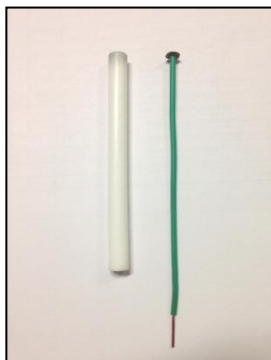


ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

หมวด ก-1 การประกอบขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพส



รูปที่ ก-1.1 หลอดทองแดง และ แท่งเทฟลอน



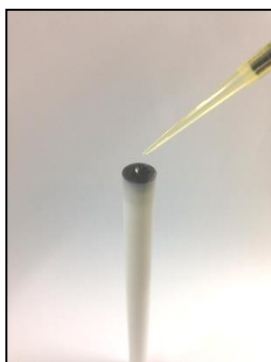
รูปที่ ก-1.2 การประกอบขั้วไฟฟ้า



รูปที่ ก-1.3 คาร์บอนเพส



รูปที่ ก-1.4 ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพส

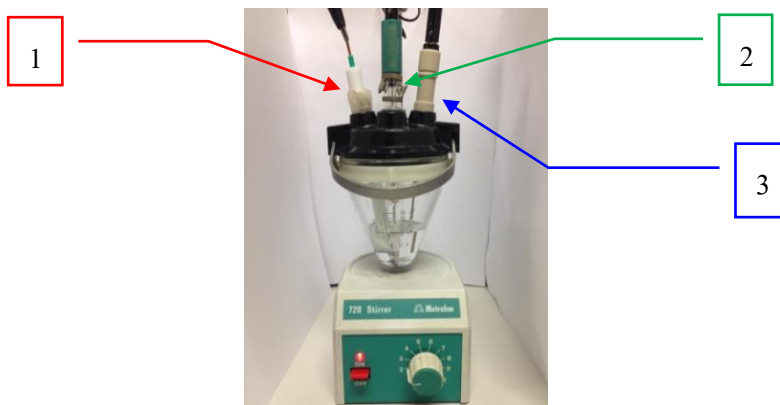


รูปที่ ก-1.5 การตรึงเอนไซม์อัลคาไลน์
ฟอสฟาเตสบนผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า

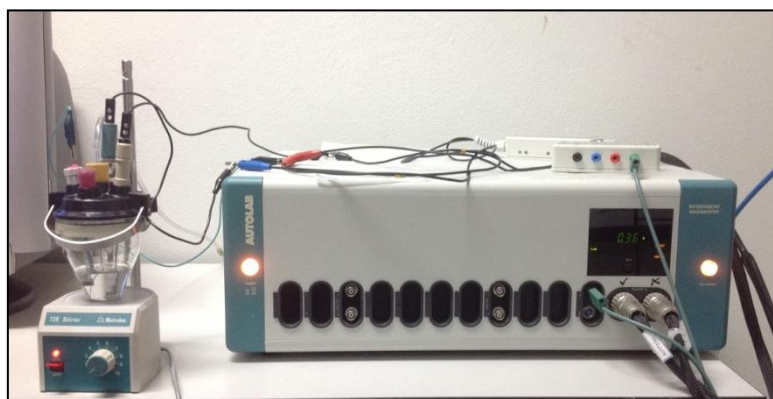


รูปที่ ก-1.6 การตรึงกลูตารัลดีไฮด์

หมวด ก-2 การประกอบขั้วไฟฟ้าทั้งสามขั้วเข้ากับเซลล์ไฟฟ้าของเครื่องวิเคราะห์ไฟฟ้า



รูปที่ ก-2.1 การประกอบเซลล์ขั้วไฟฟ้า (1) ขั้วไฟฟ้าใช้งานคาร์บอนพาสต์ (2) ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl (3) ขั้วไฟฟ้าแพลทินัม (Pt)



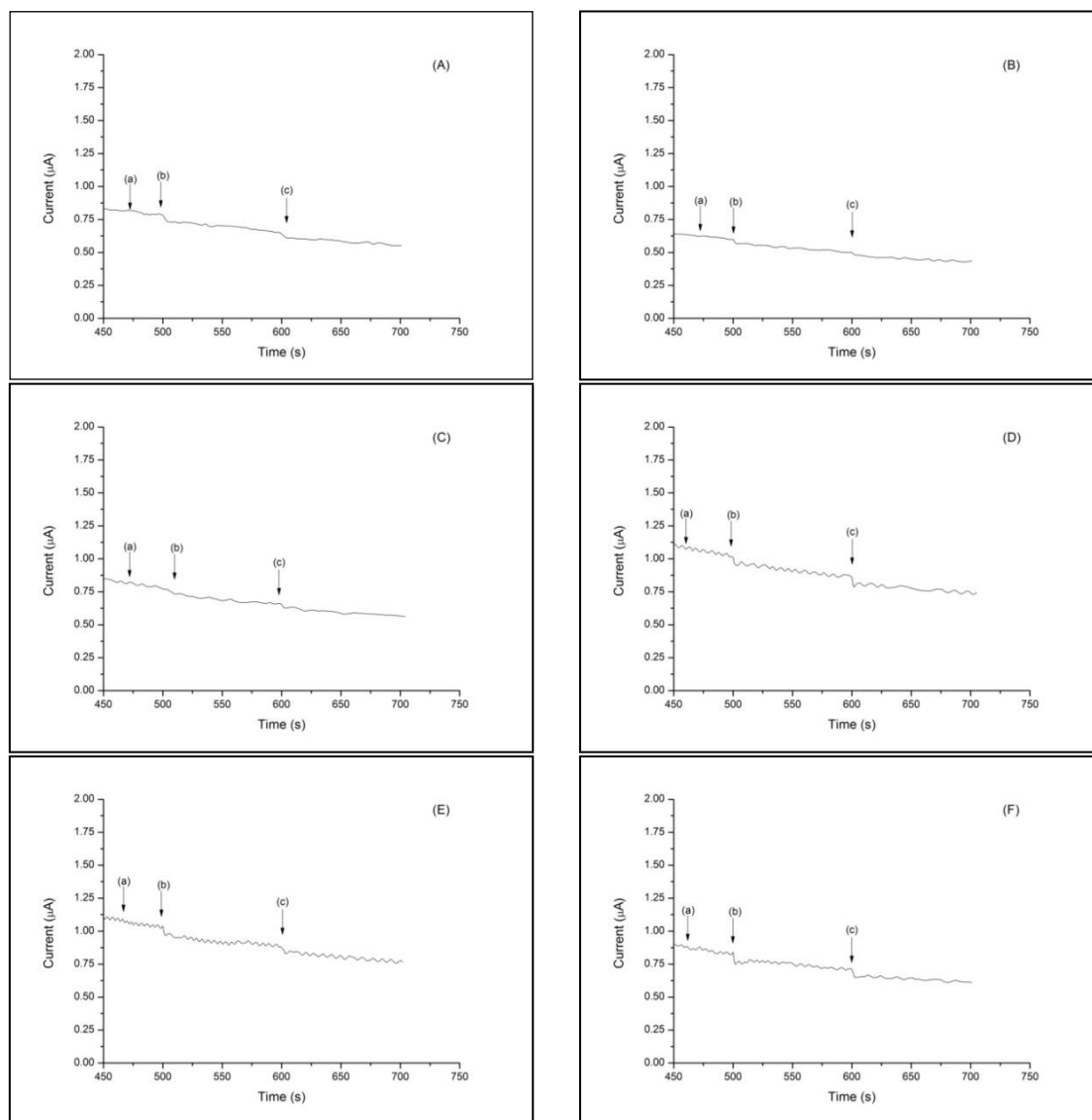
รูปที่ ก-2.2 การต่อเซลล์ขั้วไฟฟ้า (1) เข้ากับเครื่องควบคุมศักย์ไฟฟ้า

ภาคผนวก ข

ผลการทดลองการวิเคราะห์ประสิทธิภาพของไบโอเซนเซอร์ เพื่อตรวจวัดหาปริมาณคาร์โบฟูแรน

หมวดที่ ข-1 ศึกษาสถานะที่เหมาะสมต่อการทำงานของไบโอเซนเซอร์

หมวดที่ ข-1.1 การศึกษาปริมาณของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส



รูปที่ ข-1.1 ความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณกระแสและเวลา โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสที่ตรึงด้วยเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส 0.6, 1.2, 1.8, 2.4, 3.0 และ 3.6 ยูนิตต่อตารางเซนติเมตร ตามลำดับ ระยะเวลาในการเชื่อมขั้วเอนไซม์กับ กลูตาไรลดีไฮด์ 5 นาที ปริมาณของไบนเซอร์อัลบูมิน ร้อยละ 8 โดยมวลต่อปริมาตร ศักย์กระตุ้น +0.75 โวลต์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8.0 โดย (a) สารละลายไดโซเดียมฟีนิลฟอสเฟต 3200 มิลลิกรัมต่อลิตร, (b) สารละลายแบลงค์, (c) สารละลายคาร์โบฟูแรน 6 มิลลิกรัมต่อลิตร

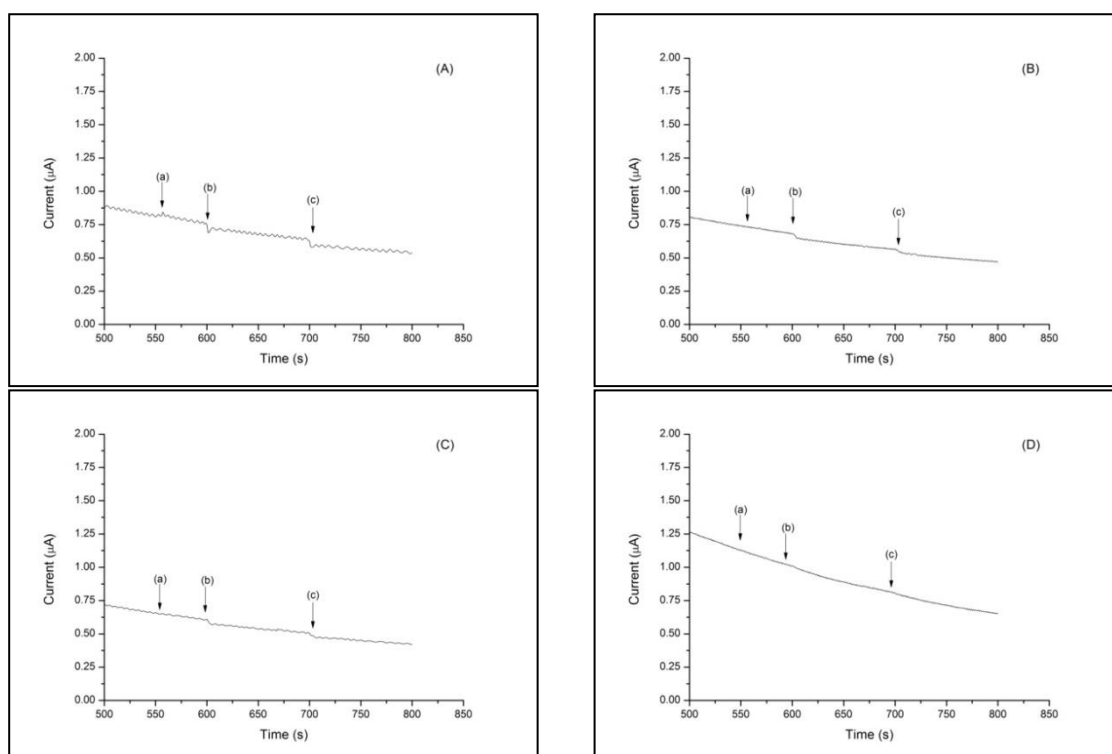
จากข้อมูลรูปที่ ข-1.1 สามารถนำข้อมูลมาคำนวณหาร้อยละของการยับยั้งด้วยคาร์โบฟูแรน โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสที่ตรึงด้วยเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ได้ข้อมูลดังตารางที่ ข-1.1

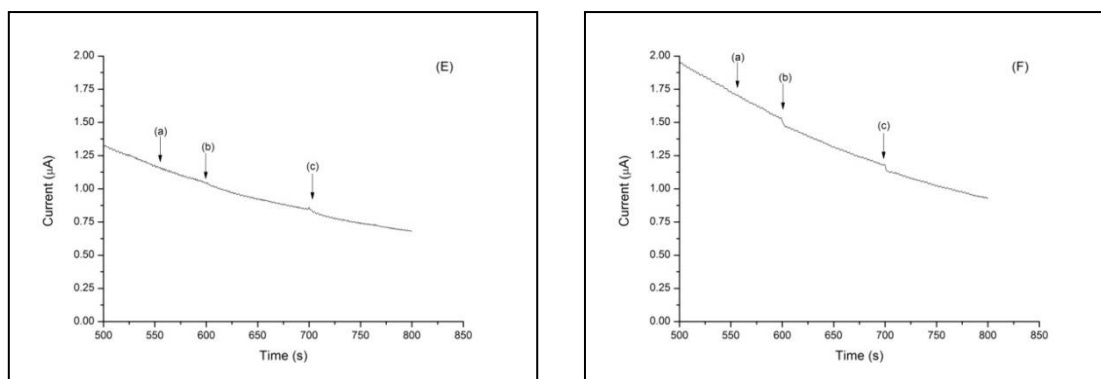
ตารางที่ ข-1.1 ร้อยละของการยับยั้งด้วยคาร์โบฟูแรนและปริมาณเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส โดยใช้
 ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสที่ตรึงด้วยเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ศึกษาด้วยเทคนิคโครโนแอมเพโรเมทรี

ปริมาณของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (unit.cm ⁻²)	ร้อยละของการยับยั้ง (%) ^a (Mean ± SD); (n=3)
0.6	12.69 ± 1.06
1.2	12.75 ± 0.41
1.8	12.71 ± 1.20
2.4	12.99 ± 1.41
3.0	11.67 ± 0.61
3.6	12.19 ± 1.62

^a ร้อยละของการยับยั้ง = (กระแสพื้นหลัง - กระแสที่ได้จากการเกิดปฏิกิริยา) / กระแสพื้นหลัง * 100

หมวดที่ ข-1.2 การศึกษาระยะเวลาในการเชื่อมโยงเอนไซม์กับกลูตารัลดีไฮด์





รูปที่ ข-1.2 ความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณกระแสและเวลา โดยระยะเวลาในการเชื่อมไขว้เอนไซม์กับกลูตารัลดีไฮด์ 0, 5, 10, 15, 20 และ 30 นาที ตามลำดับ ใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสที่ตรึงด้วยเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส 1.2 ยูนิตต่อตารางเซนติเมตร ปริมาณของโบวินเซรัมอัลบูมิน ร้อยละ 8 โดยมวลต่อปริมาตร ศักย์กระตุ้น +0.75 โวลต์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8.0 โดย (a) สารละลายไดโซเดียมฟีนิลฟอสเฟต 3200 มิลลิกรัมต่อลิตร, (b) สารละลายแบลงค์, (c) สารละลายคาร์โบฟูแรน 6 มิลลิกรัมต่อลิตร

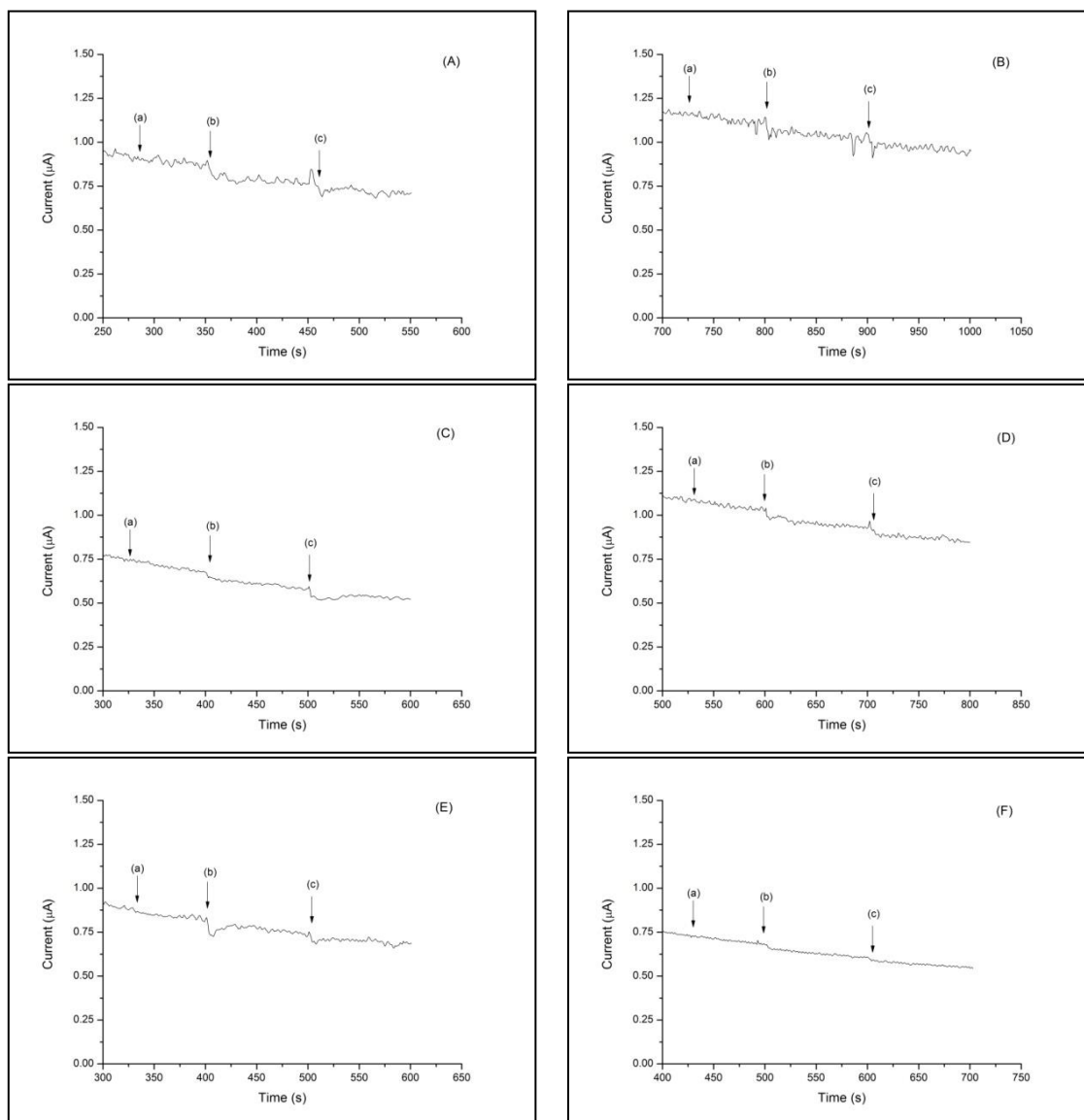
จากข้อมูลรูปที่ ข-1.2 สามารถนำข้อมูลมาคำนวณหาร้อยละของการยับยั้งด้วยคาร์โบฟูแรน โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสที่ตรึงด้วยเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ได้ข้อมูลดังตารางที่ ข-1.2

ตารางที่ ข-1.2 ร้อยละของการยับยั้งด้วยคาร์โบฟูแรนและระยะเวลาในการเชื่อมไขว้เอนไซม์กับกลูตารัลดีไฮด์ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสที่ตรึงด้วยเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ศึกษาด้วยเทคนิคโครโนแอมเพโรเมทรี

ระยะเวลาในการเชื่อมไขว้เอนไซม์กับ กลูตารัลดีไฮด์ (min)	ร้อยละของการยับยั้ง (%) ^a (Mean ± SD); (n=3)
0	14.55 ± 0.38
5	14.01 ± 0.54
10	15.29 ± 0.14
15	14.54 ± 0.01
20	13.83 ± 0.04
30	13.95 ± 1.02

$$\text{ร้อยละของการยับยั้ง} = (\text{กระแสพื้นหลัง} - \text{กระแสที่ได้จากการเกิดปฏิกิริยา}) / \text{กระแสพื้นหลัง} \times 100$$

หมวดที่ ข-1.3 การศึกษาปริมาณของโบวินเซรัมอัลบูมิน



รูปที่ ข-1.3 ความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณกระแสและเวลา โดยมีปริมาณของโบวินเซรัมอัลบูมิน ร้อยละ 2, 4, 6, 8 และ 10 โดยมวลต่อปริมาตร ตามลำดับ ใช้ไฟฟ้าคาร์บอนเพสที่ตรึงด้วยเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส 1.2 ยูนิตต่อตารางเซนติเมตร ระยะเวลาในการเชื่อมไขว่เอนไซม์กับ กลูตารัลดีไฮด์ 10 นาที ศักย์กระตุ้น +0.75 โวลต์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8.0 โดย (a) สารละลายไดโซเดียมฟีนิลฟอสเฟต 3200 มิลลิกรัมต่อลิตร, (b) สารละลายแบลงค์, (c) สารละลายคาร์โบฟูแรน 6 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากข้อมูลรูปที่ ข-1.3 สามารถนำข้อมูลมาคำนวณหาร้อยละของการยับยั้งด้วยคาร์โบฟูแรน โดยใช้ไฟฟ้าคาร์บอนเพสที่ตรึงด้วยเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ได้ข้อมูลดังตารางที่ ข-1.3

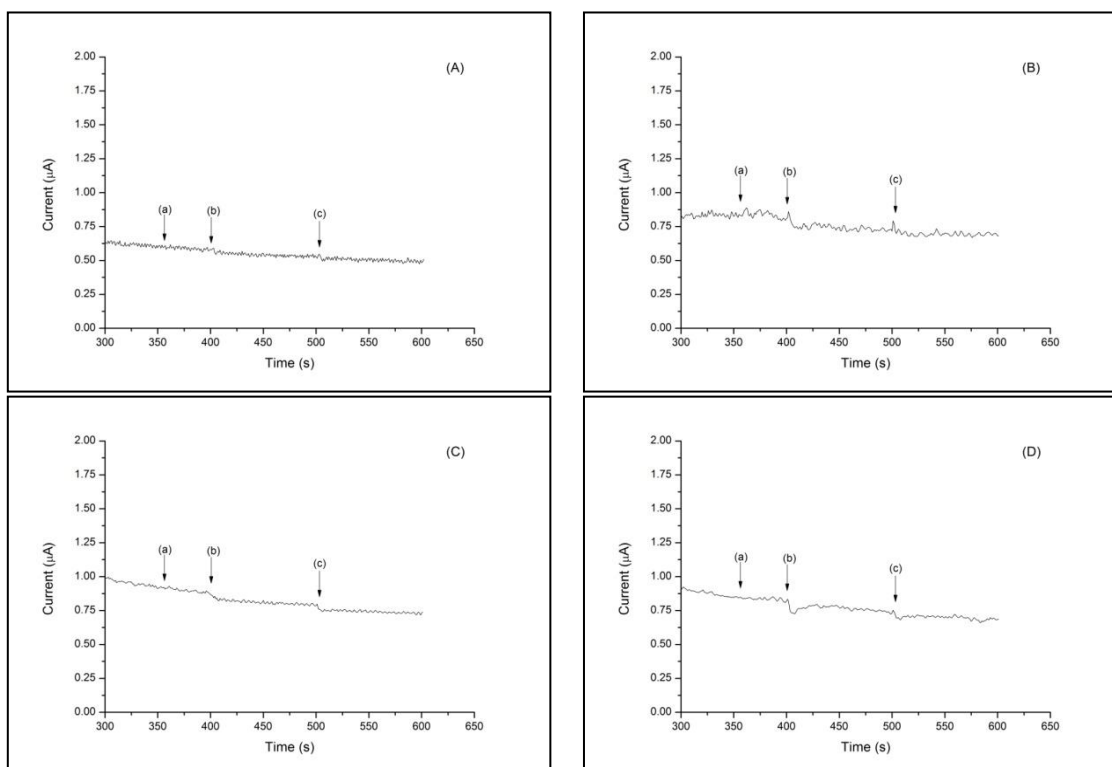
ตารางที่ ข-1.3 ร้อยละของการยับยั้งด้วยคาร์โบฟูแรนและปริมาณของโบวินเซรัมอัลบูมิน โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสที่ตรึงด้วยเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ศึกษาด้วยเทคนิคโครโนแอมเพโรเมทรี

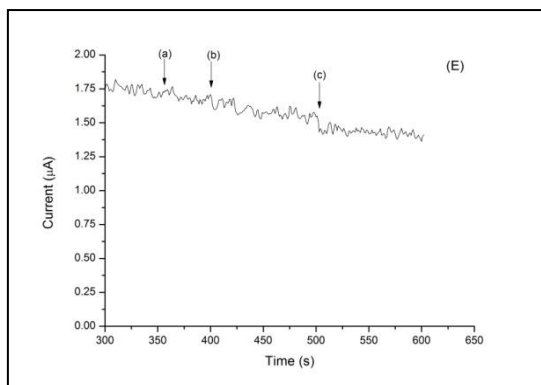
ปริมาณของโบวินเซรัมอัลบูมิน (% w/v) ^b	ร้อยละของการยับยั้ง (%) ^a (Mean $\pm$ SD); (n=3)
0	7.92 $\pm$ 2.28
2	8.07 $\pm$ 4.68
4	8.17 $\pm$ 2.67
6	8.21 $\pm$ 0.32
8	8.99 $\pm$ 0.34
10	7.96 $\pm$ 1.73

^a ร้อยละของการยับยั้ง = (กระแสพื้นหลัง - กระแสที่ได้จากการเกิดปฏิกิริยา) / กระแสพื้นหลัง * 100

^b ร้อยละของปริมาณโบวินเซรัมอัลบูมินในสารละลายเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส = (ปริมาณโบวินเซรัมอัลบูมิน / สารละลายเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส) * 100

หมวดที่ ข-1.4 การศึกษาปริมาณของไดโซเดียมฟีนิลฟอสเฟต





รูปที่ ข-1.4 ความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณกระแสและเวลา โดยใช้ปริมาณไตรโซเดียมฟีนิลฟอสเฟต เข้มข้น 1300, 2600, 3850, 5000 และ 6300 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสที่ตรึงด้วยเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส 1.2 ยูนิตต่อตารางเซนติเมตร ระยะเวลาในการเชื่อมต่อขั้วเอนไซม์กับ กลูตารัลดีไฮด์ 10 นาที ปริมาณของโบวีนเซรัมอัลบูมิน ร้อยละ 8 โดยมวลต่อปริมาตร ศักย์กระตุ้น +0.75 โวลต์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8.0 โดย (a) สารละลายไตรโซเดียมฟีนิลฟอสเฟต 3200 มิลลิกรัมต่อลิตร, (b) สารละลายแบลงค์, (c) สารละลายคาร์โบฟูแรน 6 มิลลิกรัมต่อลิตร

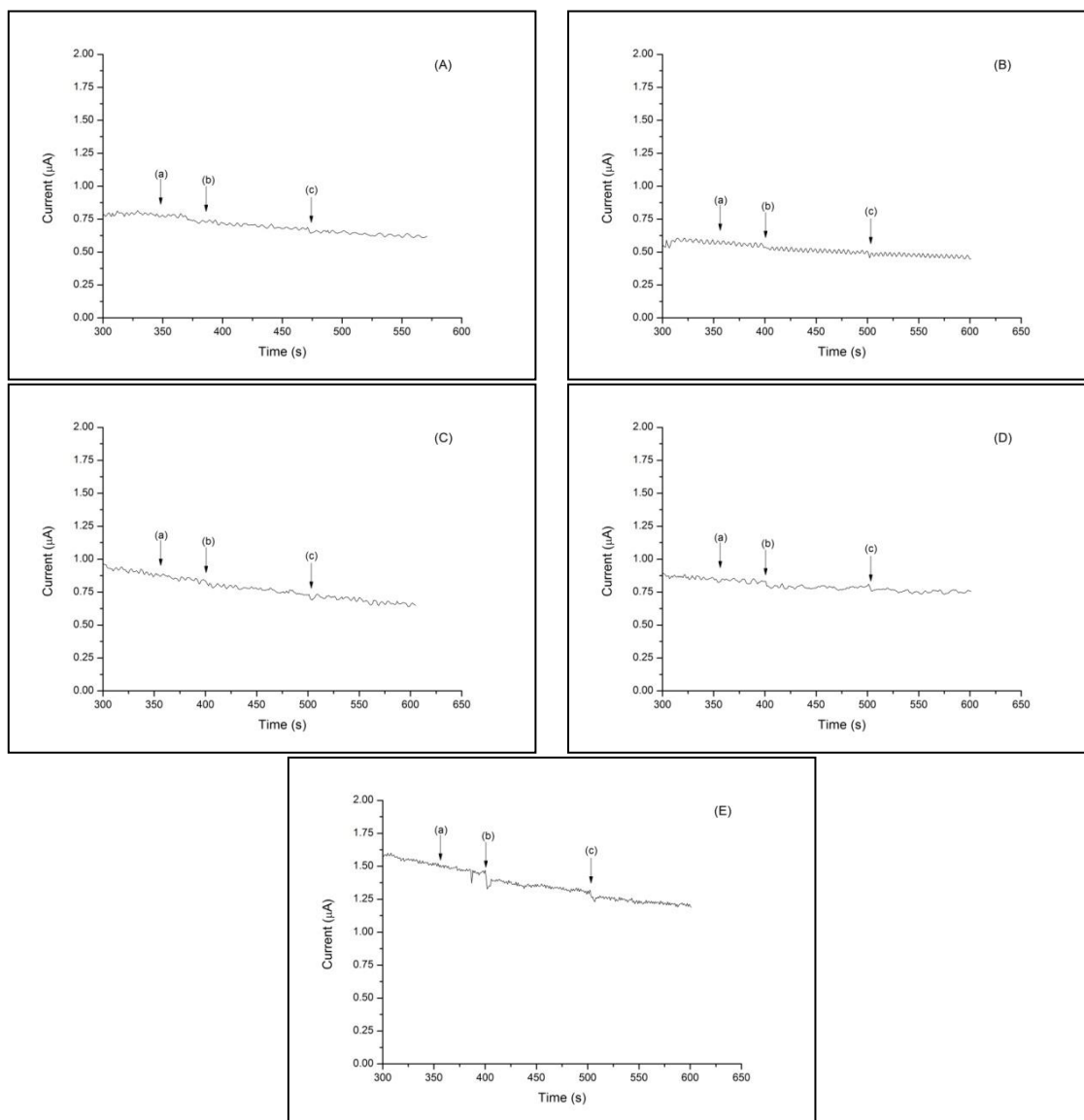
จากข้อมูลรูปที่ ข-1.4 สามารถนำข้อมูลมาคำนวณหาร้อยละของการยับยั้งด้วยคาร์โบฟูแรน โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสที่ตรึงด้วยเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ได้ข้อมูลดังตารางที่ ข-1.4

ตารางที่ ข-1.4 ร้อยละของการยับยั้งด้วยคาร์โบฟูแรนและปริมาณของไตรโซเดียมฟีนิลฟอสเฟต โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสที่ตรึงด้วยเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ศึกษาด้วยเทคนิคโครโนแอมเพโรเมทรี

ปริมาณของไตรโซเดียมฟีนิลฟอสเฟต (mg.L ⁻¹)	ร้อยละของการยับยั้ง (%) ^a (Mean ± SD); (n=3)
1300	7.99 ± 1.58
2600	7.99 ± 1.22
3850	8.29 ± 0.63
5000	8.99 ± 0.34
6250	8.50 ± 0.39

$$^a \text{ร้อยละของการยับยั้ง} = (\text{กระแสพื้นหลัง} - \text{กระแสที่ได้จากการเกิดปฏิกิริยา}) / \text{กระแสพื้นหลัง} \times 100$$

หมวดที่ ข-1.5 การศึกษา pH ที่เหมาะสมของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์



รูปที่ ข-1.5 ความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณกระแสและเวลา โดยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0, 7.5, 8.0, 8.5 และ 9.0 ตามลำดับ ใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสที่ตรึงด้วยเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส 1.2 ยูนิตต่อตารางเซนติเมตร ระยะเวลาในการเชื่อมต่อขั้วเอนไซม์กับ กลูตารัลดีไฮด์ 10 นาที ปริมาณของโบวีนเซรัมอัลบูมิน ร้อยละ 8 โดยมวลต่อปริมาตร ศักย์กระตุ้น +0.75 โวลต์ โดย (a) สารละลายไตรโซเดียมฟอสเฟต 5000 มิลลิกรัมต่อลิตร, (b) สารละลายแบลงค์, (c) สารละลายคาร์โบฟูแรน 6 มิลลิกรัมต่อลิตร

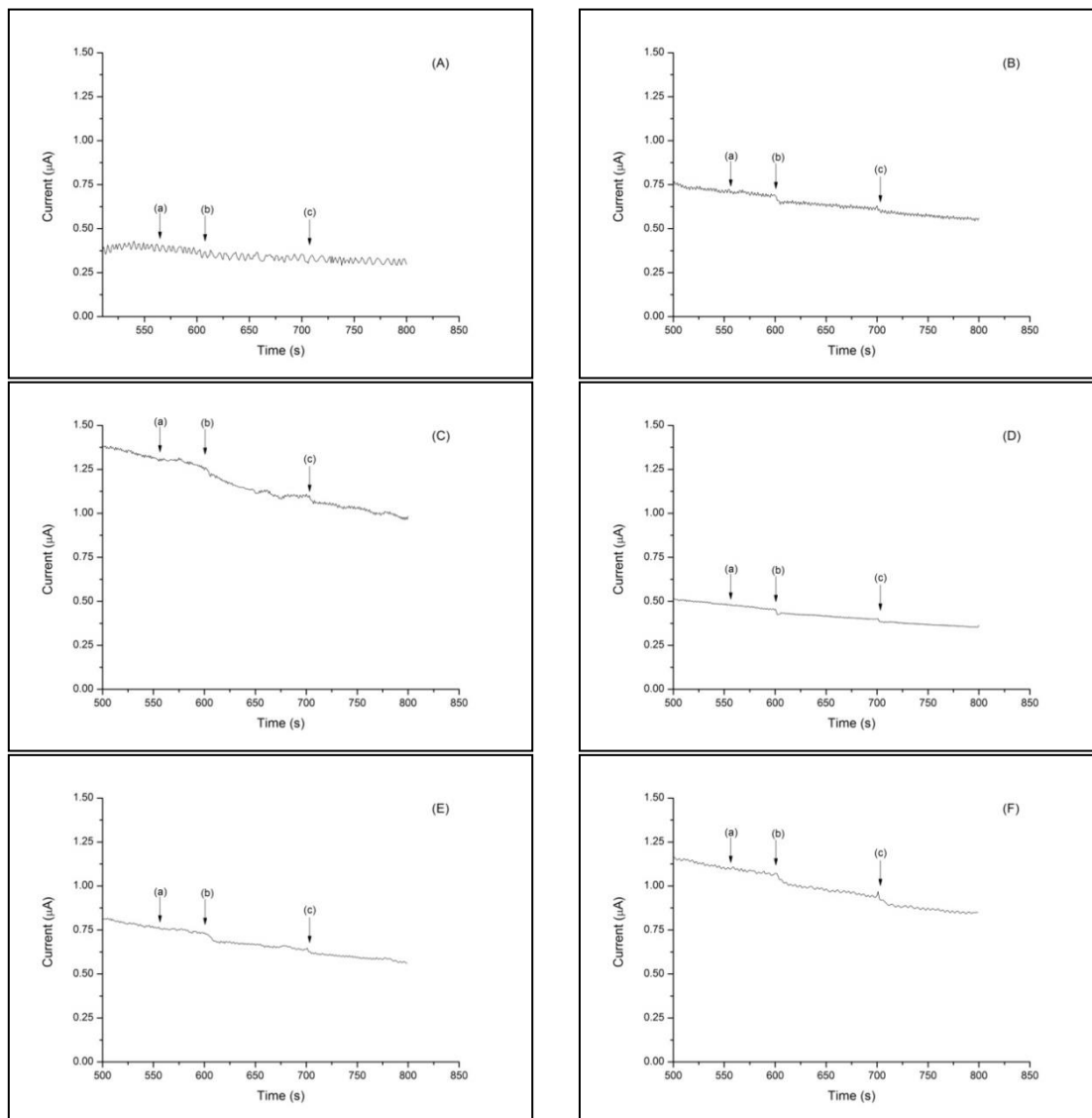
จากข้อมูลรูปที่ ข-1.5 สามารถนำข้อมูลมาคำนวณหาร้อยละของการยับยั้งด้วยคาร์โบฟูแรน โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสที่ตรึงด้วยเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ได้ข้อมูลดังตารางที่ ข-1.5

ตารางที่ ข-1.5 ร้อยละของการยับยั้งด้วยคาร์โบฟูแรนและ pH ของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ โดยใช้
ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสที่ตรึงด้วยเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ศึกษาด้วยเทคนิคโครโนแอมเพอโรเมทรี

pH ของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์	ร้อยละของการยับยั้ง (%) ^a (Mean $\pm$ SD); (n=3)
7.0	9.49 $\pm$ 0.71
7.5	10.14 $\pm$ 0.84
8.0	10.16 $\pm$ 0.09
8.5	10.71 $\pm$ 0.31
9.0	8.32 $\pm$ 1.83

^a ร้อยละของการยับยั้ง = (กระแสพื้นหลัง - กระแสที่ได้จากการเกิดปฏิกิริยา) / กระแสพื้นหลัง * 100

หมวดที่ ข-1.6 การศึกษาศักย์กระตุ้นที่เหมาะสม



รูปที่ ข-1.6 ความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณกระแสและเวลา โดยใช้ศักย์กระตุ้น ที่ +0.600, +0.700, +0.725, +0.750, +0.775 และ +0.800 โวลต์ ตามลำดับ ใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสที่ตรึงด้วยเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส 1.2 ยูนิตต่อตารางเซนติเมตร ตามลำดับ ระยะเวลาในการเชื่อมไขว่เอนไซม์กับ กลูตารัลดีไฮด์ 10 นาที ปริมาณของโบวีนเซรัมอัลบูมิน ร้อยละ 8 โดยมวลต่อปริมาตร ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8.0 โดย (a) สารละลาย ไคโซเดียมฟีนิลฟอสเฟต 5000 มิลลิกรัมต่อลิตร, (b) สารละลายแบลงค์, (c) สารละลายคาร์โบฟูแรน 6 มิลลิกรัมต่อลิตร

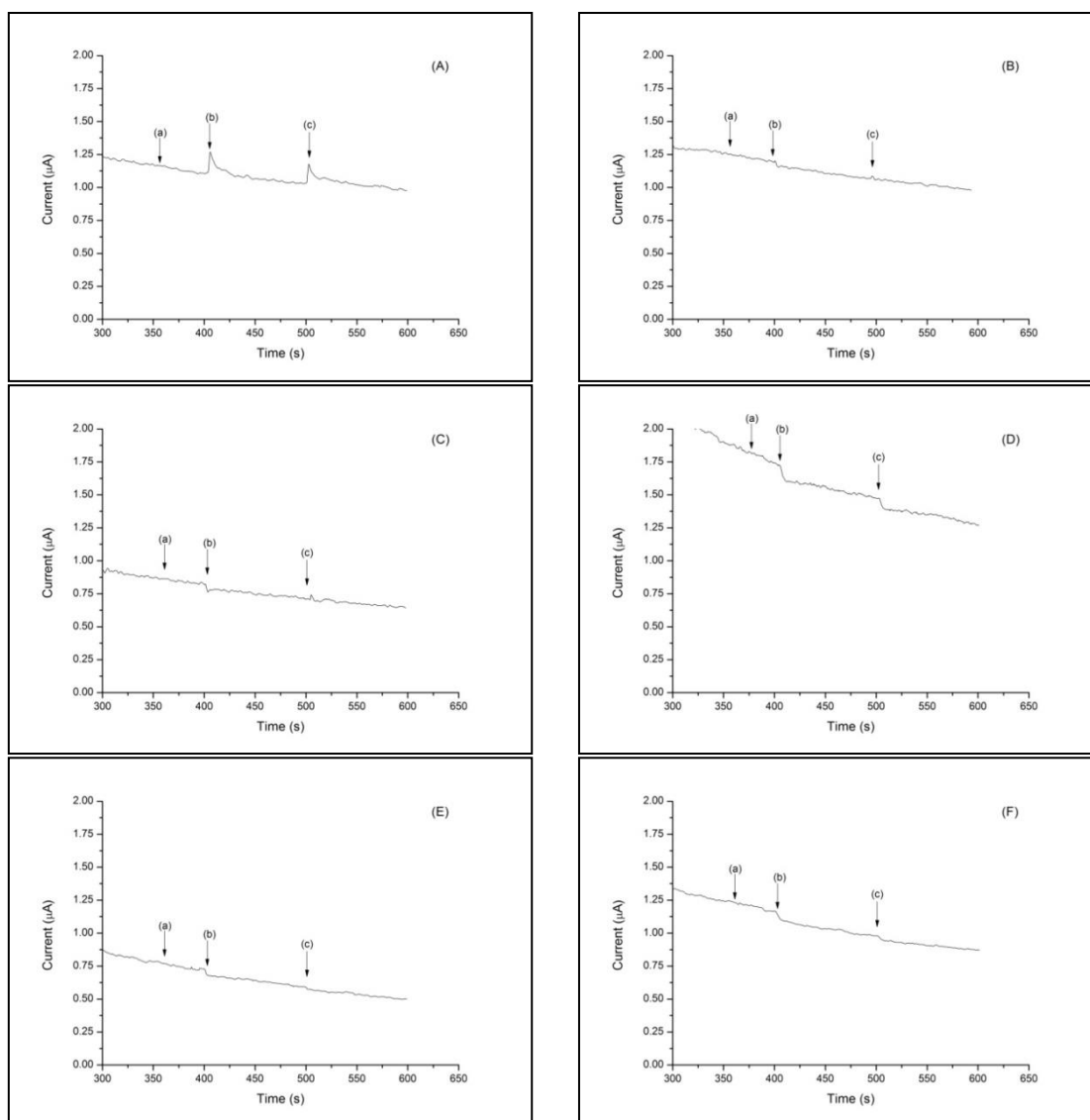
จากข้อมูลรูปที่ ข-1.6 สามารถนำข้อมูลมาคำนวณหาร้อยละของการยับยั้งด้วยคาร์โบฟูแรน โดยใช้ ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสที่ตรึงด้วยเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ได้ข้อมูลดังตารางที่ ข-1.6

ตารางที่ ข-1.6 ร้อยละของการยับยั้งด้วยคาร์โบฟูแรนและศักย์กระตุ้นที่เหมาะสม โดยใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอน
เพสที่ตรึงด้วยเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ศึกษาด้วยเทคนิคโครโนแอมเพอโรเมทรี

ศักย์กระตุ้นที่เหมาะสม (V vs Ag/AgCl)	ร้อยละของการยับยั้ง (%) ^a (Mean $\pm$ SD); (n=3)
+0.600	7.56 $\pm$ 0.96
+0.700	10.04 $\pm$ 0.17
+0.725	13.30 $\pm$ 0.66
+0.750	14.96 $\pm$ 0.64
+0.775	10.26 $\pm$ 0.56
+0.800	9.64 $\pm$ 0.27

^a ร้อยละของการยับยั้ง = (กระแสพื้นหลัง - กระแสที่ได้จากการเกิดปฏิกิริยา) / กระแสพื้นหลัง * 100

หมวดที่ ข-1.7 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสม



รูปที่ ข-1.7 ความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณกระแสและเวลา โดยใช้อุณหภูมิระบบในการวิเคราะห์ 20, 25, 30, 35, 37 และ 40 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ใช้ไฟฟ้าคาร์บอนเพสที่ตรึงด้วยเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส 1.2 ยูนิตต่อตารางเซนติเมตร ตามลำดับ ระยะเวลาในการเชื่อมต่อเอนไซม์กับ กลูตารัลดีไฮด์ 10 นาที ปริมาณของโพรวินเซิร์มอัลบูมิน ร้อยละ 8 โดยมวลต่อปริมาตร ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8.0 โดย (a) สารละลาย ไดโซเดียมฟีนิลฟอสเฟต 5000 มิลลิกรัมต่อลิตร, (b) สารละลายแบลงค์, (c) สารละลายคาร์โบฟูแรน 6 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากข้อมูลรูปที่ ข-1.7 สามารถนำข้อมูลมาคำนวณหาร้อยละของการยับยั้งด้วยคาร์โบฟูแรน โดยใช้ไฟฟ้าคาร์บอนเพสที่ตรึงด้วยเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ได้ข้อมูลดังตารางที่ ข-1.7

ตารางที่ ข-1.7 ร้อยละของการยับยั้งด้วยคาร์โบฟูแรนและอุณหภูมิ โดยใช้ไฟฟ้าคาร์บอนเพสที่ตรึงด้วยเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ศึกษาด้วยเทคนิคโครโนแอมเพอโรเมทรี

อุณหภูมิ (°C)	ร้อยละของการยับยั้ง (%) ^a (Mean ± SD); (n=3)
20	5.80 ± 1.94
25	8.09 ± 0.81
30	10.11 ± 1.19
35	11.56 ± 1.33
37	13.31 ± 0.87
40	11.60 ± 1.35

$$^a \text{ร้อยละของการยับยั้ง} = (\text{กระแสพื้นหลัง} - \text{กระแสที่ได้จากการเกิดปฏิกิริยา}) / \text{กระแสพื้นหลัง} * 100$$

หมวดที่ ข-2 ศึกษาประเมินการทำงานของไบโอเซนเซอร์

หมวดที่ ข-2.1 ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์คาร์โบฟูแรน

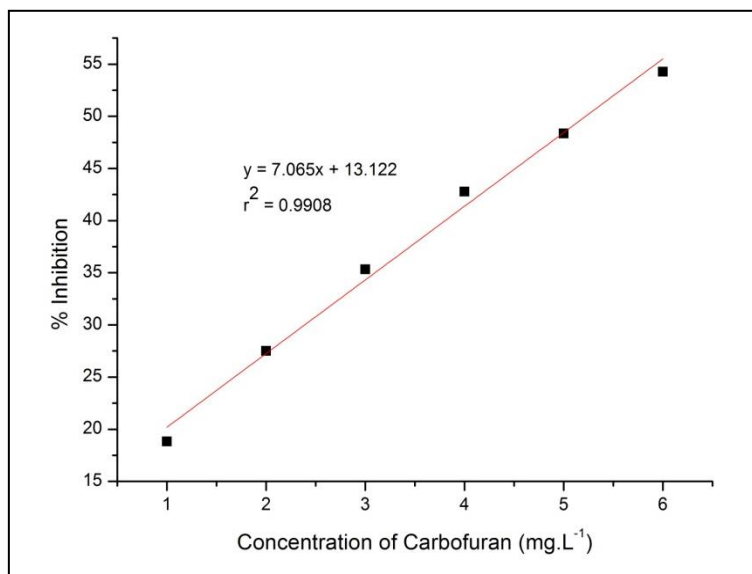
ตารางที่ ข-2.1 ร้อยละการยับยั้งและความเข้มข้นของคาร์โบฟูแรน ช่วง 2.98 ถึง 30.04 มิลลิกรัมต่อลิตร

ความเข้มข้นของคาร์โบฟูแรน (mg.L ⁻¹)	ร้อยละการยับยั้งเฉลี่ย (%) ^a (Mean±SD)
1	18.06 ± 2.65
2	26.43 ± 3.70
3	34.34 ± 3.44
4	42.04 ± 2.61
5	48.02 ± 1.18
6	54.35 ± 0.22

$$^a \text{ร้อยละของการยับยั้ง} = (\text{กระแสพื้นหลัง} - \text{กระแสที่ได้จากการเกิดปฏิกิริยา}) / \text{กระแสพื้นหลัง} * 100$$

หมวดที่ ข-2.2 ศึกษาขีดจำกัดในการตรวจพบ

จากตารางที่ ข-2.1 นำข้อมูลมาสร้างกราฟมาตรฐาน เพื่อหาขีดจำกัดในการตรวจพบปริมาณคาร์โบฟูแรน ดังรูป ข-2.1



รูปที่ ข-2.1 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งกับความเข้มข้นของคาร์โบฟูแรน ตั้งแต่ 1 ถึง 6 มิลลิกรัมต่อลิตร ตรวจวัดด้วยคาร์บอนเพสที่ตรึงด้วยสารละลายเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส

จากรูปที่ ข-2.1 และตารางที่ ข-2.1 สามารถนำข้อมูลดังกล่าวมาคำนวณหาขีดจำกัดในการตรวจพบปริมาณคาร์โบฟูแรน ดังนี้

วิธีการคำนวณ

$$\text{จาก Detection limit} = \frac{3SD}{\text{Slope}}$$

$$\text{จากรูปที่ ข-2.1 ให้ค่าความชัน (Slope)} = 7.07 (\%.\text{mg}^{-1}.\text{L})$$

$$\begin{aligned} \text{จากตารางที่ ข-2.1 ให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของร้อยละการยับยั้ง ที่ความ} \\ \text{เข้มข้น } 1 \text{ mg.L}^{-1} &= 2.65 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{แทนค่า Detection limit} &= \frac{3 \times 2.65 (\%)}{7.07 (\%.\text{mg}^{-1}.\text{L})} \\ &= 1.12 \text{ mg.L}^{-1} \end{aligned}$$

ดังนั้น ขีดจำกัดในการตรวจพบปริมาณคาร์โบฟูแรน เท่ากับ 1.12 mg.L^{-1}

หมวดที่ ข-2.3 ศึกษาขีดจำกัดในการตรวจวัดปริมาณ

จากรูปที่ ข-2.1 และตารางที่ ข-2.1 สามารถนำข้อมูลดังกล่าวมาคำนวณหาขีดจำกัดในการตรวจวัดปริมาณคาร์โบฟูแรน ดังนี้

วิธีการคำนวณ

$$\text{จาก Quantification limit} = \frac{10SD}{\text{Slope}}$$

$$\text{จากรูปที่ ข-2.1 ให้ค่าความชัน (Slope)} = 7.07 (\%.\text{mg}^{-1}.\text{L})$$

จากตารางที่ ข-2.1 ให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของร้อยละการยับยั้ง ที่ความ

$$\text{เข้มข้น } 1 \text{ mg.L}^{-1} = 2.65$$

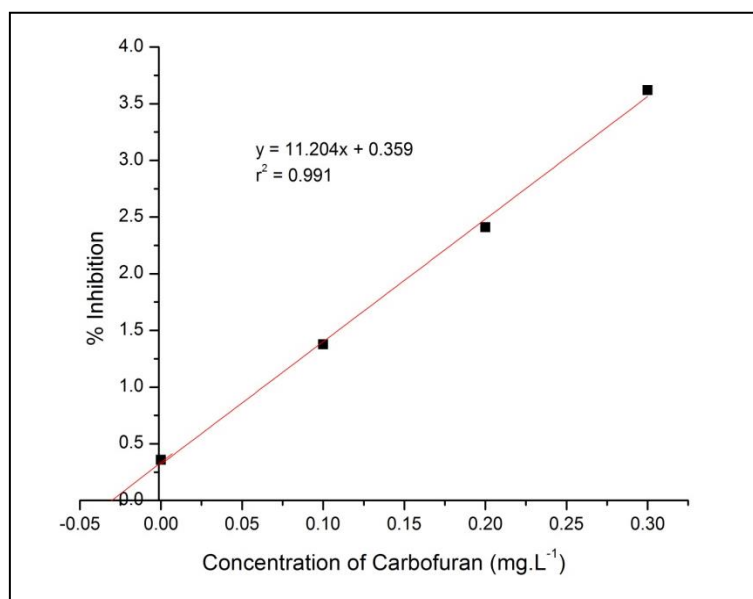
$$\text{แทนค่า Quantification limit} = \frac{10 \times 2.65 (\%)}{7.07 (\%.\text{mg}^{-1}.\text{L})}$$

$$= 3.75 \text{ mg.L}^{-1}$$

ดังนั้น ขีดจำกัดในการตรวจวัดปริมาณคาร์โบฟูแรน เท่ากับ 3.75 mg.L^{-1}

หมวดที่ ข-2.4 ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบฟูแรนในตัวอย่างข้าวหอมมะลิ

หมวดที่ ข-2.4.1 วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบฟูแรนในข้าวหอมมะลิ # 4



รูปที่ ข-2.2 ความสัมพันธ์ของร้อยละการยับยั้งกับปริมาณคาร์โบฟูแรน 0 ถึง 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ศึกษาด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐานลงในสารละลายตัวอย่าง

ตารางที่ ข-2.2 ร้อยละการยับยั้งและปริมาณคาร์โบฟูแรนที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของคาร์โบฟูแรน (mg.L ⁻¹)	ร้อยละการยับยั้งที่ได้จากการยับยั้ง ด้วยคาร์โบฟูแรน (%)
0.0	0.36
0.1	1.33
0.2	2.39
0.3	3.70

จากข้อมูลตารางที่ ข-2.2 และรูปที่ ข-2.2 สามารถนำมาคำนวณหาปริมาณคาร์โบฟูแรนในข้าวหอมมะลิ # 4 แสดงการคำนวณ ดังนี้

แสดงตัวอย่างวิธีการคำนวณ

$$\text{จากสมการเส้นตรง} \quad y = 11.20x + 0.36 \quad r^2 = 0.991$$

$$\text{แทนค่า} \quad y = 0$$

$$0 = 11.20x + 0.36$$

$$\text{จะได้} \quad x = 0.032 \text{ มิลลิกรัมต่อลิตร}$$

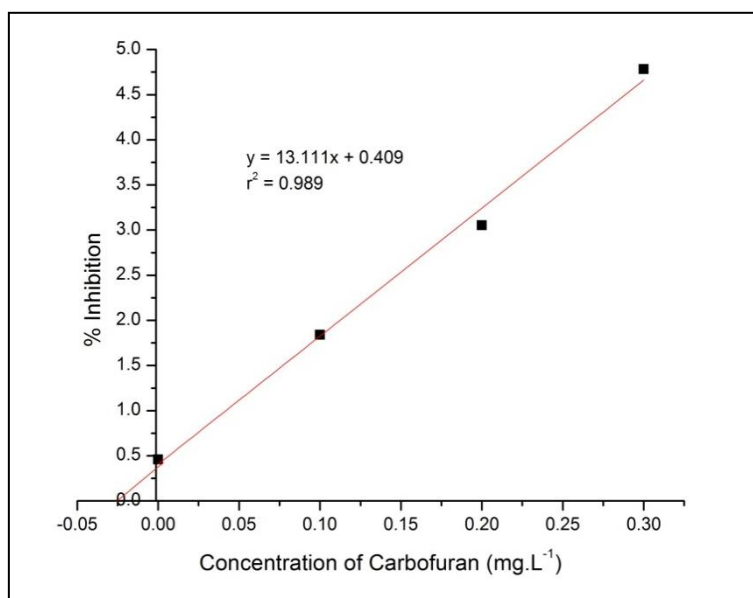
ดังนั้นปริมาณคาร์โบฟูแรนที่มีอยู่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 5 มิลลิลิตร มีปริมาณ 0.032 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตจากสารสกัดตัวอย่างมา 0.1 มิลลิลิตร

$$\begin{aligned} \text{จาก} \quad C_1V_1 &= C_2V_2 \\ (32 \mu\text{g.L}^{-1})(5.0 \text{ mL}) &= C_2 \times (0.1 \text{ mL}) \\ C_2 &= 1.6 \text{ mg.L}^{-1} \end{aligned}$$

ดังนั้นในข้าวหอมมะลิ # 4 มีปริมาณคาร์โบฟูแรนที่วิเคราะห์ได้ 1.6 มิลลิกรัมต่อลิตร

หมวดที่ ข-2.4.2 วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบฟูแรนในข้าวหอมมะลิ # 5



รูปที่ ข-2.3 ความสัมพันธ์ของร้อยละการยับยั้งกับปริมาณคาร์โบฟูแรน 0 ถึง 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ศึกษาด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐานลงในสารละลายตัวอย่าง

ตารางที่ ข-2.3 ร้อยละการยับยั้งและปริมาณคาร์โบฟูแรนที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของคาร์โบฟูแรน (mg.L ⁻¹)	ร้อยละการยับยั้งที่ได้จากการยับยั้ง ด้วยคาร์โบฟูแรน (%)
0.0	0.46
0.1	1.84
0.2	3.05
0.3	4.78

จากข้อมูลตารางที่ ข-2.3 และรูปที่ ข-2.3 สามารถนำมาคำนวณหาปริมาณคาร์โบฟูแรนในข้าวหอมมะลิ # 5 แสดงการคำนวณ ดังนี้

แสดงตัวอย่างวิธีการคำนวณ

จากสมการเส้นตรง $y = 13.11x + 0.41$ $r^2 = 0.989$

แทนค่า $y = 0$

$$0 = 13.11x + 0.41$$

จะได้ $x = 0.031$ มิลลิกรัมต่อลิตร

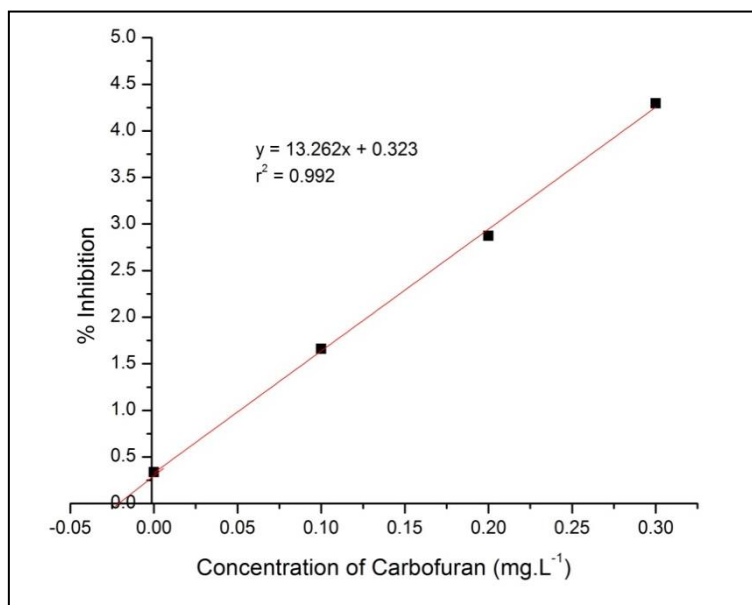
ดังนั้นปริมาณคาร์โบฟูแรนที่มีอยู่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 5 มิลลิลิตร มีปริมาณ 0.031 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตจากสารสกัดตัวอย่างมา 0.1 มิลลิลิตร

$$\begin{aligned} \text{จาก } C_1V_1 &= C_2V_2 \\ (31 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1})(5.0 \text{ mL}) &= C_2 \times (0.1 \text{ mL}) \\ C_2 &= 1.55 \text{ mg.L}^{-1} \end{aligned}$$

ดังนั้นในข้าวหอมมะลิ # 5 มีปริมาณคาร์โบฟูแรนที่วิเคราะห์ได้ 1.55 มิลลิกรัมต่อลิตร

หมวดที่ ข-2.4.3 วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบฟูแรนในข้าวหอมมะลิ # 6



รูปที่ ข-2.4 ความสัมพันธ์ของร้อยละการยับยั้งกับปริมาณคาร์โบฟูแรน 0 ถึง 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ศึกษาด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐานลงในสารละลายตัวอย่าง

ตารางที่ ข-2.4 ร้อยละการยับยั้งและปริมาณคาร์โบฟูแรนที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของคาร์โบฟูแรน (mg.L ⁻¹)	ร้อยละการยับยั้งที่ได้จากการยับยั้ง ด้วยคาร์โบฟูแรน (%)
0.0	0.31
0.1	1.70
0.2	2.88
0.3	4.30

จากข้อมูลตารางที่ ข-2.4 และรูปที่ ข-2.4 สามารถนำมาคำนวณหาปริมาณคาร์โบฟูแรนในข้าวหอมมะลิ # 6 แสดงการคำนวณ ดังนี้

แสดงตัวอย่างวิธีการคำนวณ

จากสมการเส้นตรง $y = 13.26x + 0.32$ $r^2 = 0.992$

แทนค่า $y = 0$

$$0 = 13.26x + 0.32$$

จะได้ $x = 0.024$ มิลลิกรัมต่อลิตร

ดังนั้นปริมาณคาร์โบฟูแรนที่มีอยู่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 5 มิลลิลิตร มีปริมาณ 0.024 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตจากสารสกัดตัวอย่างมา 0.1 มิลลิลิตร

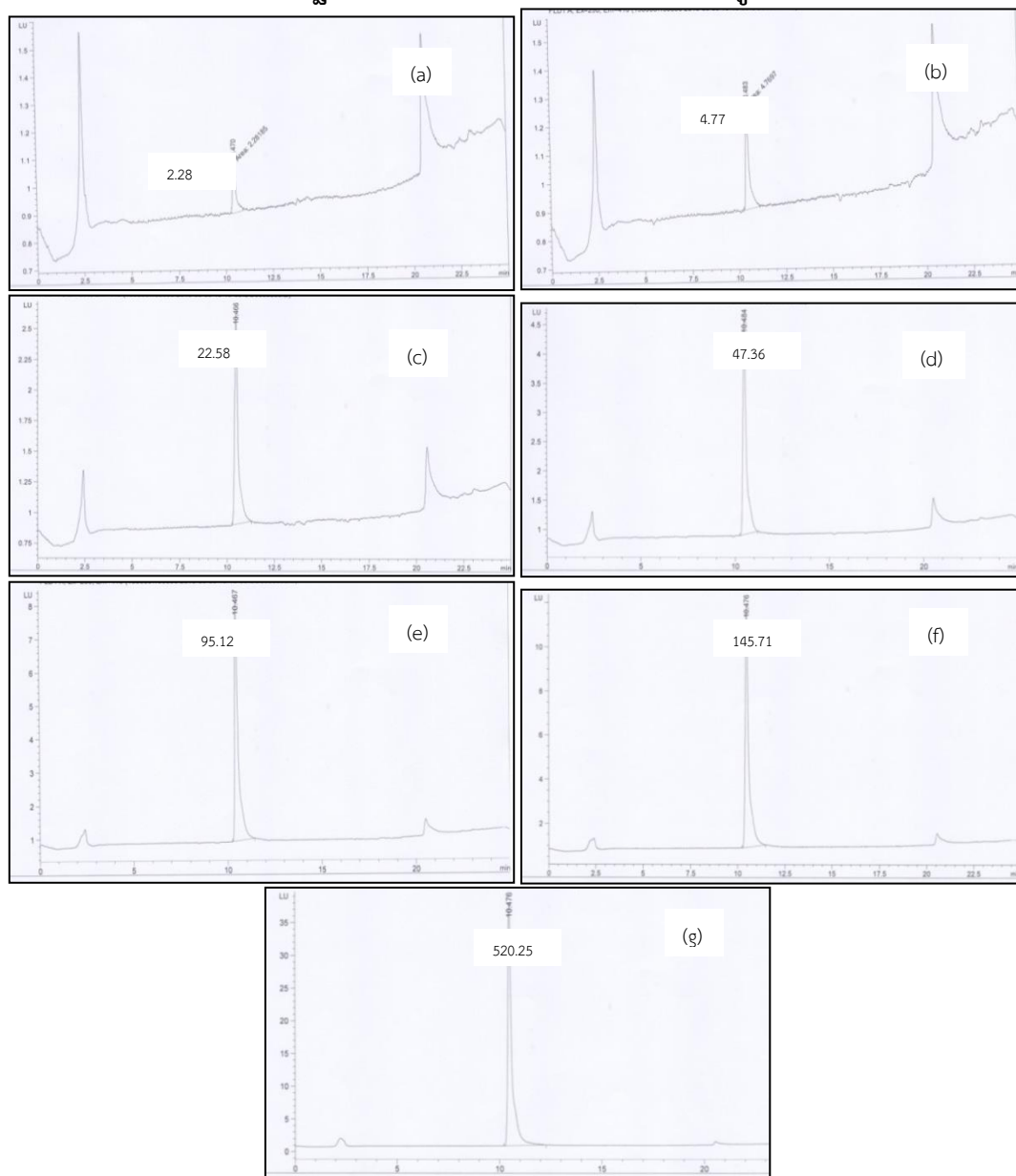
จาก $C_1V_1 = C_2V_2$
 $(24 \mu\text{g.L}^{-1})(5.0 \text{ mL}) = C_2 \times (0.1 \text{ mL})$

$$C_2 = 1.2 \text{ mg.L}^{-1}$$

ดังนั้นในข้าวหอมมะลิ # 6 มีปริมาณคาร์โบฟูแรนที่วิเคราะห์ได้ 1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

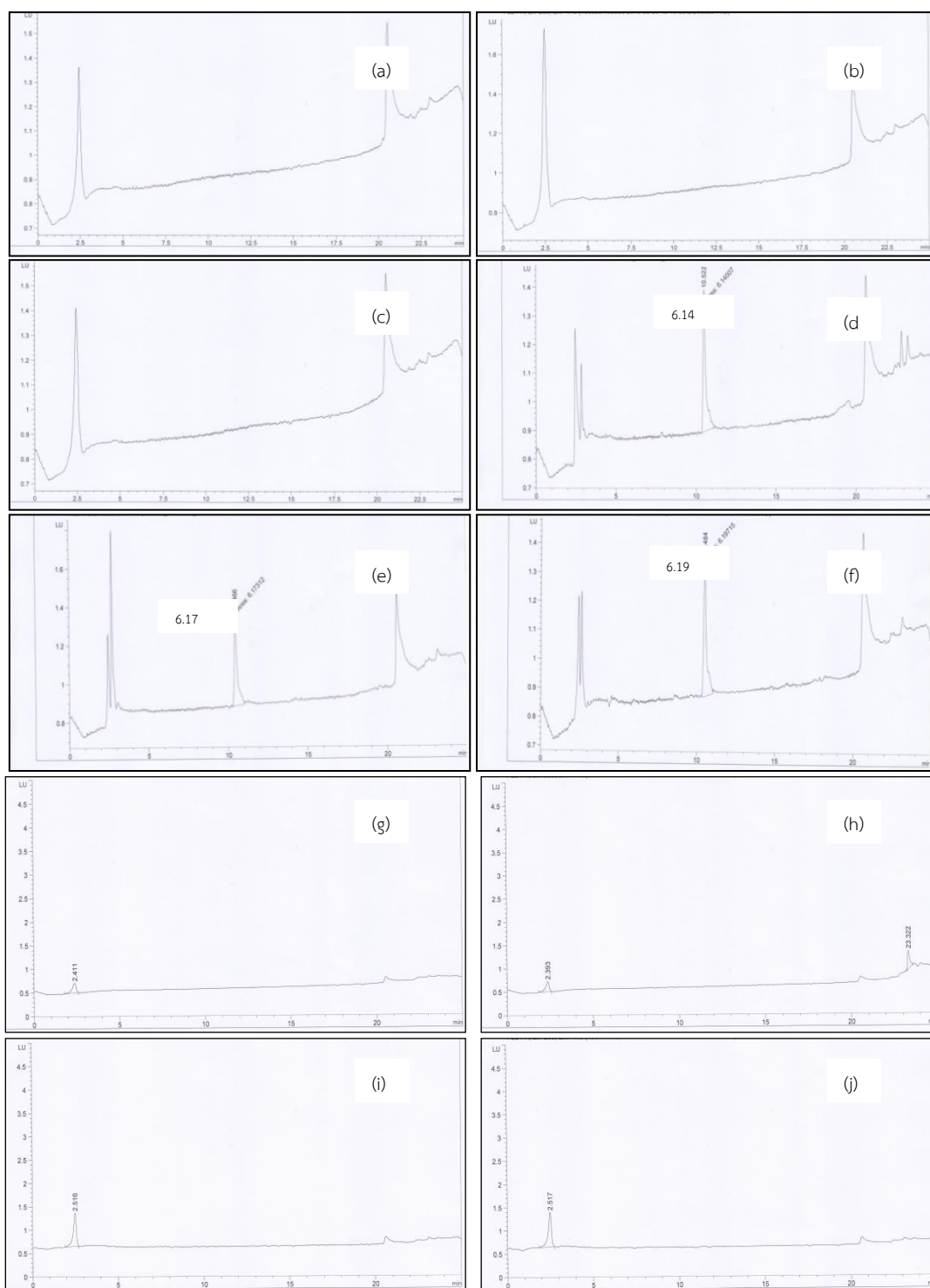
หมวดที่ ข-3 การหาปริมาณคาร์โบฟูแรนด้วยเทคนิคมาตรฐานโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง และเทคนิคการวัดสี

หมวดที่ 3.1 เทคนิคมาตรฐานโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

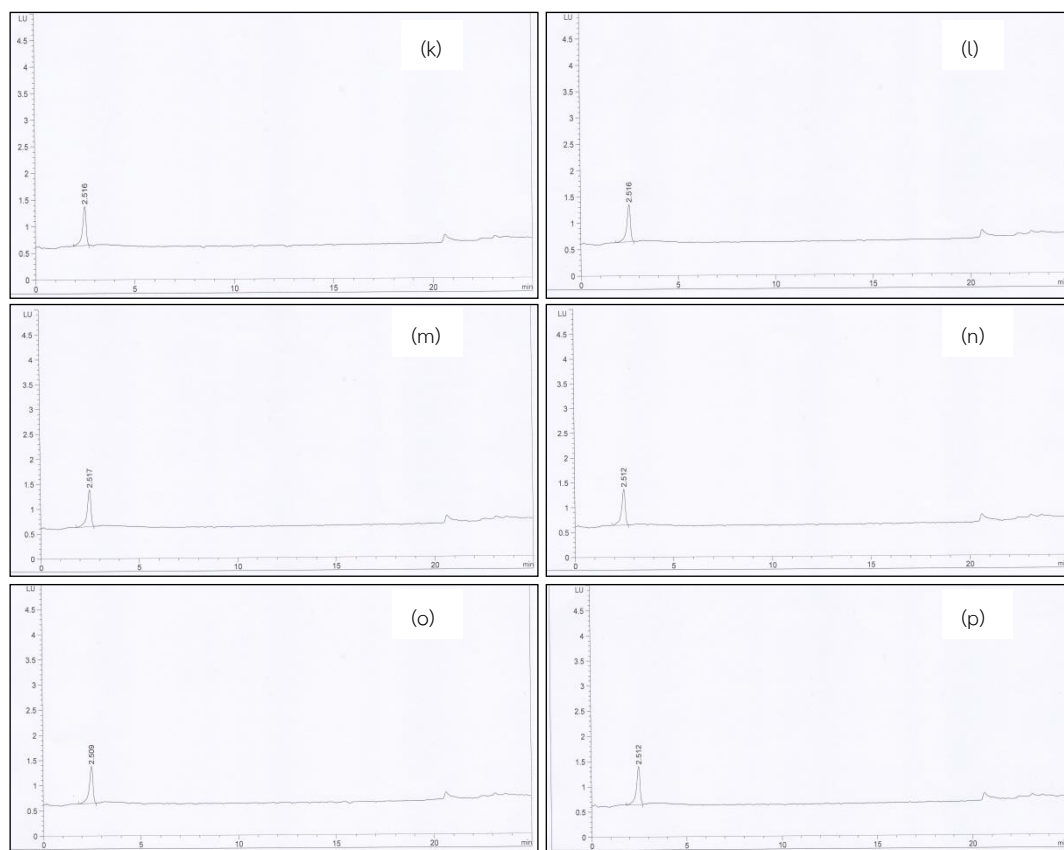


รูปที่ ข-3.1 โครมาโทแกรมของการวิเคราะห์สารมาตรฐานคาร์โบฟูแรน : (a) 0.5, (b) 1.0, (c) 5.0, (d) 10.0, (e) 20.0, (f) 30.0 และ (g) 100.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ในการวิเคราะห์ตัวอย่างสารสกัดจากข้าวหอมมะลิ ได้ผลการทดลอง ดังรูปที่ ข-3.2



รูปที่ ข-3.2 โครมาโทแกรมของการวิเคราะห์สารสกัดจากข้าวหอมมะลิ (a) ข้าวหอมมะลิ # 1, (b) ข้าวหอมมะลิ # 2, (c) ข้าวหอมมะลิ # 3, (d) ข้าวหอมมะลิ # 4, (e) ข้าวหอมมะลิ # 5, (f) ข้าวหอมมะลิ # 6, (g) ข้าวหอมมะลิ # 7, (h) ข้าวหอมมะลิ # 8, (i) ข้าวหอมมะลิ # 9 และ (j) ข้าวหอมมะลิ # 10



รูปที่ ข-3.2 (ต่อ) โครมาโทแกรมของการวิเคราะห์สารสกัดจากข้าวหอมมะลิ (k) ข้าวหอมมะลิ # 11, (l) ข้าวหอมมะลิ # 12, (m) ข้าวหอมมะลิ # 13, (n) ข้าวหอมมะลิ # 14, (o) ข้าวหอมมะลิ # 15 และ (p) ข้าวหอมมะลิ # 16

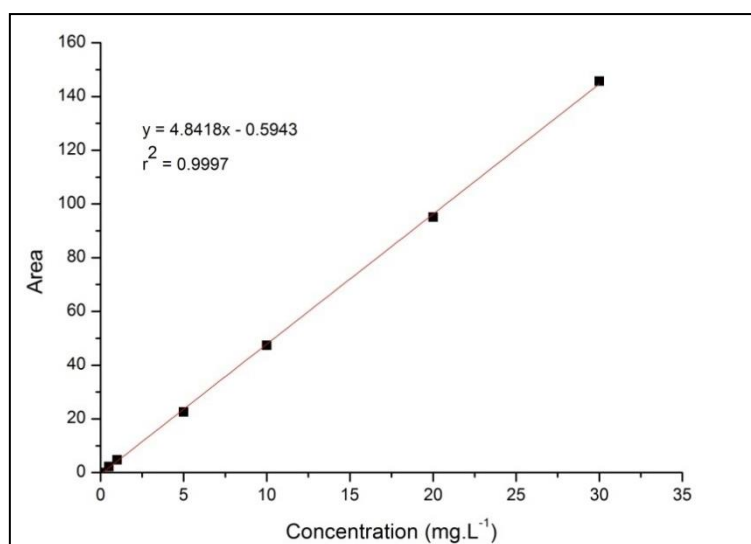
ตารางที่ ข-3.1 ผลการวิเคราะห์สารมาตรฐานคาร์โบฟูแรน จากเทคนิคมาตรฐานโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

สารมาตรฐานคาร์โบฟูแรน (mg.L ⁻¹)	พื้นที่พีค (Peak area)
0.5	2.28
1.0	4.77
5.0	22.58
10.0	47.36
20.0	95.12
30.0	145.71
100.0	520.25
ข้าวหอมมะลิ # 1	ND.
ข้าวหอมมะลิ # 2	ND.

สารมาตรฐานคาร์โบฟูแรน (mg.L ⁻¹)	พื้นที่พีค (Peak area)
ข้าวหอมมะลิ # 3	ND.
ข้าวหอมมะลิ # 4	6.14
ข้าวหอมมะลิ # 5	6.17
ข้าวหอมมะลิ # 6	6.19
ข้าวหอมมะลิ # 7	ND.
ข้าวหอมมะลิ # 8	ND.
ข้าวหอมมะลิ # 9	ND.
ข้าวหอมมะลิ # 10	ND.
ข้าวหอมมะลิ # 11	ND.
ข้าวหอมมะลิ # 12	ND.
ข้าวหอมมะลิ # 13	ND.
ข้าวหอมมะลิ # 14	ND.
ข้าวหอมมะลิ # 15	ND.
ข้าวหอมมะลิ # 16	ND.

ND. = non detection

จากตารางนำข้อมูลมาสร้างกราฟมาตรฐาน ดังนี้



รูปที่ ข-3.3 ความสัมพันธ์ของพื้นที่พีคกับความเข้มข้นของคาร์โบฟูแรน

ตารางที่ ข-3.2 ผลการวิเคราะห์สารสกัดจากข้าวหอมมะลิที่ทำการเติมปริมาณคาร์โบฟูแรน 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตรจากเทคนิคมาตรฐานโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

สารสกัดจากข้าวหอมมะลิ	ปริมาณคาร์โบฟูแรน (mg.L ⁻¹)
ข้าวหอมมะลิ # 4	1.39
ข้าวหอมมะลิ # 5	1.40
ข้าวหอมมะลิ # 6	1.40

หมวดที่ ข-4 เปรียบเทียบร้อยละการยับยั้งหาปริมาณคาร์โบฟูแรนด้วยไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นกับค่าที่วิเคราะห์ได้จากเทคนิคมาตรฐานโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

จากการวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบฟูแรนด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐานลงในสารละลายตัวอย่าง ได้นำค่าปริมาณคาร์โบฟูแรนที่วิเคราะห์ได้ ดังตารางที่ ข-3.1 ถึง ข-3.3 เปรียบเทียบกับปริมาณคาร์โบฟูแรนที่วิเคราะห์ได้จากเทคนิคมาตรฐานโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ด้วยสถิติ t-test

หมวดที่ ข-4.1 วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบฟูแรนในข้าวหอมมะลิ # 4

ตารางที่ ข-4.1 ปริมาณคาร์โบฟูแรนที่วิเคราะห์ในตัวอย่างข้าวหอมมะลิด้วยไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้น

ครั้งที่	ปริมาณคาร์โบฟูแรน (mg.L ⁻¹)
1	1.60
2	1.45
3	1.52
$\bar{x}$	1.52
SD	0.08

วิธีการคำนวณ

ค่าจริงของปริมาณคาร์โบฟูแรนที่ได้จากเทคนิคมาตรฐานโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงเท่ากับ 1.39

$$\text{จากสมการ} \quad t = \frac{|\bar{x} - \mu| \sqrt{N}}{S}$$

$$\text{แทนค่า} \quad t = \frac{|1.52 - 1.39| \sqrt{3}}{0.08}$$

$$t = 2.81$$

เมื่อได้ค่า $t_{\text{calculated}}$ เท่ากับ 2.81 นำมาเปรียบเทียบกับ $t_{\text{tabulated}}$ มีค่าเท่ากับ 4.30 ที่ degree of freedom = 2 ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่า $t_{\text{calculated}}$ น้อยกว่า $t_{\text{tabulated}}$ แสดงว่าผลการวิเคราะห์ด้วยวิธีไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นสามารถยอมรับได้ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

หมวดที่ ข-4.2 วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบฟูแรนในข้าวหอมมะลิ # 5

ตารางที่ ข-4.2 ปริมาณคาร์โบฟูแรนที่วิเคราะห์ในตัวอย่างข้าวหอมมะลิด้วยไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้น

ครั้งที่	ปริมาณคาร์โบฟูแรน (mg.L ⁻¹)
1	1.54
2	1.56
3	1.20
$\bar{x}$	1.43
SD	0.20

วิธีการคำนวณ

ค่าจริงของปริมาณคาร์โบฟูแรนที่ได้จากเทคนิคมาตรฐานโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง เท่ากับ 1.40

$$\text{จากสมการ} \quad t = \frac{|\bar{x} - \mu| \sqrt{N}}{S}$$

$$\text{แทนค่า} \quad t = \frac{|1.43 - 1.40| \sqrt{3}}{0.20}$$

$$t = 0.26$$

เมื่อได้ค่า $t_{\text{calculated}}$ เท่ากับ 0.26 นำมาเปรียบเทียบกับ $t_{\text{tabulated}}$ มีค่าเท่ากับ 4.30 ที่ degree of freedom = 2 ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่า $t_{\text{calculated}}$ น้อยกว่า $t_{\text{tabulated}}$ แสดงว่าผลการวิเคราะห์ด้วยวิธีไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นสามารถยอมรับได้ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

หมวดที่ ข-4.3 วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบฟูแรนในข้าวหอมมะลิ # 6

ตารางที่ ข-4.3 ปริมาณคาร์โบฟูแรนที่วิเคราะห์ในตัวอย่างข้าวหอมมะลิด้วยไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้น

ครั้งที่	ปริมาณคาร์โบฟูแรน (mg.L ⁻¹)
1	1.79
2	1.22
3	1.71
$\bar{x}$	1.57
SD	0.31

วิธีการคำนวณ

ค่าจริงของปริมาณคาร์โบฟูแรนที่ได้จากเทคนิคมาตรฐานโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง เท่ากับ 1.40

$$\text{จากสมการ} \quad t = \frac{|\bar{x} - \mu| \sqrt{N}}{S}$$

$$\text{แทนค่า} \quad t = \frac{|1.57 - 1.40| \sqrt{3}}{0.31}$$

$$t = 0.95$$

เมื่อได้ค่า $t_{\text{calculated}}$ เท่ากับ 0.95 นำมาเปรียบเทียบกับ $t_{\text{tabulated}}$ มีค่าเท่ากับ 4.30 ที่ degree of freedom = 2 ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่า $t_{\text{calculated}}$ น้อยกว่า $t_{\text{tabulated}}$ แสดงว่าผลการวิเคราะห์ด้วยวิธีไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นสามารถยอมรับได้ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%