในตัวอย่างน้ำพริกเผาปลาแม่บุญเรือง ที่ความเข้มข้น 25 mg/L และ 75 mg/L จำนวนอย่างละ 5 ซ้ำ แสดงดังตารางที่ 4.9 และ 4.10 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.9 แสดงร้อยละการกลับคืนของการสกัดกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกที่ความเข้มข้น 25 mg/L ในตัวอย่างน้ำพริกเผาปลาแม่บุญเรือง

ครั้งที่	ความเข้มข้นของกรดเบนโซอิก ที่ตรวจวัดได้ (mg/L)	ร้อยละการกลับคืน (% Recovery)	SD (n=5)
1	20.32	81.28	8.90
2	25.99	103.96	
3	24.15	96.60	
4	25.27	101.08	
5	24.87	99.48	
เฉลี่ย	24.12	96.48	
ครั้งที่	ความเข้มข้นของกรดซอร์บิก ที่ตรวจวัดได้ (mg/L)	ร้อยละการกลับคืน (% Recovery)	SD (n=5)
1	23.55	94.20	2.66
2	23.09	92.36	
3	24.71	98.84	
4	24.23	96.92	
5	23.36	93.44	
เฉลี่ย	23.79	95.15	

พบว่ามียุทธการคืนกลับของกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกอยู่ในช่วง 81 – 104 และ 92– 97 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.10 แสดงร้อยละการกลับคืนของการสกัดกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกที่ความเข้มข้น 75 mg/L ในตัวอย่างน้ำพริกเผาปลาแม่บุญเรือง

ครั้งที่	ความเข้มข้นของกรดเบนโซอิก ที่ตรวจวัดได้ (mg/L)	ร้อยละการกลับคืน (% Recovery)	SD (n=5)
1	71.76	95.68	3.49
2	74.77	99.69	
3	77.65	103.53	
4	77.85	103.80	
5	77.35	103.13	
เฉลี่ย	75.88	101.77	
ครั้งที่	ความเข้มข้นของกรดซอร์บิก ที่ตรวจวัดได้ (mg/L)	ร้อยละการกลับคืน (% Recovery)	SD (n=5)
1	74.54	99.38	0.93
2	75.26	100.34	
3	75.76	101.01	
4	74.99	99.98	
5	73.94	98.58	
เฉลี่ย	74.89	99.86	

พบว่ามียุทธการคืนกลับของกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกอยู่ในช่วง 95-103 และ 98-101 ตามลำดับ

4.6 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของการวิเคราะห์

ผลการหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการวิเคราะห์สัมพัทธ์ของการวิเคราะห์กรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกที่ความเข้มข้น 100 mg/L จำนวน 7 ซ้ำ แสดงดังตารางที่ 4.10 โดยมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์สำหรับกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกเท่ากับ 1.60 และ 2.57 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.11 แสดงค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของการวิเคราะห์กรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกที่ความเข้มข้น 100 mg/L

ครั้งที่	พื้นที่ใต้พีคของกรดเบนโซอิก	พื้นที่ใต้พีคของกรดซอร์บิก
1	1.47×10^7	1.94×10^7
2	1.42×10^7	1.84×10^7
3	1.43×10^7	1.86×10^7
4	1.42×10^7	1.83×10^7
5	1.43×10^7	1.85×10^7
6	1.41×10^7	1.93×10^7
7	1.39×10^7	1.83×10^7
เฉลี่ย	1.43×10^7	1.87×10^7
SD	0.023×10^7	0.048×10^7
% RSD	1.60	2.57

บรรณานุกรม

- โครงการตำราวิทยาศาสตร์อุตสาหกรรม.(2533). **วัตถุดิบเสียในอาหาร**
- เครือวัลย์ ไชยสุวรรณ,จันทิมาสุราเลิศ .(2549). **ศึกษาวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรด**
ซอร์บิกในน้ำพริก.ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.มหาวิทยาลัยราชภัฏ
นครสวรรค์,นครสวรรค์
- ชิตริตน์ ปานม่วง.(2545). **หัวข้อหรือประเด็นคำถามรายการวิทยุคลินิก 101.5 วัตถุเจือปนอาหาร :**
ประโยชน์หรือโทษ กัย.ภาควิชาอาหารเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นันทิดา น่วมจาด,พรพิมล ภูมิรินทร์.(ม.ป.ป.). **การวิเคราะห์ปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิก**
ในผลิตภัณฑ์เนื้อและในน้ำผลไม้ชนิด25เปอร์เซนต์ ไข่เขตอำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี.
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ราชภัฏกาญจนบุรี,กาญจนบุรี
- เบญจพร รอดอาวุธ.(2548). **เอกสารประกอบการสอนรายวิชาการแปรรูปอาหาร 1. คณะ**
เทคโนโลยีการเกษตรและเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์. หน้า
159-230
- ปลุพร เหว่าสำเนียง,สลิดา กลิ่นจันทร์.(2545). **การวิเคราะห์หาเฟนิลโพรพานอลามีนในยาแผน**
โบราณ. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.ราชภัฏสวนดุสิต,กรุงเทพฯ
- แม่น อมรสิทธิ์,อมร เพชรสม.(2535). **เคมีเครื่องมือวิเคราะห์. พิมพ์ครั้งที่ 1.ชวนชมพิมพ์, กรุงเทพฯ**
- รัชณี ตันทะพานิชกุล.(2536). **เคมีอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 6.ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย**
รามคำแหงกรุงเทพฯ
- ลัดดา วัฒนศิริธรรม,กุลวดี ครอบพาณิชย์.(ม.ป.ป.). **การวิเคราะห์กรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกในน้ำ**
มะตูม น้ำกระเจี๊ยบและน้ำหวานเข้มข้นโดยการกลั่นไอน้ำมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
กรุงเทพฯ
- วันทนีย์ ขำเลิศ.(2535). **การวิเคราะห์ปริมาณกรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก และซัลคารินในผลไม้แปรรูป.**
กองวิเคราะห์อาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.
- ศิวพร ศิวเวชช.(2546). **วัตถุเจือปนอาหาร.ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร คณะ**
อุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 1-36
- สุชาดา รังสีสุทธิพร,น้ำฝน วงศ์ดวงคำ.(2549). **การวิเคราะห์สารไนเตรตและไนไตรท์ในผักสดที่ปลูก**
ในสารละลายธาตุอาหารด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี.ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
และเทคโนโลยี.มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์,นครสวรรค์
- สุนันท์ รังษีกาญจน์ส่อง.(2534). **หลักสูตรเข้มข้นการวิเคราะห์โดยใช้ HPLC. ศูนย์เครื่องมือวิจัยและ**
เทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

- อาภรณ์ นุ่มทอง,ชมพูนุช มิ่งขวัญ.(2545).การตรวจหาปริมาณแอนไอออนในน้ำดื่มโดยวิธีไอออนโครมาโตกราฟี.คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.ราชภัฏสวนดุสิต,กรุงเทพฯ
- อาหารและโภชนาการหน่วยที่ 8-15.(2537).พิมพ์ครั้งที่ 7.สาขาวิชาคหกรรมศาสตร์.กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมมาธิราช.หน้า 735-745
- Assocoation of Official Analytical Chemistry (AOAC),(2000). **AOAC Official Method 994.11 Benzoic Acid in Orange Juice**
- Bahrudin,fazlul,Muhammad,Kamarudzaman and Mohd.(2004). **Simultaneous determination of preservatives (benzoic , sorbic acid, methylparaben and propylparaben) in foodstuffs using high performance liquid chromatography.**Journal of chromatography A,1073(2005), pp.393-397
- Fernando,Isabel, Sara,Beatriz and Oliverira ,(2003).Optimisation of extraction procedures for analysis of benzoic and sorbic acids in foodstuffs.Analytical, nutritional and chincal methods.
- González,Gallego and Valcárcel.(1998).**Simultaneous gas chromatographic determination of food preservatives following solid-phase extraction.**Journal of Chromatography A, 823(1998),pp.321-329
- Isabel,Eulalia,Paula and Margarida,(2000). **Simultaneous determination of benzoic and sorbic acids in quince jam by HPLC,**Food Research International,33(2000), pp.113-117
- Ittipon Techakriengkrai and Raneer Surakarnkul,(2007).**Analysis of benzoic acid and sorbic acid in Thai rice wines and distillates by solid-phase sorbent extraction and high-performance liquid chromatography.** Journal of Food Composition and Analysis, 20(2007),pp. 220-225