

ภาคผนวก ก.
การคำนวณพารามิเตอร์ต่างๆ

1. การสร้างกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานคาเฟอีน ซีโอโบรมีน และซีโอฟิลลีน

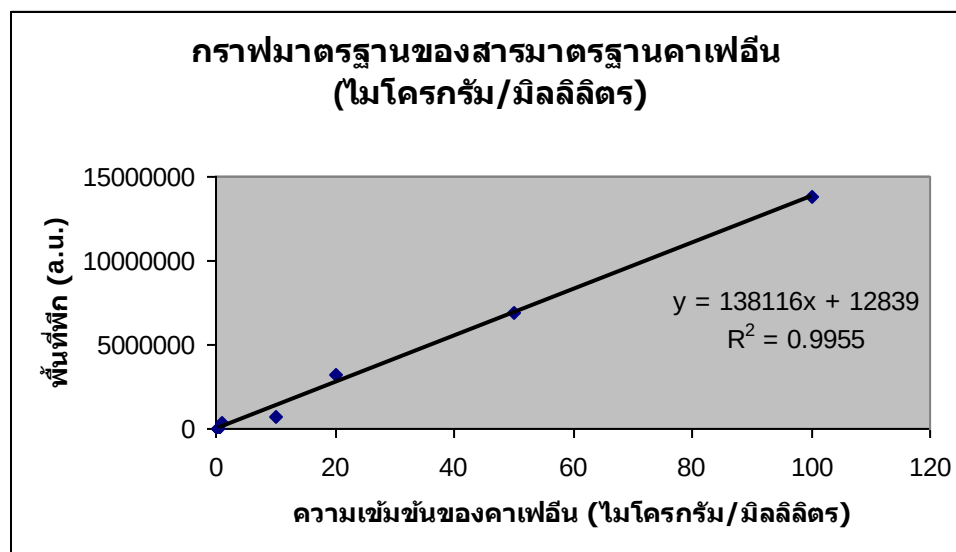
ตารางที่ ค1 ผลการทดลองจากการตรวจวัดสารมาตรฐาน 3 ชนิด คือ คาเฟอีน ซีโอโบรมีน และซีโอฟิลลีน

สารมาตรฐาน	ความเข้มข้น	พื้นที่ใต้พีค			ค่าเฉลี่ย(Means)
คาเฟอีน	0.25	38576	35697	0	24757.66667
	0.5	49505	48626	0	32710.33333
	1.0	402850	423961	413953	413588
	10	718339	758445	800113	758965.6667
	20	3234631	3234919	3325379	3264976.333
	50	6881232	6831706	6989959	6900965.667
	100	16908040	11675586	12805844	13796490
ซีโอโบรมีน	0.25	14343	13939	10972	138084.67
	0.5	20531	20031	19792	20118
	1.0	33388	34414	33950	33917.33
	10	352578	395793	357705	368692
	20	732597	736289	737083	735323
	50	1781975	1769437	1742115	1764509
	100	3492427	3475326	3480748	3482834
ซีโอฟิลลีน	0.25	51098	49393	38354	46281.67
	0.5	20327	19569	20087	19994.33
	1.0	41351	38700	39279	39776.67
	10	395760	357930	376872	376854
	20	837083	835297	836289	836223
	50	1782253	1782115	1789473	1784614
	100	3591859	3586437	3593538	3590611

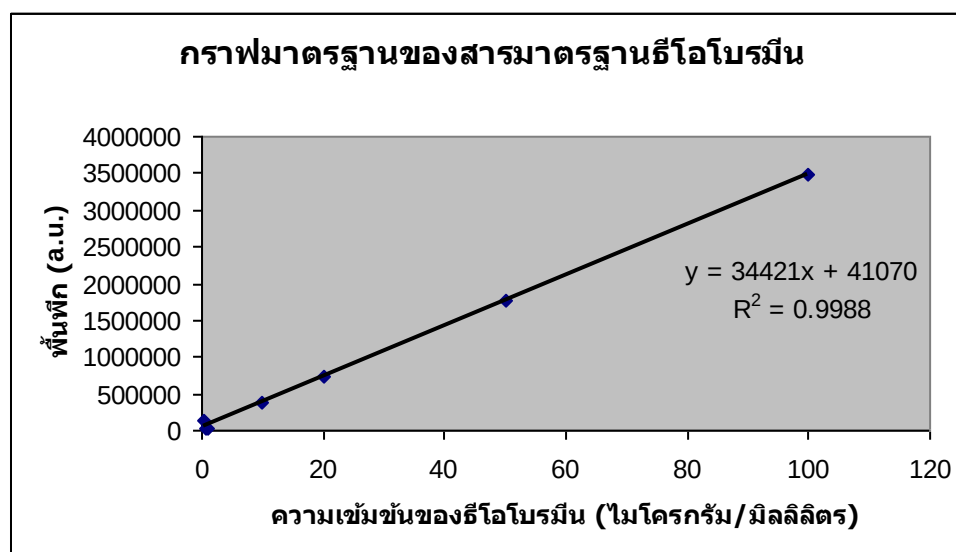
หมายเหตุ พื้นที่ใต้พีคได้จากค่าเฉลี่ยซึ่งทำการวัดทั้งหมด 3 ซ้ำ

นำผลการทดลองจากตารางที่ ค1 มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐานทั้ง 3 ชนิด ดังกราฟรูปที่ ค1-ค3 ตามลำดับ จากรูปกราฟทำให้ทราบถึงความชัน สัมประสิทธิ์

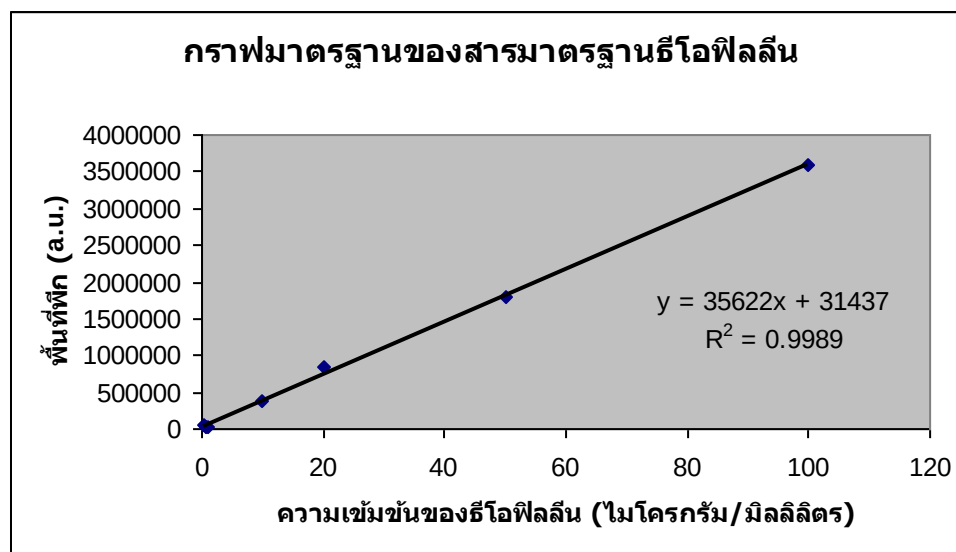
สหสัมพันธ์ (R^2) และ ความสัมพันธ์ที่มีลักษณะเป็นเชิงเส้น และจากกราฟทั้งสามรูปสามารถสรุปข้อมูลได้ดังตารางที่ ๒



รูปที่ ๑ กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่พีคและความเข้มข้นต่าง ๆ ของคาเฟอีน



รูปที่ ๒ กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่พีคและความเข้มข้นต่าง ๆ ของธีโอโบรมีน



รูปที่ ๓3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่พีคและความเข้มข้นต่าง ๆ ของธีโอฟิลลีน

ตารางที่ ๓2 สรุปผลข้อมูลที่ได้จากกราฟ ในรูป ค1- ค3

สารเคมี	ช่วงความเข้มข้นของสารที่มีความสัมพันธ์เป็นเชิงเส้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ความชัน	สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2)
คาเฟอีน	0-100	27552	0.9888
ธีโอโบรมีน	0-100	34421	0.9988
ธีโอฟิลลีน	0-100	35622	0.9989

2 การหาค่า Reproducibility

การหาค่า reproducibility ภายในพอลิเมอร์ลอกแบบอันเดียวกัน

ค่า reproducibility ในการวิเคราะห์ห่าบอกได้โดยใช้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative standard deviation, RSD) ซึ่งหาได้โดยการหารค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานด้วยค่าเฉลี่ย ค่า RSD นิยมนำเสนอในรูปของค่าเปอร์เซ็นต์เบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) หรือ เรียกว่าค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (Coefficient of variation, CV) คำนวณโดยสูตร

$$\%RSD, CV = \frac{S}{\bar{X}} \times 100$$

เมื่อ S = standard deviation

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{X})^2}{N - 1}}$$

และ $\bar{X}$ = ค่าเฉลี่ยของการวัดจำนวน N ครั้ง (Mean of N measurements)

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^N x_i}{N}$$

N = จำนวนครั้งที่ทดลองทั้งหมด

ในที่นี้ค่า reproducibility หาได้โดยนำพอลิเมอร์ทั้งสองชนิด คือพอลิเมอร์ลอกแบบชนิด P_2 และ P_3 มาทำการสกัดและวิเคราะห์สารมาตรฐานผสมทั้งหมด 3 ชนิด คือ คาเฟอีน ซีโอโบรมีน และซีโอฟิลลีนที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แล้วนำพื้นที่ใต้พีคที่ได้ไปคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์เบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ซึ่งได้ผลดังตารางที่ ค4 และ ค5

ตารางที่ ค4 ข้อมูลและผลการหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของพอลิเมอร์ลอกแบบชนิด P_2

ครั้งที่	พื้นที่ใต้พีค		
	คาเฟอีน	ซีโอโบรมีน	ซีโอฟิลลีน
1	1060003	9189428	9548757
2	1026535	9137646	8988426
3	1079317	9471233	9248757
ค่าเฉลี่ย	1055285	9266102.33	9261980
S	26705.42	179525.2	280399.4
%RSD	2.53	1.94	3.03

ตารางที่ ค5 ข้อมูลและผลการหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของพอลิเมอร์ลอกแบบชนิด P₃

ครั้งที่	พื้นที่ได้ฟัก		
	คาเฟอีน	ธีโอโบรมีน	คาเฟอีน
1	1303849	9589628	1303849
2	1398200	9438646	1398200
3	1375263	9481243	1375263
ค่าเฉลี่ย	1359104	9503172.33	1359104
S	49207.34	77843.19	49207.34
%RSD	3.62	0.82	3.62

3 การหาค่าร้อยละการได้คืนกลับ %Recovery

ความถูกต้อง (Accuracy) ของวิธีวิเคราะห์ หมายถึงความใกล้เคียงระหว่างผลการวิเคราะห์กับค่าที่แท้จริง

การตรวจวัดความถูกต้องแม่นยำของวิธีการวิเคราะห์กระทำได้โดยการวิเคราะห์หาปริมาณของสารที่ทราบความบริสุทธิ์ (เช่น สารมาตรฐานอ้างอิง) โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ที่ต้องการตรวจสอบความถูกต้อง หรือโดยเปรียบเทียบผลของวิธีนี้กับอีกวิธีหนึ่งที่เคยถูกใช้อยู่แล้ว การวิเคราะห์ถ้าไม่สามารถเตรียมขึ้นได้ก็ยอมโดยการเติมสารที่ต้องการวิเคราะห์ลงไปในผลิตภัณฑ์ (spike)

วิเคราะห์ตัวอย่างที่เตรียมขึ้น หรือผลิตภัณฑ์ที่เติมสารที่ต้องการวิเคราะห์ลงไปปริมาณที่ทราบแน่นอน คำนวณ และแสดงค่าความถูกต้องของการตรวจสอบโดยเทียบปริมาณสารที่เติมลงไป (% Recovery)

การคำนวณค่าร้อยละการได้คืนกลับของปริมาณสารที่เติมลงไป (% Recovery)

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{ความเข้มข้นของ spike sample} - \text{ความเข้มข้นของ sample}}{\text{ความเข้มข้นของ Standard ที่เติมลงไป}} \times 100$$

ความเข้มข้นของ Standard ที่เติมลงไป

ตารางที่ ๑๖ แสดงข้อมูล และผลการหา % Recovery ของพอลิเมอร์ลอกแบบทั้ง 4 ชนิด

Fractions	%Recovery			
	P	P ₁	P ₂	P ₃
Load caffeine (50 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร)	0.20	0.0	0.0	0.0
Load buffer (0.05 M CH ₃ COONH ₄ -NH ₃ (aq), pH 9)	8.16	1.10	0.1	0.15
1st washing (0.05 M CH ₃ COONH ₄ -NH ₃ (aq), pH 9)	7.58	1.63	0.2	0.45
1 st elution (ACN-TEA 1 %)	11.20	80.6	90.31	89.65
2 nd elution (ACN-CH ₃ COOH 1%)	60.5	16.1	9.35	20.30
Total	87.64	99.43	99.96	113.55