

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก ก

ผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธี

1. การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง

ตารางที่ 9 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นกรดแทนนิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง			
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย
0.03	0.0332	0.0298	0.0319	0.0316±0.0017
0.05	0.0508	0.0507	0.0443	0.0486±0.0037
0.10	0.0921	0.0924	0.0925	0.0923±0.0002
0.15	0.1417	0.1428	0.1455	0.1433±0.0020
0.20	0.1831	0.1846	0.1838	0.1838±0.0008
0.25	0.2257	0.2268	0.2276	0.2267±0.0010
0.30	0.2713	0.2728	0.2732	0.2724±0.0010
0.50	0.4543	0.4587	0.4577	0.4569±0.0023
1.00	0.7877	0.7868	0.7877	0.7874±0.0005
1.50	0.9875	0.9855	0.9915	0.9881±0.0031
2.00	1.3244	1.3228	1.3254	1.3242±0.0013
5.00	2.8731	2.8765	2.8740	2.8745±0.0018
10.00	5.0154	5.0161	5.0122	5.0146±0.0021
15.00	7.3454	7.3488	7.3460	7.3467±0.0018

2. กราฟมาตรฐาน

ตารางที่ 10 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง (A)			ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
0.05	0.0508	0.0507	0.0443	0.0486 $\pm$ 0.0037
0.10	0.0921	0.0924	0.0925	0.0923 $\pm$ 0.0002
0.15	0.1417	0.1428	0.1455	0.1433 $\pm$ 0.0020
0.20	0.1831	0.1846	0.1838	0.1838 $\pm$ 0.0008
0.25	0.2257	0.2268	0.2276	0.2267 $\pm$ 0.0010
0.30	0.2713	0.2728	0.2732	0.2724 $\pm$ 0.0010
0.50	0.4543	0.4587	0.4577	0.4569 $\pm$ 0.0023

3. การหาความเที่ยงในการวิเคราะห์

ตารางที่ 11 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้น 0.1 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตรเพื่อเป็นข้อมูลคำนวณหาความเที่ยง ($n=5$)

ครั้งที่	ค่าการดูดกลืนแสง	
	0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร	0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร
1	0.0923	0.2261
2	0.0927	0.2267
3	0.0923	0.2258
4	0.0925	0.2262
5	0.0923	0.2273
เฉลี่ย	0.0924	0.2264
S D	0.0002	0.0006
%RSD	0.19	0.25

4. การวิเคราะห์ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ (Limit of Detection, LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์หาปริมาณ (Limit of Quantification, LOQ)

ตารางที่ 12 แสดงการคำนวณทางสถิติของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อคำนวณหาขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์หาปริมาณ

X_i	Y_i	$Y_i^{\wedge}$	$(Y_i - Y_i^{\wedge})$	$(Y_i - Y_i^{\wedge})^2$
0.05	0.0486	0.0484	0.0002	3.42E-08
0.10	0.0923	0.0936	-0.0013	1.68E-06
0.15	0.1433	0.1388	0.0045	2.01E-05
0.20	0.1838	0.1841	-0.0002	5.14E-08
0.25	0.2267	0.2293	-0.0003	6.63E-06
0.30	0.2724	0.2745	-0.0021	4.23E-06
0.50	0.4569	0.4554	0.0016	2.40E-06
$\sum (Y_i - Y_i^{\wedge})^2 =$				0.0000352

จากสูตร

$$S_b = S_{y \cdot x} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}}$$

$$= 0.0027$$

จากสมการเชิงเส้น $y = 0.9043x + 0.0032$ จะได้ y_B เท่ากับ 0.0032 และ S_b เท่ากับ 0.0027 นำไปแทนค่าในสมการของ Limit of Detection, (LOD) ดังนี้

$$\text{Limit of Detection} = y_B + 3S_b$$

$$\text{จะได้ค่า LOD ที่แทน } y = 0.0032 + (3 \times 0.0027)$$

$$= 0.0112 \text{ มิลลิกรัมต่อลิตร}$$

นำค่า y ที่ได้มาแทนค่าในสมการเชิงเส้นของกราฟมาตรฐาน เพื่อคำนวณหาค่า x ที่เป็นขีดจำกัดของการวิเคราะห์ มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร

$$\begin{aligned} \text{จากสมการ } y &= 0.9043x + 0.0032 \\ x &= \frac{(0.0112 - 0.0032)}{0.9043} \\ x &= 0.0088 \text{ มิลลิกรัมต่อลิตร} \end{aligned}$$

$$\text{Limit of Quantification} = y_B + 10S_B$$

$$\begin{aligned} \text{จะได้ค่า LOD ที่แทน } y &= 0.0032 + (10 \times 0.0027) \\ &= 0.0297 \text{ มิลลิกรัมต่อลิตร} \end{aligned}$$

นำค่า y ที่ได้มาแทนค่าในสมการเชิงเส้นของกราฟมาตรฐาน เพื่อคำนวณหาค่า x ที่เป็นขีดจำกัดของการวิเคราะห์หาปริมาณ มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร

$$\begin{aligned} \text{จากสมการ } y &= 0.9043x + 0.0032 \\ x &= \frac{(0.0297 - 0.0032)}{0.9043} \\ x &= 0.0293 \text{ มิลลิกรัมต่อลิตร} \end{aligned}$$

5. การคำนวณหาร้อยละการได้กลับคืนของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก

จากการใช้ตัวอย่างถูกพลับปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เติมสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก เข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 0.2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยรีเอเจนต์ต่างๆ เป็น 100 มิลลิลิตร

$$\begin{aligned} \text{สารละลายมาตรฐาน } 1,000 \text{ มิลลิลิตร} & \text{ มีปริมาณแทนนิน } 50 \text{ มิลลิกรัม} \\ \text{สารละลายมาตรฐาน } 0.2 \text{ มิลลิลิตร} & \text{ มีปริมาณแทนนิน } = \frac{0.2 \times 50}{1000} \\ & = 0.01 \text{ มิลลิกรัม} \end{aligned}$$

ดังนั้น ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกในสารละลาย spiked sample

$$\begin{aligned} \text{สารละลาย spiked sample ปริมาตร } 100 \text{ มิลลิลิตร} & \text{ มีปริมาณแทนนิก } 0.01 \text{ มิลลิกรัม} \\ \text{สารละลาย spiked sample ปริมาตร } 1,000 \text{ มิลลิลิตร} & \text{ มีปริมาณแทนนิก } \frac{1000 \times 0.01}{100} \\ & = 0.1 \text{ มิลลิกรัม} \end{aligned}$$

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก ในสารละลาย spiked sample 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

หมายเหตุ เตรียมความเข้มข้นเติมสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก โดยเติมสารละลายมาตรฐาน กรดแทนนิกเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 0.5 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะให้ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก ในสารละลาย spiked sample 0.25 มิลลิกรัม ต่อลิตร

การหาค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของกรดแทนนิกในตัวอย่างถูกพลับ ที่เติม สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.2 และ 0.25 มิลลิลิตร ดังตารางที่ 13 และ 14

ตารางที่ 13 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของแทนนินในถูกพลับ ที่มีการเติมสารละลายมาตรฐาน กรดแทนนิกทำให้ได้ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

วิธีการบ่ม	ส่วนวิเคราะห์	ค่าการดูดกลืนแสง			ค่าเฉลี่ย
		1	2	3	
สนสามใบ	เปลือก	0.1417	0.1427	0.1420	0.1421±0.0005
	เนื้อ	0.1366	0.1395	0.1487	0.1416±0.0063
	เปลือกและเนื้อ	0.1801	0.1715	0.1738	0.1751±0.0045

ตารางที่ 13 (ต่อ)

วิธีการบ่ม	ส่วนวิเคราะห์	ค่าการดูดกลืนแสง			ค่าเฉลี่ย
		1	2	3	
เอทานอล	เปลือก	0.2500	0.2509	0.2510	0.2506±0.0006
	เนื้อ	0.2506	0.2514	0.2535	0.2518±0.0015
	เปลือกและเนื้อ	0.2662	0.2653	0.2697	0.2671±0.0023
อะเซทิลีน	เปลือก	0.1573	0.1544	0.1563	0.1560±0.0015
	เนื้อ	0.1398	0.1425	0.1469	0.1431±0.0036
	เปลือกและเนื้อ	0.1559	0.1534	0.1579	0.1557±0.0023
น้ำปูนใส	เปลือก	0.1538	0.1555	0.1578	0.1557±0.0020
	เนื้อ	0.1500	0.1517	0.1432	0.1483±0.0045
	เปลือกและเนื้อ	0.1485	0.1445	0.1415	0.1448±0.0035

ตารางที่ 14 แสดงค่าการดูดกลืนแสงแทนนินในลูกพลับ ที่มีการเติมสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก ทำให้ได้ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร

วิธีการบ่ม	ส่วนวิเคราะห์	ค่าการดูดกลืนแสง			ค่าเฉลี่ย
		1	2	3	
สนสามใบ	เปลือก	0.2825	0.2778	0.2759	0.2787±0.0034
	เนื้อ	0.2758	0.2764	0.2715	0.2746±0.0027
	เปลือกและเนื้อ	0.3125	0.3025	0.3113	0.3088±0.0055
เอทานอล	เปลือก	0.3787	0.3794	0.3778	0.3786±0.0008
	เนื้อ	0.3844	0.3833	0.3937	0.3871±0.0057
	เปลือกและเนื้อ	0.3965	0.4018	0.3977	0.3987±0.0028
อะเซทิลีน	เปลือก	0.2889	0.2868	0.2889	0.2882±0.0012
	เนื้อ	0.2752	0.2808	0.2754	0.2771±0.0032
	เปลือกและเนื้อ	0.2899	0.2957	0.2929	0.2928±0.0029

ตารางที่ 14 (ต่อ)

วิธีการบ่ม	ส่วนวิเคราะห์	ค่าการดูดกลืนแสง			ค่าเฉลี่ย
		1	2	3	
น้ำปูนใส	เปลือก	0.2852	0.2865	0.2864	0.2860±0.0007
	เนื้อ	0.2849	0.2800	0.2809	0.2819±0.0026
	เปลือกและเนื้อ	0.2694	0.2787	0.2779	0.2753±0.0052

ตารางที่ 15 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของแทนนินในลูกพลับที่ได้จากวิธีการบ่มต่าง ๆ ที่ไม่มีการเติมสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก

วิธีการบ่ม	ส่วนวิเคราะห์	ค่าการดูดกลืนแสง			ค่าเฉลี่ย
		1	2	3	
สนสามใบ	เปลือก	0.0487	0.0500	0.0687	0.0558±0.0112
	เนื้อ	0.0427	0.0577	0.0585	0.0530±0.0089
	เปลือกและเนื้อ	0.0871	0.0850	0.0885	0.0869±0.0018
เอทานอล	เปลือก	0.1589	0.1596	0.1694	0.1626±0.0059
	เนื้อ	0.1544	0.1651	0.1706	0.1634±0.0082
	เปลือกและเนื้อ	0.1766	0.1791	0.1774	0.1777±0.0013
อะเซทิลีน	เปลือก	0.0889	0.0639	0.0510	0.0679±0.0193
	เนื้อ	0.0562	0.0523	0.0542	0.0542±0.0020
	เปลือกและเนื้อ	0.0697	0.0676	0.0681	0.0685±0.0011
น้ำปูนใส	เปลือก	0.0552	0.0720	0.0758	0.0677±0.0110
	เนื้อ	0.0557	0.0629	0.0596	0.0594±0.0036
	เปลือกและเนื้อ	0.0608	0.0570	0.0551	0.0576±0.0029

ตารางที่ 16 แสดงความเข้มข้นของแทนนินที่พบในตัวอย่างลูกพลับที่ได้จากวิธีการบ่มต่าง ๆ ที่มี
การเติมสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก ทำให้ได้ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

วิธีการบ่ม	ส่วนวิเคราะห์	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)			ค่าเฉลี่ย
		1	2	3	
สนสามใบ	เปลือก	0.1532	0.1543	0.1535	0.1536±0.0006
	เนื้อ	0.1475	0.1507	0.1609	0.1530±0.0070
	เปลือกและเนื้อ	0.1956	0.1861	0.1887	0.1901±0.0049
แถมด้วยเอทานอล	เปลือก	0.2729	0.2739	0.2740	0.2736±0.0006
	เนื้อ	0.2736	0.2745	0.2768	0.2749±0.0017
	เปลือกและเนื้อ	0.2908	0.2898	0.2947	0.2918±0.0026
แก๊สอะเซทิลีน	เปลือก	0.1704	0.1672	0.1693	0.1690±0.0016
	เนื้อ	0.1511	0.1540	0.1589	0.1547±0.0040
	เปลือกและเนื้อ	0.1689	0.1661	0.1711	0.1687±0.0025
แช่น้ำปูนใส	เปลือก	0.1665	0.1684	0.1710	0.1686±0.0022
	เนื้อ	0.1623	0.1642	0.1548	0.1605±0.0050
	เปลือกและเนื้อ	0.1607	0.1563	0.1529	0.1566±0.0039

ตารางที่ 17 แสดงความเข้มข้นของแทนนินที่พบในตัวอย่างลูกพลับที่ได้จากวิธีการบ่มต่าง ๆ ที่มี
การเติมสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก ทำให้ได้ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร

วิธีการบ่ม	ส่วนวิเคราะห์	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)			ค่าเฉลี่ย
		1	2	3	
สนสามใบ	เปลือก	0.3089	0.3037	0.3016	0.3047±0.0038
	เนื้อ	0.3014	0.3021	0.2967	0.3001±0.0030
	เปลือกและเนื้อ	0.3420	0.3310	0.3407	0.3379±0.0060
แถมด้วยเอทานอล	เปลือก	0.4152	0.4160	0.4142	0.4152±0.0009
	เนื้อ	0.4215	0.4203	0.4318	0.4246±0.0063
	เปลือกและเนื้อ	0.4349	0.4408	0.4362	0.4373±0.0031

ตารางที่ 17 (ต่อ)

วิธีการบ่ม	ส่วนวิเคราะห์	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)			ค่าเฉลี่ย
		1	2	3	
แก๊สอะเซทิลีน	เปลือก	0.3159	0.3136	0.3159	0.3152±0.0013
	เนื้อ	0.3008	0.3070	0.3010	0.3029±0.0035
	เปลือกและเนื้อ	0.3170	0.3235	0.3204	0.3203±0.0032
แช่น้ำปูนใส	เปลือก	0.3118	0.3133	0.3132	0.3128±0.0008
	เนื้อ	0.3115	0.3061	0.3071	0.3082±0.0029
	เปลือกและเนื้อ	0.2944	0.3047	0.3038	0.3009±0.0057

ตารางที่ 18 แสดงความเข้มข้นของแทนนินที่พบในตัวอย่างลูกพลับที่ได้จากวิธีการบ่มต่าง ๆ ที่ไม่มีการเติมสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก

วิธีการบ่ม	ส่วนวิเคราะห์	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)			ค่าเฉลี่ย
		1	2	3	
สนสามใบ	เปลือก	0.0503	0.0518	0.0724	0.0582±0.0124
	เนื้อ	0.0437	0.0603	0.0612	0.0550±0.0098
	เปลือกและเนื้อ	0.0928	0.0905	0.0943	0.0925±0.0019
ต้มด้วยเอทานอล	เปลือก	0.1722	0.1730	0.1838	0.1763±0.0065
	เนื้อ	0.1672	0.1790	0.1851	0.1771±0.0091
	เปลือกและเนื้อ	0.1918	0.1945	0.1926	0.1930±0.0014
แก๊สอะเซทิลีน	เปลือก	0.0948	0.0671	0.0529	0.0716±0.0213
	เนื้อ	0.0586	0.0543	0.0564	0.0564±0.0022
	เปลือกและเนื้อ	0.0735	0.0712	0.0718	0.0722±0.0012
แช่น้ำปูนใส	เปลือก	0.0575	0.0761	0.0803	0.0713±0.0121
	เนื้อ	0.0581	0.0660	0.0624	0.0621±0.0040
	เปลือกและเนื้อ	0.0637	0.0595	0.0574	0.0602±0.0032

จากตารางที่ 13-15 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

เช่น ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างก่อนเติมสารละลายมาตรฐานที่วัดได้ 0.06 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างหลังเติมสารละลายมาตรฐานที่วัดได้ 0.30 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงไป 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้น

$$\begin{aligned} \text{ร้อยละการได้กลับคืน} &= \frac{0.30 - 0.06}{0.25} \times 100 \\ &= 96.0\% \end{aligned}$$

คำนวณหาร้อยละการได้กลับคืนของแทนนินที่ความเข้มข้น 0.1 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ผลดังตารางที่ 4 และ 5