ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก ก

สัญลักษณ์แทนเครื่องหมายการค้าต่าง ๆ

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

สัญลักษณ์แทนเครื่องหมายการค้า

สัญลักษณ์แทนเครื่องหมายการค้าต่าง ๆ ของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ มีดังนี้

A1 แทน โออิชิ รสดั้งเดิม

A2 แทน ยูนิฟ รสมะนาว

A3 แทน ชาลีวัง รสดั้งเดิม

A4 แทน ลิปตัน รสมะนาว

A5 แทน ทรีเบรก ไวท์เกรฟมิ้นต์

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ข

การคำนวณความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานคาทิชิน

การคำนวณหาปริมาณแทนนินในเครื่องดื่มชาปรุงสำเร็จพร้อมดื่ม

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

คำนวณความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานคาทิชิน ที่ใช้สร้างกราฟมาตรฐาน

สารละลายมาตรฐานคาทิชินเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายมาตรฐานคาทิชิน 1.00 มิลลิลิตร แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนสารละลายมีปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$(10\ mg/L)(1.00\ mL) = C_2(50\ mL)$$

$$C_2 = 0.20\ mg/L$$

สารละลายมาตรฐานแทนนิน มีความเข้มข้น 0.20 มิลลิกรัมต่อลิตร

คำนวณความเข้มข้นของแทนนินในสารละลายตัวอย่างเครื่องดื่มชาปรุงสำเร็จพร้อมดื่ม

นำค่า Absorbance ที่ได้มาแทนค่าในสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานสารละลายแทนนิน

$y = 0.977x + 0.160$

y = ค่า Absorbance

x = ความเข้มข้นของแทนนิน

ยกตัวอย่างสารละลายตัวอย่าง A1 วัดค่าการดูดกลืนแสงได้ 0.61

แทนค่า $y = 0.977x + 0.160$

$$0.610 = 0.977x + 0.160$$

$$x = \frac{0.610 - 0.160}{0.977}$$

$$x = 0.46$$

สารตัวอย่าง A1 มีความเข้มข้นของแทนนิน 0.46 มิลลิกรัมต่อลิตร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การคำนวณหาปริมาณแทนนินในเครื่องดื่มชาปรุงสำเร็จพร้อมดื่ม

จากค่าการดูดกลืนแสงของแทนนินที่ได้จากสารตัวอย่างต่าง ๆ และนำความเข้มข้นที่ได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลายคาทิชิน นำไปคำนวณหาปริมาณแทนนินได้ดังนี้

ปิเปตเครื่องดื่มตัวอย่าง 2.00 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 50.00 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 1.00 มิลลิลิตร เติมสารละลายโพแทสเซียมเฟอริไซยาไนด์ เข้มข้น 0.003 โมลาร์ ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 0.10 โมลาร์ ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร และสารละลายไอร์ออน(III)คลอไรด์ เข้มข้น 0.06 โมลาร์ แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนสารละลายมีปริมาตร 50.00 มิลลิลิตร

$$T = C \times D_1 \times D_2$$

เมื่อ T = ความเข้มข้นของแทนนินในเครื่องดื่มชาปรุงสำเร็จพร้อมดื่ม (มิลลิกรัมต่อลิตร)

C = ความเข้มข้นของแทนนินที่ได้จากกราฟมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อลิตร)

D_1 = อัตราส่วนในการเจือจางเครื่องดื่มตัวอย่างให้เป็นสารละลายตัวอย่าง มีค่าเท่ากับ 25

D_2 = อัตราส่วนในการเจือจางสารละลายตัวอย่าง มีค่าเท่ากับ 50

สำหรับการคำนวณหาความเข้มข้นของแทนนินในเครื่องดื่มชาปรุงสำเร็จพร้อมดื่มเครื่องหมายการค้า A1 ทำโดยนำค่าความเข้มข้นของแทนนินมาแทนในสมการที่ 1 จะได้ว่า

$$T = 0.46 \text{ mg/L} \times 25 \times 50$$

$$T = 575.00 \text{ mg/L}$$

เพราะฉะนั้น ความเข้มข้นของแทนนินที่วิเคราะห์ได้ คือ 575.00 มิลลิกรัมต่อลิตร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ค

การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การไต้กลับคืนของแทนนิน

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การได้กลับคืนของแทนนิน

จากการใช้สารละลายตัวอย่างเครื่องดื่มชาปรุงสำเร็จพร้อมดื่มปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร มาเติมสารละลายมาตรฐานคาทิชินเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 1.50 มิลลิลิตร

สารละลายมาตรฐานคาทิชิน เข้มข้น 5 mg/L ปริมาตร 1.5 mL

สารละลายมาตรฐาน 1,000 mL มีปริมาณคาทิชิน 5 mg

สารละลายมาตรฐาน 1.50 mL มีปริมาณคาทิชิน $\frac{5\ \text{mg} \times 1.50\ \text{mL}}{1000\ \text{mL}}$

$= 0.0075$ mg

ดังนั้น ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานคาทิชินในสารละลาย spiked sample

สารละลาย spiked sample ปริมาตร 51.50 mL มีปริมาณคาทิชิน 0.0075 mg

สารละลาย spiked sample ปริมาตร 1,000 mL มีปริมาณคาทิชิน

$$\frac{0.0075\ \text{mg} \times 1000\ \text{mL}}{51.50\ \text{mL}} = 0.14\ \text{mg}$$

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานคาทิชินในสารละลาย spiked sample 0.14 mg/L

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การหาค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของแทนนินในสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร ที่เติมสารละลายมาตรฐานคาทิชินเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 1.50 มิลลิลิตร ดังตารางที่ 11 และตารางที่ 12

ตารางที่ 11 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสารละลายตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐานคาทิชิน

ตัวอย่าง	ค่าการดูดกลืนแสง			ค่าเฉลี่ย ± SD
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
A1	0.74	0.74	0.74	0.74 ± 0.000
A2	0.94	0.94	0.94	0.94 ± 0.000
A3	0.83	0.83	0.82	0.83 ± 0.006
A4	0.77	0.77	0.78	0.77 ± 0.006
A5	0.83	0.83	0.84	0.83 ± 0.006

ตารางที่ 12 ความเข้มข้นของแทนนินที่พบในสารตัวอย่าง ที่มีการเติมสารละลายมาตรฐานคาทิชินเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของแทนนิน (มิลลิกรัมต่อลิตร)			ค่าเฉลี่ย ± SD
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
A1	0.59	0.59	0.59	0.59 ± 0.000
A2	0.80	0.80	0.80	0.80 ± 0.000
A3	0.69	0.69	0.68	0.69 ± 0.006
A4	0.62	0.62	0.64	0.63 ± 0.012
A5	0.69	0.69	0.70	0.69 ± 0.006

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การหาค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของแทนนินในสารละลายตัวอย่างที่ไม่เติมสารละลายมาตรฐานคาทิชิน ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร ดังตารางที่ 13 และตารางที่ 14

ตารางที่ 13 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสารละลายตัวอย่างที่ไม่เติมสารละลายมาตรฐานคาทิชิน

ตัวอย่าง	ค่าการดูดกลืนแสง			ค่าเฉลี่ย ± SD
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
A1	0.61	0.60	0.61	0.61 ± 0.006
A2	0.80	0.80	0.82	0.81 ± 0.012
A3	0.70	0.69	0.69	0.69 ± 0.006
A4	0.64	0.64	0.63	0.64 ± 0.006
A5	0.70	0.69	0.70	0.70 ± 0.006

ตารางที่ 14 ความเข้มข้นของแทนนินที่พบในสารตัวอย่างที่ไม่เติมสารละลายมาตรฐานคาทิชิน

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของแทนนิน (มิลลิกรัมต่อลิตร)			ค่าเฉลี่ย ± SD
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
A1	0.46	0.45	0.46	0.46 ± 0.006
A2	0.66	0.66	0.68	0.67 ± 0.012
A3	0.55	0.54	0.54	0.55 ± 0.006
A4	0.49	0.49	0.48	0.49 ± 0.006
A5	0.55	0.54	0.55	0.55 ± 0.006

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สามารถคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การได้กลับคืนของแทนนินได้ ดังตารางที่ 15

ตารางที่ 15 เปอร์เซ็นต์การได้กลับคืน

ตัวอย่าง	เติมสารละลายมาตรฐานคาทิชิน		ไม่เติมสารละลายมาตรฐานคาทิชิน		เปอร์เซ็นต์การได้กลับคืน (%Recovery)
	ค่าการดูดกลืนแสง	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
A1	0.74	0.59	0.61	0.46	92.86
A2	0.94	0.80	0.81	0.67	92.86
A3	0.83	0.69	0.69	0.55	100.00
A4	0.77	0.63	0.64	0.49	100.00
A5	0.83	0.69	0.70	0.55	100.00

จากตารางที่ 15 สามารถหา % Recovery โดยคำนวณได้จากสูตร ดังนี้

$$\%\ \text{Recovery} = \frac{C_S - C_U}{C} \times 100$$

เมื่อ C_S = ความเข้มข้นของสารตัวอย่างหลังเติมสารละลายมาตรฐาน (spiked sample)

C_U = ความเข้มข้นของสารตัวอย่างก่อนเติมสารละลายมาตรฐาน (unspiked sample)

C = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงไป

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เช่น ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างก่อนเติมสารละลายมาตรฐานที่วัดได้ 0.46 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างหลังเติมสารละลายมาตรฐานที่วัดได้ 0.59 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงไป 0.14 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้น

$$\text{เปอร์เซ็นต์การได้กลับคืน} = \frac{0.59 - 0.46}{0.14} \times 100$$

$$= 92.86$$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ง

ขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of Detection, LOD)

ขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การศึกษาความถูกต้องของวิธีที่ทำการวิเคราะห์ (Jame N. Miller & Jane C. Miller, 2000)

การหาขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of Detection, LOD) ใช้ข้อมูลจากกราฟมาตรฐาน เพื่อนำไปวิเคราะห์หาขีดจำกัดของวิธีวิเคราะห์ที่สามารถตรวจพบปริมาณต่ำสุดของสารที่ต้องการวิเคราะห์ได้ หาได้จากข้อมูลที่ใช้สร้างกราฟมาตรฐาน แล้วนำมาคำนวณโดยใช้สูตร

$$LOD = y = y_B + 3S_B$$

y_B คือค่าจุดตัดแกน y ที่ได้จากสมการเส้นตรงในการสร้างกราฟมาตรฐาน

S_B คือส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของแบลงค์

นำข้อมูลจากตารางที่ 4 และภาพที่ 10 มาหาค่า S_B จากสูตร

$$S_B = S_{y/x} = \{\sum(y_i - \hat{y})^2 / n-2\}^{1/2}$$

$S_B = S_{y/x}$ คือส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของแบลงค์

y_i คือค่า y ที่ได้จากการทดลอง (ค่าการดูดกลืนแสง)

$\hat{y}$ คือค่า y ที่ได้จากการแทนค่าลงในสมการเส้นตรง $y = 0.977x + 0.160$

n คือจำนวนข้อมูลที่ใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐาน

ตารางที่ 16 การคำนวณหาค่า $\hat{y}$, $y_i - \hat{y}$ และ $(y_i - \hat{y})^2$

ความเข้มข้นของแทนนิน (มิลลิกรัม/ลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง (y_i)	$\hat{y}$	$y_i - \hat{y}$	$(y_i - \hat{y})^2$
0.20	0.33	0.36	-0.03	0.0009
0.40	0.58	0.56	0.02	0.0004
0.60	0.79	0.76	0.03	0.0009
0.80	0.96	0.96	0.00	0.0000
1.00	1.13	1.15	-0.02	0.0004
	n = 5			$\sum$ = 0.0026

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

แทนค่าลงในสูตร $S_B = S_{y/x} = \{\sum(y_i - \hat{y})^2 / n-2\}^{1/2}$

$= (0.0026/ 3)^{1/2}$

$= 0.0294$

y_B (ค่าจุดตัดแกน y ที่ได้จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน) = 0.160

หาค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด

แทนค่าลงในสูตร $y = y_B + 3S_B$

$= 0.160 + 3(0.0294)$

$= 0.2482$

จากสมการเส้นตรง $y = 0.977x + 0.160$

Limit of detection (LOD) $x = (0.2482 - 0.160) / 0.977$

$= 0.09$ มิลลิกรัม/ลิตร

การหา Limit of Quantitation (LOQ)

แทนค่าลงในสูตร $y = y_B + 10S_B$

$= 0.160 + 10(0.0294)$

$= 0.4540$

จากสมการเส้นตรง $y = 0.977x + 0.160$

Limit of Quantitation $x = (0.4540 - 0.160) / 0.977$

$= 0.30$ มิลลิกรัม/ลิตร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

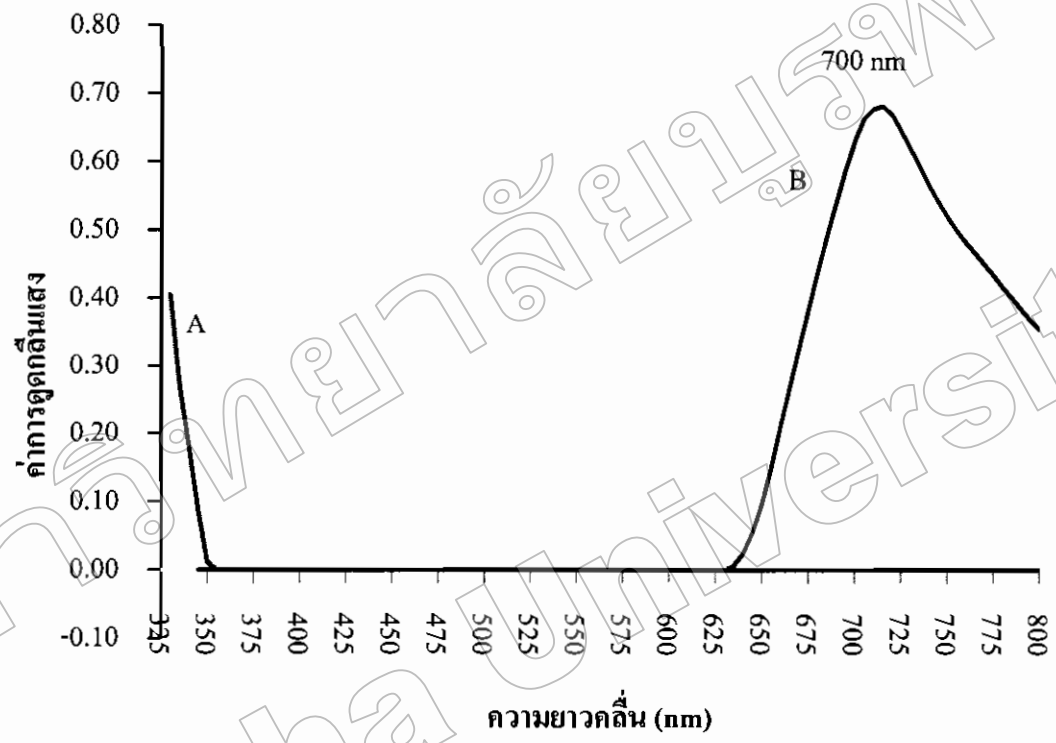
ภาคผนวก จ

การหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

การหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณแทนนิน

การแสกนหา λ_{max} ของสารละลายมาตรฐานคาทิชิน พบว่าค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารละลายมาตรฐานคาทิชิน ตรงกับค่าความยาวคลื่น 700 nm



ภาพที่ 12 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายแบลงค์และสารละลายมาตรฐานคาทิชิน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University