สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

วิธีสเปกโทรโฟโตเมทรีสำหรับวิเคราะห์ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยใช้สารสกัดจากใบชาเป็นรีเอเจนต์

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF HYDROGENPEROXIDE USING TEA-LEAF EXTRACT AS REAGENT

T117280

วลัยพร หงวนถนอม
วัชรพล เสียงล้ำ
วันเพ็ญ เรื่องแจ่ม

เลขหมู่........................
เลขทะเบียน 117280
วัน,เดือน,ปี 20 ก.ค. 2554

บ.........................
ร.........................

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม – เครื่องมือวิเคราะห์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2553

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF HYDROGENPEROXIDE USING TEA-LEAF EXTRACT AS REAGENT

WALAIPORN NGUANTANOM
WATCHAROPOL SIENGLUM
WANPHEN RUANGJAM

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIRMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
IN INDUSTRIAL CHEMISTRY – ANALYTICAL INSTRUMENTATION
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2010

โครงงานพิเศษเรื่อง วิธีสเปกโทรโฟโตเมทรีสำหรับวิเคราะห์ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยใช้สารสกัดจากใบชาเป็นรีเอเจนต์

นักศึกษา นางสาววลัยพร หงวนถนอม 50050659
นายวัชรพล เสียงล้ำ 50050660
นางสาววันเพ็ญ เรืองแจ่ม 50050661

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร. วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้
โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์ ประจำปีการศึกษา 2553

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ. อรุณี คงศักดิ์ไพศาล	
ดร.เสาวภาคย์ ธีราทรง	เสาวภาคย
ดร. วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ	วิบูลย์

ลิขสิทธิ์คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อโครงงานพิเศษ วิธีสเปกโทรโฟโตเมทรีสำหรับวิเคราะห์ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยใช้สารสกัดจากใบชาเป็นรีเอเจนต์
Spectrophotometric Determination of Hydrogenperoxide using Tea-leaf Extraction as Reagent

ชื่อนักศึกษา นางสาววลัยพร หงวนถนอม
นายวัชรพล เสียงล้ำ
นางสาววันเพ็ญ เรืองแจ่ม

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม – เครื่องมือวิเคราะห์

ปีการศึกษา 2553

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ

บทคัดย่อ

โครงงานพิเศษนี้ศึกษาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยใช้สารสกัดจากใบชาเป็นรีเอเจนต์ ตรวจวัดด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี ทำการสกัดสารแทนนินจากใบชาแห้งโดยแช่ในอะซิโตน 70% v/v 15 นาที กรองและนำสารละลายที่สกัดได้ไปใช้เป็นรีเอเจนต์ การตรวจวัดอาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างแทนนินกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงของรีเอเจนต์ ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร สภาวะที่เหมาะสมกับการวิเคราะห์ใช้รีเอเจนต์ความเข้มข้นของใบชาเท่ากับ 5% w/v และใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.40 M กราฟมาตรฐานของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.02 - 0.10% v/v ด้วยสมการ $y = -3.865x - 0.873$ และมีค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (r^2) เท่ากับ 0.992 ขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD) เท่ากับ 0.0089% v/v ขีดจำกัดของการหาปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 0.029% v/v ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์น้อยกว่า 10 % ความแม่นของวิธีวิเคราะห์มีค่าร้อยละของการคืนกลับอยู่ในช่วง 94-130 %

คำสำคัญ : ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แทนนิน สเปกโตรโฟโตเมทรี สารสกัดจากใบชา

Title Spectrophotometric Determination of Hydrogenperoxide using Tea-leaf Extraction as Reagent

Students Miss Walaiporn Nguantanom
Mr. Watcharapol Sienglum
Miss Wanphen Ruangjam

Degree Bachelor of Science

Major Program Industrial Chemistry – Analytical Instrumentation

Academic Year 2010

Advisor Dr. Wiboon Praditweangkum

ABSTRACT

The purpose of this special project is to develope a spectrophotometric method for determination of hydrogenperoxide in cleaner wound using tea-leaf extract as reagent. Tannin was extracted from tea-leaf by soaking in acetone 70% v/v for 15 minutes and the reagent solution was filtered. Tannin reacted with hydrogenperoxide and the decrease of absorbance was measured at wavelength 550 nm. The optimal condition was obtained with concentration of tea-leaf extracted reagent at 5% w/v and concentration of sodium hydroxide at 0.40 M. The calibration graph of hydrogenperoxide was linear in 0.02 - 0.10% v/v range with linear equation, $y = -3.865x + 0.873$ and coefficient of determination (r^2) of 0.992. Limit of detection (LOD) and Limit of quantitation (LOQ) were 0.0089 and 0.029% v/v, respectively. The recovery of 94-130% was obtained. The precision of this developed method was < 10% RSD.

Key word : Hydrogenperoxide, Tannin, Spectrophotometry, tea-leaf extract

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ผู้ทำวิจัยต้องขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ อาจารย์ผู้ควบคุมงานวิจัย ที่กรุณาให้ความรู้ คำปรึกษา แนวคิด คำแนะนำ และสละเวลาในการตรวจสอบและแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ของโครงงานพิเศษฉบับนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์ ด้วยความดูแลเอาใจใส่และความเมตตากรุณาตลอดงานวิจัย

ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ อรุณี คงศักดิ์ไพศาล และอาจารย์ ดร.เสาวภาคย์ ธีราทรง กรรมการตรวจสอบโครงงานพิเศษ ที่กรุณาตรวจแก้ไข และให้แนวคิดรวมทั้งคำแนะนำอันมีคุณค่าแก่โครงงานพิเศษฉบับนี้

ขอขอบพระคุณบุคคลสองท่านที่มีความสำคัญที่สุดในชีวิต คือคุณพ่อและคุณแม่ ผู้ให้กำเนิดและอบรมสั่งสอนให้เป็นคนดี ตลอดจนเป็นกำลังใจและเป็นที่ปรึกษาที่ดีที่สุดในยามที่พบกับอุปสรรคปัญหาและท้อแท้หมดกำลังใจ

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณอาจารย์และเจ้าหน้าที่ทุกท่านของสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่กรุณาให้คำแนะนำความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในด้านสารเคมีและอุปกรณ์การทดลองต่าง ๆ ตลอดโครงงานพิเศษ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อโครงงานพิเศษภาษาไทย I
บทคัดย่อโครงงานพิเศษภาษาอังกฤษ II
กิตติกรรมประกาศ III
สารบัญ IV
สารบัญตาราง VII
สารบัญรูป VIII

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความเป็นมาของงานวิจัย 1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 1
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย 1
1.4 ขั้นตอนการวิจัย 2
1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ 2

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 3
  2.1.1คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 3
2.2 ชา 4
  2.2.1 ข้อมูลทั่วไปของชา 4
  2.2.2 ถิ่นกำเนิดและการกระจายตัว 4
  2.2.3 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ 5
  2.2.4 การจัดประเภทและการแปรรูป 5
  2.2.5 สารสำคัญบางชนิดในใบชา 7
  2.2.6 การเก็บรักษาใบชา 8
  2.2.7 ประโยชน์ของใบชา 8
  2.2.8 ข้อห้ามสำหรับผู้ดื่มชา 9
2.3 แทนนิน (Tannin) 10
  2.3.1 สารประกอบแทนนิน 11
  2.3.2 โครงสร้างของแทนนิน 11
  2.3.3 คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของแทนนิน 11
  2.3.4 ประเภทของแทนนิน 12
  2.3.5 บทบาทและความสำคัญของแทนนินที่มีต่ออุตสาหกรรมอาหาร 14
2.4 UV-Visible Spectrophotometer 16

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.4.1กฎการดูดกลืนแสง 16

2.4.2 UV-Visible Spectroscopy 17

2.4.3 Spectrophotometer 18

2.4.4 ชนิดของสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ 19

2.4.5 การวิเคราะห์โดยใช้ UV-vis spectrophotometer 21

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 24

บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมี 25

3.2 เครื่องมือ 25

3.3 การเตรียมสารละลาย 26

3.3.1 สารละลายอะซิโตน เข้มข้น 70 % v/v 26

3.3.2 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 ,0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 M 26

3.3.3 สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.5 % v/v 26

3.4 วิธีการทดลอง 26

3.4.1 การเตรียมรีเอเจนต์จากใบชาแห้ง 26

3.4.2 การหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ 27

3.4.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ 27

3.4.4 การทดลองกับสารตัวอย่าง 28

3.4.5 การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ 28

บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 การหาความยาวคลื่นที่เหมาะสม 30

4.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ 31

4.2.1 ผลของความเข้มข้นของรีเอเจนต์ 31

4.2.2 ผลของความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ 32

4.3 การทดสอบความใช้ได้วิธีวิเคราะห์ 34

4.3.1 การสร้างกราฟมาตรฐาน 34

4.3.2 การหาค่า LOD และ LOQ 36

4.3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในตัวอย่างน้ำยาล้างแผล 36

4.3.4 การหาความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ 37

4.3.4 การหาความแม่นของวิธีวิเคระห์ 38

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 บทสรุป 40

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

5.2 ข้อเสนอแนะ 40

เอกสารอ้างอิง 41

ภาคผนวก ก. 42

ภาคผนวก ข. 45

ภาคผนวก ค. 46

ภาคผนวก ง. 47

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 ความสัมพันธ์ของสีและการดูดกลืนแสง 22

ตารางที่ 3.1 สารเคมี 25

ตารางที่ 4.1 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของชาต่างๆ เทียบกับความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์แต่ละความเข้มข้น 31

ตารางที่ 4.2 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสงเมื่อความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์เปลี่ยนไป 33

ตารางที่ 4.3 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 35

ตารางที่ 4.4 ตารางแสดงค่าการหา LOD และ LOQ 36

ตารางที่ 4.5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ 37

ตารางที่ 4.6 ตารางแสดงค่า % RSD 38

ตารางที่ 4.7 ตารางแสดงผลค่า Recovery 39

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 สารประกอบแทนนิน 12
รูปที่ 2.2 ลักษณะโครงสร้างของกรดที่ได้จากการแตกสลายของไฮโดรไลซ์เซเบิลแทนนิน 13
รูปที่ 2.3 ลักษณะโครงสร้างของคอนเดนซ์แทนนินบางชนิด 14
รูปที่ 2.4 UV-vis spectrum 18
รูปที่ 2.5 Diagram of single beam UV-vis spectrophotometer 20
รูปที่ 2.6 Digram of double beam UV-vis spectrophotometer 21
รูปที่ 2.7 ระดับพลังงานเมื่ออิเลคตรอนที่อยู่ภายในโมเลกุลถูกกระตุ้น เมื่อได้รับพลังงานคลื่นแสงในช่วง UV-Visible 21
รูปที่ 2.8 การดูดกลืนแสงและการเปลี่ยนระดับพลังงานของอิเลคตรอนภายในโมเลกุล 22
รูปที่ 2.9 การทำ calibration curve เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณของสาร 23
รูปที่ 3.1 เครื่อง UV-vis spectrophotometer, UV-160 , Shimudzu, Japan 25
รูปที่ 4.1 การสแกนสเปกตรัมเพื่อหาความยาวคลื่นที่เหมาะสม 30
รูปที่ 4.2 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของชาต่าง ๆ เทียบกับความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์แต่ละความเข้มข้น 32
รูปที่ 4.3 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงเมื่อความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์เปลี่ยนไป 34
รูปที่ 4.4 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 35

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ

สารประกอบไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นสารที่สามารถผลิตได้จากหลายกระบวนการโดยมักอาศัยการเกิดปฏิกิริยากันของสารตั้งต้นและได้สารผลิตภัณฑ์ออกมาเป็นสารประกอบไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับสารอื่น เช่น การผลิตสารประกอบไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากการนำสารโซเดียมเปอร์ออกไซด์ลงไปละลายน้ำที่ผสมน้ำแข็ง ผลที่ได้คือ ได้สารประกอบไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ กับเบสโซเดียมไฮดรอกไซด์ หรือ การผลิตสารประกอบไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากการ นำสารโซเดียมเปอร์โบเรต ไปทำการละลายในน้ำแล้วนำไปอุ่น ก็จะได้สารผลิตภัณฑ์ออกมาคือ โซเดียมเมตตาบอเรต กับ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เป็นต้น

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีประโยชน์มากมายและนำไปใช้หลายด้าน เช่น ด้านอุตสาหกรรมมักนำไปใช้เป็นสารฟอกสี ซึ่งมักพบในอุตสาหกรรมฟอกหนัง อุตสาหกรรมสิ่งทอ อุตสาหกรรมเยื่อกระดาษและกระดาษ อุตสาหกรรมเครื่องสำอางค์ และนอกจากนี้ยังพบว่ามีการนำไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไปใช้ทางด้านการสาธารณสุข อาทิ เป็นสารที่ใช้ในการฟอกสีฟันในทันตกรรม ใช้เป็นยาฆ่าเชื้อ ไม่ว่าจะอยู่ในรูปของยาสีฟัน และที่เห็นได้ชัดเจนคือ น้ำยาล้างแผล ที่ใช้กันทั่วไปตามบ้านเรือน

ในโครงงานพิเศษนี้ได้มีการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณของสารประกอบไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในสารตัวอย่างน้ำยาล้างแผลโดยใช้วิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี ควบคู่กับเทคนิคการไทเทรตซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน ในการสอบเทียบความถูกต้องวิธีที่ถูกพัฒนาขึ้นมา และเพื่อเป็นการง่ายต่อการทดลอง ลดเวลาในการวิเคราะห์ ต้นทุนในการวิเคราะห์ที่ต่ำ ใช้สารน้อยชนิดและปริมาณที่น้อย และใช้สารที่มีในห้องปฏิบัติการทั่วไป แต่ให้ผลการวิเคราะห์ที่ดี มีประสิทธิภาพ สามารถสอบกลับได้ และมีค่าใกล้เคียงกับวิธีมาตรฐาน

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

เพื่อพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยใช้สารสกัดจากใบชาเป็นรีเอเจนต์ และตรวจวัดด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

1.ทำการสกัดแทนนินจากใบชาแห้ง โดยวิธีแช่แบบครั้งเดียว

2.พัฒนาวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรีวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยใช้สารแทนนินที่สกัดได้จากใบชาเป็นรีเอเจนต์

1.4 ขั้นตอนการทำวิจัยและการดำเนินงาน

1. สืบค้นแหล่งข้อมูลจากแหล่งที่เกี่ยวข้อง

2.วางแผนการทดลองโดยการจัดหาอุปกรณ์ สารเคมี สารตัวอย่าง และเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

3.ดำเนินการทดลองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยใช้สารสกัดจากใบชาเป็นรีเอเจนต์ ตรวจวัดด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.ทำให้ทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดแทนนินจากใบชาโดยวิธีแช่แบบครั้งเดียว

2.ทำให้ทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี โดยใช้สารสกัดจากใบชาเป็นรีเอเจนต์

บทที่ 2

ทฤษฎีและหลักการ

2.1 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ [1]

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์นิยมใช้ในการฆ่าเชื้อโรคและใช้เป็นสารฟอกขาว การใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์นิยมใช้ในสถานะที่เป็นของเหลว มีการนำไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มาใช้ในกิจกรรมต่างๆดังนี้

1. **ด้านสาธารณสุข**

- ใช้ล้างแผลที่สกปรก
- ใช้หยอดหูที่มีขี้หูมาก
- ใช้เป็นน้ำยาบ้วนปาก
- ใช้ฆ่าเชื้อเครื่องมือเครื่องใช้ทางการแพทย์

2. **ด้านอุตสาหกรรม**

- ใช้เป็นสารฟอกขาวในอุตสาหกรรมฟอกหนัง สิ่งทอ เยื่อกระดาษและกระดาษ

3. **ด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ**

- ใช้ในการขจัดคลอรีน ไซยาไนท์ ไฮโดรเจนซัลไฟด์ ในไตรท์ สารประกอบกำมะถัน สารหนู และยังช่วยลดปริมาณของค่า BOD และ COD
- เป็นสารทำความสะอาดเหงือกและสัตว์น้ำ
- ใช้ในการรักษาโรคปลา

2.1.1คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีคุณสมบัติเป็นสารออกซิไดส์มีสูตรทางเคมีคือ H_2O_2 มีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสี และปราศจากตะกอนหรือสารแขวนลอย ซึ่งขายในท้องตลาดในลักษณะเป็นสารละลาย มีความเข้มข้นต่างๆกัน ความเข้มข้นที่นิยมใช้ คือ 27.5 , 35 , 50 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ละลายได้ในแอลกอฮอล์ มีจุดแข็งตัวที่ -0.4 องศาเซลเซียส และมีจุดเดือดที่ 150.2 องศาเซลเซียส ในกรณีที่สารละลายมีความบริสุทธิ์สูงและปราศจากสิ่งเจือปนจะมีความคงตัวสูงมาก สิ่งเจือปนที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการสลายตัวของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ได้แก่ เหล็กและทองแดง รวมทั้งโลหะหนักอื่นๆ

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นองค์ประกอบทางเคมีส่วนหนึ่งของโซเดียมเปอร์คาร์บอเนตและเปอร์ออกซิเจนอื่นๆซึ่งอยู่ในรูปของแข็ง เมื่อละลายน้ำไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะละลายแยกเป็นอิสระและแตกตัวเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไอออน (OOH^-) ด้วยขบวนการแตกตัวเป็นไอออน (ionization)

$$H_2O_2 \longrightarrow H^+ + (OOH^-)$$

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทำขึ้นได้โดยการใส่โซเดียมเปอร์ออกไซด์ลงในน้ำผสมน้ำแข็ง

$$Na_2O_2 + 2H_2O \longrightarrow H_2O_2 + 2NaOH$$

เนื่องจากมีความร้อนเกิดขึ้นจากปฏิกิริยา จึงทำให้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์บางส่วนสลายตัว

$$2H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + 2H_2O$$

ปกติแล้วมักใช้สารละลายของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ซึ่งเป็นเบส โดยมีสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ติดมาด้วย สารเริ่มต้นที่หาง่ายและราคาไม่แพงได้แก่ โซเดียมเปอร์โบเรต ($NaBO_3 \cdot 4H_2O$) ซึ่งเมื่อทำให้เป็นสารละลายในน้ำ แล้วนำไปอุ่นจะได้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

$$NaBO_3 + H_2O \longrightarrow NaBO_2 + H_2O_2$$

แสงและความร้อนทำให้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สลายตัวกลายเป็นน้ำได้อย่างดี ด้วยเหตุนี้ร้านเครื่องยาจึงบรรจุไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไว้ในขวดทึบแสงและยังเติมสารบางอย่าง เช่น แอลกอฮอล์ ลงไปเล็กน้อยเพื่อกันไม่ให้ H_2O_2 สลายตัวเร็วเกินไปและมีป้ายติดไว้ข้างขวดเตือนให้เก็บไว้ในที่เย็น

2.2 ชา [2]

2.2.1 ข้อมูลทั่วไปของชา

ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name)	Camellia sinensis (L.) Okutzte
ชื่อสามัญ (Common name)	Tea
วงศ์ (Family)	Theaceae

2.2.2 ถิ่นกำเนิดและการกระจายตัว

แหล่งกำเนิดชามี 2 แหล่ง

1.เอเซียใต้ถึงเอเซียตะวันออก เป็นดินแดนตั้งแต่แถบที่สูงลุ่มแม่น้ำพรหมบุตร แม่น้ำอิระวดี แม่น้ำสาละวิน และแม่น้ำโขงที่แบ่งเขตแดนประเทศอินเดีย พม่าและจีน มีจุดศูนย์กลางอยู่ทางตะวันออกเฉียงใต้ของจีน ต้นแม่น้ำอิระวดี และแพร่กระจายพันธุ์ไปยังท้องถิ่นอื่นๆลักษณะคล้ายรูปพัดจากด้านตะวันตกระหว่างเทือกเขานากา มานิบุรี และลูไซ่ ตามแนวชายแดนรัฐอัสสัมและสหภาพพม่าไปยังมณฑลซีเกียงของจีน แล้วมาทางด้านตะวันออกลงสู่ทิศใต้ตามเทือกเขาของสหภาพพม่าและภาคเหนือของไทยไปสิ้นสุดที่เวียดนาม

2.มณฑลยูนาน เป็นศูนย์กลางจุดกำเนิดของต้นชา เนื่องจากชาในมณฑลยูนานมีต้นชาป่ากระจายอยู่ทั่วไปอย่างหนาแน่น และมีหลากหลายทางพันธุกรรม

ชาสามารถขึ้นได้ดีตั้งแต่ในเขตร้อนถึงเขตอบอุ่นที่มีฝนตกชุก แหล่งปลูกชากระจายอยู่ตั้งแต่ละติจูดที่ 42 องศาเหนือในรัสเซีย(จอร์เจีย) ถึง 27 องศาใต้ในอาร์เจนตินา ในเขตอบอุ่นสามารถปลูกได้ในระดับน้ำทะเล ส่วนในเขตร้อนส่วนใหญ่จะปลูกชาในที่สูง อาจมีความสูงเหนือระดับน้ำทะเลถึง 1000 – 2000 เมตร

2.2.3ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ราก ชาเพาะเมล็ดมีระบบรากแก้ว หยั่งลึก 1.5 – 3.0 เมตร มีรากฝอยหาอาหาร แต่ไม่มีรากขน ชาที่ได้จากการปักชำไม่มีรากแก้ว รากชาจะมีการสะสมของสารคาร์โบไฮเดรตในรูปแป้ง การแตกยอดใหม่ของต้นชาขึ้นกับการสำรองสารคาร์โบไฮเดรตในราก

ลำต้น เป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก ทรงต้นรูปกรวย สูงประมาณ 30 ฟุต

ใบ ใบเดี่ยวไม่มีหูใบ การจัดเรียงตัวของใบเป็นแบบสลับ มี 1 ใบใน 1 ข้อ ขอบใบหยักแบบฟันเลื่อย ปลายใบแหลม แผ่นใบหนา ด้านบนใบมัน ใต้ใบมีขนอ่อนปกคลุม ใบยาวประมาณ 7-30 เซนติเมตร ชาจีนมีใบแคบสีเขียวแก่ ชาอัสสัมมีใบขนาดใหญ่ ปากใบมีมากบริเวณใต้ใบ

เมล็ด รูปร่างกลม เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.8-1.6 เซนติเมตร มีใบเลี้ยง 2 ใบ อวบหนามีน้ำมัน อยู่ในลักษณะหุ้มต้นอ่อนไว้ ผนังเมล็ดแข็งหนาเชื่อมติดกับเปลือกหุ้มเมล็ดซึ่งมีลักษณะบางเหนียว ในหนึ่งผลชามีเมล็ดชา 1-3 เมล็ด

ดอก ดอกจะเกิดจากตาระหว่างลำต้นกับใบ มีทั้งดอกเดี่ยวและดอกช่อ ก้านดอกสั้น ดอกมีกลิ่นหอม กลีบดอกสีขาวมี 5-8 กลีบ กลีบเลี้ยงมีสีเขียวเข้ม เป็นดอกสมบูรณ์เพศ (perfect flower) มีทั้งเกสรตัวผู้และตัวเมียในดอกเดียวกัน เกสรตัวผู้จะมีมากกว่าเกสรตัวเมีย ก้านเกสรตัวผู้ยาว 8-10 มิลลิเมตร อับเกสรตัวผู้มี 2 ช่อง ก้านชูเกสรตัวเมียสั้น มี 3-5 lobe การผสมเกสร อาศัยแมลงเป็นพาหะ

ผล เป็นแคปซูล เปลือกหนา มีสีน้ำตาลอมเขียว แบ่งเป็น 3 ช่อง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5-2.0 เซนติเมตร หลังจากผสมเกสร กลีบดอกและเกสรตัวผู้จะร่วง เป็นการเริ่มต้นติดผล ผลชาจะเจริญเติบโตช้ามากในช่วง 5 เดือนแรก จากเดือนที่ 6 ผลชาจะเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น จนถึงเดือน 11 และ 12 ผลชาจะแก่เต็มที่ ระยะเวลาตั้งแต่ติดผลจนถึงผลแก่ใช้เวลาประมาณ 9-12 เดือน เมื่อผลแก่เต็มที่ ผลจะแตกทำให้เมล็ดร่วงลงดินได้

2.2.4 การจัดประเภทและการแปรรูป

ชา ถูกจัดประเภทตามกระบวนการแปรรูป หลังจากการเก็บเกี่ยวใบของต้นชาจะถูกทิ้งให้สลด และ "บ่ม" โดย ทำให้เอนไซม์ในใบชาเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นกับออกซิเจนในอากาศ ใบชาจะมีสีเข้มขึ้น คลอโรฟิลล์ในใบชาจะแตกตัวกลายเป็นสารแทนนินที่ให้รสฝาด ต่อจากนั้นต้องหยุดการทำงานของเอนไซม์โดยใช้ความร้อนเพื่อให้หยุดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น โดยในชาดำกระบวนการนี้จะดำเนินคู่กันไปกับการทำให้แห้ง

หากไม่ระมัดระวังในการควบคุมความชื้นและอุณหภูมิระหว่างกระบวนการผลิตใบชาอาจขึ้นรา เกิดปฏิกิริยาสร้างสารพิษที่อาจเป็นสารก่อมะเร็งขึ้นได้ ทำให้รสชาติเสียไปและอันตรายต่อการบริโภค

ชานั้นแบ่งออกได้เป็นชนิดหลักๆ 4 ชนิดคือ ชาดำ (black tea) ชาอูหลง (oolong) ชาเขียว (green tea) และชาขาว (white tea) ชาทุกชนิดต่างก็ได้มาจากใบของพืชชนิดเดียวกันแต่ที่เรียกชื่อแตกต่างกันนั้นก็เนื่องมาจากกระบวนการผลิต (การหมัก) ใบชาที่แตกต่างกันไปและนอกจากนี้ยังมีชารูปแบบอื่นๆ โดยการนำพืชที่ไม่ใช่ชามาแปรรูปแล้วนำมาเป็นเครื่องดื่มคล้ายชา คือ ชาใบหม่อน ชาตะไคร้เตยหอม และชามะลิ เป็นต้น

ชาดำ (Black tea)

การผลิตชาดำ ทำได้โดยการนำใบชามาทำให้แห้งโดยการรีดน้ำที่หล่อเลี้ยงให้ใบชาชุ่มชื้นออกมาเพื่อทำให้ใบชาเหี่ยวและอ่อนลีบ โดยใช้ระยะเวลาทั้งสิ้น 16 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงนำใบชาที่แห้งแล้วนั้นมากลิ้งด้วยลูกกลิ้ง บดและฉีก ต่อจากนั้นจึงนำไปหมัก ซึ่งหลังจากกระบวนการหมักทั้งสิ้นแล้ว จะได้ใบชาที่แห้งสนิทจากการสำรวจพบว่ามีผู้ที่บริโภคชาดำประมาณ 78% โดยส่วนใหญ่จะเป็นประชากรที่อาศัยอยู่ในประเทศในแถบตะวันตกและแถบทวีปเอเชีย

ชาอูหลง (Oolong tea)

การผลิตชาอูหลง ผ่านกระบวนการผลิตด้วยการหมักแต่เพียงครึ่งหนึ่ง จึงทำให้รสชาติและสรรพคุณอยู่ระหว่างชาดำและชาเขียว กระบวนการผลิตชาอูหลงเริ่มจากนำใบชามาทำให้แห้งลีบโดยใช้เวลาทั้งสิ้น 6 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงนำไปกลิ้งด้วยลูกกลิ้ง ฉีก และหมักด้วยระยะเวลาสั้น ๆ หลังจากนั้นจึงนำไปกลิ้งด้วย ลูกกลิ้ง ฉีก และหมักด้วยระยะเวลาสั้นๆ ชาอูหลงเริ่มผลิตเป็นครั้งแรกในภาคตะวันออกของประเทศจีนและทางภาคเหนือของไต้หวัน เป็นชาที่มีผู้บริโภคน้อยที่สุดประมาณ 2% ซึ่งจะพบว่ามีผู้บริโภคมากในประเทศไต้หวันและทางตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศจีน

ชาเขียว (Green tea)

การผลิตชาเขียว ทำโดยนำใบชามาอบไอน้ำ หลังจากนั้นจึงนำไปกลิ้งด้วยลูกกลิ้งและทำให้แห้งอย่างรวดเร็ว ด้วยวิธีการดังกล่าวจึงทำให้ใบชายังคงมีสีเขียว จากกระบวนการผลิตที่ง่ายและน้อยขั้นตอน ทำให้ชาเขียวยังคงมีสารในพืชที่มีประโยชน์หลงเหลืออยู่มากกว่าชาชนิดอื่น ๆ ที่เรียกว่า ไฟโตเคมิคัล (phytochemicals) มีผู้ที่บริโภคชาเขียวประมาณ 20 % โดยส่วนใหญ่จะอาศัยอยู่ในประเทศจีน ญี่ปุ่น อินเดีย และประเทศในทวีปแอฟริกาเหนือ

ในยุคปัจจุบันมีการทำผลิตภัณฑ์จากชาหลากหลายชนิด เช่น ชาเย็นพร้อมดื่ม และ ผสมส่วนผสมอย่างอื่นเพื่อแต่งกลิ่นและรส เช่น เนสที ชาโออิชิ

ชาขาว (White tea)

ลักษณะพิเศษของชาชนิดนี้ อยู่ที่ใบชาและยอดอ่อนถูกนำมาอบไอน้ำและทำให้แห้งด้วยวิธีง่ายๆ ชาขาวได้มาจากต้นชาเช่นเดียวกัน มีลักษณะใกล้เคียงกับชาเขียว แต่ชาขาวมีปริมาณไม่มากนัก เนื่องจากในแต่ละปีจะสามารถเก็บเกี่ยวได้เฉพาะในบางวันเท่านั้น และช่วงเวลาการเก็บเกี่ยวในแต่ละครั้งก็สั้นมากและต้องทำอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงที่ยอดอ่อนของต้นชาเพิ่งจะผลิออกมาใหม่ และยังคงมีเส้นไหมหรือเส้นขนละเอียดสีเงินปกคลุมอยู่การเก็บเกี่ยวโดยเลือกเอาแต่เฉพาะยอดอ่อนที่ยังเต็มไปด้วยขนสีขาว ปกคลุมนี่เอง ทำให้ได้ชาที่มีลักษณะพิเศษ คือมีสีขาว

ชาตะไคร้เตยหอม

เป็นชาที่ไม่ได้ใช้ส่วนผสมจากต้นชาเลย แต่ว่านำพืชที่มีกลิ่นหอม มาหั่นพอประมาณ และอบแห้ง เป็นชาที่มีกลิ่นค่อนข้างแรง และราคาถูกกว่าชาแท้ๆ แต่รสชาติจะสู้ไม่ได้

ชามะลิ

เป็นชาที่นำชาเขียว (หรืออาจเป็นชาอื่นๆ) มาใส่ดอกมะลิที่รีดน้ำและกลิ้งแล้ว ใส่ลงไปปกติถ้าเป็นชาที่คุณภาพต่ำ จะไม่ใช้มะลิแท้ๆมาทำเพียงแค่แต่งกลิ่นประกอบเพิ่มเท่านั้น ส่วนชามะลิแท้จะใส่มะลิอบแห้งไปด้วยทำให้ได้รสและกลิ่นมะลิเต็มตัวทำให้ราคาของชามะลิแท้จะค่อนข้างแพง

ชาใบหม่อน

เป็นชาที่กำลังได้รับความนิยม ไม่แพ้ชาชนิดอื่น โดยสรรพคุณของใบหม่อนจะช่วยป้องกันรักษาโรคเบาหวาน ลดระดับน้ำตาลในเส้นเลือด และช่วยขจัดไขมันส่วนเกินในร่างกายได้ดี อีกทั้งยังมีราคาค่อนข้างถูกเมื่อเทียบกับชาชนิดอื่นๆ

หม่อน (Morus spp.) สมุนไพรพื้นบ้าน อาหารของหนอนไหม กลายมาเป็นเครื่องดื่มบำรุงสุขภาพชั้นเยี่ยมของมนุษย์ สถาบันหม่อนไหมแห่งชาติเฉลิมพระเกียรติสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ (สมมช.) ได้บุกเบิกการค้นคว้าวิจัยการผลิตชาใบหม่อนและสรรพคุณของพืชชนิดนี้มาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2536 ร่วมกับสถาบันอาหาร มหาวิทยาลัยมหิดล มหาวิทยาลัยขอนแก่น มหาวิทยาลัยรังสิต มหาวิทยาลัยนเรศวร และกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พบใบหม่อนมีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายครบทุกชนิด มีแคลเซียมสูง มีสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญหลายชนิด เช่น เควอซิติน (quercetin) แคมเฟอรอล (kaempferol) และ รูติน(rutin) นอกจากนั้นยังพบชาใบหม่อนมีสารดีเอ็นเจ (1-deoxynojirimycin) มีสรรพคุณลดระดับน้ำตาลในเลือด มีสารกาบา (gamma amino-butyric acid) ลดความดันโลหิต มีสารกลุ่มฟายโตสเตอโรล (Phytosterol) ลดไขมันในเลือด อีกทั้งไม่พบผลข้างเคียง จึงปลอดภัยต่อผู้บริโภค

2.2.5 สารสำคัญบางชนิดในใบชา

คาเฟอีน (Caffein) เป็นสารประกอบอินทรีย์ ไม่มีสี รสขม มีอยู่ในใบชาประมาณ 2.5-4.5 % มีฤทธิ์กระตุ้นประสาทส่วนกลาง ทำให้ร่างกายกระฉับกระเฉง กระปรี้กระเปร่า สดชื่นแจ่มใส ไม่เหนื่อยง่าย หายง่วง และยังเพิ่มการเผาผลาญอาหาร เพิ่มการทำงานหัวใจและไต

แทนนิน (Tannin) หรือ Gallotannic acid มีอยู่ในใบชาประมาณ 22 % มีมากในส่วนยอดชา หลังจากผ่านกระบวนการผลิตแล้วจะเหลืออยู่ประมาณ 15% แทนนินมีรสฝาดจะละลายออกมาจากใบชาอย่างช้า ๆ ใช้บรรเทาอาการท้องเสียได้ และนอกจากนี้แทนนินยังช่วยเพิ่มความยืดหยุ่นของกล้ามเนื้อหัวใจและขยายผนังหลอดเลือด

สารโพลีฟีนอล (Polyphenol) ในใบชาสดมีสารโพลีฟีนอลที่มีชื่อว่า ฟลาวานอล (flavanol) หรือ คาเทชิน (catechin) สารนี้มีประมาณ 30 % ของน้ำหนักใบชาแห้ง เป็นสาระสำคัญที่มีผลต่อสี กลิ่น รสชาติของชา และที่สำคัญสารที่พบในใบชา โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีมาก จึงช่วยป้องกันไม่ให้ร่างกายได้รับความเสียหายจากอนุมูลอิสระ ช่วยกำจัดการลุกลามของเซลล์เนื้องอก ทั้งยังเข้าไปแทรกแซงในกระบวนการก่อตัวและในกระบวนการลุกลามของมะเร็ง โดยไม่ทำลายเนื้อเยื่อส่วนดี

สารทีโอฟีลิน(Theophyline) มีในส่วนยอดและในใบชาประมาณ 0.02 – 0.04 % เป็นสารจำพวก Methylxanthines จัดเป็นอัลคาร์ลอยในกลุ่มพิวรีนทีโอฟิลิน มีฤทธิ์ขยายหลอดลม แก้หืด กระตุ้นหัวใจและประสาทส่วนกลาง และมีฤทธิ์ขับปัสสาวะ

สารธีอานีน (Theanine) เป็นสารประกอบจำพวกกรดอะมิโน ที่พบในชา ซึ่งสารเหล่านี้จะถูกดูดซึมสู่ทางเดินอาหารได้ถึงร้อยละ 90 แล้วแผ่กระจายไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ ภายใน 5 นาที และยังคงออกฤทธิ์อยู่ในช่วงเวลา 6 - 14 ชั่วโมง ซึ่งเชื่อว่าเป็นยารักษาโรคได้สารพัดและเป็นยาอายุวัฒนะที่เชื่อกันมาตั้งแต่โบราณกาล

สารให้กลิ่นหรือน้ำมันหอมระเหย ส่วนใหญ่เป็นสารโมโนเทอร์ปีนส์อัลดีไฮด์ และแอลกอฮอล์ มีอยู่ประมาณร้อยละ 0.5 -1.0 %

2.2.6 การเก็บรักษาใบชา

ใบชาจะเสื่อมคุณภาพไปตามระยะเวลาและสภาพแวดล้อม การเก็บใบชาให้คงคุณภาพดีไว้ได้นานๆจะต้องควบคุมปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพของใบชา ได้แก่ ความชื้น อุณหภูมิ ออกซิเจน และแสงสว่าง นอกจากนี้ยังต้องเก็บใบชาให้ห่างจากของที่มีกลิ่น เช่น น้ำหอม สบู่ ลูกเหม็นซึ่งใบชาสามารถดูดซับกลิ่นเอาไว้ในใบชาได้ การเก็บรักษาใบชาควรเก็บในภาชนะทึบแสง มีฝาปิดสนิท ลักษณะเป็นรูปทรงกระบอกปากแคบและสูง เช่น กระป๋องโลหะสแตนเลส หรือดีบุก กระบอกไม้ไผ่ กระบอกกระดาษแข็ง ฯลฯ ควรใส่ซิลิก้าเจลหรือถ่านแห้งช่วยดูดความชื้น เก็บไว้ในที่เย็นและไม่ควรเก็บชาหลายชนิดปะปนกัน

2.2.7 ประโยชน์ของใบชา

ปัจจุบันมีชามากกว่า 3000 ชนิด แต่ชาที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพมากที่สุด คือ ชาที่ผลิตจากต้นชา Camellia sinensis เนื่องจากชาชนิดนี้มีสารต้านอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระที่พบคือ โพลีฟีนอลและไบโอฟลาโวนอยด์ นอกจากนี้ยังมีธาตุอาหารต่างๆ กรดอะมิโน คือ ธีอานีน สารคาโรที

นอยด์ คลอโรฟิล และโปรแอนโธไซยานิดิน เป็นองค์ประกอบที่ช่วยให้ร่างกายมีสุขภาพดี แข็งแรง รวมทั้งน้ำมันหอมระเหยต่างๆ ประโยชน์ของชาพอสรุปได้ดังนี้

1. มีธาตุอาหารหลายชนิดเป็นองค์ประกอบ เช่น วิตามินซี โปรตีน น้ำตาล บำรุงร่างกาย ทำให้มีสุขภาพดี

2. มีคาเฟอีนเป็นองค์ประกอบ

    - ช่วยกระตุ้นให้ระบบประสาทให้ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ ช่วยกระตุ้นระบบไหลเวียนของโลหิต
    - ช่วยขยายหลอดเลือด ช่วยป้องกันโรคหัวใจตีบตัน ช่วยรักษาอาการกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด
    - ช่วยรักษาอาการเจ็บหน้าอก ช่วยให้กล้ามเนื้อผ่อนคลาย ช่วยรักษาโรคหวัด
    - ช่วยรักษาโรคปวดหัว มีสิทธิพลต่อระบบเมตาโบลิซึ่มของเซลล์ร่างกาย

3. มีสารโพลีฟีนอลช่วยฆ่าเชื้อแบคทีเรียสาเหตุของโรคไทฟอยด์ อหิวาตกโรค
4. มีสารไดเมธิลแซนธีน ช่วยระบบขับถ่ายให้ดีขึ้น
5. ช่วยแก้กระหาย ดื่มแล้วชุ่มคอ ชื่นใจ และช่วยย่อยอาหาร แก้ร้อนใน และลดไขมัน
6. ช่วยลดอาการอักเสบ สมานแผล
7. ช่วยชะล้างสารพิษออกจากร่างกาย
8. ใช้เป็นส่วนประกอบของยา
9. ช่วยให้ระบบขับถ่ายดีขึ้น
10. ชาผงใช้ในการแต่งกลิ่นในอาหาร
11. ใช้ระงับกลิ่น เช่น กากใบชาที่เหลือจากการชงชาแล้ว ผึ่งไว้แห้งบรรจุภาชนะต่างๆ เช่น ถุงผ้า ฯลฯ สามารถดับกลิ่นในตู้เสื้อผ้า ดับกลิ่นในตู้เย็น ดับกลิ่นในตู้ไมโครเวฟ ดับกลิ่นในตู้ที่อับชื้น ดับกลิ่นในตู้ที่อับชื้น ดับกลิ่นในรถยนต์ ดับกลิ่นในห้องน้ำ ดับกลิ่นในห้องครัว ฯลฯ
12. ขยายหลอดลม
13. ป้องกันมะเร็ง ปอด ผิดหนัง กระเพาะอาหาร ตับ ลำไส้เล็ก
14. ลดโคเลสเตอรอลในเลือด
15. ลดน้ำตาลในเลือด
16. ลดอัตราการแบ่งตัวของไวรัส
17. หมอนที่มีกากใบชาแทนนุ่นช่วยคลายเครียดทำให้นอนหลับสบาย

2.2.8 ข้อห้ามสำหรับผู้ดื่มชา

สตรีมีครรภ์ เด็กที่อายุน้อยกว่า 3 ขวบ หรือ กำลังมีประจำเดือน ไม่ควรดื่มชา เนื่องจากชา (โดยเฉพาะคุณภาพต่ำ) จะรวมตัวกับสารอาหารต่างๆที่มีประโยชน์ เช่นธาตุเหล็ก ซึ่งจะทำให้ผู้นั้นขาดสารอาหารบางชนิดได้ ผู้ป่วยไม่ควรดื่มชาเนื่องจากยาที่กินเข้าไป อาจทำปฏิกิริยากับชานั้นๆได้ ไม่ควรดื่มชา ใกล้ๆเวลาอาหาร ควรดื่มหลังอาหารไป2-3ชั่วโมง เนื่องจากจะไปรวมตัวกับสารอาหารสำคัญได้

2.3 แทนนิน (Tannin) [3]

แทนนิน มาจากคำว่า “แทนนิ่ง" "tanning" ซึ่งแปลว่ารักษาไว้และกันน้ำ แทนนิ่งคือการเปลี่ยนหนังสัตว์ที่ตายแล้วให้เป็นผลิตภัณฑ์หนังโดยการใช้สารสกัดจากพืช

แทนนินมีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในกระเพาะอาหาร หากกินเข้าไปมากจะทำให้รู้สึกท้องอืด หรือท้องผูก มีอาการเหมือนกับการดื่มน้ำชา สามารถลดพิษได้โดยการทำให้สุกก่อนรับประทาน

สารประกอบระหว่างแทนนินและโปรตีนมีพันธะค่อนข้างคงที่ในสภาพตามธรรมชาติ และเมื่อเปลี่ยนสภาพไปไม่สามารถผันกลับได้ พันธะระหว่างแทนนินและโปรตีนสามารถลดได้หลายวิธี เช่น ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมจะมีโพรลินในน้ำลายสูง โดยโพรลินจะทำหน้าที่ในการคลายพันธะก่อน อย่างไรก็ตามในส่วนของโพรลินจากน้ำลายผลยังไม่ชัดเจน ปัจจัยที่มีผลมากกว่า ได้แก่ สภาพความเป็นกรด-ด่างมากกว่าในสภาพในกระเพาะรูเมนมีสภาพค่อนข้างเป็นกลางซึ่งสารประกอบแทนนินกับโปรตีนยังไม่มีการสลายพันธะ แต่เมื่อผ่านไปที่กระเพาะจริงและลำไส้เล็กจะมีสภาพเป็นกรดจากกรดน้ำดี ทำให้พันธะถูกทำลายได้และแสดงให้เห็นว่าพันธะระหว่างคอนเดนซ์แทนนินสามารถถูกทำลายที่ pH น้อยกว่า 3.5 กลไกของแทนนินต่อจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของแทนนิน โดยหากมีแทนนินเพียงจำนวนน้อยอาจจะไม่มีผลใดๆ ต่อการทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน และจุลินทรีย์บางชนิดในกระเพาะรูเมน มีความทนทานต่อแทนนินในระดับที่สูง และโดยปกติจุลินทรีย์ในรูเมนมีความสามารถในการลดความเป็นพิษของสารต่อต้านโภชนะต่างๆไม่เพียงเฉพาะสารประกอบแทนนิน โดยปกติแล้วจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนส่วนใหญ่จะย่อยอาหารคาร์โบไฮเดรทเป็นหลักก่อน และจุลินทรีย์จะเลือกใช้โปรตีนที่สามารถย่อยง่ายจากแหล่งอื่นก่อน เช่น จากยูเรีย ส่วนโปรตีนจากพืชอาหารสัตว์จะถูกย่อยได้เพียงจำนวนน้อยเท่านั้น ในพืชหลายชนิดโดยเฉพาะพืชในเขตร้อนจะมีองค์ประกอบของแทนนินสูงกว่าประเทศในเขตหนาว ประโยชน์และความคุ้มค่าของแทนนินอยู่ที่ความสามารถในการป้องกันการย่อยได้ของอาหารโปรตีนในกระเพาะรูเมน ซึ่งโดยปกติการให้อาหารสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้องจะมีการคำนวณโปรตีนในส่วนนี้ให้เพียงพออยู่แล้ว โดยส่วนใหญ่จะเป็นโปรตีนคุณภาพดีและมีราคาแพง เช่น โปรตีนจากกากถั่วเหลือง กากเมล็ดฝ้าย กากเบียร์แห้ง เป็นต้น หากสามารถทดแทนโปรตีนจากโปรตีนพืชอาหารสัตว์จะสามารถลดต้นทุนการผลิตได้มาก สามารถปลูกไว้ใช้เองหรือสามารถส่งเสริมให้เกษตรกรทั่วไปใช้ได้อย่างกว้างขวาง

แทนนิน (tannin) เป็นสารประกอบพวกฟีนอลิกซึ่งกระจายตัวอยู่ตามส่วนต่างๆ ของผลไม้ ทั้งเปลือก เมล็ด และใบ ไม่สามารถไฮโดรไลซ์ด้วยกรดหรือด่างได้ แต่ละลายได้ดีในแอลกอฮอล์และสารละลายของอะซิโตน เมื่อต้มกับกรดจะรวมตัวกันเป็นโพลิเมอร์เกิดเป็นสารประกอบที่ไม่ละลาย แทนนินสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น อุตหกรรมฟอกหนัง การย้อมสีผ้าและด้าย การทำกาว เครื่องสำอางและยารักษาโรค นอกจากนี้ยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอย่างกว้างขวาง โดยใช้เป็นสารเสริมรสชาติของอาหารบางชนิด แทนนินที่สกัดจากธรรมชาติส่วนใหญ่สกัดจากส่วนเปลือกไม้โอ๊ก ไม้ยูคาลิตัส และไม้โกงกาง

2.3.1 สารประกอบแทนนิน

แทนนิน เป็นสารประกอบเชิงซ้อนพวกฟีนอลิกที่ได้จากธรรมชาติ ที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 500 และ 3000 ทั้งยังมีหมู่ฟีนอลิก (Phenolic Hydroxy) อิสระอยู่จำนวนหนึ่ง(1-2 ต่อ 100 หน่วยน้ำหนักโมเลกุล) ที่สามารถเกิดการเชื่อมโยงได้กับสารโปรตีนและสารไบโอโพลิเมอร์ (Biopolymer) เช่น เซลลูโลส (Cellulose) เพคติน (Pectin) ได้สารใหม่ที่มีคุณสมบัติคงตัว ธรรมชาติของแทนนินนั้น พบว่ามีการกระจายตัวอยู่ในอาณาจักรของพืชเกือบทุกวงศ์ และเกิดเป็นองค์ประกอบที่สำคัญที่เด่นมากในพืชใบเลี้ยงคู่จำนวนมากมาย แต่ในพืชชั้นต่ำ เช่น เชื้อรา มอส ลิเวอร์เวิร์ท (Liverworts) ตลอดจนพวกหญ้าทั้งหลาย พบว่ามีแทนนินเป็นองค์ประกอบอยู่น้อยมาก

2.3.2 โครงสร้างของแทนนิน

ประกอบด้วยองค์ประกอบหลัก 3 ส่วนคือ

1.True tannin เป็นสมบัติทั่วๆไปของแทนนินและสามารถทำให้ตกตะกอนได้ด้วยสารละลายเจลาติน 1 เปอร์เซ็นต์

2. Non - Tannin polyphenol เป็นส่วนที่ไม่สามารถตกตะกอนได้ด้วยเจลาติน เช่น แกลลิคแอซิด (gallic acid) และเอลากิดแอซิด (Ellagid acid)

3. Colored compounds เป็นสารประกอบกลุ่มของแอนโธไซยานิน (anthocyanin) และฟลาโวน (flavone)

2.3.3 คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของแทนนิน

1. แทนนินเป็นสารละลายได้ในน้ำ แอลกอฮอล์ อะซีโตน และไพริดีน แต่ไม่ละลายในตัวทำละลายไขมัน เช่น อีเทอร์ คลอโรฟอร์ม แต่เมื่ออยู่ในน้ำจะมีสภาพเป็นคอลลอยด์

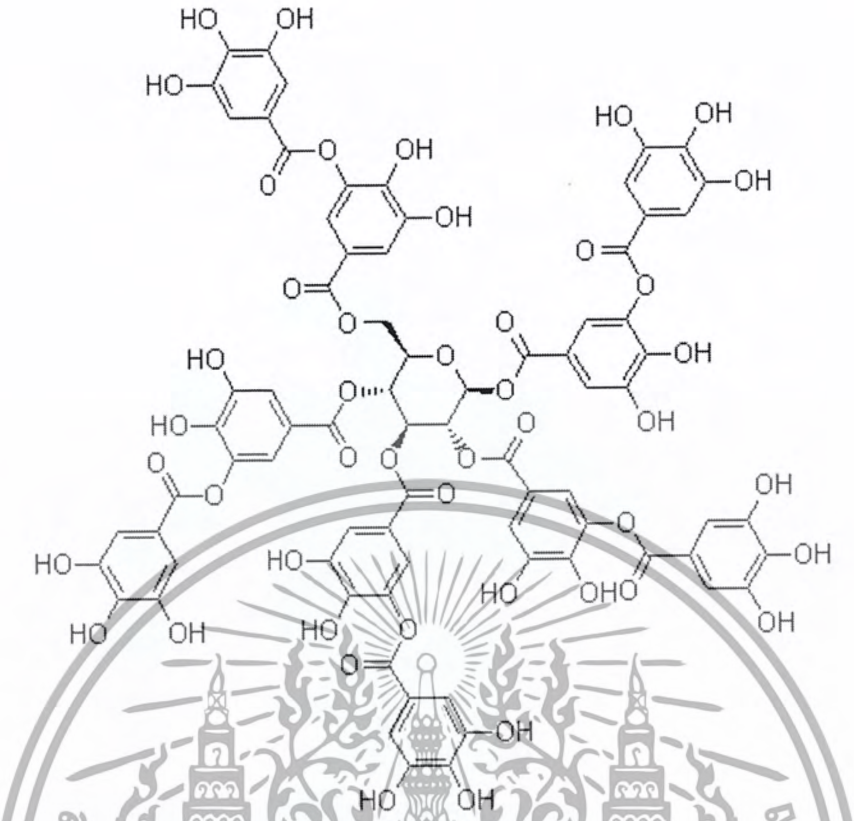
2. เมื่อทำปฏิริยากับเกลือของเหล็กจะเป็นสีน้ำเงินหรือเขียว

3. สามารถตกตะกอนได้ด้วยเกลือของโลหะ เช่น copper acetate, lead acetate, stannous chloride, potassium dichromate

4. สามารถทำให้แอลคอลลอยด์ (alkacolloid) ตกตะกอนได้และสารอินทรีย์ที่มีลักษณะเป็นเบส ก็สามารถตกตะกอนได้เช่นกัน

5. ในสารละลายที่มีความเป็นด่าง แทนนินจะถูกดูดซับไอออนและเปลี่ยนเป็นสีคล้ำ

6. เมื่ออยู่ในสารละลาย potassium ferric oxide และแอมโมเนียจะเกิดสีแดงเข้ม

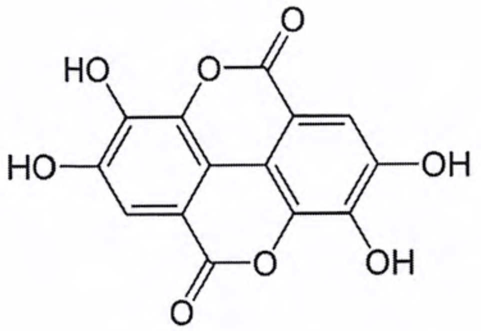


รูปที่ 2.1 สารประกอบแทนนิน

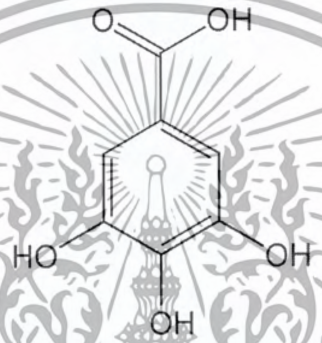
2.3.4 ประเภทของแทนนิน

แทนนินเป็นสารประกอบเชิงซ้อนพวกฟีนอลิก (Complex Phenolic Compound) ที่ซับซ้อนเป็นส่วนมาก ประกอบด้วย คาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน มีรูปผลึกไม่แน่นอน และไม่สามารถตกผลึกได้ (Uncrytallization) ยากที่จะสกัดออกมาได้อย่างบริสุทธิ์ การแบ่งชนิดของแทนนินขึ้นอยู่กับส่วนประกอบ โครงสร้างของโมเลกุล การแยกละลายด้วยน้ำ (Hydrolysis) ด้วยความร้อน กรด ด่าง เอนไซม์ และเชื้อราต่างๆ ดังนั้นเราจึงสามารถแบ่งแทนนิน ออกเป็น 2 ประเภทคือ

1. ไฮโดรไลซ์เซเบิลแทนนิน (Hydrolyzable tannin) คือแทนนินที่มีโครงสร้างเป็นสารประกอบโพลีที่ซับซ้อน ซึ่งสามารถสลายตัวได้ง่าย เมื่อทำการสลายด้วยน้ำ แทนนินชนิดนี้เป็นเอสเทอร์ระหว่างน้ำตาล 1 โมเลกุล กับกรดโพลีคาร์บอกซิลิก (Polycarboxilic acid) อีก 1 หรือมากกว่า 1 โมเลกุล น้ำตาลส่วนใหญ่ที่มักพบเป็นน้ำตาลกลูโคส เกิดการเชื่อมโยงแบบเดปไซด์ (Depside linkage) ทำให้แทนนินสามารถถูกไฮโดรไลซ์ได้ง่ายด้วยกรด ด่าง และเอนไซม์บางชนิด ซึ่งไฮโดรไลซ์เซเบิลแทนนิน ยังสามารถแบ่งออกได้ 2 ชนิด คือ



ellegic acid



gallic acid

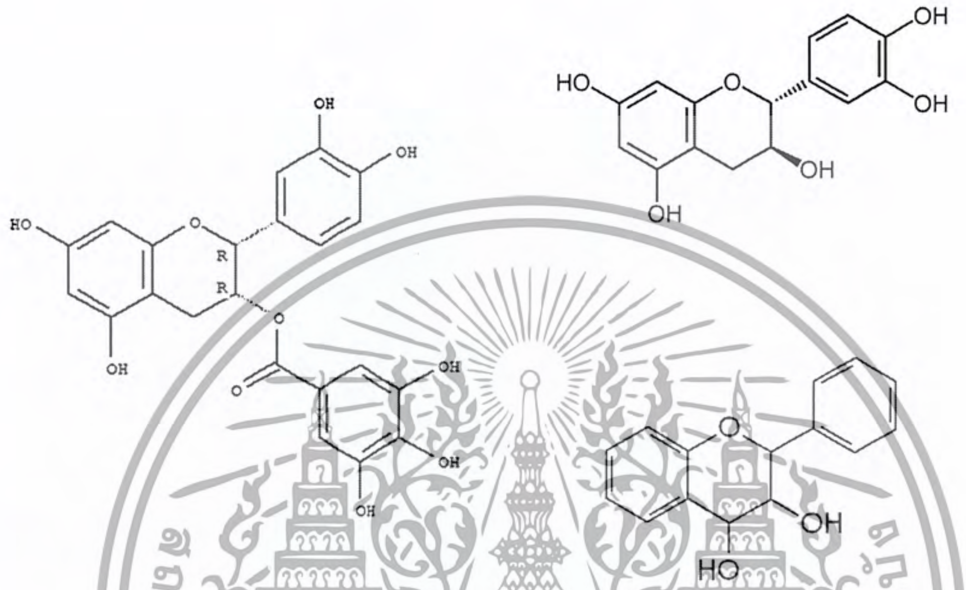
รูปที่ 2.2 ลักษณะโครงสร้างของกรดที่ได้จากการแตกสลายของไฮโดรไลซ์เซเบิลแทนนิน

แกลโลแทนนิน (Gallotannin) เป็นแทนนินที่มีโครงสร้างของโมเลกุลประกอบด้วยกรดแกลลิค (3,4,5-hydroxybenzoic) ตั้งแต่ 2 โมเลกุลขึ้นไปเชื่อมต่อกันและน้ำตาล ตัวอย่างของแทนนินชนิดนี้ได้แก่ Glucogallin พบในต้นชาจีน 3,6 - digalloyl glucose ในลูกสมอ 1,3,6 - trigalloyl glucose acertannin ในใบของเมเปิล และเปลือกของต้นโอ๊ค

เอลลาจิคแทนนิน (Ellagitannin) โครงสร้างของโมเลกุลประกอบด้วยกรดแอลลาจิคและน้ำตาล เชื่อมต่อการด้วยพันธะเอสเทอร์ เมื่อถูกย่อยสลายจะได้กรดแอลลาจิค และน้ำตาล ตัวอย่างของแทนนินชนิดนี้ได้แก่ corigin พบในลูกสมอ ลักษณะของโครงสร้างของแทนนินชนิดนี้ดังรูปที่ 2.2

2. คอนเดนซ์แทนนิน (Condense tannin) คือแทนนินชนิดรวมตัวกันแน่นเป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างของโมเลกุลที่ซับซ้อนมาก จัดอยู่ในประเภท โพลีเมอริกโพลีฟีนอล (Polymeric polyphenols) ที่มีน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 500 - 3000 ขึ้นไปถูกย่อยสลายได้ยาก ประกอบด้วยโพลีไฮดริกฟีนอล (Polyhydric phenols) ซึ่งรวมตัวกันเป็นโมเลกุลใหญ่ด้วย C-5 linkage ไม่สามารถไฮโดรไลซ์ด้วยกรดหรือด่าง แต่ละลายได้ดีในน้ำร้อน แอลกอฮอล์ และอะซีโตน พบมากในพืชชั้นสูงกว่าพืชที่เป็นไฮโดรไลซ์เซเบิลแทนนิน คอนเดนซ์แทนนินทุกตัวถูกสร้างขึ้นมาจากสารตั้งต้น (precuser) คือ catechin เป็นโครงสร้างหลักโดยจะรวมตัวกับกรดหรือสารอินทรีย์ต่างๆ ทำให้น้ำ

หนักโมเลกุลสูงขึ้น เมื่อนำคอนเดนซ์แทนนินไปไฮโดรไลซ์กับกรดจะเกิดโพลิเมอไลซ์เซชั่น (Polymerlization) ได้ตะกอนสีแดง เรียกแทนนินชนิดนี้ว่า tannic red หรือ insoluble amorphous phtobathene แทนนินชนิดนี้ได้แก่ 3 - galloyl catechin พบในใบชา luecoanthocyanin พบในผลไม้สุก ลักษณะโครงสร้างดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 ลักษณะโครงสร้างของคอนเดนซ์แทนนินบางชนิด

2.3.5 บทบาทและความสำคัญของแทนนินที่มีต่ออุตสาหกรรมอาหาร

รสฝาดของแทนนินที่มีผลต่ออาหาร สามารถแสดงความฝาดโดยการเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแทนนินและโปรตีน เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่า ปริมาณและชนิดของแทนนินในพืชนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ความแก่อ่อน สภาพอากาศ ฤดูกาล เกลือแกง แหล่งเพาะปลูก และช่วงการเจริญเติบโต โดยทั่วไปแทนนินเป็นสารประกอบที่ทำให้เกิดความฝาด สารที่ทำให้เกิดความฝาดคือโพลิเมอริค (Polymeric) ของสารประกอบกลุ่มฟีนอล และเคเทซิน (Catechin) หรือ ฟลาวานอล (Flavanol) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลสูงๆ เนื่องจากเกิดเป็นปฏิกิริยาเชื่อมโยงพันธะข้าม (Cross linking) กลับโปรตีนที่มีอยู่ในน้ำลายตกตะกอนกันแทนนินทำให้เกิดสารหล่อลื่น (Libricating action) ในปากลดลง ความเข้มข้นของความฝาดที่ยอมรับได้คือ 20 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร สามารถตรวจสอบได้เมื่อนำมาละลายในน้ำ ส่วนคอนเดนซ์แทนนินชนิดลิวโคแอนโธไซยานิน (Luecoanthocyanin) ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำๆ จะไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาเชื่อมพันธะข้ามระหว่างไกลโคโปรตีนกับโปรตีน ทำให้ผลไม้ไม่เกิดรสฝาด ในผลไม้จะมีสารประกอบพวกฟลาลาวานอย สามารถเกิดปฏิกิริยาโพลิเมอร์ไรเซชั่นเป็นลิวโคแอนโธไซยานิน และมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนถึงจุดหนึ่งเมื่อผลไม้สุก ลิวโคแอนโธไซยานินจะเปลี่ยนเป็นตะกอนแข็ง ไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาเชื่อมพันธะข้ามระหว่างระหว่างไกลโคโปรตีนและโปรตีนได้ต่อไป ดังนั้นผลไม้สุกจึงมีรสฝาดน้อยที่สุด หรือไม่มีเลย ทั้งนี้

อาจจะเป็นผลเนื่องมาจากแทนนินอยู่ในรูปเฉื่อย (Inactive) สามารถรวมตัวกับสารประกอบประเภทโปรตีนหลายๆชนิดหรือคาร์โบไฮเดรตหรือแทนนินอาจจะรวมตัวกันเอง เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีโมเลกุลสูงและมีขนาดใหญ่ และมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสรีระวิทยาของผลไม้และเมล็ด สาเหตุของการเปลี่ยนแปลงที่เป็นไปได้นั้น คือปฏิกิริยานั้นอาจจะเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติหรืออาจจะเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ แทนนินที่มีการเกิดปฏิกิริยาโพลิเมอร์ไรเซชั่นสูงๆ จะเกิดปฏิกิริยาเชื่อมพันธะข้ามมากไป ซึ่งเกิดเป็นตะกอนแข็ง และไม่มีรสฝาดเพราะฉะนั้นความฝาดที่มากที่สุดควรมีโมเลกุลพอสมควร ไม่เล็กหรือใหญ่จนเกินไป สาเหตุของความฝาดนั้นนอกจากจะเกิดจากแทนนินแล้วยังมีสาเหตุอื่นๆ อีกที่สามารถเกิดความฝาดได้อีกได้แก่ เกลือของโลหะอลูมิเนียม โครเมียม สังกะสี ตะกั่ว แคลเซียม แมกนีเซียม สารบอแรกซ์ กรดบอริกซ์ และสารดีไฮเดรท (dehydrating) เช่น แอลกอฮอล อะซีโตน และมิเนอรัลแอซิด เช่น ฮาโลจิเนตอะซีติก

การตกตะกอนของไวน์ ความสามารถของแทนนินในการรวมตัวสารประกอบเชิงซ้อนกับโปรตีนในอาหาร มีประโยชน์ในแง่ของผลิตภัณฑ์อาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ เช่น ไวน์ เครื่องดื่ม และผลิตภัณฑ์อื่นๆ อาศัยหลักการนี้ในการทำให้เครื่องดื่มใสขึ้นกว่าเดิม โดยทั่วไปการเติมสารเคมีโปรตีนบางชนิด เช่น การเติมเจลาตินลงในน้ำผลไม้ เจลาตินสามารถรวมตัวกับแทนนินที่มีอยู่ในน้ำผลไม้แล้วเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ที่ไม่ละลายน้ำในรูปของตะกอนพร้อมกับดึงเอาตะกอนและสารประกอบอื่นลงมาทำให้สีของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลงไปได้และช่วยให้น้ำผลไม้ใสขึ้นเนื่องจากปริมาณแทนนินในผลิตภัณฑ์ลดลง ในกรณีนี้อาจทำให้รสชาติของน้ำผลไม้ได้เสียไป จึงมีการเติมปริมาณแทนนินบางส่วนกลับคืนในผลไม้ที่มีแทนนินน้อย อาจมีการเติมแทนนินร่วมกับการเติมเจลาติน ปริมาณเจลาตินและแทนนินที่เหมาะสมต้องศึกษาในห้องปฏิบัติการ ลักษณะของเจลาตินและแทนนินที่เติมลงไปในน้ำผลไม้นั้นจะอยู่ในรูปของสารละลายเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการทำให้น้ำผลไม้ใส และการเติมนั้นอาจจะทำการเติมก่อนหรือหลังหรือพร้อมๆกันได้ สำหรับผลไม้บางชนิดที่มีความหนืดค่อนข้างสูง เช่น แอปเปิ้ล มีแทนนินเป็นองค์ประกอบน้อย ซึ่งยากต่อการทำให้น้ำแอบเปิ้ลใสได้ ดังนั้นในทางปฏิบัติจึงได้มีการเติมสารละลายแทนนินลงไป

การเปลี่ยนสีในอาหาร ปฏิกิริยาของแทนนินในอาหารนั้นเกิดจากปฏิกิริยาการรวมตัวระหว่างแทนนินในอาหารกับเหล็ก ทำให้ได้สารประกอบเชิงซ้อนเหล็กแทนเนท มีลักษณะเป็นจุดรอยด่างสีเขียวคล้ำบนผิวหน้าอาหาร การเปลี่ยนแปลงสีในอาหารจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณอาหารด้วย ปฏิกิริยาดังกล่าวพบในอาหารหลายชนิด เช่น ชานม ช็อคโกแลต กาแฟ และไอศกรีม โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อนำชา กาแฟ มาชงในน้ำกระด้าง พบว่าเกิดเป็นตะกอนสีน้ำตาลลอยอยู่บนผิวหน้าของของเหลวและถ้าเป็นชาเย็น จะเห็นการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนมาก การเปลี่ยนแปลงเนื่องมาจาก ปฏิกิริยาของโลหะแคลเซียม แมกนีเซียม จากน้ำกระด้างเกิดปฏิกิริยากับแทนนินในชา กาแฟ และถ้ามีโลหะเหล็กมาก ยิ่งจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงชัดเจนมากยิ่งขึ้น (ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน) สีจะเข้มคล้ำกว่าเดิม

ใช้เป็นสารตกตะกอนโปรตีน สามารถตกตะกอนโปรตีนและจับกับไอออนของโลหะในอุตสาหกรรมเบียร์ ไวน์ และสาเก ในกรณีนี้ตัวกลางบางชนิดที่มีความสามารถในการตรึงโปรตีน

และจับไอออนของโลหะบางชนิด aminohexyl cellulose ในการทดลองกับผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มบางชนิด เช่น ไวน์ เบียร์ และสาเก การทดลองพบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้ค่อนข้างดีสามารถกำจัดกลิ่นรสที่ไม่ต้องการออกจากผลิตภัณฑ์ได้ และผลิตภัณฑ์ที่ได้ไม่มีผลต่อรสชาติที่ได้

ใช้เป็นสารเคลือบอาหารบางชนิด ในกรณีนี้มีสารบางชนิด เช่นเจลาตินกัมธรรมชาติที่ได้จากการสังเคราะห์โปรตีนวัว โปรตีนนม (โดยเฉพาะเคซีน) โดยทำปฏิกิริยากับแทนนินที่มีอยู่ในอาหารได้ เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่สามารถเคลือบอาหารบางชนิดทำให้มีอายุการเก็บรักษานานขึ้น เช่น การเก็บรักษาเนื้อ สารประกอบที่เกิดขึ้นจากแทนนินและเจลาตินสามารถรวมตัวกันได้เป็นผลิตภัณฑ์เลียนแบบเนื้อ (maet analogue) และอาหารจำพวกหมากฝรั่งที่มีความเหนียว

2.4 UV-Visible Spectrophotometry [4]

2.4.1กฎการดูดกลืนแสง

มีกฎการดูดกลืนแสงที่สำคัญมาก 2 กฎ ในวิชาสเปกโทรสโกปีได้แก่ กฎของแลมเบิร์ต (Lambert's law) และกฎของเบียร์ (Beer's law)

กฎของแลมเบิร์ต *(Lambert's law)* มีใจความว่า

'เมื่อมีแสงเดียว *(monochromatic light)* ซึ่งคือแสงที่มีความยาวคลื่นเดียวผ่านตัวกลางเนื้อเดียว สัดส่วนของเนื้อเข้มของแสงที่ถูกตัวกลางนั้นดูดกลืนไว้ไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มของแสงที่กระทบตัวกลางนั้น และความเข้มของแสงจะถูกแต่ละชั้นของตัวกลางดูดกลืนไว้ในสัดส่วนที่เท่ากัน"

กฎของเบียร์ *(Beer's law)* มีใจความว่า

> 'เมื่อแสงที่มีความยาวคลื่นเดียวผ่านตัวกลางเนื้อเดียว สัดส่วนของความเข้มของแสงที่ถูกตัวกลางนั้นดูดกลืนไว้จะแปรโดยตรงกับปริมาณของตัวกลางที่ดูดกลืนแสงนั้น"

เมื่อเราวัดการดูดกลืนแสงของสารละลาย ปริมาณความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนจะขึ้นอยู่กับทั้งความเข้มข้นของสารละลายและความหนาของสารละลายที่ลำแสงต้องผ่าน จึงจำเป็นต้องรวมกฎของเบียร์และกฎของแลมเบิร์ต เรียกเป็นกฎของเบียร์-แลมเบิร์ต (Beer-Lambert's law) และเขียนเป็นรูปสมการได้ดังนี้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \varepsilon bc$$

$$\%T = \frac{I}{I_0} \times 100$$

$$\%A = 100 - \%T$$

where: A = light absorption (absorbance) of the material under test

I_0 = the light intensity without absorption

I = the intensity of light which has passed through and emerges from the solution containing the material to be tested

$\mathcal{E}$ = molar absorptivity or molar extinction coefficient, $cm^2/mole$

b = absorption path length, cm

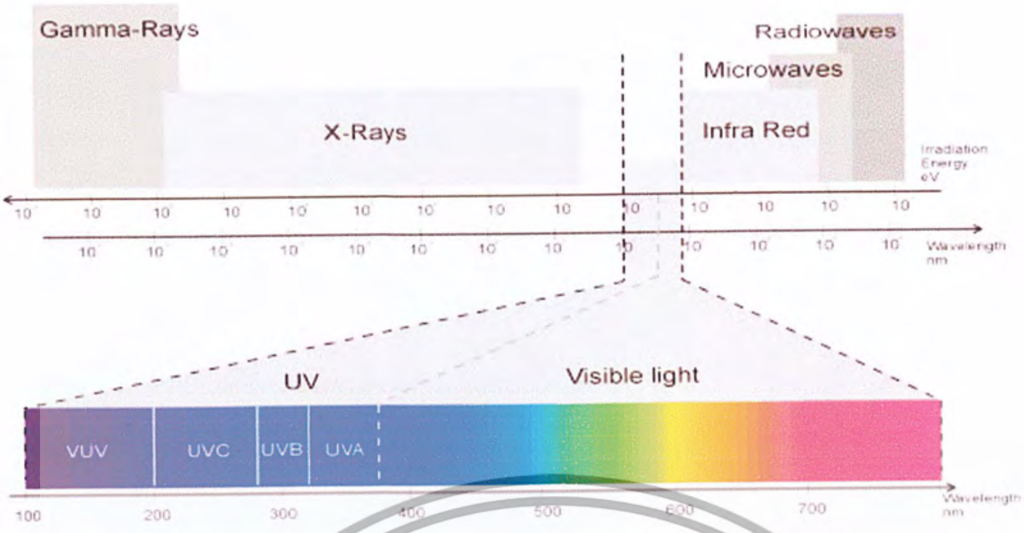
c = the concentration of the material under test, mole/L

T = light transmission (transmittance) of the material under test

2.4.2 UV-Visible Spectroscopy

UV-Visible Spectroscopy เป็นการวัดพลังงานที่ดูดกลืนเข้าไปเมื่ออิเล็กตรอนถูกเลื่อนไปอยู่ในระดับชั้นพลังงานที่สูงขึ้น(electronic transition) เนื่องจากเป็นปรากฏการณ์เร้าอิเล็กตรอน บางครั้งจึงเรียก UV- Visible Spectroscopy ว่า Electronic Spectroscopy โดยปกติช่วง UV จะมีความยาวคลื่นประมาณ 10-380 nm แต่การวิเคราะห์โดย UV Spectrum จะใช้ความยาวคลื่นในช่วง 200-380 nm ซึ่งเรียกว่า "Near-Ultraviolet Region" ในช่วงความยาวคลื่นต่ำกว่า 200 nm อากาศจะดูดกลืนรังสีในช่วงนี้ จึงต้องวัด spectrum ภายใต้สูญญากาศ จึงเรียกความยาวคลื่นของUV ในช่วงนี้ว่า "Vacuum-Ultraviolet Region" ส่วนความยาวคลื่นที่เราสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า หรือเรียกว่า "Visible Region" จะเป็น spectrum ของในช่วงประมาณ 380-780 nm ซึ่งจะปรากฏให้เห็นเป็นสีต่างๆ

117280


Gamma-Rays
X-Rays
Radiowaves
Microwaves
Infra Red
Irradiation Energy eV
Wavelength nm
UV
Visible light
VUV
UVC
UVB
UVA
100
200
300
400
500
600
700
Wavelength nm

รูปที่ 2.4 UV-vis spectrum

2.4.3 Spectrophotometer

อุปกรณ์ที่เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ มีดังนี้

1. แหล่งกำเนิดรังสี (Source) : แหล่งกำเนิดรังสีในสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่นิยมใช้กันแพร่หลายมีดังนี้

ก. หลอดไฮโดรเจนและหลอดดิวทีเรียมความดันต่ำ เป็นแหล่งกำเนิดรังสีต่อเนื่องที่ดีที่สุดตั้งแต่ช่วงความยาวคลื่นประมาณ 160-360 nm มีทั้งประเภทใช้ศักย์ไฟฟ้าสูง (2,200-6,600 โวลต์) และ ประเภทใช้ศักดาไฟฟ้าต่ำ (ประมาณ 40 โวลต์) หลอดชนิดนี้ให้รังสีที่มีความเข้มสูงจนถึงความยาวคลื่นประมาณ 360 nm หลังจากนั้นความเข้มของรังสีจะลดลงอย่างรวดเร็ว

ข. หลอดทังสเตน ประกอบด้วยลวดทังสเตนอยู่ในหลอดสูญญากาศซึ่งให้รังสีที่มีความยาว คลื่นตั้งแต่ช่วง UV ใกล้ช่วงแสงที่แลเห็นได้จนถึงช่วง IR หลอดชนิดนี้มีราคาและหาได้ง่ายในท้องตลาด

2. โมโนโครเมเตอร์ (Monochromator) : โมโนโครเมเตอร์เป็นชิ้นส่วนสำคัญในการกำหนดคุณภาพของสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ทำหน้าที่แยกลำรังสีที่มีความยาวคลื่นต่อเนื่องออกเป็นลำรังสีความยาวคลื่นเดียวในช่วงแสงที่แลเห็นได้อาจใช้ปริซึมแก้ว ส่วนในช่วง UV จำเป็นต้องใช้ปริซึมที่ทำด้วยควอตซ์ สำหรับสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่มีราคาแพง มักใช้โมโนโครเมเตอร์แบบ diffraction grating ซึ่งเป็นอุปกรณ์ที่มีร่องเป็นจำนวนมากและความกว้างของร่องใกล้เคียงกับความยาวคลื่นของรังสี

3. อุปกรณ์บันทึกสัญญาณ (Recorder) : หลังจากที่ลำรังสีความยาวคลื่นเดียวผ่านสารที่ต้องการวัดการดูดกลืนแล้วจะไปตกที่อุปกรณ์รับสัญญาณซึ่งให้ข้อมูลการดูดกลืนแก่เรา สำหรับสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ราคาถูก ข้อมูลนี้จะปรากฏออกมาในรูปการบ่ายเบนของเข็มบนหน้าปัดมิเตอร์ หรือปรากฏเป็นตัวเลขก็ได้ ในกรณีเช่นนี้ ต้องบันทึกข้อมูลเหล่านี้สำหรับแต่ละความยาวคลื่นในกระดาษกราฟ เส้นที่เชื่อมจุดต่าง ๆ ก็คือสเปกตรัมนั่นเอง สำหรับสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่สามารถเปลี่ยนความยาวคลื่นเองโดยอัตโนมัติ จะมีอุปกรณ์บันทึกสัญญาณอยู่ด้วย สามารถบันทึกออกมาเป็นสเปกตรัมได้โดยตรง สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ชนิดนี้มีราคาแพง

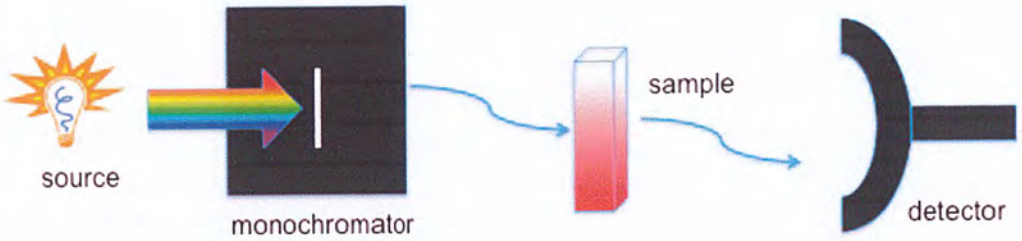
4. เซลล์บรรจุสารตัวอย่าง: เนื่องจากแก้วธรรมดาดูดกลืนรังสีในช่วงUV จึงจำเป็นต้องใช้เซลล์ที่ทำด้วยควอตซ์แทน เซลล์ที่นิยมใช้มีความหนา 1.00 ซม. การรักษาความสะอาดเซลล์เป็นเรื่องสำคัญมากสำหรับการวัดสเปกตรัม ไม่ควรปล่อยให้ตัวทำละลายระเหยไปจนเหลือสารตัวอย่างติดอยู่กับเซลล์ ควรล้างเซลล์ให้สะอาดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์หรือน้ำกลั่นตามความเหมาะสม เช็ดผิวภายนอกเซลล์ด้วยกระดาษเช็ดเซลล์แล้วปล่อยให้แห้งในอากาศก็เป็นการเพียงพอ ไม่ควรใช้กรดโครมิค ล้างเซลล์ ควรแยกเซลล์ที่ใช้บรรจุสารละลายของสารอินทรีย์ออกจากเซลล์ที่บรรจุสารอนินทรีย์ เพื่อให้ง่ายต่อการล้างทำความสะอาด เซลล์ควอตซ์นี้มีราคาแพงจึงควรเก็บรักษาไว้อย่างดีที่สุด

2.4.4 ชนิดของสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

นอกจากนี้เรายังแบ่งสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ออกเป็นประเภทใหญ่ ๆ ได้ 2 ประเภทด้วยกันคือ

1. Single-Beam Spectrophotometer

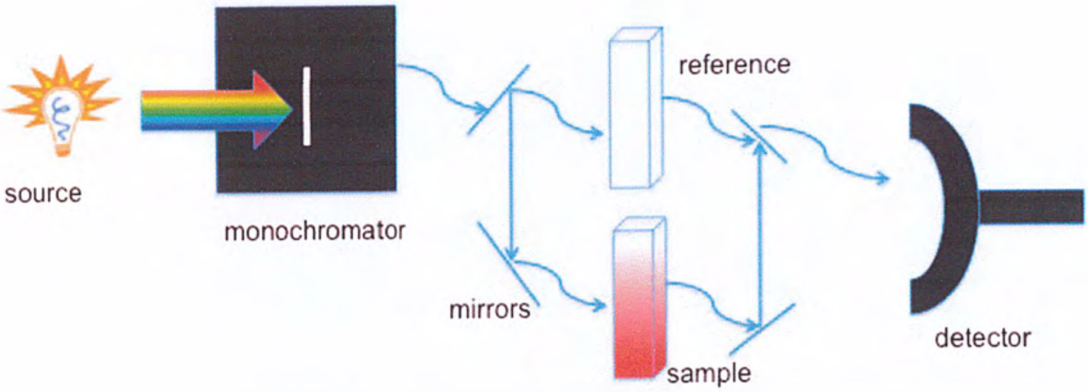
แผนภาพดังรูปที่ 2.5 แสดงทางเดินของรังสีในสเปกโทรโฟโตมิเตอร์แบบ Spectronic 710 ซึ่งเป็นสเปกโทรโฟโตมิเตอร์แบบลำรังสีเดียว และสามารถวัดสเปกตรัมทั้งในช่วง UV และช่วง visible จะเห็นได้ว่าเมื่อลำรังสีออกจากแหล่งกำเนิดรังสี ซึ่งอาจจะเป็นหลอดดิวทีเรียมหรือหลอดทังสเตนแล้วจะผ่านเลนส์กระจกต่าง ๆ โมโนโครเมเตอร์ที่เป็น grating เลนส์ต่าง ๆ สารตัวอย่าง (ซึ่งไม่ได้แสดงในภาพนี้) แล้วจึงเข้าสู่อุปกรณ์ตรวจรับสัญญาณตลอดเส้นทางของลำรังสีนี้มีลำรังสีเพียงลำเดียว จึงเรียกสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ประเภทนี้ว่าแบบลำรังสีเดี่ยว พึงสังเกตว่าเมื่อ grating หมุนทำมุมกับลำรังสีที่มาตกกระทบ ตัวเลขบนหน้าปัดของเครื่องจะแสดงว่าในขณะนั้นรังสีที่ผ่าน grating มีความยาวคลื่นเท่าใด เนื่องจากสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ประเภทนี้ใช้ลำรังสีเพียงลำเดียวผ่านจากโมโนโครเมเตอร์ไปสู่สารละลายที่ต้องการวัดลำรังสีนี้จะไปสู่อุปกรณ์ตรวจรับสัญญาณเลย การวัดแต่ละครั้งจึงต้องใช้เซลล์ 2 เซลล์ให้ลำรังสีผ่านสลับกัน เซลล์แรกบรรจุตัวทำละลายบริสุทธิ์ ส่วนเซลล์หลังบรรจุสารละลายที่ต้องการวัดทุกครั้งที่วัดต้องให้ลำรังสีผ่านเซลล์แรกปรับเครื่องให้อยู่ในตำแหน่ง “ศูนย์” แล้วจึงให้ลำรังสีผ่านเซลล์หลังความแตกต่างระหว่างการดูดกลืนรังสีของทั้ง 2 เซลล์จะปรากฏบนหน้าปัดมิเตอร์ ทำเช่นนี้เรื่อยไปสำหรับทุกความยาวคลื่นที่ต้องการวัดแล้วนำข้อมูลที่ได้ไปบันทึกเป็นสเปกตรัมต่อไป ก่อนใช้สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ประเภทลำรังสีเดี่ยวควรให้เวลาเครื่องมือได้ปรับตัวอย่างน้อย 15-20 นาที เพื่อให้แน่ใจว่าหลอดดิวทีเรียมหรือหลอดทังสเตนให้รังสีที่มีความเข้มสม่ำเสมอ



รูปที่ 2.5 Diagram of single beam UV-vis spectrophotometer

2. Double-Beam Spectrophotometer

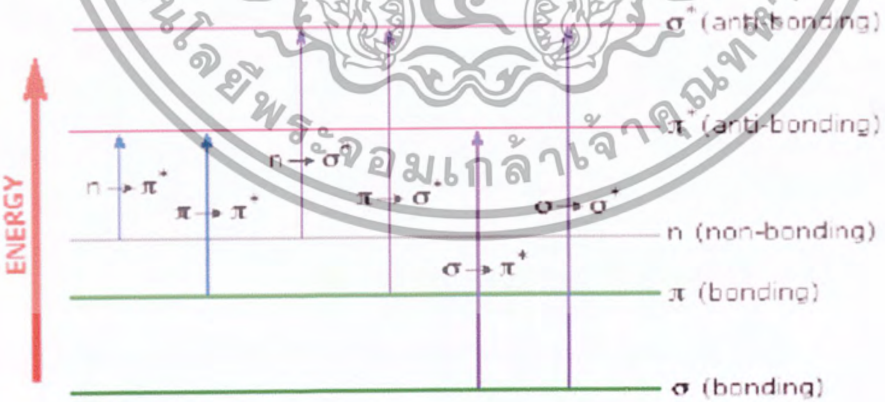
แผนภาพดังรูปที่ 2.6 เป็นของสเปกโทรโฟโตมิเตอร์แบบ Cary 219 ซึ่งใช้โมโนโครเมเตอร์แบบ double pass ลำรังสีจะผ่านโมโนโครเมเตอร์ 2 ครั้งด้วยกันทำให้ได้ลำรังสีความยาวคลื่นเดียวอย่างมีประสิทธิภาพและความละเอียดมากขึ้น เมื่อออกจาก exit slit แล้วลำรังสีจะไปสู่อุปกรณ์ตัดลำรังสี (beam chopper)ซึ่งในกรณีนี้เป็นแผ่นวงกลมซึ่งครึ่งหนึ่งเป็นโลหะและอีกครึ่งหนึ่งเป็นช่องว่างอุปกรณ์นี้จะหมุนอยู่ตลอดเวลา เมื่อลำรังสีตกกระทบครึ่งวงกลมที่เป็นโลหะก็จะสะท้อนไปผ่านสารตัวอย่าง ในขณะต่อมาลำรังสีจะผ่านครึ่งวงกลมที่เป็นช่องว่างและทะลุไปผ่านสารอ้างอิง ด้วยวิธีนี้ ลำรังสีลำเดี่ยวที่ผ่านโมโนโครเมเตอร์จะถูกอุปกรณ์ตัดลำรังสีแยกออกเป็นลำรังสีสองลำที่มีความเข้มเท่ากันตลอดเวลา เมื่อลำรังสีทั้งสองนี้ไปตกกระทบ phototube ความแตกต่างของความเข้มจะกลายเป็นสัญญาณส่งต่อไปยังอุปกรณ์บันทึกสัญญาณต่อไปในการใช้สเปกโทรโฟโตมิเตอร์แบบลำรังสีคู่ไม่จำเป็นต้องอุ่นเครื่องนานเหมือนเครื่องแบบลำรังสีเดี่ยวทั้งนี้เพราะไม่ว่าแหล่งกำเนิดรังสีจะให้ความเข้มสูงหรือต่ำเพียงใด ลำรังสีทั้งสองที่อุปกรณ์ตัดลำรังสีแยกออกคงมีความเข้มเท่ากันเสมอ นอกจากนี้สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ประเภทนี้มักจะมีอุปกรณ์บันทึกสัญญาณติดอยู่ด้วยและสามารถเปลี่ยนความยาวคลื่นไปตลอดเวลาพร้อมกับบันทึกสเปกตรัมในเวลาเดียวกันเครื่องแบบนี้จึงมีราคาค่อนข้างแพง


source
monochromator
mirrors
reference
sample
detector

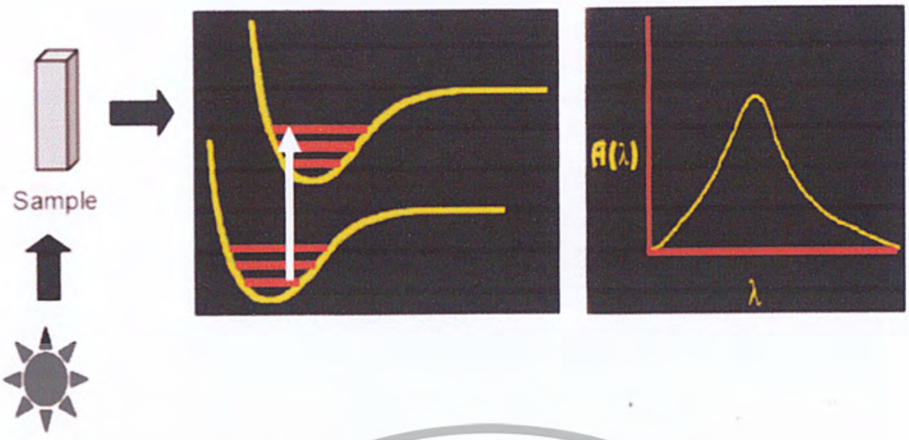
รูปที่ 2.6 Diagram of double beam UV-vis spectrophotometer

2.4.5 การวิเคราะห์โดยใช้ UV-Visible spectrophotometer

การวิเคราะห์โดยใช้ UV-Visible spectrophotometer จะอาศัยหลักการพื้นฐาน คือเมื่อโมเลกุลได้รับพลังงานคลื่นแสงในช่วง UV-Visible อิเลคตรอนที่อยู่ภายในโมเลกุล จะถูกกระตุ้นให้มีระดับพลังงานที่สูงขึ้น เมื่อโมเลกุลของสารตัวอย่างได้รับพลังงานในช่วงคลื่นแสงที่ match กับ electronic transition ของ อิเลคตรอนภายในโมเลกุล พลังงานจะถูกดูดกลืนและ อิเลคตรอนที่อยู่ภายในโมเลกุลจะมี higher energy orbital เครื่อง spectrophotometer จะ record ความยาวคลื่นที่เกิดการดูดกลืนแสงและ ปริมาณการดูดกลืนแสงในแต่ละความยาวคลื่น


ENERGY
σ* (anti-bonding)
π* (anti-bonding)
n (non-bonding)
π (bonding)
σ (bonding)
n → π*
π → π*
n → σ*
π → σ*
σ → σ*
σ → π*

รูปที่ 2.7 ระดับพลังงานเมื่ออิเลคตรอนที่อยู่ภายในโมเลกุลถูกกระตุ้น
เมื่อได้รับพลังงานคลื่นแสงในช่วง UV-Visible



รูปที่ 2.8 การดูดกลืนแสงและการเปลี่ยนระดับพลังงานงานของอิเลคตรอนภายในโมเลกุล

ตารางที่ 2.1 ความสัมพันธ์ของสีและการดูดกลืนแสง

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	สีที่ถูกดูดกลืน	สีที่มองเห็น
380-420	ม่วง	เหลืองเขียว
420-440	น้ำเงินม่วง	เหลือง
440-470	น้ำเงิน	ส้ม
470-500	เขียวน้ำเงิน	แดง
500-520	เขียว	ชมพูม่วง
520-550	เหลืองเขียว	ม่วง
550-580	เหลือง	น้ำเงินม่วง
580-620	ส้ม	น้ำเงิน
620-680	แดง	เขียวน้ำเงิน
680-780	ชมพูม่วง	เขียว

จากภาพ แสดงไดอะแกรมของ optical system ภายในเครื่อง UV-Visible spectrophotometer ซึ่งประกอบด้วยแหล่งกำเนิดแสง 2 ชนิดคือ Deuterium (D2) lamp ซึ่งให้คลื่นแสงในช่วง UV และTungsten (W) lamp ซึ่งให้คลื่นแสงในช่วง visible

หลักการทำงาน เมื่อแสงจากแหล่งกำเนิดแสงตกกระทบที่ mirror1 ลำแสงจะผ่านไปยัง slit และไปตกกระทบที่ diffraction grating ซึ่งอุปกรณ์ชนิดนี้จะถูกออกแบบให้สามารถหมุนเพื่อเลือกความยาวคลื่นแสงที่เฉพาะเจาะจง หลังจากนั้น monochromatic light (แสงซึ่งมีความยาวคลื่นเดียว) จะผ่านไปยัง slit และ filter จะทำหน้าที่กรองแสงที่รบกวนออกจากนั้นลำแสงจะตกกระทบ mirror 2 ก่อนที่จะสะท้อนและแบ่งออกเป็นสองส่วนโดย half mirror โดยครึ่งหนึ่งของลำแสงจะสะท้อนจะผ่านไปยัง reference cuvette

การวิเคราะห์โดยใช้ UV-Visible spectrophotometer สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งทางด้านคุณภาพและปริมาณโดยความยาวคลื่นของแสงที่ถูกดูดกลืนจะสามารถใช้ในการ identify ชนิดของสารในขณะที่ปริมาณการดูดกลืนแสง จะใช้ในการบอกปริมาณของสารที่นำมาวิเคราะห์การหาปริมาณของสารจะอาศัย Beer's law

$$A = \varepsilon bc$$

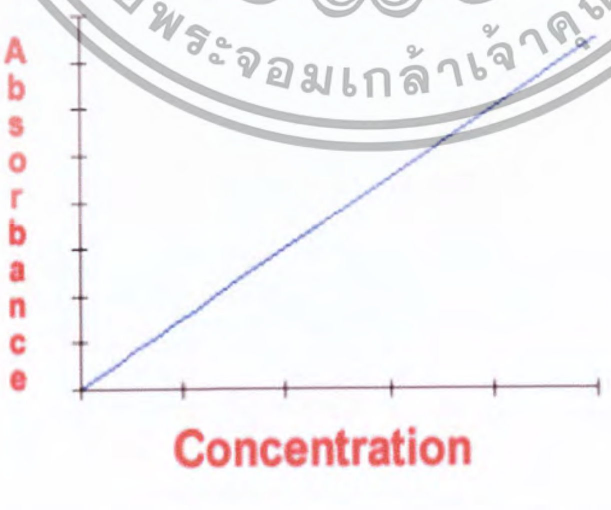
A = ค่าการดูดกลืนแสง

ε = molar absorptivity (L/mol.cm)

b = path length

c = ความเข้มข้นของสารที่นำมาวิเคราะห์ (mol/L)

ในการหาปริมาณของสารจะ plot graph ความสัมพันธ์ระหว่าง ความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์และค่าการดูดกลืนแสงดังแสดงในรูป



รูปที่ 2.9 การทำ calibration curve เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณของสาร

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Yueh-Tzu Hung , Po-Chung Chen , Richie L.C. Chen และ Tzong-Jih Cheng [5]ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับระบบการวิเคราะห์ fluorometric flow-injection เป็นวิธีการใหม่ที่ถูกนำมาใช้ในการตรวจหาปริมาณแทนนินและผลรวมของกรดอะมิโนในชา ผลที่ได้จากfluorescence ของ 3-aminophthalate จะถูกนำมาใช้ในการตรวจวัดระดับของแทนนินและปฏิกิริยา fluorogenic ของ o-phthalaldehyde(OPA) จะถูกใช้ในการหาปริมาณของกรดอะมิโน ปฏิกิริยาทั้งสองจะตรวจวัดโดยใช้ระบบ single fluorescence sensing ที่ความยาวคลื่นของ excitation และ emission เท่ากับ 340 nm และ425 nm ตามลำดับ วาล์วสามทางจะถูกนำมาใช้ในการ switch รีเอเจนต์สำหรับวิเคราะห์ระดับแทนนินและกรดอะมิโนตามลำดับ พารามิเตอร์ของสภาวะปฏิบัติการจะใช้ค่าที่ดีที่สุดและผลของแทนนินบนพื้นฐานการใช้ OPA ตรวจวัดกรดอะมิโนก็จะถูกตรวจวัดเช่นกัน linear dynamic ranges ของ tannin acid และ theanine มีค่าเท่ากับ 50-250 μgmL^{-1} และ 0.1-1.0 μgmL^{-1}(CV< 5% , n=3) ตามลำดับ แต่ละตัวอย่างจะตรวจวัด 20 ตัวอย่าง/ชั่วโมง ระบบนี้จะประยุกต์ใช้ในด้านปริมาณวิเคราะห์และประเมินคุณภาพของชาได้อีกด้วย

Yueh-Tzu Hung , Po-Chung Chen , Richie L.C. Chen และ Tzong-Jih Cheng [6]ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับ amperometric flow-injection ในการตรวจวัดระดับของแทนนินในชา ที่ขั้วอิเล็กโทรดจะมีการตกตะกอนโดยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของแทนนินซึ่งจะมีผลต่อประสิทธิภาพของขั้วได้ จึงต้องหลีกเลี่ยงด้วยการใช้ ferricyanide ไปทำการออกซิไดซ์แทนนินสำหรับ indirect quantification โดยปราศจากการปรับปรุงขั้ว โดย ferricyanide จะผสมกับกรดแทนนิคก่อนถูกตรวจวัดด้วยขั้วแพลทินัมใน electrochemical flow cell ผลของศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ทำงานและ flow rate ของผลการตอบสนองของกระแสไฟฟ้าจะถูกตรวจสอบและได้ค่าที่ดีที่สุดของค่าศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ทำงานเป็น -0.1 V (เปรียบเทียบกับ Ag/AgCl) และ flow rate เป็น 2.28 mLmin^{-1} linear detection range ของกรดแทนนิคแสดงเป็น 2 ช่วง คือ 10-50 μgmL^{-1} และ 100-500 μgmL^{-1}(CV< 5% , n=3) ตัวอย่างเครื่องดื่มชาที่ระดับดีกรีต่างๆจะถูกตรวจวัด 15 ตัวอย่าง/ชั่วโมง และตรวจสอบความถูกต้องโดยใช้วิธี Folin-Ciocalteau (r=0.9794) กับวิธี ferrous tartrate(r=0.9918)

Horacio D. Moya , Patricia Dantoni , Fabio R.P. Rocha , Nina Coichev [7]ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับระบบ multicommuted flow-system นำมาใช้สำหรับการตรวจวัดหาแทนนินในเครื่องดื่ม โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของ Cu(II) ใน 4,4’-dicarboxy-2,2’-biquinoline ให้ผลิตผลเป็นสารประกอบที่ดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 558 nm calibration graph มีความเป็นเส้นตรง (r=0.999) ให้ความเข้มข้นของกรดแทนนิคที่ 5.00 μmolL^{-1} ขีดต่ำสุดของการตรวจวัดและสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนได้ค่าเป็น 10 nmolL^{-1} (ที่ระดับความเชื่อมั่น 99.7%) และ 1% (ความเข้มข้นของแทนนิน 1.78 μmolL^{-1} , n=10) ตามลำดับ sampling rate เป็น 50 ตัวอย่าง/ชั่วโมง วิธีการนี้จะมีความไวและความจำเพาะเจาะจงที่มากกว่าวิธี Folin-Denis ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน และยังได้ของเสียน้อยที่สุดอีกด้วย Recoveries จะอยู่ระหว่าง 91.8% และ 115% ซึ่งตรวจวัดจากผลรวมของแทนนินในตัวอย่างชาและไวน

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมี

ตารางที่ 3.1 สารเคมี

ชื่อสาร	เกรด	มวลโมเลกุล g/mol	บริษัท
อะซีโตน 70 %	AR grade	58.08	VWR International Ltd;
โซเดียมไฮดรอกไซด์	AR grade	39.99	Merck Ltd;
สารมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	AR grade	34.015	Fisher Scientific UK Ltd;
ใบชาแห้ง	-	-	บริษัท สามซิ่ว ทีลีฟ จำกัด
น้ำยาล้างแผลไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	-	34.015	บริษัท ศิริบัญชา จำกัด

3.2 เครื่องมือ

เครื่อง UV-vis spectrophotometer, UV-160 , Shimudzu, Japan

รูปที่ 3.1 เครื่อง UV-vis spectrophotometer, UV-160 , Shimudzu, Japan

3.3 การเตรียมสารละลาย

3.3.1 สารละลายอะซิโตน เข้มข้น 70 % v/v

1.ตวงอะซิโตน 70 มิลลิลิตรโดยใช้กระบอกตวงใส่ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร

2.ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร

3.ผสมให้เข้ากันแล้วเก็บไว้ในภาชนะที่มีฝาปิดเพื่อป้องกันการระเหยของสาร

3.3.2 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 ,0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 M

1.ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์จำนวน 2 กรัม ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน จดบันทึกน้ำหนัก

2.ทำการละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วนำไปใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 250 มิลลิลิตร

3.ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 250 มิลลิลิตรจะได้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้น 0.2 M

4.ทำตามขั้นตอน 1-3 แต่เปลี่ยนน้ำหนักที่ชั่งของโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็น 4, 6, 8 และ 10 กรัม จะได้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 M ตามลำดับ

3.3.3 สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.5 % v/v

1.ปิเปตสารสารมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 30 %v/v จำนวน 1.66 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร

2.ทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

ข้อควรรู้ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เป็นสารที่มีการสลายตัวได้ง่าย ดังนั้นจึงควรเตรียมก่อนการใช้งาน และควรแช่ตู้เพื่อยืดระยะการใช้งาน

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การเตรียมรีเอเจนต์จากใบชาแห้ง

1.ชั่งชาในสัดส่วน 0.1 กรัม ต่อ 10 มิลลิลิตรของอะซิโตน 70 % v/v จดบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน

2.นำชาที่ได้ใส่ลงในบีกเกอร์ แล้วเติมอะซีโตน 70% v/v

3.ใส่แท่งแม่เหล็กลงไปให้ความร้อน ที่ 40 องศาเซลเซียส พร้อมทำการปั่นกวน ตลอดเวลานาน 15 นาที

4.ทำการกรองเอากากชาออก แล้วเก็บไว้ในภาชนะที่มีฝาปิดมิดชิดจะได้รีเอเจนต์ที่มีความเข้มข้น 1% w/v

5. ทำตามขั้นตอนข้อ 1-4 แต่เปลี่ยนอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักชา (g) : ปริมาตรของอะซิโตน 70 % v/v (mL) เป็น 0.2 : 10 , 0.3 : 10 , 0.4 : 10 , 0.5 : 10 และ 0.8 : 10 จะได้รีเอเจนต์ที่มีความเข้มข้น 2, 3, 4, 5, และ 8 % w/v ตามลำดับ

3.4.2 การหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์

1.นำรีเอเจนต์ที่เตรียมได้จากใบชาเข้มข้น 5% w/v ปิเปตมา 5 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร

2.เติมสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่มีความเข้มข้น 0.5 % v/v ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร

3.เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.4 M จำนวน 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงไปในขวดวัดปริมาตร

4.ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบปริมาตร

5.นำไปสแกนสเปกตรัม การดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 250 - 700 นาโนเมตร โดยมีน้ำกลั่นเป็น Blank

3.4.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์

3.4.3.1 การศึกษาผลของความเข้มข้นของรีเอเจนต์ที่สกัดได้จากใบชา

1. ปิเปตรีเอเจนต์ที่เตรียมได้จากใบชา เข้มข้น 1 % w/v จำนวน 5 มิลลิลิตร ลงไปในขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร จำนวน 5 ขวด

2. เติมสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เข้มข้น 0.5 % v/v จำนวน 1, 2, 3, 4, และ 5 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร จำนวน 5 ขวด ตามลำดับ

3. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.4 M จำนวน 0.5 mL ลงในแต่ละขวด แล้วทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

4. นำไปตรวจวัดด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร โดยมีน้ำกลั่นเป็น Blank

5. ทำตามขั้นตอนที่ 1- 4 โดยเปลี่ยนความเข้มข้นของรีเอเจนต์ที่สกัดได้จากใบชาเป็น 2, 3, 4, 5 และ 8 % w/v ตามลำดับ

3.4.3.2 การศึกษาผลของความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์

1.นำรีเอเจนต์ที่เตรียมได้จากใบชา เข้มข้น 5 % w/v ปิเปตมา 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร จำนวน 5 ขวด

2.เติมสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่มีความเข้มข้น 0.5% v/v ปริมาตร 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร จำนวน 5 ขวด ตามลำดับ

3.เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.2 M จำนวน 0.5 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร แต่ละขวด ทำการปรับปริมาตรให้ครบด้วยน้ำกลั่น

4.นำไปทำการตรวจด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ที่มีน้ำกลั่นเป็น Blank

5.ทำตามขั้นตอนที่ 1 - 4 โดยเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็น 0.4, 0.6 และ 0.8 M ตามลำดับ

3.4.4 การทดลองกับสารตัวอย่าง

1. ปิเปตชาที่สกัดได้ 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร จำนวน 5 ขวด

2. เติมสารตัวอย่างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่เตรียมมาเติม 1 มิลลิลิตร จำนวน 5 ขวด

3. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.4 M จำนวน 0.5 มิลลิลิตร

4. ทำซ้ำข้อ 1, 2 และ 3 โดยเปลี่ยนปริมาตรของสารตัวอย่างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เป็น 2, 3, 4, และ 5 ตามลำดับ ละ 5 ขวด

5. นำไปทำการตรวจวัดด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer ที่ค่าความยาวคลื่น 550 nm โดยมีน้ำกลั่น เป็น Blank

6. นำค่าที่ได้ในแต่ละความเข้มข้นมาทำการหาค่าเฉลี่ย แล้วทำการคำนวณหาความเข้มข้นของสารตัวอย่างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐาน นำผลที่คำนวณได้มาทำการเปรียบเทียบผลการทดลอง

3.4.5 การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

3.4.5.1 การสร้างกราฟมาตรฐาน

1.ปิเปตรีเอเจนต์ที่สกัดได้จากใบชาที่มีความเข้มข้น 5% w/v จำนวน 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตรจำนวน 5 ขวด

2.เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เข้มข้น 0.5% v/v ลงในแต่ละขวดจากข้อ 1 ดังนี้ คือ 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตร ตามลำดับ

3.เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.4 M จำนวน 0.5 มิลลิลิตร ลงในแต่ละขวดทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

4.นำไปทำการตรวจวัดด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer ที่ค่าความยาวคลื่น 550 nm โดยมีน้ำกลั่น เป็น Blank

5.พลอตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

6.จะได้สมการเส้นตรงเพื่อใช้ในการเทียบหาค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่าง และค่า R

3.4.5.2 การหาค่า LOD และ LOQ ของสารมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

1. ปิเปตรีเอเจนต์ที่สกัดได้จากใบชาที่มีความเข้มข้น 5% w/v จำนวน 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตรจำนวน 5 ขวด

2. เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เข้มข้น 0.5% v/v จำนวน 1 มิลลิลิตร ทุกขวด

3. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.4 M จำนวน 0.5 มิลลิลิตร ลงในแต่ละขวดทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

4. นำไปทำการตรวจวัดด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer ที่ค่าความยาวคลื่น 550 nm โดยมีน้ำกลั่น เป็น Blank

5. ทำซ้ำในข้อ 1-4 แต่เปลี่ยนปริมาตรของ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เป็น 2, 3, 4 และ 5 ตามลำดับ แล้วนำผลที่ได้ไปคำนวณหาค่า LOD และ LOQ

3.4.5.3 การศึกษาหาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในตัวอย่างน้ำยาล้างแผล

1. ปิเปตรีเอเจนต์ที่สกัดได้จากใบชา ที่มีความเข้มข้น 5% w/v จำนวน 5 มิลลิลิตร ใส่ลงใน ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร จำนวน 5 ขวด

2. เติมสารตัวอย่างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เข้มข้น 0.5% v/v จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรทั้ง 5 ขวด

3. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.4 M จำนวน 0.5 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรทั้ง 5 ขวด

4. ทำซ้ำตามขั้นตอน 1-3 แต่เปลี่ยนปริมาตรของสารตัวอย่างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เป็น 2 , 3, 4 , และ 5 ตามลำดับ

5. นำไปทำการตรวจวัดด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer ที่ค่าความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร โดยมีน้ำกลั่นเป็นBlank

6. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้แต่ละความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ มาหาค่าเฉลี่ย แล้วทำการคำนวณหาความเข้มข้นของสารตัวอย่างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จากสมการที่ได้จากการสร้างกราฟมาตรฐาน นำผลที่คำนวณได้มาทำการเปรียบเทียบผลการทดลอง

3.4.5.4 การศึกษาความแม่นของวิธีวิเคราะห์

1. ปิเปตรีเอเจนต์ที่ได้จากการสกัดใบชาจำนวน 5 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร จำนวน 5 ขวด

2. เติมสารตัวอย่างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในน้ำยาล้างแผลเข้มข้น 0.5% v/v ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร ทั้ง 5 ขวด

3. เติมสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เข้มข้น 0.5% v/v ลงไปปริมาตร 0, 1, 2, 3 และ 4 มิลลิลิตร ตามลำดับ

4. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.4 M จำนวน 0.5 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร ทั้ง 5 ขวด แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

5. นำไปทำการตรวจวัดด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร

6. นำผลที่ได้ไปคำนวณหาค่า % Recovery

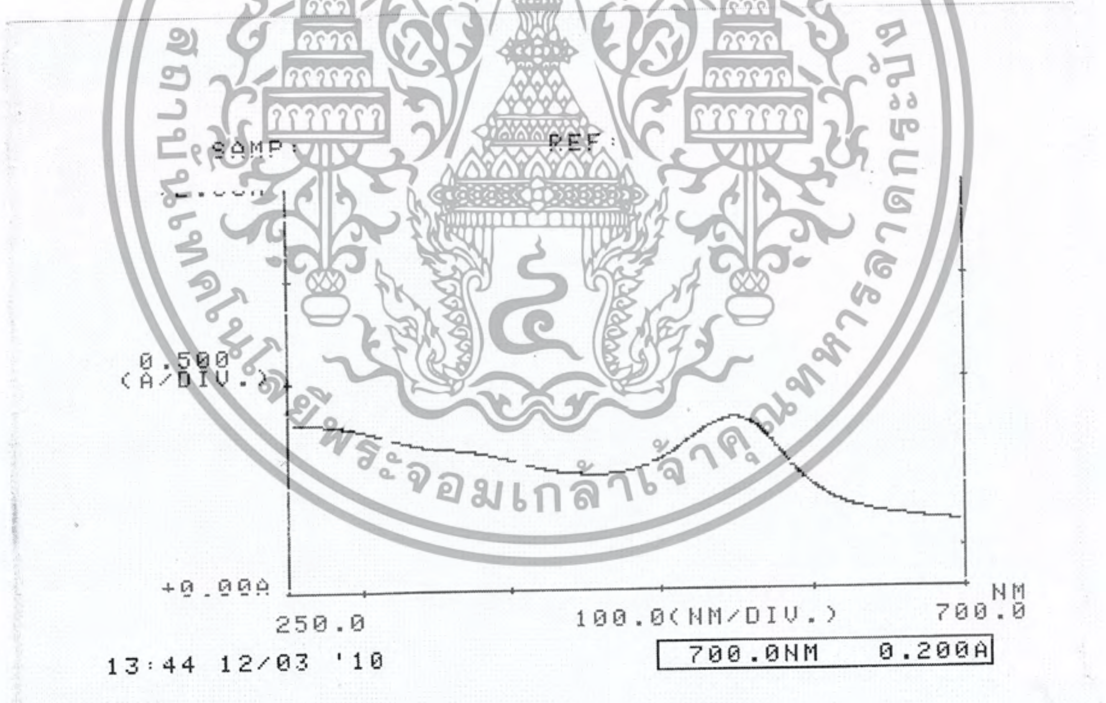
บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

ในงานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยใช้สารที่สกัดได้จากใบชาเป็นรีเอเจนต์ และตรวจวัดด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี การตรวจวัดอาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างแทนนินกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงของรีเอเจนต์ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ซึ่งได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

4.1 การหาความยาวคลื่นที่เหมาะสม

เมื่อนำสารละลายมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทำปฏิกิริยากับแทนนินจากสารสกัดจากใบชาในสภาวะที่เหมาะสม แล้วนำมาสแกนสเปกตรัมด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer ในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 250 - 700 นาโนเมตร จะเกิดพีคขึ้นที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ได้สเปกตรัมดังรูปที่ 4.1 แสดงให้เห็นว่า ความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดอยู่ที่ 550 นาโนเมตร และจะใช้ความยาวคลื่นนี้สำหรับการวิเคราะห์ต่อไป



รูปที่ 4.1 การสแกนสเปกตรัมเพื่อหาความยาวคลื่นที่เหมาะสม

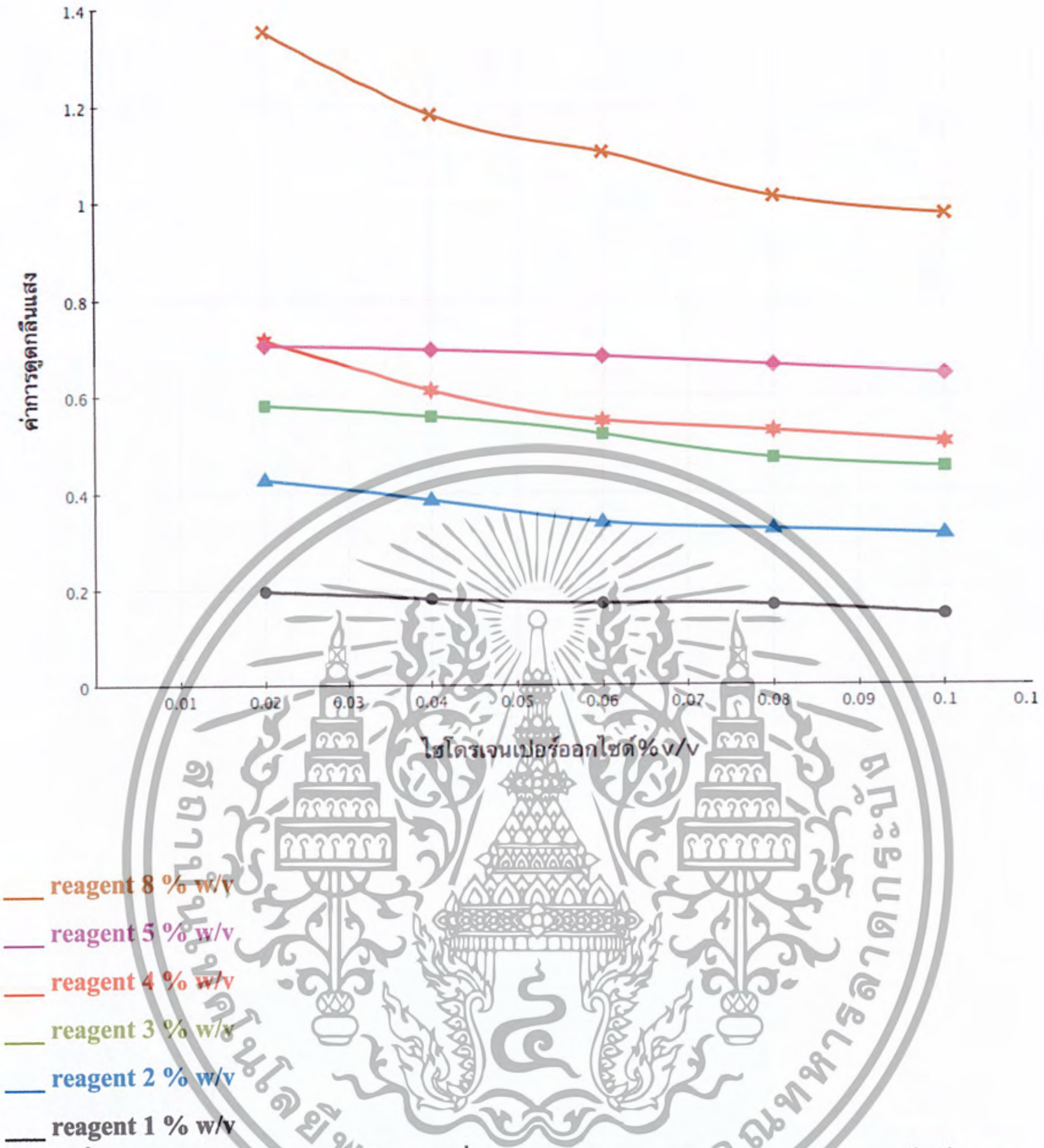
4.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์

4.2.1 ผลของความเข้มข้นของรีเอเจนต์

รีเอเจนต์ที่สกัดได้จากใบชา เมื่อความเข้มข้นของรีเอเจนต์มีค่าเท่ากับ 1, 2, 3, 4, 5 และ 8 % w/v ตามลำดับมาทำปฏิกิริยากับสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เข้มข้น 0.5 % v/v ที่ปิเปตมา 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรในทุกความเข้มข้นของรีเอเจนต์ จะเห็นว่าที่ความเข้มข้นของรีเอเจนต์ทุกความเข้มข้น เมื่อความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้น ค่าการดูดกลืนแสงจะมีค่าที่ลดลง แต่ความเข้มข้นของชาที่ 8 % w/v นั้น มีค่าการดูดกลืนแสงที่ทำการตรวจวัดมีค่ามากกว่า 1.000 ซึ่งไม่เหมาะแก่การตรวจวัดเนื่องจากมีความเข้มข้นที่มากเกินไปซึ่งอาจเป็นผลให้เกิดค่าความผิดพลาดได้ และเทียบผลการตรวจวัดที่ความเข้มข้นชาอื่นๆ แล้วที่ผลของความเข้มข้นชาที่ 5% w/v เป็นค่าที่มีความเหมาะสมมากที่สุด เนื่องจากเป็นค่าการดูดกลืนแสงที่ดี และความความชันของกราฟที่ดี ดังแสดงในตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.2

ตารางที่ 4.1 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของชาต่างๆเทียบกับความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แต่ละความเข้มข้น

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน H_2O_2 (%v/v)	**ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อใช้ความเข้มข้นรีเอเจนต์ที่ต่างกัน (% w/v)**					
	1	2	3	4	**5**	8
0.02	0.196	0.427	0.581	0.716	**0.705**	1.354
0.04	0.181	0.386	0.559	0.613	**0.697**	1.183
0.06	0.171	0.339	0.521	0.549	**0.682**	1.104
0.08	0.167	0.324	0.471	0.527	**0.663**	1.011
0.10	0.147	0.313	0.452	0.503	**0.644**	0.974
สมการ y =	-0.56x +0.206	-1.45x +0.444	-1.73x +0.620	-2.56x +0.735	**-0.78x +0.725**	-4.66x +1.404
R^2	0.959	0.925	0.979	0.895	**0.978**	0.943



รูปที่ 4.2 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของชาต่างๆ เทียบกับความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์แต่ละความเข้มข้น

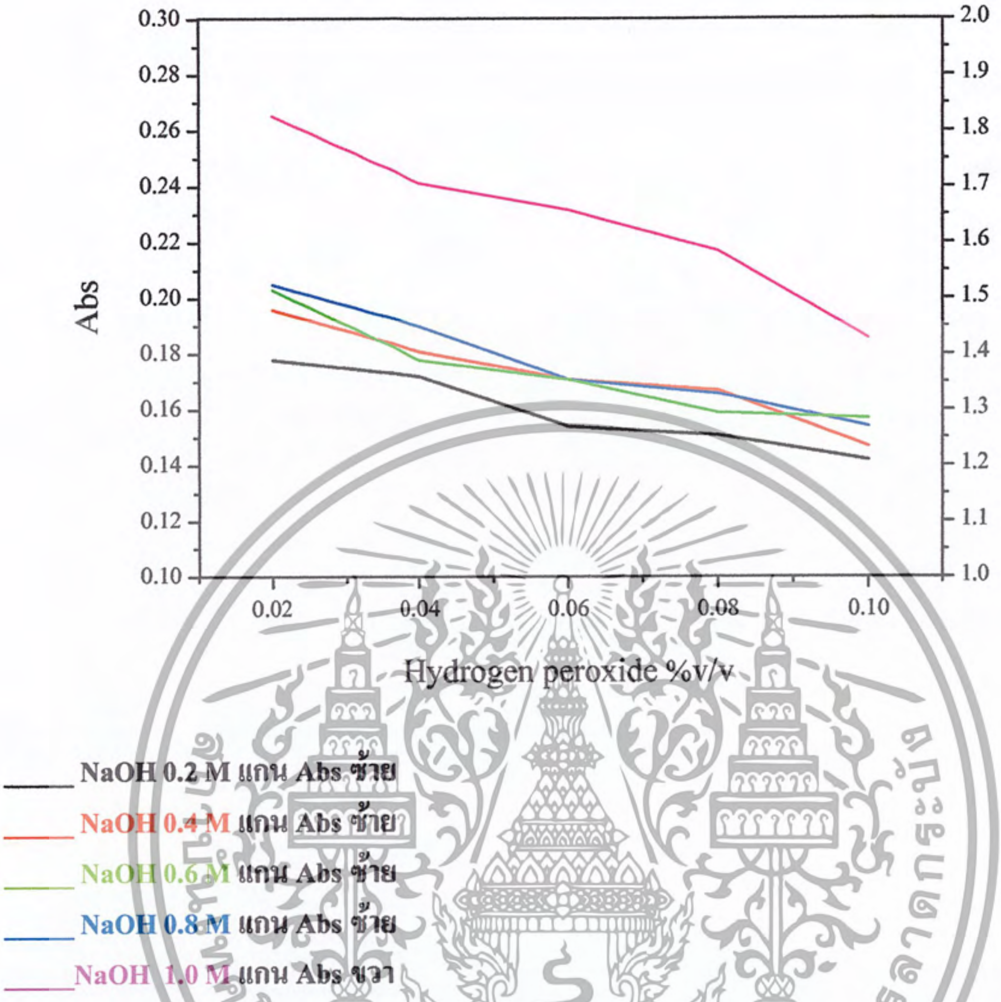
4.2.2 ผลของความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์

เมื่อนำรีเอเจนต์ที่สกัดได้จากใบชาที่ความเข้มข้น 5% v/v มาทำปฏิกิริยากับสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่มีความเข้มข้น 0.5% v/v ปิเปตมา 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิเมตร ตามลำดับ จากนั้นทำการเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงไป โดยให้มีความเข้มข้นที่แตกต่างกันคือที่ความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.6 และ 0.8 M ตามลำดับ เมื่อนำไปตรวจวัดด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer ผลที่ได้แสดงในตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงเมื่อใช้ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่แตกต่างกันกับความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์แต่ละความเข้มข้นและกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างๆ (%v/v) กับความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์(M)จากกราฟแสดง

ความสัมพันธ์ระหว่างเมื่อเปรียบเทียบกันทั้งในสภาวะที่ไม่เติมเบสและสภาวะที่เติมเบส พบว่าค่าการดูดกลืนแสงในสภาวะที่เติมเบสจะมีค่าเพิ่มขึ้น ดังนั้นในสภาวะที่เติมเบสจึงดีกว่าสภาวะที่ไม่เติมเบสและเมื่อเปรียบเทียบกันในสภาวะที่เติมเบสโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆกัน คือ 0.2, 0.4, 0.6 และ 0.8 M ตามลำดับ จะพบว่าโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.4 M ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่มากกว่าที่ความเข้มข้น 0.2 M และที่ความเข้มข้น 0.4 M เมื่อเปรียบเทียบกับ 0.6 M และ 0.8M นั้นพบว่าค่าการดูดกลืนแสงนั้นมีค่าใกล้เคียงกัน ดังนั้นสภาวะของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เลือกใช้ก็คือที่ความเข้มข้น 0.4 M

ตารางที่ 4.2 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสงเมื่อความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์เปลี่ยนไป

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน H_2O_2 (%v/v)	**ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อใช้ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ต่างกัน (M)**				
	0.2	**0.4**	0.6	0.8	1.0
0.02	0.178	**0.196**	0.205	0.203	1.826
0.04	0.172	**0.181**	0.190	0.178	1.706
0.06	0.154	**0.171**	0.171	0.171	1.658
0.08	0.151	**0.167**	0.166	0.159	1.584
0.10	0.142	**0.147**	0.154	0.157	1.428
สมการ y =	-0.009x +0.187	**-0.011x +0.206**	-0.012x +0.215	-0.011x +0.206	-4.59x +1.915
R^2	0.953	**0.959**	0.968	0.893	0.964



รูปที่ 4.3 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงเมื่อความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์เปลี่ยนไป

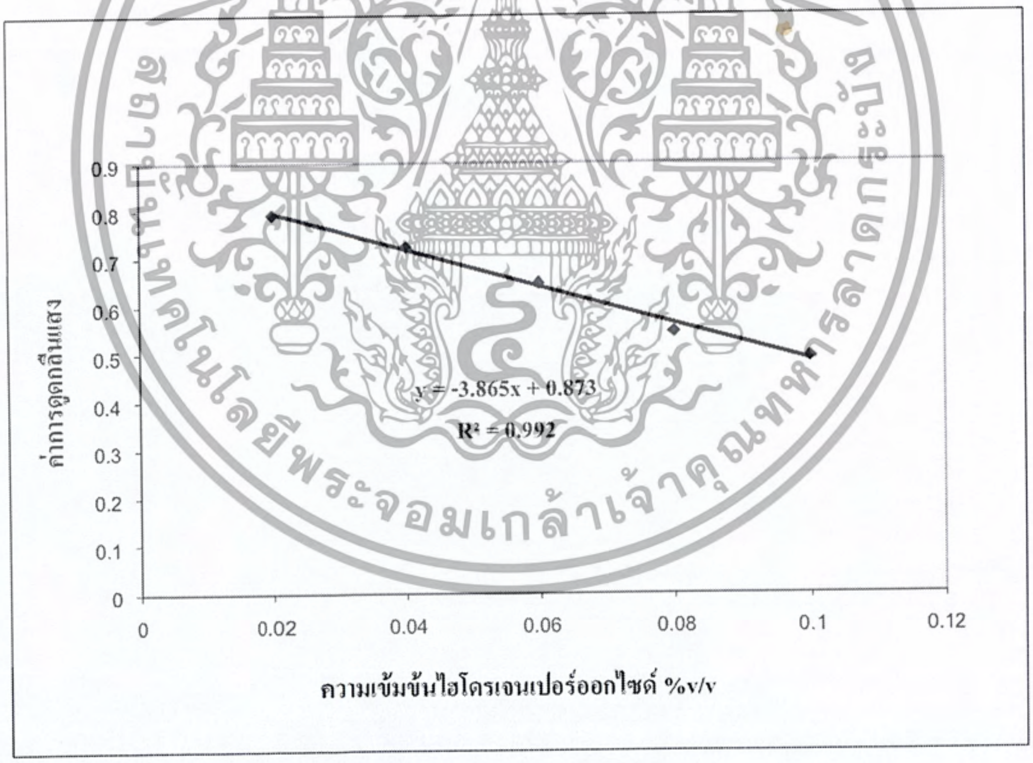
4.3 การทดสอบความใช้ได้วิธีวิเคราะห์

4.3.1 การสร้างกราฟมาตรฐาน

ในการสร้างกราฟมาตรฐานซึ่งทำได้โดยการนำรีเอเจนต์ที่สกัดได้ที่มีความเข้มข้น 5% w/v มาเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เข้มข้น 0.5% v/v ปริมาตร 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรตามลำดับ แล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.4 M จำนวน 0.5 มิลลิลิตร เมื่อนำไปตรวจวัดด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตรได้ค่าการดูดกลืนแสง ดังแสดงในตารางที่ 4.3 และได้กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ดังแสดงในรูปที่ 4.3 จากกราฟมาตรฐานแสดงให้เห็นว่าเมื่อความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้น ค่าการดูดกลืนแสงที่ตรวจวัดได้จะมีค่าลดลง ได้สมการดังนี้คือ $y = -3.865x + 0.8735$ และค่า R^2 เท่ากับ 0.9929

ตารางที่ 4.3 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน H_2O_2 (%v/v)	ค่าการดูดกลืนแสง
0.02	0.792
0.04	0.725
0.06	0.649
0.08	0.548
0.10	0.494



รูปที่ 4.4 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

4.3.2 การหาค่า LOD และค่า LOQ

เมื่อทำการทดลองตามสภาวะที่เหมาะสมโดยทำการทดลองทุกความเข้มข้น คือ 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.10% v/v ของสารมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงแต่ละความเข้มข้นมาทำการหาค่าเฉลี่ยและเราทราบสมการเส้นตรงจากกราฟมาตรฐานคือ $y = -3.865x + 0.873$ จากนั้นก็ทำการคำนวณหาค่า LOD จากสมการ $y = y_B + 3S_B$ และ LOQ จากสมการ $y = y_B + 10S_B$ จากวิธีการคำนวณในภาคผนวก ข. และ ค. จะได้ผลการคำนวณดังตารางที่ 4.4 และจะได้ค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.0089 และ 0.0300 % v/v ตามลำดับ

ตารางที่ 4.4 ตารางแสดงค่าการหา LOD และ LOQ

X	y_i	$\hat{y}$	$y_i-\hat{y}$	$(y_i-\hat{y})^2$
0.02	0.807	0.796	0.011	0.0001
0.04	0.716	0.718	-0.002	0.0000
0.06	0.624	0.641	-0.017	0.0002
0.08	0.55	0.564	-0.013	0.0001
0.1	0.496	0.487	-0.009	0.0000

4.3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในตัวอย่างน้ำยาล้างแผล

การวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในตัวอย่างน้ำยาล้างแผลนั้นทำได้โดยนำรีเอเจนต์ที่สกัดได้จากใบชาที่มีความเข้มข้น 5% w/v มาทำปฏิกิริยากับสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เตรียมจากตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 0.5% v/v ปริมาตร 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรตามลำดับ นำไปตรวจวัดค่าการดูดแสงด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ได้ผลดังแสดงในตารางที่จากค่าการดูดกลืนแสงที่ได้นำค่าไปแทนในสมการเส้นตรง $y = -3.865x+ 0.873$ จะได้ค่าความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในตัวอย่าง จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นได้ว่าเมื่อความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้นค่าการดูดกลืนแสงที่ตรวจวัดได้จะลดลง

ตารางที่ 4.5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ปริมาตรH_2O_2 เข้มข้น 0.5% v/v ที่เติมลงไป (mL)	ค่าการดูดกลืนแสง					ค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสง	H_2O_2 ที่คำนวณได้จากกราฟมาตรฐาน (% v/v)
	1	2	3	4	5		
1	0.774	0.840	0.802	0.810	0.813	0.808	0.026
2	0.724	0.717	0.724	0.734	0.716	0.716	0.04
3	0.626	0.645	0.625	0.860	0.624	0.624	0.06
4	0.551	0.549	0.553	0.552	0.550	0.550	0.08
5	0.498	0.493	0.496	0.494	0.494	0.494	0.10

4.3.4 การหาความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์

ในการศึกษาความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ทำได้โดยการนำรีเอเจนต์ที่สกัดได้จากใบชามาทำปฏิกิริยากับสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในน้ำยาล้างแผลเข้มข้น 0.5% v/v ปริมาตร 2 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% v/v ลงไปปริมาตร 0, 1, 2, 3 และ 4 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.4 M เมื่อนำไปตรวจวัดค่าการดูดแสงด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ทำซ้ำ 5 ครั้ง แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาหาค่า %RSD ได้ผลดังตารางที่ 4.6 โดยแสดงวิธีการหาในส่วนภาคผนวก ง. ซึ่งค่า %RSD ที่ได้จากการคำนวณมีค่าไม่เกิน 10 % ซึ่งเป็นที่น่าพอใจ

ตารางที่ 4.6 ตารางแสดงค่า % RSD

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน H_2O_2 (%v/v)	ค่าการดูดกลืนแสง						SD	%RSD
	1	2	3	4	5	เฉลี่ย		
0.00	0.726	0.724	0.727	0.731	0.726	0.726	0.002	0.27
0.02	0.626	0.620	0.629	0.624	0.625	0.624	0.003	0.48
0.04	0.550	0.554	0.558	0.549	0.551	0.552	0.003	0.59
0.06	0.493	0.486	0.489	0.496	0.495	0.491	0.003	0.78
0.08	0.435	0.433	0.440	0.430	0.438	0.435	0.003	0.81

4.3.5 การศึกษาความแม่นของวิธีวิเคราะห์

ในการศึกษาความแม่นของวิธีการวิเคราะห์ทำได้โดยนำรีเอเจนต์ที่ได้จากการสกัดใบชามาทำปฏิกิริยากับสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในน้ำยาล้างแผลเข้มข้น 0.5% v/v ปริมาตร 2 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5% v/v ลงไปปริมาตร 0, 1, 2, 3 และ 4 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.4 M เมื่อนำไปตรวจวัดค่าการดูดแสงด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ได้ผลดังที่แสดงในตารางที่ 4.6 และเมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงที่ตรวจวัดได้มาคำนวณ โดยใช้สมการเส้นตรงจากกราฟมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ คือ $y = -3.865x - 0.873$ และเมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงไปแทนค่าในสมการจะได้ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (%v/v) จากนั้นนำไปคำนวณหาค่า %Recovery ได้ตามตารางที่ 4.6 %Recovery ที่หาได้อยู่ในช่วง 94 -130 % ถือได้ว่ามีค่าที่สูง แสดงว่า sample metrix ไม่รบกวนการวิเคราะห์

$$\textbf{Recovery} = \frac{\textbf{Spiked sample}^{1} - \textbf{Sample}^{2}}{\textbf{Standard}^{3}} \times 100$$

1: การเติม Standard ลงไปใน sample

2: Sample เท่านั้นไม่มีการเติม Standard ใดๆ ลงไป

3: Standard เท่านั้น

ตารางที่ 4.7 ตารางแสดงผลค่า Recovery

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน H_2O_2	ค่าการดูดกลืนแสง						ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง	% Recovery
(%v/v)	1	2	3	4	5	เฉลี่ย	(%v/v)	
0.00	0.726	0.724	0.727	0.731	0.726	0.726	0.038±0.002	-
0.02	0.626	0.620	0.629	0.624	0.625	0.624	0.064±0.003	130±0.48
0.04	0.550	0.554	0.558	0.549	0.551	0.552	0.082±0.003	110±0.59
0.06	0.493	0.486	0.489	0.496	0.495	0.491	0.098±0.003	100±0.78
0.08	0.435	0.433	0.440	0.430	0.438	0.435	0.113±0.003	94±0.81

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 บทสรุป

ในงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของการเกิดปฏิกิริยาเคมีของสารตัวอย่างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่มีผลต่อสารสกัดในใบชา ซึ่งเป็นสารประกอบจำพวกสารประกอบแทนนิน ผลของการทดลอง เมื่อทำการทดลองเทียบกับสารมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยทำการหาสภาวะที่เหมาะสม คือ สภาวะการสกัดชาที่เหมาะสมจะต้องทำการสกัดด้วยอะซีโตน 70% v/v ในสัดส่วน 0.5 : 10 ของน้ำหนักชาต่อปริมาตรอะซิโตน ซึ่งการใช้อะซิโตนจะทำให้ผลการสกัดที่ดี เนื่องจากจะลดความขุ่นของสารที่สกัดได้ เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยน้ำ สภาวะความเข้มข้นของเบสที่ใช้ในการทดลองจะใช้เบสโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่มีความเข้มข้น 0.4 M เพื่อทำการปรับสภาวะให้เกิดปฏิกิริยาได้ดีขึ้นเมื่อเทียบกับการไม่ปรับสภาวะด้วยเบส ในระดับความเข้มข้นของเบสที่มีความเข้มข้นน้อยเกินไปจะได้ผลการทดลองที่ไม่ดีนัก โดยดูจากความชันของกราฟและค่าการกระจาย แต่ถ้ามีความเข้มข้นของเบสมากเกินไปจะทำให้ค่าการดูดกลืนแสงน้อยกว่าปกติซึ่งเป็นผลให้เกิดความผิดพลาดได้ สภาวะความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 0.02 - 0.10% v/v หากมีความเข้มข้นมากหรือน้อยไปกว่าช่วงดังกล่าวแล้ว จะทำให้ได้ผลที่ไม่ดี ข้อมูลมีความกระจัดกระจาย และ สภาวะความเข้มข้นของชาที่สกัดได้ ความเข้มข้นที่เหมาะสมจะอยู่ที่ 5 % w/v เพราะจะได้สารที่สกัดได้มีค่าการดูดกลืนแสงที่มีความเหมาะสมคือ ไม่เกิน 1.000 และไม่น้อยจนเกินไป เมื่อทำการทดลองหากใช้ชามีความเข้มข้นมากเกินไปก็จะทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนในเรื่องของค่าการดูดกลืนแสงที่มากเกินไป เมื่อทำการหาค่า LOD และ LOQ ได้ผลดังนี้ 0.0089 % v/v และ 0.0300 % v/v ตามลำดับ และทำการหาค่า Recovery จะอยู่ในช่วง 94-130% ซึ่งถือว่าเป็นผลที่น่าพอใจ

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ในการทดลองเรื่องของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์นั้นการเตรียมสารมาตรฐานและตัวอย่างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะต้องทำการการเตรียมก่อนการลองเนื่องจากสารดังกล่าวสามารถสลายตัวได้ง่าย อาจส่งผลต่อการทดลองทำให้เกิดความผิดพลาดได้
2. ชาที่ใช้ในการสกัดซึ่งเป็นตัวแปรที่ส่งผลต่อการทดลองอย่างยิ่งเนื่องจากเราไม่สามารถควบคุมความเข้มข้นของชาได้ เนื่องจากสารที่อยู่ภายในชานั้นอาจมีมากน้อยตามฤดูการเก็บเกี่ยว ดังนั้นจึงควรนำชามาผสมกัน หรืออาจทำการทดลองในชาชุดเดียวกันจนเสร็จสิ้นการทดลองจะช่วยลดค่าความผิดพลาด และเวลา ในการสร้างกราฟมาตรฐานใหม่ได้
3. วิธีมาตรฐานในการสอบเทียบอาจต้องมีมากกว่าหนึ่งวิธีหรืออาจเป็นวิธีที่สามารถสอบกลับได้จะทำให้ได้ผลการวิเคราะห์ที่น่าเชื่อถือยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

[1] http://th.wikipedia.org/wiki/ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

[2] http://th.wikipedia.org/wiki/ชา

[3] พิมพ์งาม ยงธนาสารสมบัติ และ สุพรรณา โยธาภักดี. 2542. การใช้ประโยชน์ของแทนนินจากเปลือกมังคุด. ปัญหาพิเศษ. คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

[4] http://www.atom.rmutphysics.com/charud/oldnews/0/286/12/6/CD/colorandLight/index.html

[5] Yueh-Tzu Hung, Po-Chung Chen, Richie L.C. Chen and Tzong-Jih Cheng, Food Chemistry, 118, 2010, 876-881

[6] Yueh-Tzu Hung , Po-Chung Chen , Richie L.C. Chen and Tzong-Jih Cheng, Sensor and Actuators B Chemical, 130, 2008, 135-140

[7] Horacio D. Moya , Patricia Dantoni , Fabio R.P. Rocha and Nina Coichev, Microchemical Journal, 88, 2008, 21-25

ภาคผนวก ก.

การหาความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ล้างแผล
(Determination of Commercial Hydrogen Peroxide)

หลักการ

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สำหรับล้างแผลหรือล้างหูที่มีขายอยู่ทั่วไปมีความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 3-6% v/v การหาปริมาณของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์อาจทำได้โดยไทเทรตกับ $KMnO_4$ หรือไทเทรตด้วยวิธีไอโอโดเมตรี (Iodometry) แต่การไทเทรตด้วย $KMnO_4$ จะมีความผิดพลาดสูง เพราะในน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีสารรบกวน ได้แก่ กรดบอริก กรดซาลิไซลิก กลีเซอรอล เป็นต้น

วิธีไอโอโดเมตรีเป็นการวิเคราะห์ที่มีไอโอดีนในปฏิกิริยา ในกรณีนี้ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะทำปฏิกิริยากับไอโอไดด์ไอออนในสารละลายที่เป็นกรดและเกิดไอโอดีนขึ้นดังแสดงในสมการ

$$H_2O_2 + 2H^+ + 2I^- \longrightarrow I_2 + 2H_2O$$

จากนั้นไทเทรตหาปริมาณไอโอดีนที่เกิดจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วยสารละลายมาตรฐานไทโอซัลเฟต

ปฏิกิริยาระหว่าง $H_2O_2 - I^-$ เกิดช้า แต่จะเร็วขึ้นในสารละลายที่มีฤทธิ์เป็นกรดสูงขึ้นหรืออาจเติมแอมโมเนียมโมลิบเดตเพื่อเร่งปฏิกิริยา

ปฏิกิริยาการไทเทรตไอโอดีนที่เกิดขึ้นกับไทโอซัลเฟตเป็นดังนี้

$$I_2 + 2S_2O_3^{2-} \longrightarrow 2I^- + S_4O_6^{2-}$$

จุดประสงค์ของผู้ทำการทดลอง

1. รู้จักการไทเทรตที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยารีดอกซ์แบบไอโอโดเมตรี
2. สามารถคำนวณปริมาณสารสัมพันธ์ในปฏิกิริยาของการไทเทรตที่ซับซ้อนขึ้น

วิธีการทดลอง

เตรียมสารละลาย 0.1 M sodium thiosulfate

โดยชั่ง $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ ประมาณ 6.5 g ใส่ในน้ำกลั่นที่ต้มจนเดือดและทิ้งให้เย็นใหม่ๆ ปริมาณ 250 mL เก็บสารละลายไทโอซัลเฟตนี้ในขวดสีชา ไม่ควรเตรียมเก็บไว้ใช้เกินกว่า 1 สัปดาห์ หากจำเป็นต้องใช้ควรหาความเข้มข้นที่แน่นอนก่อนใช้ทุกครั้ง

เตรียมสารละลายมาตรฐานปฐมภูมิ 0.01 M KIO_3

โดยชั่ง KIO_3 , A.R. grade, ประมาณ 0.3 g ให้ทราบน้ำหนักที่ละเอียดแน่นอน ละลายและปรับปริมาตรเป็น 100 mL ในขวดกำหนดปริมาตร คำนวณความเข้มข้นที่แท้จริง

หาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายไทโอซัลเฟต

อาศัยปฏิกิริยาที่สารมาตรฐานโพแทสเซียมไอโอเดต (KIO_3) ทำปฏิกิริยากับไอโอไดด์ (I^-)ในสารละลายกรด เกิดไอโอดีน(I_2) ขึ้น ไทเทรตทันทีด้วยสารละลายไทโอซัลเฟต ดังสมการ

$$IO_3^- + 5I^- + 6H^+ \longrightarrow 3I_2 + 3H_2O$$

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานปฐมภูมิ KIO_3 มา 25.00 mL ลงในขวดรูปกรวยขนาด 250 mL เติมสารละลาย 10%KI ปริมาตร 10 mL เติม 1M H_2SO_4 ปริมาตร 3 ml และเติมน้ำกลั่น 100 mL จะสังเกตว่าเกิดไอโอดีน(สีน้ำตาล)ขึ้น

2. นำไปไทเทรตทันทีกับสารละลายไทโอซัลเฟตซึ่งบรรจุอยู่ในบิวเรต จนกระทั่งมีไอโอดีนเหลือน้อยโดยสังเกตจากสีน้ำตาลจางลงจนเป็นสีเหลืองจาง ณ จุดนี้เติมอินดิเคเตอร์น้ำแป้งลงไป 2 mL จะเกิดสีน้ำเงินเข้มของน้ำแป้งกับไอโอดีน ไทเทรตต่อจนถึงจุดยุติคือจุดที่สีน้ำเงินหายไป บันทึกปริมาตรสารละลายไทโอซัลเฟตที่ใช้ตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงจุดยุติ ทำการไทเทรตอย่างน้อย 2 ซ้ำ ผลการไทเทรตต่างกันไม่เกิน ± 0.10 mL คำนวณความเข้มข้นของสารละลายไทโอซัลเฟตจากสมการต่อไปนี้

$$IO_3^- + 5I^- + 6H^+ \longrightarrow 3I_2 + 3H_2O$$

$$I_2 + 2S_2O_3^{2-} \longrightarrow 2I^- + S_4O_6^{2-}$$

หาความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ล้างแผล

1. ควรเจือจางตัวอย่างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ล้างแผล 4-5 เท่า โดยปิเปตด้วยตัวอย่างมา 25.00 mL ใส่ในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 100 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

2. ปิเปตสารละลายตัวอย่างในข้อ1 มา 10.00 mL ใส่ในขวดรูปกรวยขนาด 250 mL เติม 1M H_2SO_4 ปริมาตร 40 mL และ 0.4g KI ผสมให้เข้ากันดี ปิดด้วยกระจกนาฬิกาหรือจุกปิด ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 15 นาที

3. นำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานไทโอซัลเฟต เช่นเดียวกับข้อ 2 ในการหาความเข้มข้นที่แน่นอน ทำการไทเทรตอย่างน้อย 2 ครั้ง ผลการไทเทรตต่างกันไม่เกิน ± 0.10 mL

4. คำนวณความเข้มข้นของตัวอย่างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ล้างแผลในหน่วย % w/v จากสมการต่อไปนี้

$$H_2O_2 + 2H^+ + 2I^- \longrightarrow I_2 + 2H_2O$$

$$I_2 + 2S_2O_3^{2-} \longrightarrow 2I^- + S_4O_6^{2-}$$

รีเอเจนต์อื่น

1. อินดิเคเตอร์น้ำแป้ง เตรียมโดยนำ soluble starch 1.0 g ละลายในน้ำเย็นปริมาตร 100 mL นำไปต้มจนเดือดพร้อมคนตลอดเวลา

2. สารละลาย 10% KI เตรียมโดยสารละลาย KI 10 g ในน้ำกลั่น 100 mL

3. 1 M H_2SO_4

ภาคผนวก ข.

การคำนวณค่าขีดจำกัดในการตรวจวัด (LOD)

ผลการคำนวณค่าขีดจำกัดในการตรวจวัด (LOD) ของสารมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

สามารถหาได้จากข้อมูลการทำ system linearity

LOD หาได้สูตร

$$y = y_B + 3S_B \qquad \text{..............(1)}$$

โดยที่ $y_B = a\,;0$

$S_B = S_{y/x}\,; = 0.0115$

แทนค่าลงในสมการที่ 1 จะได้

$$y = 0.\ 8735 + (3 \times 0.0115)$$

$$= 0.9080$$

จากนั้นนำค่า y ที่ได้ไปแทนในสมการเส้นตรงที่ได้จากการทำ system linearity

$$0.9080 = 3.865x + 0.8735$$

$$x = 0.0089\ \%\ v/v$$

ภาคผนวก ค.

การคำนวณค่าขีดจำกัดในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ (LOQ)

การคำนวณค่าขีดจำกัดในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ (LOQ) ของสารมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

สามารถหาได้จากข้อมูลการทำ system linearity

LOQ หาได้สูตร

$$y = y_B + 10S_B \qquad \text{................(1)}$$

โดยที่ $y_B = a ; 0$

$S_B = S_{y/x} ; = 0.0115$

แทนค่าลงในสมการที่ 1 จะได้

$$y = 0.8735 + (10 \times 0.0115)$$

$$= 0.9885$$

จากนั้นนำค่า y ที่ได้ไปแทนในสมการเส้นตรงที่ได้จากการทำ system linearity

$$0.9890 = 3.865x + 0.8735$$

$$x = 0.0298\% \text{ v/v}$$

ภาคผนวก ง.

การหาค่าความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์

การคำนวณค่าความเที่ยง (Precision) ของวิธีทดสอบ

เกณฑ์การยอมรับความเที่ยงประเมินโดยการเปรียบเทียบกับค่าที่คำนวณได้จาก Horwitz's equation และHORRAT (Horwitz ratio) ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่าง %RSD กับความเข้มข้นโดยไม่คำนึงถึงวิธีวิเคราะห์ที่ใช้และตัวอย่างที่วิเคราะห์ เนื่องจากวิธีวิเคราะห์และลักษณะตัวอย่างไม่มีอิทธิพลต่อ %RSD

การคำนวณ %RSD

$$\%RSD = \left(\frac{SD \times 100}{\bar{x}}\right)$$

$$\mathrm{SD} = \sqrt{\frac{\sum(X - \bar{X})^2}{N - 1}}$$

เมื่อ SD = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)

X = ค่าที่วัดได้แต่ละครั้ง

$\overline{\mathrm{X}}$ = ค่าเฉลี่ยจากการวัดหลายๆ ครั้ง

N = จำนวนครั้งที่วัด