

เอกสารผลงานที่เสนอให้ประเมิน
เพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ 7ว

ของ
นางสอิ่ง จักษุศิลา
ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ 6ว

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบและการคำนวณค่าความไม่แน่นอน
ของการวิเคราะห์ : การหาปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารส้มน้ำ

ผู้ร่วมดำเนินการ
นางสาวไตรดา ชุนโหร
ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ 5

กลุ่มงานอินทรีย์เคมีวิเคราะห์
กองเคมี
กรมวิทยาศาสตร์บริการ

เอกสารผลงานที่เสนอให้ประเมิน
เพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ 7ว

ของ

นางสอิ่ง จักษุติลา

ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ 6ว

เลขหมู่ อศ กข
อศ 42.
เลขทะเบียน 11560
วันที่ 16 / ๕๓. / 261

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบและการคำนวณค่าความไม่แน่นอน
ของการวิเคราะห์ : การหาปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารส้มน้ำ

ด้วยอภิธานนาการ
จาก
.....

ผู้ร่วมดำเนินการ

นางสาวไศรดา ขุนโหร

ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ 5

กลุ่มงานอินทรีย์เคมีวิเคราะห์

กองเคมี

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

บทคัดย่อ

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี(method validation) การวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก(Fe)ในตัวอย่างสารส้มน้ำโดยวิธี ยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งเป็นวิธีที่ห้องปฏิบัติการพัฒนาขึ้น(in-housed method) จากวิธีของมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก.165-2542 :สารส้ม ซึ่งมีเกณฑ์กำหนดเหล็ก ร้อยละ 0.1 ถึง 2.0 โดยตรวจสอบความใช้ได้ของเครื่องมือเป็นเบื้องต้นก่อน รายการที่ตรวจสอบคือ ความแม่นยำของการดูดกลืนแสง (photometric accuracy) ความแม่นยำของความยาวคลื่น(wavelength accuracy) และเสถียรภาพของเบสไลน์(baseline stability) จากนั้นจึงตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ โดยใช้สารละลายมาตรฐานที่เป็นวัสดุอ้างอิงรับรอง(CRM) ซึ่งสามารถสอบย้อนกลับได้ถึงหน่วย SI(International System of Units) ในการตรวจสอบพารามิเตอร์ต่างๆ ได้แก่สภาพเชิงเส้น(linearity)แสดงในรูปสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) มีค่าเท่ากับ 1 ความเที่ยง(precision)แสดงในรูปร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์(relative standard deviation, % RSD) ร้อยละ 0.81ถึง 2.02 ความแม่นยำ (accuracy)แสดงในรูปร้อยละการคืนกลับ(% recovery) ร้อยละ 98.67 ถึง 99.67 ขีดต่ำสุดที่วิธีสามารถวิเคราะห์ได้ (method detection limit, MDL) ร้อยละ 0.003 ขีดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ(limit of quantitation, LOQ) ร้อยละ 0.009 และพิสัย (range) ร้อยละ 0.009 ถึง 0.40

และเมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ ปริมาณเหล็กในตัวอย่าง สารส้มน้ำ ตามวิธีมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก. 165-2542 :สารส้ม กับวิธีที่พัฒนาขึ้น ในด้านความเที่ยงและความแม่นยำพบว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นจะมีความเที่ยงและความแม่นยำกว่า คือ ร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของวิธี มอก. ได้เท่ากับ 1.45 ถึง 5.16 และของวิธีที่พัฒนาขึ้น ได้เท่ากับ 0.19 ถึง 1.39 ส่วนร้อยละการคืนกลับของวิธี มอก. ได้เท่ากับ 107.25 ถึง 141.60 และของวิธีที่พัฒนาขึ้น ได้เท่ากับ 94.76 ถึง 106.10 และการประมาณค่าความไม่แน่นอนของผลการวิเคราะห์ อยู่ในช่วงร้อยละ ± 0.004 ถึง ± 0.007

สารบัญ

| | <u>หน้า</u> |
|--|-------------|
| บทคัดย่อ | i |
| สารบัญ | ii |
| สารบัญตาราง | iii |
| สารบัญรูปภาพ | v |
| บทที่ 1 บทนำ | 1 |
| 1.1 ปัญหาและที่มาของการทดลอง | 1 |
| 1.2 วัตถุประสงค์ | 2 |
| 1.3 ประโยชน์ที่ได้รับ | 2 |
| 1.4 ระยะเวลาดำเนินการ | 2 |
| บทที่ 2 วารสารปริทัศน์ | 3 |
| 2.1 การตรวจสอบความใช้ได้ของเครื่องมือ | 3 |
| 2.2 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี | 4 |
| 2.3 การประมาณค่าความไม่แน่นอนในการวิเคราะห์ทดสอบ | 8 |
| บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ | 17 |
| 3.1 ตัวอย่าง | 17 |
| 3.2 วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือ | 18 |
| 3.3 สารเคมี สารละลายและวิธีเตรียม | 18 |
| 3.4 วิธีดำเนินการ | 20 |
| บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ | 36 |
| บทที่ 5 วิจารณ์ผล | 39 |
| บทที่ 6 สรุปผลและข้อเสนอแนะ | 41 |
| กิตติกรรมประกาศ | 43 |
| เอกสารอ้างอิง | 44 |
| ภาคผนวก | 46-92 |

สารบัญตาราง

| <u>ตารางที่</u> | <u>หน้า</u> |
|---|-------------|
| 1. แสดงการเลือกพารามิเตอร์ที่ควรตรวจสอบ | 6 |
| 2. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี จำนวนครั้งของการวิเคราะห์ที่ควรตรวจสอบ ในแต่ละพารามิเตอร์ | 7 |
| 3. ตาราง Student's t for 95 % confidence(2-tailed) | 14 |
| 4. แสดงรายละเอียดของตัวอย่างสารสัมฤทธิ์ที่ใช้ในการศึกษาทดลอง | 17 |
| 5. ปริมาณเหล็กในสารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการสร้างกราฟสอบเทียบ | 21 |
| 6. แสดงการแจกแจงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเหล็ก | 33 |
| 7. แสดงผลการสอบเทียบความแม่นยำของการดูดกลืนแสง | 46 |
| 8. แสดงผลการสอบเทียบความแม่นยำของความยาวคลื่น | 47 |
| 9. แสดงผลการหาค่าไอดีแอล (IDL) | 48 |
| 10. แสดงผลการตรวจสอบสภาพเชิงเส้น (linearity) | 49 |
| 11. แสดงผลการตรวจสอบความแม่นยำ (accuracy), ร้อยละการคืนกลับ | 50 |
| 12. แสดงผลการตรวจสอบความเที่ยง (precision) | 51 |
| 13. แสดงค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) กับปริมาณเหล็กที่เดิม | 53 |
| 14. แสดงผลการพิสูจน์ความแม่นยำและความเที่ยงที่ปริมาณเหล็กเท่ากับ แอล โอ คิว | 54 |
| 15. แสดงความเที่ยงของผลการวิเคราะห์ตามวิธีที่ 1 (มอก.165-2542 : สารส้ม) | 55 |
| 16. แสดงความเที่ยงของผลการวิเคราะห์ตามวิธีที่ 2 (วิธีที่พัฒนาขึ้น) | 56 |
| 17. แสดงผลการตรวจสอบความแม่นยำ (accuracy) ของวิธีที่ 1 (มอก.165-2542 : สารส้ม) | 57 |
| 18. แสดงผลการตรวจสอบความแม่นยำ (accuracy) ของวิธีที่ 2 (วิธีที่พัฒนาขึ้น) | 58 |
| 19. แสดงผลการเปรียบเทียบความเที่ยงโดยวิธีทางสถิติ t-Test:Paired Two Sample for Means) | 59 |
| 20. แสดงผลการเปรียบเทียบความแม่นยำ โดยวิธีทางสถิติ t-Test:Paired Two Sample for Means) | 60 |

สารบัญตาราง (ต่อ)

| <u>ตารางที่</u> | <u>หน้า</u> |
|---|-------------|
| 21. แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก (Fe) ในตัวอย่างสารส้มน้ำ | 61 |
| 22. แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก (Fe) , ร้อยละเท่ากับแอลไอ คิว | 62 |
| 23. แสดงผลการประเมินค่าความไม่แน่นอน | 63 |
| 24. แสดงผลการประเมินค่าความไม่แน่นอนที่ความเข้มข้นเท่ากับแอลไอคิว | 64 |
| 25. แสดงผลการหาค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของการชั่งน้ำหนักของน้ำ ที่บรรจุในเครื่องแก้ว (n=10) | 65 |
| 26. แสดงค่าความไม่แน่นอนของเครื่องแก้วที่ใช้เตรียมสารละลายตัวอย่าง | 69 |
| 27. แสดงค่าความไม่แน่นอนของเครื่องแก้วที่ใช้เตรียมสารละลายมาตรฐาน | 69 |
| 28. แสดงค่าความไม่แน่นอนของสารละลายมาตรฐาน เหล็กช่วงใช้งาน | 70 |
| 29. แสดงการคำนวณ U_{Co} โดยใช้ โปรแกรม microsoft excel | 71 |
| 30. แสดงค่าความไม่แน่นอนจากการวิเคราะห์ซ้ำ | 72 |
| 31. แสดงค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานสัมพัทธ์จากแหล่งต่างๆ | 73 |
| 32. ตาราง Critical values of F for a two- tailed test(P = 0.05) | 74 |
| 33. ตาราง The t-distribution | 75 |
| 34. ร้อยละการคืนกลับของตัวอย่างที่ วิเคราะห์โดยต่างผู้วิเคราะห์และต่างเวลา | 76 |

สารบัญรูปภาพ

| <u>รูปภาพที่</u> | | <u>หน้า</u> |
|------------------|--|-------------|
| 1 | ขั้นตอนการประมาณค่าความไม่แน่นอน(the uncertainty measurement process) | 10 |
| 2 | แสดงขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารส้มน้ำ | 28 |
| 3 | แสดงแหล่งที่มาของความไม่แน่นอนของการทดสอบที่มีอิทธิพลต่อ ผลการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารส้มน้ำ | 29 |
| 4 | กราฟแสดงความสัมพันธ์ ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณเหล็กที่เดิม | 52 |
| 5 | กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานกับปริมาณเหล็กที่เดิม | 53 |
| 6 | ยูวี-สเปกตรัมของ Holmium oxide | 77 |
| 7 | แสดงเสถียรภาพของเบสไลน์ | 78 |
| 8 | ยูวี-วิสิเบิลสเปกตรัมของสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กในตัวอย่าง สารส้มน้ำกับ 2,2 ไบพิริดีล | 79 |
| 9 | กราฟสอบเทียบ (calibration curve) | 79 |
| 10 | ฮิสโทแกรมของความไม่แน่นอนมาตรฐานสัมพัทธ์จากแหล่งต่าง ๆ | 80 |
| 11 | แสดงค่าความไม่แน่นอนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆของสารที่ต้องการวิเคราะห์ | 80 |
| 12 | แสดงการเป็นไปตามเกณฑ์กำหนดของผลการวิเคราะห์ บวกลบค่าความ ไม่แน่นอน | 81 |

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ปัญหาและที่มาของการทดลอง

สารส้มหมายถึงสารละลายของสารส้มกับน้ำในอัตราส่วนเท่ากัน โดยน้ำหนัก มีสูตรทางเคมี $[Al_2(SO_4)_3 \cdot XH_2O]$ ⁽²⁾ สารส้มน้ำ ชนิดที่ 1 ชั้นคุณภาพที่ 3 (คูภาคผนวก หน้า 87) ส่วนใหญ่ผลิตมาจากแร่บอกไซต์ (bauxite)¹⁰ จะมีเหล็กปนเปื้อนอยู่ในปริมาณเล็กน้อยแตกต่างกันออกไปซึ่งขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของแร่บอกไซต์ ดังนั้นเมื่อนำมาผลิตเป็นสารส้มน้ำจึงทำให้มีปริมาณของเหล็กซึ่งอยู่ในรูปของเหล็ก(III) ออกไซด์ (Fe_2O_3)แตกต่างกัน การที่สารส้มน้ำมีปริมาณเหล็กสูงจะมีผลต่อคุณภาพ เนื่องจากสารส้มน้ำได้ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆมากมาย อาทิ อุตสาหกรรมกระดาษ การฟอกย้อม การบำบัดน้ำเสีย นอกจากนี้ยังใช้ในครัวเรือนและทางเกษตรกรรมด้วย ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการทดสอบหาส่วนประกอบทางเคมีของสารส้มน้ำ เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาประกอบในการตัดสินใจซื้อ ขาย หรือเลือกใช้งานให้มีความเหมาะสมต่อไป

เหล็กเป็นองค์ประกอบหนึ่งที่มีความสำคัญต่อคุณภาพของสารส้มน้ำจึงมีความจำเป็นที่ต้องทราบว่าปริมาณเหล็กปนเปื้อนอยู่สูงมากน้อยเพียงใด วิธีวิเคราะห์ปริมาณเหล็กตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก. 165-2542 : สารส้ม⁽²⁾ มักมีปัญหาในการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารส้มน้ำประเภทที่ใช้ในอุตสาหกรรมชนิดที่ 1 ชั้นคุณภาพที่ 3 เนื่องจากสารส้มน้ำชนิดนี้มีเหล็กที่อยู่ในรูป Fe_2O_3 มากกว่าสารส้มน้ำชนิดอื่น ซึ่งเมื่อเจือจางด้วยน้ำกลั่นแล้วค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เปลี่ยนไปจึงทำให้อะลูมิเนียมและเหล็กตกตะกอนเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของอะลูมิเนียมและเหล็ก เมื่อนำมาเตรียมเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับ 2, 2'-ไบพริดีลแล้ววัดปริมาณเหล็กจะได้น้อยกว่าค่าจริงที่มีอยู่ ดังนั้นวิธีการทดสอบปริมาณเหล็กจึงควรพัฒนาให้เหมาะสมกับสภาพของตัวอย่าง

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ (method validation) ที่เป็นวิธีที่พัฒนาขึ้นหรือจัดทำขึ้น การพิสูจน์ยืนยันวิธีทดสอบ (verification) และการคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการวัด (uncertainty of measurement) เป็นข้อกำหนดทางด้านเทคนิคตามมาตรฐาน ไอเอส โอ / ไออีซี 17025-2543⁽³⁾ ที่ห้องปฏิบัติการทดสอบจำเป็นต้องจัดทำเป็นเอกสารเพื่อแสดงให้เห็นว่าวิธีการทดสอบมีความแม่นยำและความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์การยอมรับได้ โดยการ ใช้สถิติ เป็นเครื่องมือในการตัดสินใจ

ด้วยเหตุนี้ ทางกลุ่มงานอินทรีย์เคมีวิเคราะห์ กองเคมี กรมวิทยาศาสตร์บริการจึงได้จัดทำวิธีทดสอบสารส้มน้ำขึ้น โดยพัฒนามาจากวิธีมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก. 165-2542 : สารส้ม และจะต้องตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีก่อนนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์

- 1.2.1 ตรวจสอบความใช้ได้ของเครื่องมือและวิธีทดสอบสารส้มน้ำที่พัฒนาขึ้น
- 1.2.2 ประเมินค่าความไม่แน่นอนของผลการทดสอบ

1.3 ประโยชน์ที่ได้รับ

- 1.3.1 ได้วิธีวิเคราะห์สารส้มน้ำที่มีการยืนยันความแม่นยำและความเที่ยง
- 1.3.2 ทำให้ทราบความไม่แน่นอนของการวัดสำหรับการวิเคราะห์สารส้มน้ำ
- 1.3.3 ได้แนวทางการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีนี้ที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับวิธีการวิเคราะห์ตัวอย่างอื่นๆได้

1.4 ระยะเวลาดำเนินการ

พฤศจิกายน 2542 ถึง เมษายน 2545 (2 ปี 6 เดือน)

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 การตรวจสอบความใช้ได้ของเครื่องมือ (Instrumental validation)

วิธีการตรวจสอบ

เลือกพารามิเตอร์ที่ควรตรวจสอบให้เหมาะกับลักษณะงาน โดยพิจารณาจากผลกระทบของพารามิเตอร์นั้นต่อผลการวิเคราะห์ทดสอบ สอบเทียบเฉพาะพารามิเตอร์ที่มีผลกระทบโดยตรง ถ้าพารามิเตอร์ใดไม่สามารถสอบเทียบได้ให้ตรวจสอบสมรรถนะของเครื่องมือ โดยใช้โปรแกรมการตรวจสอบที่ติดตั้งอยู่ในเครื่องมือ ซึ่งผู้ผลิตได้กำหนดเกณฑ์การยอมรับไว้แล้ว

วิธีการตรวจสอบแต่ละพารามิเตอร์ มีดังนี้⁽⁴⁾

2.1.1 การตรวจสอบความแม่นยำของความยาวคลื่น

- วัดคิวเทอเรียมฟีกของหลอดยูวี ที่ความยาวคลื่น 656.1 นาโนเมตร

- วัดสารมาตรฐานอ้างอิงสารประกอบ โฮมีียมออกไซด์ (holmium oxide) หาค่าแห่ง

ฟีกในสเปกตรัม

2.1.2 การตรวจสอบความเที่ยงของความยาวคลื่น

วัดคิวเทอเรียมฟีกของหลอดยูวี ซ้ำ 10 ครั้ง หาค่าความแตกต่างของค่าสูงสุด กับค่าต่ำสุดของความยาวคลื่นที่รายงาน เครื่องมือที่มีประสิทธิภาพสูงมีค่าไม่เกิน 0.1 นาโนเมตร

2.1.3 ความกว้างของฟีก

วัดจากคิวเทอเรียมฟีกที่ความยาวคลื่น 656.1 นาโนเมตร

2.1.4 การตรวจสอบความแม่นยำของการดูดกลืนแสง

- ความยาวคลื่นช่วง ยูวี (200-400 นาโนเมตร) ใช้สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต 60.06 มิลลิกรัมในสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.005 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตรจำนวน 1 ลูกบาศก์เดซิเมตร

- ความยาวคลื่นช่วงวิสิเบิล (400-800 นาโนเมตร) ใช้แผ่นแก้วมาตรฐาน (gray glass secondary standards)

2.1.5 เสถียรภาพของเบสไลน์

เปิดเครื่องจุด ค่าการดูดกลืนแสงของเครื่องมือ ณ ความยาวคลื่นที่กำหนด บันทึกสเปกตรัมในช่วงเวลาที่กำหนด

2.1.6 ความเรียบของเบสไลน์

สแกนสเปกตรัมตลอดช่วงความยาวคลื่นของเครื่องมือ โดยทำการปรับศูนย์อัตโนมัติ (auto zero) ของเครื่องมือก่อน

2.2 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (method validation)⁽³⁾

คือการยืนยันโดยการตรวจสอบ และจัดทำหลักฐานที่เป็นรูปธรรม เพื่อแสดงว่าข้อกำหนดพิเศษโดยเฉพาะต่างๆสำหรับการใช้ตามที่ตั้งใจไว้โดยเฉพาะ สามารถบรรลุผลได้ครบถ้วนและเป็นไปตามข้อกำหนด เป็นกระบวนการที่ห้องปฏิบัติการอาจกำหนดขึ้นมา เพื่อตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี วิธีวิเคราะห์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการโดยทั่วไป วิธีที่เสนอโดยลูกค้า วิธีที่หน่วยงานวิจัยพัฒนาขึ้นมา วิธีที่ห้องปฏิบัติการคิดขึ้นมาโดยอ้างอิงวิธีเดิมที่มีอยู่แล้ว(based on an existing method) หรือ เป็นวิธีใหม่(a novel method for the laboratory) วิธีที่ไม่เป็นวิธีมาตรฐาน(non – standard method) วิธีที่ห้องปฏิบัติการพัฒนา/ ออกแบบขึ้นเอง วิธีตามมาตรฐานที่ใช้ นอกขอบข่ายที่กำหนดไว้ หรือการขยายและการดัดแปลงวิธีมาตรฐาน ต้องตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ในกรณีห้องปฏิบัติการใช้วิธีมาตรฐานระดับชาติ ได้แก่ TIS (Thai Industrial Standard) BS (British Standard) ระดับนานาชาติ ได้แก่ AOAC (Association of Official Analytical Chemists) ASTM(American Society for Testing and Materials) ISO(International Standard) เป็นต้น และหน่วยงานรับรองยอมรับ ไม่จำเป็นต้องตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี แต่ต้องแสดงให้เห็นว่าห้องปฏิบัติการสามารถทดสอบตามวิธีมาตรฐานนั้นแล้วอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

ดังนั้นห้องปฏิบัติการจะต้องตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี⁽¹⁵⁾ เมื่อ

1. ใช้วิธีมาตรฐานแต่ชนิดของเมทริกซ์(matrix) ต่างกัน เช่น การวิเคราะห์อาหารเหลวกับ อาหารแห้ง
2. ชนิดของเมทริกซ์เหมือนกัน แต่วิเคราะห์สารต่างกัน เช่นการวิเคราะห์ โทลูอิน ในน้ำ กับ การวิเคราะห์เบนซินในน้ำ
3. ห้องปฏิบัติการเปลี่ยนแปลงวิธีวิเคราะห์ เช่น
 - เทคนิคการสุ่มตัวอย่าง/การเก็บรักษา/การขนส่งตัวอย่าง
 - เวลาในการอบ/การกลั่น
 - อุณหภูมิในการปฏิบัติงาน (operating temperature)

- ค่าความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับ (tolerance)
- ใช้สารเคมี แตกต่างไปจากเดิม
- ลดขั้นตอนการวิเคราะห์
- ไม่ทำการทดลองซ้ำเพื่อลดค่าใช้จ่าย

อย่างไรก็ตามวิธีที่ได้ตรวจสอบแล้วในภาวะหนึ่ง อาจจะไม่เหมาะสมกับอีกภาวะหนึ่ง ดังนั้นห้องปฏิบัติการต้องพิสูจน์วิธีทดสอบโดยการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีก่อน เพื่อยืนยันว่าวิธีนั้นๆ เหมาะสมกับการใช้งาน ในห้องปฏิบัติการของตนเอง โดยใช้วิธีและเทคนิคที่เชื่อถือได้

เทคนิคต่างๆที่ใช้สำหรับการตรวจสอบการดำเนินการควรเป็นวิธีใดวิธีหนึ่งหรือหลายวิธีต่อไปนี้⁽¹⁾

1. การสอบเทียบ โดยใช้วัสดุมาตรฐานอ้างอิง (standard reference material) หรือวัสดุอ้างอิง (reference material)
2. การเปรียบเทียบผลที่ได้กับวิธีอื่น
3. การเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการ (interlaboratory comparisons)
4. การประเมินอย่างเป็นระบบเกี่ยวกับปัจจัยต่างๆที่มีอิทธิพลต่อผลที่ได้
5. การประเมินค่าความไม่แน่นอนของผลที่ได้โดยอาศัยความเข้าใจทางวิทยาศาสตร์ เกี่ยวกับหลักการทางทฤษฎีของวิธีและประสบการณ์จากการปฏิบัติงาน

การเลือกพารามิเตอร์ที่ควรตรวจสอบ ในแต่ละประเภทของวิธีวิเคราะห์ แสดงดังตารางที่ 1
 ตารางที่ 1 แสดงการเลือกพารามิเตอร์ที่ควรตรวจสอบ⁽⁶⁾

| พารามิเตอร์ | การวิเคราะห์ทาง คุณภาพ (qualitative) | การวิเคราะห์ทาง ปริมาณ (quantitative)สาร ประกอบหลัก | การวิเคราะห์ทางปริมาณ (quantitative)สารเจือปน | |
|--|---|--|--|---------------------------|
| | | | การทดสอบขีดจำกัด (limit test) | การวิเคราะห์ทาง ปริมาณ |
| ความแม่นยำ (accuracy) | * | / | * | / |
| ความเที่ยง (precision) | / | / | × | / |
| ความจำเพาะเจาะจง (specificity)/(selectivity) | * | × | × | / |
| ขีดจำกัดของการตรวจสอบ (limit of detection) | * | / | / | / |
| ขีดจำกัดของการวิเคราะห์ ปริมาณ (limit of quantitative) | * | × | / | × |
| สภาพเชิงเส้น (linearity) | * | / | × | / |
| พิสัย (range) | * | / | * | / |
| Ruggedness | / | / | / | / |

- หมายเหตุ - / หมายถึงต้องตรวจสอบ
 - × หมายถึงไม่ต้องตรวจสอบ
 - * หมายถึงอาจต้องตรวจสอบแล้วแต่วิธี

กระบวนการตรวจสอบและจำนวนครั้งที่ควรตรวจสอบในแต่ละพารามิเตอร์ แสดงดังตารางที่ 2
 ตารางที่ 2 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี จำนวนครั้งของการวิเคราะห์ที่ควรตรวจสอบในแต่ละ
 พารามิเตอร์ (recommended minimum number of analyses required)⁽¹²⁾

| พารามิเตอร์ที่ควรประมาณ | วิธีการ | จำนวนครั้งของการวิเคราะห์ |
|---|---|---|
| ความเที่ยง (precision) | วิเคราะห์ตัวอย่างซ้ำ | อย่างน้อย 7 ครั้ง ในแต่ละชนิดของเมทริกซ์ตัวอย่าง |
| ความแข็งของวิธี (robustness) | วิเคราะห์ตัวอย่างปกติและตัวอย่างที่เติมวัสดุอ้างอิงและวัสดุอ้างอิงจากแหล่งที่ 2 | วิเคราะห์ตัวอย่างซ้ำอย่างน้อย 7 ครั้ง โดยต่างผู้วิเคราะห์ในระยะเวลาหลายวัน |
| ขีดจำกัดของความทวนซ้ำได้ (reproducibility) | วิเคราะห์โดยต่างผู้วิเคราะห์ ปกติจะศึกษาเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ | วิเคราะห์ตัวอย่างซ้ำ โดยต่างผู้วิเคราะห์, ต่างห้องปฏิบัติการ, ใช้เครื่องมือต่างกัน |
| การคืนกลับ (recovery) | วิเคราะห์ตัวอย่างที่เติมวัสดุอ้างอิง ความเข้มข้นเหมาะสม | วิเคราะห์อย่างน้อย 7 ครั้ง ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในแต่ละชนิดของเมทริกซ์ตัวอย่าง |
| | วิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรอง | วิเคราะห์อย่างน้อย 7 ครั้ง สำหรับวัสดุอ้างอิงรับรองแต่ละชนิด |
| ความจำเพาะเจาะจง (specificity)/(selectivity) | วิเคราะห์ ตัวอย่างที่เติมวัสดุอ้างอิง, สารมาตรฐาน และ วัสดุอ้างอิงรับรอง | อย่างน้อย 7 ครั้ง ที่ 3 ระดับความเข้มข้น ในแต่ละชนิดของเมทริกซ์ตัวอย่าง |
| ขีดต่ำสุดในการตรวจสอบ (LOD) ขีดต่ำสุดในการวิเคราะห์ ปริมาณ (LOQ) | วิเคราะห์ แบลงค์ และตัวอย่างที่เติมวัสดุอ้างอิงรับรองที่ความเข้มข้นต่ำ | อย่างน้อย 7 ครั้ง ในแต่ละชนิดของเมทริกซ์ตัวอย่าง |
| ช่วงความเป็นเชิงเส้น ความแม่นยำ ความโน้มเอียงหรือความผิดพลาดจากระบบ | วิเคราะห์ ตัวอย่างที่เติมวัสดุอ้างอิง และสารมาตรฐาน วัสดุอ้างอิงรับรอง | อย่างน้อย 7 ครั้ง ที่ 5 ระดับความเข้มข้น ซึ่งอยู่ในช่วงใช้งาน อย่างน้อย 7 ครั้ง ของวัสดุอ้างอิงรับรองแต่ละชนิด |

2.3 การประมาณค่าความไม่แน่นอนในการวิเคราะห์ทดสอบ⁽⁸⁾

ความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์ทดสอบ โดยทั่วไปหมายถึง พารามิเตอร์ ที่เกี่ยวข้องกับผลการวิเคราะห์ทดสอบ ซึ่งบอกถึงลักษณะการกระจายค่าของสิ่งที่ถูกวัด (measurand) อย่างสมเหตุสมผล พารามิเตอร์ อาจแสดงในรูปของความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) หรือ ความกว้างของช่วงระดับความเชื่อมั่น ความไม่แน่นอนของการวัด / วิเคราะห์ทดสอบสามารถประมาณได้จากข้อมูลของการวัด / วิเคราะห์ทดสอบ ซึ่งแสดงในรูปความเบี่ยงเบนมาตรฐานการแจกแจงในครั้งก่อน ประสบการณ์หรือความรู้ในพฤติกรรมและคุณสมบัติของวัสดุหรือเครื่องมือที่ใช้ ข้อกำหนดจำเพาะของผู้ผลิต ข้อมูลในใบรับรองการสอบเทียบ ข้อมูลจากเอกสารอ้างอิงหรือหนังสือคู่มือ

ในทางเคมีวิเคราะห์มีหลายกรณีที่สิ่งที่เราต้องการวัด (measurand) หมายถึงความเข้มข้นของสิ่งที่ต้องการวัด/วิเคราะห์ อย่างไรก็ตาม measurand อาจหมายถึงปริมาณอย่างอื่นด้วยเช่น ความเป็นกรด - ด่าง เป็นต้น

แหล่งที่มาของความไม่แน่นอนของผลการวิเคราะห์มาจากหลายแหล่งซึ่งได้แก่การสุ่มตัวอย่าง สิ่งรบกวนในเมทริกซ์ (matrix effect) ภาวะแวดล้อม ความไม่แน่นอนของน้ำหนัก อุปกรณ์วัดปริมาตร ค่าอ้างอิง (reference value) ความไม่แน่นอนของวิธีวิเคราะห์ และขั้นตอนการวิเคราะห์และความเปลี่ยนแปลงแบบสุ่ม (random variation)

องค์ประกอบของความไม่แน่นอน (uncertainty component) ในการประมาณค่าความไม่แน่นอนทั้งหมดจำเป็นต้องแยกความไม่แน่นอนจากแต่ละแหล่งออกจากกัน เพื่อให้ได้ข้อมูลสนับสนุนจากแหล่งนั้น องค์ประกอบของความไม่แน่นอนประกอบด้วย

1. ความไม่แน่นอนมาตรฐาน (standard uncertainty)
2. ความไม่แน่นอนมาตรฐาน รวม (combined standard uncertainty) $U_c(y)$
3. ความไม่แน่นอนขยาย (expanded uncertainty), U

$$U = kU_c(y)$$

ความไม่แน่นอนอาจแสดงอยู่ในรูปของพิสัย (range) เป็นปริมาณความสงสัยรอบๆ ผลการวัด โดยทั่วไปค่าความไม่แน่นอนที่ไม่สามารถนำมาบวกกับผลการวิเคราะห์ เพื่อปรับให้ถูกต้องได้

ความสำคัญของความไม่แน่นอนตามข้อกำหนดในมอก.17025-2543 ข้อ 5.4.6.2 "ห้องปฏิบัติการทดสอบต้องมีขั้นตอนและต้องใช้ขั้นตอนดำเนินงานในการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด ในการรายงานผลการวิเคราะห์ที่มีค่าความไม่แน่นอนอยู่ด้วยจะมีความเป็นไปได้ของผลการวิเคราะห์ 4 รูปแบบ ซึ่งเป็นทั้งทางสูงและทางต่ำ การยอมรับว่าเป็นไปไปตามข้อกำหนดหรือกฎระเบียบนั้น ปกติมักต้องการให้สิ่งที่วัด/

วิเคราะห์อยู่ในขีดจำกัดหนึ่ง การแสดงผลต้องรวมค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์เข้าไปด้วย
(ผลการพิจารณาแสดงคังรูปที่12)

ขั้นตอนการประมาณค่าความไม่แน่นอน

การประมาณค่าความไม่แน่นอน เป็นเรื่องง่ายในหลักการ วิธีการดำเนินการสรุปขั้นตอนที่ต้อง
กระทำ เพื่อให้ได้ค่าความไม่แน่นอนของการวัดหรือการวิเคราะห์กระทำดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 กำหนดสิ่งที่ต้องการวัดหรือวิเคราะห์ (specify measurand)

เขียนขั้นตอนการวิเคราะห์ ตั้งแต่เริ่มต้น รวมทั้งความสัมพันธ์ระหว่าง สิ่งที่ต้องการวิเคราะห์และ
ปัจจัยนำเข้า ยกตัวอย่างเช่น วัดปริมาณ ค่าคงที่ ค่าจากการสอบเทียบ เป็นต้น

ขั้นตอนที่ 2 ระบุแหล่งที่มาของความไม่แน่นอน (identify uncertainty sources)

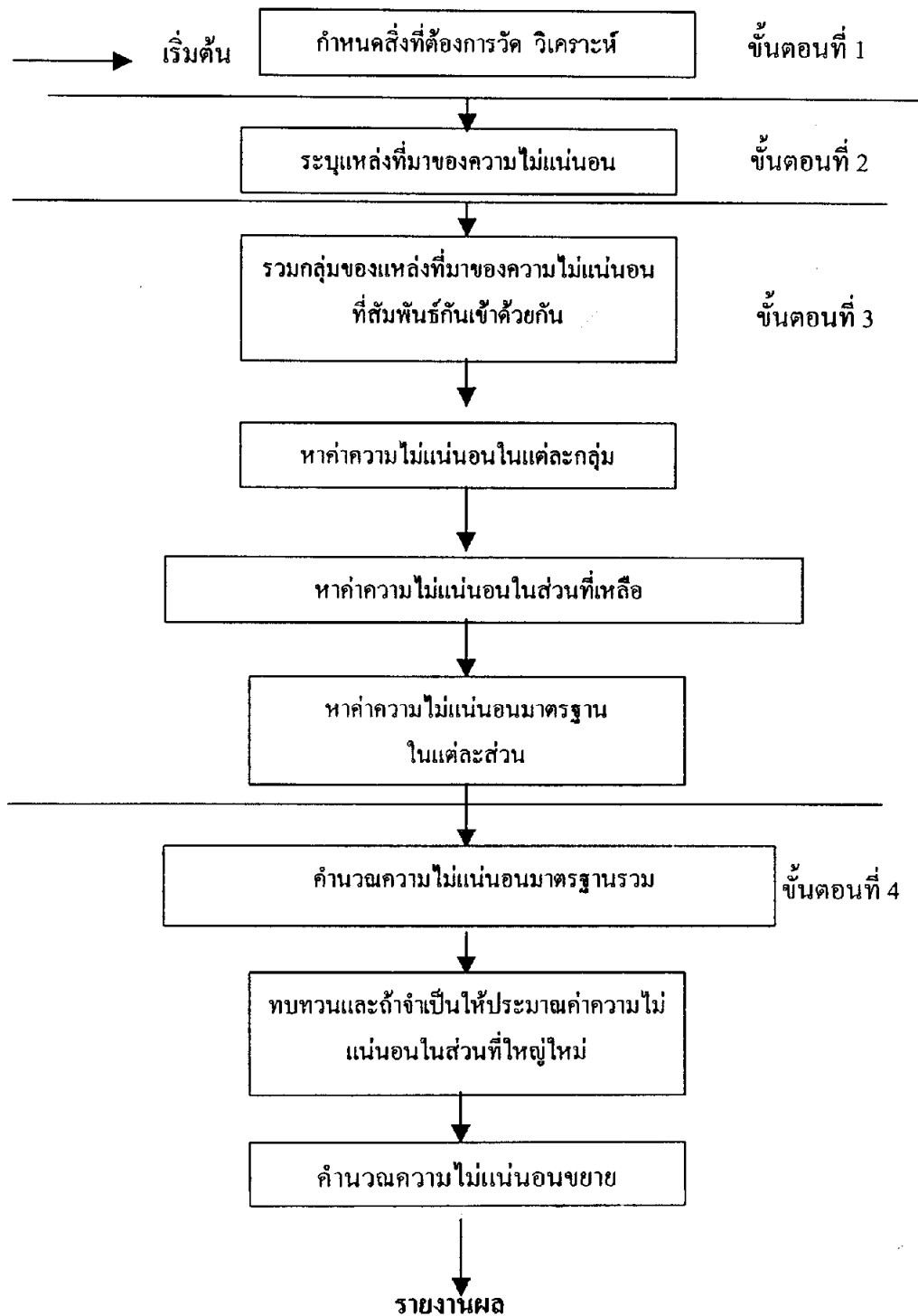
ที่คาดว่ามีส่วนต่อสิ่งที่ต้องการวัดหรือการวิเคราะห์ ตามขั้นตอนที่ 1 และอาจรวมถึงแหล่งที่มาของความ
ไม่แน่นอนอื่น ที่เกิดจากข้อสมมุติฐานทางเคมี

ขั้นตอนที่ 3 กำหนดค่าความไม่แน่นอนในแต่ละองค์ประกอบ (quantify uncertainty components)

วัดหรือประมาณขนาดของความไม่แน่นอนในแต่ละองค์ประกอบที่มา จากแหล่งต่างๆตามที่ระบุในขั้น
ตอนที่ 2 และข้อมูลที่จะนำมาพิจารณาจะต้องเพียงพอสำหรับเป็นตัวแทนของแหล่งของความไม่แน่นอนนั้น
และอาจวางแผนการทดลองเพิ่มเติมเพื่อให้ครอบคลุมแหล่งของความไม่แน่นอนทั้งหมด

ขั้นตอนที่ 4 กำหนดความไม่แน่นอนรวม (calculate combined uncertainty)

เป็นการรวมค่าความไม่แน่นอนจากแต่ละแหล่ง โดยแสดงในรูปความไม่แน่นอนมาตรฐาน หรือ ความ
เบี่ยงเบนมาตรฐานแล้วนำมารวมกันตามกฎเกณฑ์ที่เหมาะสม เพื่อให้ได้ความไม่แน่นอนมาตรฐานรวม และ
เมื่อคูณด้วยตัวประกอบครอบคลุม(coverage factor) ที่เหมาะสมจะได้ความไม่แน่นอนขยายที่ระดับความเชื่อ
มั่นที่กำหนด



รูปที่ 1 ขั้นตอนการประมาณค่าความไม่แน่นอน (the uncertainty measurement process)

การรวมความไม่แน่นอน ก่อนอื่นต้องแปลงค่าความไม่แน่นอนทั้งหมด ให้อยู่ในรูปความไม่แน่นอนมาตรฐานแล้วจึงรวมกันตามกฎที่เหมาะสม

หลักการแปลงค่าความไม่แน่นอนไปเป็นความไม่แน่นอนมาตรฐานมีดังนี้

1. ความไม่แน่นอนที่มาจากการกระจายของค่าที่วัดซ้ำ สามารถแสดงได้ในรูปความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) สำหรับการวัด n ครั้งของปริมาณที่วัดในชุดเดียวกันใช้ความเบี่ยงเบนมาตรฐานเฉลี่ย (standard deviation of mean) SD/\sqrt{n}

2. ความไม่แน่นอนที่ได้มาจากผลการทดลองและข้อมูลครั้งก่อน

2.1 ความไม่แน่นอนมาตรฐานแสดงในรูป ความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

2.2 ถ้าระบุระดับความเชื่อมั่นไว้ที่ $\pm a$ at $p\%$

$$\text{ความไม่แน่นอนมาตรฐาน} = a / \text{coverage factor}$$

ยกตัวอย่างเช่น เครื่องชั่งสามารถอ่านได้ ± 0.2 มิลลิกรัม ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เช่นต์ เปิดตารางมาตรฐานของการกระจายแบบปกติ (normal distribution) ตัวประกอบครอบคลุม (coverage factor) = 1.96

$$\text{ความไม่แน่นอนมาตรฐาน} = \pm 0.2 \text{ มิลลิกรัม} / 1.96$$

2.3 ถ้าบอกค่าความไม่แน่นอนเป็น $\pm a$ แต่ไม่ได้บอกระดับความเชื่อมั่นและมีเหตุผลเชื่อได้ว่ากระจายตัวของความไม่แน่นอนเท่ากันตลอดทั้งขอบเขตบนและขอบเขตล่าง ให้สมมุติว่าการกระจายเป็นแบบสี่เหลี่ยม (rectangular)

$$\text{ความไม่แน่นอนมาตรฐาน} = a / \sqrt{3}$$

2.4 ถ้าระบุค่าความไม่แน่นอนเป็น $\pm a$ แต่ไม่บอกระดับความเชื่อมั่นและมีเหตุผลเชื่อว่ามี การกระจายตัวของความไม่แน่นอนจะเป็นไม่เท่ากันตลอดทั้งขอบเขตบนและขอบเขตล่างให้ สมมุติว่าการกระจาย เป็นแบบสามเหลี่ยม (triangular)

$$\text{ความไม่แน่นอนมาตรฐาน} = a / \sqrt{6}$$

ยกตัวอย่างเช่น ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร คลาส เอ (class A) ใน

ใบรับรอง ± 0.2 ลูกบาศก์เซนติเมตร

$$\text{ความไม่แน่นอนมาตรฐาน} = 0.2 \text{ ลูกบาศก์เซนติเมตร} / \sqrt{6} = 0.08$$

3. ถ้าการประมาณจากการตัดสินใจขั้นพื้นฐาน สามารถประมาณความไม่แน่นอนมาตรฐานได้โดยตรงในรูปความเบี่ยงเบนมาตรฐาน ถ้าไม่ได้ให้คิดจากค่าเบี่ยงเบนมากที่สุดที่อาจเกิดขึ้นได้ ในทางปฏิบัติ (ยกเว้นในกรณีที่ทำผิดพลาด)

การรวมค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน

(combined standard uncertainty)

การรวมกันของค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน จากแหล่งต่างๆสามารถรวมกันได้ ตามขั้นตอนดังนี้

1. ความสัมพันธ์ทั่วไประหว่างค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานรวม $U_c(y)$ ของค่า y และความไม่แน่นอนของพารามิเตอร์อื่นที่ไม่สัมพันธ์กัน $X_1, X_2 \dots X_n$ สัมพันธ์

$$u_c(y(x_1, x_2, \dots)) = \sqrt{\sum_{i=1, n} c_i^2 u(x_i)^2} = \sqrt{\sum_{i=1, n} u(y, x_i)^2}$$

2. เมื่อตัวแปรไม่อิสระต่อกัน ความสัมพันธ์ยังซับซ้อน

$$u_c(y(x_1, x_2, \dots)) = \sqrt{\sum_{i=1, n} c_i^2 u(x_i)^2 + \sum_{\substack{i, k=1, n \\ i \neq k}} c_i c_k \cdot u(x_i, x_k)}$$

$U(x_i, x_k)$ หมายถึงค่า covariance ระหว่าง X_i กับ $X_k = U(X_i) U(X_k) r_{ik}$

r_{ik} = correlation coefficient ($-1 \leq r_{ik} \leq 1$)

3. ขั้นตอนทั่วไปสามารถประยุกต์ใช้ได้ทั้งความไม่แน่นอนที่เป็นพารามิเตอร์แบบเดี่ยว (simple parameter) และพารามิเตอร์แบบกลุ่ม (grouped parameter) หรือวิธีวิเคราะห์ทั้งหมด อย่างไรก็ตามเมื่อค่าความไม่แน่นอนรวมอยู่ในขั้นตอนทั้งหมด โดยปกติจะมีผลต่อผลสุดท้าย (final result) เมื่อความไม่แน่นอนของแต่ละพารามิเตอร์แสดงในรูปของผลของมันต่อ y ดังนั้นค่า sensitivity coefficient (dy/dx) จะเท่ากับ 1.0

4. ใช้ คอมพิวเตอร์ ในการคำนวณ

5. ในบางกรณี การรวมกันสามารถแสดงได้โดยง่ายโดยใช้กฎ 2 ข้อดังนี้

กฎที่ 1 รูปแบบความสัมพันธ์เป็นแบบผลรวมหรือผลต่าง (for models involving only a sum or difference of quantities)

$$y = (p + q + r + \dots)$$

ความไม่แน่นอนมาตรฐานรวม $U_c(y)$ สามารถแสดงได้ตามสมการดังนี้

$$U_c(y(p, q, \dots)) = \sqrt{u_{(p)}^2 + u_{(q)}^2 + \dots}$$

กฎที่ 2 รูปแบบความสัมพันธ์เป็นแบบผลคูณหรือผลหาร(for models involving only a product or quotient)

$$y = (p \times q \times r \times \dots) \text{ หรือ } y = p / (q \times r \times \dots)$$

ความไม่แน่นอนมาตรฐานรวม $U_c(y)$ สามารถแสดงได้ตามสมการดังนี้

$$U_c(y) = y \sqrt{[U_{(p)}/p]^2 + [U_{(q)}/q]^2 + \dots}$$

เมื่อ $[u(p)/p]$ คือค่าความไม่แน่นอนของพารามิเตอร์ที่แสดงในรูป ความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

6. เพื่อบรรลุดัชนีประสงค์ในการรวมค่าความไม่แน่นอนมีความจำเป็นอย่างมาก ที่ต้องแยกสูตรการคำนวณออกจากกัน เพื่อให้เข้าได้ในกฎข้อใดข้อหนึ่งที่กล่าวมาข้างต้น

$$\text{ยกตัวอย่างเช่น } (o+p) / (q+r)$$

ให้ทำดังนี้ $(o+p)$ และ $(q+r)$ ใช้กฎที่ 1 รวมค่าความไม่แน่นอนจาก 2 กลุ่ม โดยใช้กฎที่ 2

$$\text{ยกตัวอย่าง } y = (op / qr)$$

ถ้า $o = 2.46$, $p = 4.32$, $q = 6.38$ and $r = 2.99$

ความไม่แน่นอนของแต่ละตัวมีค่าดังนี้ $U(o) = 0.02$, $u(p) = 0.13$, $u(q) = 0.11$, $U(r) = 0.07$

$$y = (2.46 \times 4.32) / (6.38 \times 2.99) = 0.56$$

$$U_c(y) = y \sqrt{[0.02 / 2.46]^2 + [0.13 / 4.32]^2 + [0.11 / 6.38]^2 + [0.07 / 2.99]^2}$$

$$= 0.56 \times 0.43$$

$$= 0.024$$

7. ถ้าความไม่แน่นอนผันแปรตามระดับความเข้มข้นของสิ่งที่ต้องการวัด เช่น ความไม่แน่นอนของร้อยละการคืนกลับ(% recovery) อาจมีค่าน้อยสำหรับสารที่มีระดับความเข้มข้นสูง หรือสัญญาณ สเปกโทรสโกปี(spectroscopic) อาจผันแปรตามสเกลที่เป็นสัดส่วนต่อความเข้มของแสง ในกรณีนี้ต้องนำค่าความเปลี่ยนแปลงมาคิดในการรวมค่าความไม่แน่นอน วิธีการแก้ไข
- กำหนดชั้นคอนอย่างชัดเจนหรือประมาณค่าความไม่แน่นอน ในพิสัยแคบของระดับความเข้มข้นสารที่ต้องการวิเคราะห์

- ประมาณค่าความไม่แน่นอนในรูปความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

ความไม่แน่นอนขยาย (expanded uncertainty)

ในขั้นตอนสุดท้ายต้องคูณความไม่แน่นอนมาตรฐานรวมด้วย ตัวประกอบครอบคลุม(k) ก็จะได้ความไม่แน่นอนขยาย

$$U = kU_c(y)$$

การเลือก (coverage factor) ต้องพิจารณา

1. ระดับความเชื่อมั่นที่ต้องการ
2. ความรู้ในเรื่องการกระจายตัวของความน่าจะเป็น
3. ความรู้เรื่องจำนวนที่ใช้ในการประมาณผลจากการสุ่ม (random effect)

โดยทั่วไปจะใช้ค่า $K=2$ แต่ถ้า n น้อยกว่า 6 ค่า K จะขึ้นกับ effective number of degree of freedom ส่วนใหญ่นิยมกำหนดค่า k ตามค่า t ในตาราง Student's t two-tailed ที่ degree of freedom $(n-1)$

ตัวอย่าง ความไม่แน่นอนมาตรฐานรวม U_c ของการชั่งน้ำหนัก $U_{cal}=0.01\text{mg}$ $S_{obs}=0.08\text{mg}$ ($n=5$)

$$U_c = \sqrt{(0.01)^2 + (0.08)^2}$$

$$= 0.081 \text{ มิลลิกรัม}$$

degree of freedom = 4 ดูค่า t ในตาราง Student's t two-tailed ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เท่ากับ 2.8 ดังนั้น $k = 2.8$ และ $U = 2.8 \times 0.081 = 0.23 \text{ มิลลิกรัม}$

ตารางที่ 3 ตาราง Student's t for 95 % confidence (2-tailed)

| Degree of freedom , ν | t |
|---------------------------|------|
| 1 | 12.7 |
| 2 | 4.3 |
| 3 | 3.2 |
| 4 | 2.8 |
| 5 | 2.6 |
| 6 | 2.5 |

การรายงานค่าความไม่แน่นอน (reporting uncertainty)

1. รายงานเป็นค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานรวม U_c

U_c คือ ความไม่แน่นอนมาตรฐานรวม

หมายถึง ความไม่แน่นอนที่ ระดับความเชื่อมั่น 68 เปอร์เซนต์ (1 SD) ไม่แนะนำให้ใช้สัญลักษณ์ \pm เพราะสัญลักษณ์ นี้จะใช้กับระดับความเชื่อมั่นที่สูง

การรายงานค่าความไม่แน่นอน (reporting uncertainty)

1. รายงานเป็นค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานรวม U_c

U_c คือ ความไม่แน่นอนมาตรฐานรวม

หมายถึง ความไม่แน่นอนที่ ระดับความเชื่อมั่น 68 เปอร์เซ็นต์ (1 SD) ไม่แนะนำให้ใช้สัญลักษณ์ \pm เพราะสัญลักษณ์นี้จะใช้กับระดับความเชื่อมั่นที่สูง ยกตัวอย่างเช่น

ในโตรเจนทั้งหมดร้อยละ 3.52 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก

ค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานร้อยละ 0.07 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก

2. รายงานเป็นค่าความไม่แน่นอนขยาย U

ผล : $X \pm U$ (หน่วย)

ต้องระบุระดับความเชื่อมั่นและตัวประกอบครอบคลุม

ยกตัวอย่างเช่น

ในโตรเจนทั้งหมดร้อยละ (3.52 ± 0.14) โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก

จำนวนที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และตัวประกอบครอบคลุม = 2

จำนวนตัวเลขที่แสดงในผลวิเคราะห์กับค่าความไม่แน่นอนต้องสอดคล้องกัน เมื่อรายงานค่าความไม่แน่นอนขยาย (U) หรือค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานรวม U_c โดยปกติจะให้รายงาน มากกว่า 2 ตำแหน่งนัยสำคัญผลการรายงานวิเคราะห์ ควรรายงานตำแหน่งนัยสำคัญให้ใกล้เคียงกัน โดยทั่วไปการรายงานผลการวิเคราะห์ที่ต้องการความแม่นยำและความเที่ยงสูงมักรายงานค่าไบแอสด้วย ซึ่งไบแอสหมายถึงค่าความแตกต่างระหว่างค่าที่ได้จากการวัดกับค่าจริง (true value) ของสิ่งที่วิเคราะห์หรือวัด ดังนั้นไบแอสจึงเป็นค่าเดียว ในหลักการไบแอสที่ทราบค่าแล้ว สามารถนำไปปรับแก้ให้ถูกต้องได้โดยตรงต่อผลการวัดหรือวิเคราะห์ แต่การนำไบแอสมาคิด มีขั้นตอนการพิจารณาดังนี้

1. ประมาณค่าความไม่แน่นอนขยาย โดยไม่คิดค่าไบแอส (bias) จากค่าจริงอันเนื่องมาจาก systematic error (type B error) ซึ่งเกิดจากวิธีวิเคราะห์ (method bias) และการนำวิธีวิเคราะห์ไปปฏิบัติ ที่สัมพันธ์กัน

ไบแอส = ค่าที่วัดได้ - ค่าจริง

หรืออาจแสดงในรูปของการคืนกลับ (recovery) = ค่าที่วัดได้ / ค่าจริง

2. เปรียบเทียบค่าไบแอส กับความไม่แน่นอนขยาย

3. ถ้าค่าไบแอสไม่แตกต่างโดยนัยสำคัญกับความไม่แน่นอนขยาย ไม่ต้องนำค่า bias มาคิด
4. ถ้าค่าไบแอส แตกต่างโดยนัยสำคัญกับความไม่แน่นอนขยาย ต้องเลือกวิธีปฏิบัติที่เหมาะสม ดังนี้
 - 4.1 กำจัดหรือแก้ไขสำหรับ ไบแอส
 - 4.2 รายงานค่า ไบแอส ที่สังเกตได้(observed bias) และค่าความไม่แน่นอนขยายในผลการวิเคราะห์

บทที่ 3

วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

3.1 ตัวอย่าง

ตัวอย่างสารสัมมนา ประเภทสารสัมมนาอุตสาหกรรม ชนิดที่ 1 ชั้นคุณภาพที่ 3 ที่กลุ่มงานอินทรีย์ เคมีวิเคราะห์ได้รับ จำนวน 23 ตัวอย่าง

ตารางที่ 4 แสดงรายละเอียดของตัวอย่างสารสัมมนา ที่ใช้ในการศึกษาทดลอง

| ลำดับ ที่ | ชื่อตัวอย่าง | หมายเลข ปฏิบัติ การ | ลักษณะตัวอย่าง | ผู้ส่งตัวอย่าง |
|--------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 1 | สารสัมมนา | UK488 | ของเหลว สีน้ำตาล ขุ่น | บ. โรงงานสารส้ม นนทบุรี จำกัด |
| 2 | สารสัมมนา | UL.946 | ของเหลว สีน้ำตาล ขุ่น | บ. โรงงานสารส้ม นนทบุรี จำกัด |
| 3 | สารสัมมนา เดือน ม.ค. 43 | UM 777 | ของเหลว สีน้ำตาล ขุ่น | บ. โรงงานสารส้ม นนทบุรี จำกัด |
| 4 | สารสัมมนา เดือน ก.พ. 43 | UN 983 | ของเหลว สีน้ำตาล ขุ่น | บ. โรงงานสารส้ม นนทบุรี จำกัด |
| 5 | สารสัมมนา เดือน มี.ย. 43 | US 800 | ของเหลว สีน้ำตาล ขุ่น | บ. โรงงานสารส้ม นนทบุรี จำกัด |
| 6 | สารสัมมนา เดือน ก.ค. 43 | UU 110 | ของเหลว สีน้ำตาล ขุ่น | บ. โรงงานสารส้ม นนทบุรี จำกัด |
| 7 | สารสัมมนา เดือน ส.ค. 43 | UV 89 | ของเหลว สีน้ำตาล ขุ่น | บ. โรงงานสารส้ม นนทบุรี จำกัด |
| 8 | สารสัมมนา เดือน ก.ย. 43 | UW 419 | ของเหลว สีน้ำตาล ขุ่น | บ. โรงงานสารส้ม นนทบุรี จำกัด |
| 9 | สารสัมมนา เดือน ต.ค. 43 | UX 684 | ของเหลว สีน้ำตาล ขุ่น | บ. โรงงานสารส้ม นนทบุรี จำกัด |
| 10 | สารสัมมนา เดือน พ.ย. 43 | UZ 201 | ของเหลว สีน้ำตาล ขุ่น มีตะกอน | บ. โรงงานสารส้ม นนทบุรี จำกัด |
| 11 | สารสัมมนา | VA 723 | ของเหลว สีน้ำตาล ขุ่น | บ. โรงงานสารส้ม นนทบุรี จำกัด |
| 12 | สารสัมมนา | VB 669 | ของเหลว สีน้ำตาล ขุ่น | บ. โรงงานสารส้ม นนทบุรี จำกัด |
| 13 | สารสัมมนา | VC.904 | ของเหลว สีน้ำตาล ขุ่น | บ. โรงงานสารส้ม นนทบุรี จำกัด |
| 14 | สารสัมมนา | VD.687 | ของเหลว สีน้ำตาล ขุ่น มีตะกอน | สมอ. |
| 15 | สารสัมมนา | VF.670 | ของเหลว สีน้ำตาล ขุ่น มีตะกอน | บ. โรงงานสารส้ม นนทบุรี จำกัด |
| 16 | สารสัมมนา | VH.14 | ของเหลว สีน้ำตาล ขุ่น มีตะกอน | บ. โรงงานสารส้ม นนทบุรี จำกัด |
| 17 | สารสัมมนา | VI.700 | ของเหลว สีน้ำตาล | บ. โรงงานสารส้ม นนทบุรี จำกัด |
| 18 | สารสัมมนา เดือน ก.ค. 44 | VJ.180 | ของเหลว สีน้ำตาล | บ. โรงงานสารส้ม นนทบุรี จำกัด |
| 19 | สารสัมมนา | VP.478 | ของเหลว สีขุ่น | บ. โรงงานสารส้ม นนทบุรี จำกัด |
| 20 | สารสัมมนา | VX.762 | ของเหลว สีขุ่น | บ. โรงงานสารส้ม นนทบุรี จำกัด |
| 21 | สารสัมมนา | VS.300 | ของเหลว สีขุ่น | บ. โรงงานสารส้ม นนทบุรี จำกัด |
| 22 | สารสัมมนา | VT.800 | ของเหลว สีน้ำตาล | บ. โรงงานสารส้ม นนทบุรี จำกัด |
| 23 | สารสัมมนา | VX.181 | ของเหลว สีขุ่น | บ. โรงงานสารส้ม นนทบุรี จำกัด |

3.2 วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือ

- 3.2.1 ยูวี - วิสสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV – Visible spectrophotometer) รุ่น CARY 5 บริษัท Varian ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 3.2.2 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) รุ่น Delta 350 ของบริษัท Mettler ประเทศอังกฤษ
- 3.2.3 เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดละเอียดอ่านได้ถึงทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 3.2.4 แท่นให้ความร้อน
- 3.2.5 กระดาษกรอง (Whatman No.4)
- 3.2.6 บีเปต ชนิดถ่าย (Transfer) ขนาด 1, 2, 3, 4, 5 และ 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร, ชั้นคุณภาพ เอ(class A)
- 3.2.7 ขวดวัดปริมาตร ขนาด 100 และ 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร, ชั้นคุณภาพ เอ (class A)
- 3.2.8 กรวยกรอง (glass funnel)
- 3.2.9 บีกเกอร์ (beaker)
- 3.2.10 กระบอกตวง (cylinder)
- 3.2.11 แท่งคน (stirrer)
- 3.2.12 นาฬิกาจับเวลา

3.3 สารเคมี สารละลายและวิธีเตรียม

- 3.3.1 กรดไฮโดรคลอริก เข้มข้นร้อยละ 37 ชั้นคุณภาพ AR. ของบริษัท Merck
- 3.3.2 กรดซัลฟิวริก เข้มข้นร้อยละ 98 ชั้นคุณภาพ AR ของบริษัท Merck
- 3.3.3 เหล็ก(II) แอม โมเนียมซัลเฟตเฮกซะไฮเดรต ชั้นคุณภาพ AR ของบริษัท Merck
- 3.3.4 แอมโมเนียมอะซิเตต ร้อยละ 99 ชั้นคุณภาพ AR ของบริษัท Merck
- 3.3.5 ไฮดรอกซิลามีน ไฮโดรคลอไรด์ ร้อยละ 99 ชั้นคุณภาพ AR ของบริษัท Merck
- 3.3.6 สารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1 นอร์มัล
ละลายกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้นร้อยละ 37 จำนวน 83 ลูกบาศก์เซนติเมตร เจือจางให้ได้ ปริมาตร 1 ลูกบาศก์เดซิเมตร
- 3.3.7 สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 โมล ต่อลูกบาศก์เซนติเมตร
เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 55 ลูกบาศก์เซนติเมตร ลงในน้ำและปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลูกบาศก์เดซิเมตร
- 3.3.8 สารละลายไฮดรอกซิลามีน ไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้น 100 กรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
ละลายไฮดรอกซิลามีน ไฮโดรคลอไรด์ 50 กรัมด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร

- 3.3.9 สารละลายแอมโมเนียม อะซิเตด ความเข้มข้น 300 กรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร.
ละลายแอมโมเนียม อะซิเตด 300 กรัม ด้วยน้ำกลั่น เจือจางให้ได้ปริมาตร 1 ลูกบาศก์เดซิเมตร
- 3.3.10 สารละลาย 2,2'- ไบฟิรดิล ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร.ในสารละลาย
กรดไฮโดรคลอริก 0.1 นอร์มัล
ละลาย 2,2'- ไบฟิรดิล 1 กรัมด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 1 นอร์มัล 10 ลูกบาศก์
เซนติเมตร แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร
- 3.3.11 สารละลายมาตรฐานเหล็ก 2.00 กรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
ซิงเหล็ก(II) แอมโมเนียมซัลเฟต เฮกซะไฮเดรต ที่ ทราบมวลแน่นอน แล้ว 7.022 กรัม ใส่ในขวด
ปริมาตรขนาด 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมสารละลายกรดซัลฟิวริก 1 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
50 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ถึงขีดปริมาตร
- 3.3.12 สารละลายมาตรฐานเหล็ก 0.20 กรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
นำสารละลายมาตรฐานเหล็ก (ข้อ 3.3.11) มา 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ในขวดปริมาตร ขนาด
500 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติม กรดซัลฟิวริก 5 ลูกบาศก์เดซิเมตร แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ถึงขีด
ปริมาตร ให้ใช้สารละลายนี้ทันทีเมื่อเตรียมเสร็จใหม่ๆ
- 3.3.13 สารละลายมาตรฐานเหล็ก 0.010 กรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
นำสารละลายมาตรฐานเหล็ก (ข้อ 3.3.12) มา 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ในขวดปริมาตร ขนาด
1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ถึงขีดปริมาตร
- 3.3.14 สารละลายมาตรฐานเหล็ก1001 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร เกรดใช้งาน
- 3.3.15 สารละลายมาตรฐานเหล็ก 100.1 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร เกรดใช้งาน
นำสารละลายมาตรฐานเหล็ก ตามข้อ 3.3. 14 มา10 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ในขวดแก้ววัดปริมาตร
ขนาด100 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ถึงขีดปริมาตร สารละลายนี้ควรเตรียม
ใหม่ๆ ทุกครั้งที่ใช้งาน
- 3.3.16 สารละลายมาตรฐานเหล็ก 1000 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร เกรดวัสดุอ้างอิง
- 3.3.17 สารละลายมาตรฐานเหล็ก 100 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร เกรดวัสดุอ้างอิง
ปิเปตสารละลายมาตรฐานเหล็ก ตามข้อ 3.3. 16 ด้วยปิเปตขนาด 10 ลูกบาศก์
เซนติเมตร ใส่ลงในขวดแก้ววัดปริมาตร ขนาด 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำ
กลั่นให้ถึงขีดปริมาตร
- 3.3.18 สารละลายมาตรฐานเหล็ก 10 มิลลิกรัมต่อกรัม เกรดวัสดุอ้างอิงรับรอง
- 3.3.19 สารละลายมาตรฐานเหล็ก 1000 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร เกรดวัสดุอ้างอิงรับรอง

3.3.20 สารละลายมาตรฐานเหล็ก 100 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร เกรดวัสดุอ้างอิงรับรอง

3.3.20.1 ชั่งสารละลายมาตรฐานเหล็ก ตามข้อ 3.3.18 ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 1.0000 กรัม

ใส่ในขวดแก้ววัดปริมาตร ขนาด 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วเจือจางด้วย
น้ำกลั่นให้ถึงขีดปริมาตร

3.3.20.2 นำสารละลายมาตรฐานเหล็ก ตามข้อ 3.3.19 มา 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ในขวดแก้ว
วัดปริมาตร ขนาด 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วเจือจางด้วย น้ำกลั่นให้ถึงขีดปริมาตร

3.3.21 น้ำกลั่นสองครั้ง(double distilled water)

3.4 วิธีดำเนินการ

3.4.1 ศึกษาเอกสารทางวิชาการที่เกี่ยวข้อง รวมทั้งข้อมูลวิธีการวิเคราะห์ เทคนิคการตรวจสอบความ
ใช้ได้ของวิธีจากหนังสือ วารสารและเอกสารต่างๆจากในและต่างประเทศ

3.4.2 ดำเนินการสอบเทียบเครื่องมือและเครื่องแก้ว

3.4.3 จัดหาเคมีภัณฑ์ วัสดุอ้างอิง วัสดุอ้างอิงรับรองและเครื่องแก้ว ชั้นคุณภาพ เอ

3.4.4 จัดเตรียมตัวอย่าง

3.4.5 วิธีวิเคราะห์หาปริมาณเหล็ก

3.4.5.1 วิธีวิเคราะห์หาปริมาณเหล็ก ตามวิธี มอก.165-2542 (วิธีที่ 1)⁽²⁾

ก. วิธีการ

ชั่งสารสัมตัวอย่างประมาณ 2 กรัม ให้ทราบมวลแน่นอนแล้วละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายใส่
ขวดปริมาตรขนาด 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตร ประมาณ 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร
แล้วปฏิบัติตาม ข้อ 3.4.5.1 ข.1 นำไปวัดค่าความดูดกลืนแสงเช่นเดียวกับข้อ 3.4.5.1 ข.3

ข. การสร้างกราฟสอบเทียบ (calibration curve)

เตรียมสารละลายสอบเทียบ ให้มีเหล็กในปริมาณต่าง ๆ กันตามที่กำหนดในตารางที่ 5
จำนวน 11 ตัวอย่าง โดยให้เตรียมดังนี้

ข.1 ใช้ปิเปตดูดสารละลายมาตรฐานเหล็ก (ข้อ 3.3.13) มา 1.0 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ในขวด
ปริมาตรขนาด 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรประมาณ 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร
เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร และสารละลายไฮดรอกซิลามีนไฮโดรคลอไรด์ 2 ลูก
บาศก์เซนติเมตร ปรับความเป็นกรด-ด่างของสารละลายให้ได้ 3.1 ด้วยสารละลายแอมโมเนียมอะซิเตด แล้วเติม
สารละลายไบพริดีล 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งไว้อีกเป็น
เวลา 10 นาที สารละลายนี้ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตรจะมีปริมาณเหล็ก 10 ไมโครกรัม คือ ตัวอย่างที่ 2
ในตารางที่ 5

ข.2 ปฏิบัติเช่นเดียวกันนี้กับตัวอย่างที่ 1, 3, 4, 5 และ 6 โดยใช้สารละลายมาตรฐานเหล็ก 0.010 กรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร(ข้อ 3.3.13)และ ตัวอย่างที่ 7, 8, 9,10 และ11 โดยใช้สารละลายมาตรฐานเหล็ก 0.020 กรัม ต่อลูกบาศก์เดซิเมตร(ข้อ 3.3.12)

ข.3 นำสารละลายสอบเทียบ ที่เตรียมไว้ตามข้อ 3.4.5.1ข.1และ 3.4.5.1ข.2 มาวัดค่าความดูดกลืนแสง ด้วยสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร โดยตั้งเครื่องมือให้อ่านค่าความดูดกลืนเป็นศูนย์เมื่อใช้สารละลายสอบเทียบตัวอย่างที่ 1 เขียนกราฟระหว่างปริมาณเหล็กกับค่าความดูดกลืน

ตารางที่ 5 ปริมาณเหล็กในสารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการสร้างกราฟสอบเทียบ

| ตัวอย่าง | สารละลายมาตรฐานเหล็ก ลูกบาศก์เซนติเมตร | ปริมาณเหล็ก ไมโครกรัม |
|----------|---|--------------------------|
| 1 | 0 | 0 |
| 2 | 1.0 | 10 |
| 3 | 2.0 | 20 |
| 4 | 3.0 | 30 |
| 5 | 4.0 | 40 |
| 6 | 5.0 | 50 |
| 7 | 2.0 | 400 |
| 8 | 3.0 | 600 |
| 9 | 4.0 | 800 |
| 10 | 5.0 | 1,000 |
| 11 | 6.0 | 1,200 |

ค. วิธีคำนวณ

$$\text{ปริมาณเหล็ก (Fe) ร้อยละ โดยน้ำหนัก} = \frac{M \times 10^4}{m}$$

เมื่อ M คือ ปริมาณเหล็กที่อ่านได้จากกราฟสอบเทียบ เป็นไมโครกรัม

m คือ มวลของตัวอย่าง เป็นกรัม

3.4.5.2 วิธีวิเคราะห์ปริมาณเหล็กตามวิธีที่พัฒนาขึ้น (วิธีที่ 2)

ก. วิธีการ

ชั่งตัวอย่างสารสัมมนาประมาณ 2 กรัมให้ละเอียด 0.0001 กรัม ในบีกเกอร์ ขนาด 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 นอร์มัล (ข้อ 3.3.6) 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร และนำไปตั้งบนแท่นให้ความร้อนต้มจนเดือดแล้วยกลง ปล่อยให้เย็นถึงอุณหภูมิห้อง เทใส่ขวดแก้ววัดปริมาตรขนาด 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยเทผ่านกรวยกรอง ล้างบีกเกอร์ด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ถึงขีดปริมาตร

หมายเหตุ กรณีตัวอย่างที่เตรียมเป็นสารละลายแล้วมีตะกอนให้กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 จากนั้นเปิดสารละลายที่กรองได้มา 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ขวดแก้ววัดปริมาตร 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

ข. การสร้างกราฟสอบเทียบ(calibration curve)

เปิดสารละลายมาตรฐานเหล็ก 100.1 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร (ข้อ 3.3.15) มา 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ลูกบาศก์เซนติเมตรตามลำดับ ใส่ในขวดแก้ววัดปริมาตรขนาด 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร จำนวน 6 ใบ จะได้สารละลายมาตรฐานเหล็กเข้มข้น 0, 100.1, 200.2, 300.3, 400.4 และ 500.5 ไมโครกรัม ต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

ค. สารละลายเบลงค์ (blank solution)

เตรียมเหมือนสารละลายตัวอย่างข้อ 3.4.5.2 ก แต่ใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง

ง. การวิเคราะห์หาปริมาณเหล็ก

นำสารละลายที่อยู่ในขวดแก้ววัดปริมาตร 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร(ในข้อ 3.4.5.2 ก, 3.4.5.2 ข และ 3.4.5.2 ค) มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรประมาณ 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วเติมสารละลายทั้ง 4 ชนิด ตามลำดับดังนี้

-สารละลายกรดไฮโดรคลอริก (ข้อ 3.3.6) 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร

-สารละลายไฮดรอกซิลามีน ไฮโดรคลอไรด์ (ข้อ 3.3.8) 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร

-สารละลายแอมโมเนียม อะซีเตด (ข้อ 3.3.9) 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร

-สารละลาย 2,2'-ไบพริดีล (ข้อ 3.3.10) 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร

ปรับปริมาตรให้เป็น 100 ลูกบาศก์เซนติเมตรด้วยน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที วัดการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร โดยใช้สารละลายเบลงค์ 0 ไมโครกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตรของการเตรียมกราฟสอบเทียบ ปรับค่าการดูดกลืนแสงของเครื่องมือเป็นศูนย์ แล้วทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานเหล็ก 100.1, 200.2, 300.3, 400.4 และ 500.5 ไมโครกรัมต่อ 100 ลูก

บาศก์เซนติเมตร สร้างกราฟสอบเทียบโดยเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณเหล็กมีหน่วยเป็นไมโครกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร (ค่า R^2 จะต้องไม่น้อยกว่า 0.995)

จ. วิธีการคำนวณ

นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จากตัวอย่างซึ่งหักล้างค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแบลนด์ (ข้อ 3.4.5.2 ค) เปรียบเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานเหล็กในกราฟสอบเทียบ แล้วอ่านค่าความเข้มข้นของเหล็ก จากนั้นคำนวณหาปริมาณเหล็กที่มีอยู่ในตัวอย่างสารสับน้ำในรูปร้อยละโดยน้ำหนักตามสูตร

$$\text{ปริมาณเหล็ก(Fe), ร้อยละ} = \frac{A \times 25 \times 10^{-4}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

| | | |
|-----------|---|--|
| เมื่อ A | = | ปริมาณเหล็กที่อ่านได้จากกราฟสอบเทียบ มีหน่วยเป็นไมโครกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร |
| 25 | = | แฟกเตอร์สำหรับการเจือจาง |
| 10^{-4} | = | แฟกเตอร์สำหรับการเปลี่ยนหน่วยไมโครกรัม เป็นร้อยละ |

3.4.6 การตรวจสอบความใช้ได้ของเครื่องมือ^(4, 7)

3.4.6.1 ความแม่นยำของการดูดกลืนแสง(photometric accuracy)

วิธีการ ตรวจสอบโดยใช้ Standard Reference Material Stable Neutral Glass Filters SRM 930D ชนิด 10-1650, 30-1650 และ Standard Reference Material Stable Neutral Glass Filters SRM 1930 ชนิด 50-104 วัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 440.0 นาโนเมตร, 546.1 นาโนเมตร และ 635.0 นาโนเมตร

เกณฑ์การยอมรับค่าการดูดกลืนแสงสำหรับ filter ชนิด 10-1650, 30-1650 และ 50-104

ต้องแตกต่างกันไม่เกิน ± 0.005 , ± 0.003 , และ ± 0.002 ตามลำดับ

ระยะเวลาในการตรวจสอบ ตรวจสอบทุก 6 เดือน

(ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 7)

3.4.6.2 การตรวจสอบความแม่นยำของความยาวคลื่น(wavelength accuracy)

วิธีการ ตรวจสอบโดยใช้ Standard Reference Material Holmium oxide solution SRM 2034

วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นตั้งแต่ 240 ถึง 650 นาโนเมตร รวมสี่สีความยาวคลื่น โดยตั้งค่าความกว้างของลำแสง (SBW) เท่ากับสองนาโนเมตร ตามที่ปรากฏอยู่ในใบรับรองของ SRM 2034

เกณฑ์การยอมรับ : ความถูกต้องของค่าความยาวคลื่นทั้งสี่สีความยาวคลื่น ต้องไม่เกิน ± 0.2 นาโนเมตร

ระยะเวลาในการตรวจสอบ ตรวจสอบทุก 6 เดือน

(ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 8, รูปที่ 6)

3.4.6.3 การตรวจสอบเสถียรภาพของเบสไลน์(baseline stability)

วิธีการ ตรวจสอบโดยเปิดเครื่องไว้ 2 ชั่วโมง แล้วบันทึกค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร ที่มีความกว้างของลำแสง (SBW) เท่ากับสองนาโนเมตร รวมเวลา 2 ชั่วโมง

เกณฑ์การยอมรับ : ค่าการดูดกลืนแสง ที่อ่านได้ต้องเปลี่ยนแปลงไม่เกิน ± 0.0005 เอบีเอส ต่อชั่วโมง

ระยะเวลาในการตรวจสอบ ตรวจสอบทุก 6 เดือน

(ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 7)

3.4.7 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ

3.4.7.1 การหาค่าขีดต่ำสุดของเครื่องมือ(Instrumental Detection Limit IDL) ⁵¹

วิธีการ

- สร้างกราฟสอบเทียบ(calibration curve)

โดยเปิดสารละลายมาตรฐานหลัก เกรดวัสดุอ้างอิง ความเข้มข้น 100.1 ไมโครกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร(ข้อ 3.3.15) มา 0, 1, 2 3, 4 และ 5 ลูกบาศก์เซนติเมตรใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร จำนวน 6 ขวด สารละลายนี้มีปริมาณหลัก 0, 100.1, 200.2, 300.3, 400.4, 500.5 ไมโครกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตรตามลำดับ แล้วปฏิบัติตามข้อ 3.4.5.2 ง

- เตรียมสารละลายแบลนด์มาตรฐาน จำนวน 10 ขวด แล้วปฏิบัติตามข้อ 3.4.5.2 ง

- วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร เครื่องจะคำนวณเป็นหน่วยความเข้มข้น ไมโครกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

- คำนวณค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

- คำนวณค่า ไอดีแอล(IDL)ตามสูตรดังนี้

$$IDL = 1.645 \times SD$$

(ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 9)

3.4.7.2 สภาพเชิงเส้น (linearity) ⁽¹²⁾

วิธีการ วิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารสัมน้ำที่เติมสารละลายมาตรฐานเหล็ก เกรดวัสดุอ้างอิงรับรอง(ข้อ 3.3.19) ที่ 5 ระดับความเข้มข้นซึ่งอยู่ในช่วงใช้งาน (40 , 120, 240, 360, และ 480 ไมโครกรัม ต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร) โดยปีเปิดสารละลายมาตรฐานเหล็ก เกรดวัสดุอ้างอิงรับรอง(ข้อ 3.3.19) มา 1, 3, 6, 9 และ 12 ลูกบาศก์เซนติเมตรเติมลงในสารละลายตัวอย่างสารสัมน้ำที่มีปริมาณเหล็กน้อย ในแต่ละระดับความเข้มข้น วิเคราะห์ซ้ำ 7 ครั้ง ทดสอบตามวิธีวิเคราะห์หาปริมาณเหล็ก ข้อ 3.4.5.2 คำนวณค่าเฉลี่ยของปริมาณเหล็กในแต่ละระดับความเข้มข้นลบค่าปริมาณเหล็กของสารละลายเบสค์ สร้างกราฟเส้นตรงโดยเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณเหล็กที่เติมหน่วยเป็นไมโครกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์(r) (คู่มือการคำนวณภาคผนวก หน้า 90)

เกณฑ์การยอมรับ r^2 ไม่น้อยกว่า 0.995 ⁽¹³⁾

(ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 10 รูปที่ 4)

3.4.7.3 ความแม่นยำ(accuracy) ⁽¹²⁾

วิธีการ หาความถูกต้องโดยแสดงในรูปร้อยละของการคืนกลับ (% recovery) นำข้อมูลจากข้อ 3.4.7.2 มาคำนวณร้อยละของการคืนกลับ โดยใช้สูตรดังนี้

$$\text{ร้อยละของการคืนกลับ} = \frac{A - B}{C} \times 100$$

C

เมื่อ A = ปริมาณเหล็กที่มีในตัวอย่าง กับปริมาณเหล็กที่เติมลงไป, หน่วยเป็นไมโครกรัม

B = ปริมาณเหล็กที่มี ในตัวอย่าง, หน่วยเป็นไมโครกรัม

C = ปริมาณเหล็กที่เติมลงไป, หน่วยเป็นไมโครกรัม

เกณฑ์การยอมรับ : ร้อยละของการกลับคืน ต้องอยู่ระหว่าง 95 – 105 ⁽¹³⁾

(ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 11)

3.4.7.4 ความเที่ยง(precision) ⁽¹²⁾

นำข้อมูลจากข้อ 3.4.7.2 ที่ 3 ระดับความเข้มข้น 40, 240, และ 360 ไมโครกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร มาคำนวณค่าเฉลี่ยของปริมาณเหล็ก(mean)ในแต่ละระดับความเข้มข้นและความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) (คู่มือการคำนวณภาคผนวก หน้า 88) แล้วคำนวณ ร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)

$$\text{ร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์} = \frac{\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน}}{\text{ค่าเฉลี่ย}} \times 100$$

เกณฑ์การยอมรับ : ร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของปริมาณเหล็กต้องไม่เกิน 10⁽¹⁵⁾
(ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 12)

3.4.7.5 ขีดจำกัดของการวิเคราะห์ (method detection limit, MDL)⁽¹⁴⁾

นำข้อมูลความเบี่ยงเบนมาตรฐานจากข้อ 3.4.7.4 มาเขียนกราฟระหว่างปริมาณเหล็กหน่วย ไมโครกรัม ต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร (แกน x) กับค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (แกน y) ลากเส้นกราฟล่อ ไปตัดแกน y ที่จุดตัดนี้คือค่า S_0 คำนวณขีดจำกัดของวิธีวิเคราะห์เท่ากับ $3S_0$ และขีดจำกัดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (limit of quantitative ; LOQ) เท่ากับ $10S_0$

(ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 13 รูปที่ 5)

3.4.8 การพิสูจน์ค่าขีดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ[verification of limit of quantitative . LOQ]

วิธีการ

- เตรียมสารละลายตัวอย่างสารสัมน้ำให้มีปริมาณเหล็กเท่ากับค่าแอลโอคิวที่ได้จากข้อ 3.4.7.5 โดยเติมสารละลายมาตรฐานเหล็ก เกรดวัสดุอ้างอิง ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร (ข้อ 3.3.17) 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร ลงในตัวอย่างสารสัมน้ำที่มีปริมาณเหล็กน้อยที่สุด จำนวน 7 บีกเกอร์ แล้วทดสอบหาปริมาณเหล็กตามข้อ 3.4.5.2

- คำนวณค่าร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ และ ร้อยละการคืนกลับ

เกณฑ์การยอมรับ ร้อยละการคืนกลับ 95-105

ความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ไม่เกินร้อยละ 10

(ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 14)

3.4.9 การเปรียบเทียบวิธีหาปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารสัมน้ำระหว่างวิธีมาตรฐานตาม มอก. 165-2542 : สารสัม (วิธีที่ 1) และวิธีพัฒนาขึ้น(วิธีที่ 2)

หลักการ ทดสอบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของผลการวิเคราะห์ ปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารสัมน้ำ จากวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 ในด้านความเที่ยง และความแม่นยำ โดยใช้วิธีทางสถิติตัดสินใจในการทดลองนี้ใช้ สถิติ t-Test : Paired Two Sample for Means. ⁽¹¹⁾ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 2 ทาง องศาอิสระเท่ากับ n-1 เมื่อ n คือจำนวนคู่ของข้อมูลที่นำมาเปรียบเทียบกัน ถ้า $t_{คำนวณ}$ มากกว่าหรือเท่ากับ $t_{วิกฤต}$ แสดงว่าชุดข้อมูลจากทั้งสองวิธีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

3.4.9.1 การเปรียบเทียบความเที่ยง

วิธีการ ปฏิบัติตามข้อ 3.4.5.1 และข้อ 3.4.5.2 วิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารสัมน้ำ จำนวน 5 ตัวอย่าง วิเคราะห์ 3 ซ้ำ คำนวณค่าเฉลี่ยของปริมาณเหล็ก ความเบี่ยงเบนมาตรฐานและ ความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ในแต่ละตัวอย่างของทั้งสองวิธี เปรียบเทียบค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ระหว่างวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 โดยวิธีทางสถิติ (ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 15,16,19)

3.4.9.2 การเปรียบเทียบความแม่นยำ

วิธีการ ชั่งตัวอย่างสารสัมน้ำมา 2 กรัมแล้วเติมสารละลายมาตรฐานเหล็กเกรดวัสดุอ้างอิง ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัม ต่อลูกบาศก์เดซิเมตร (ข้อ 3.3.16) จำนวน 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร จากนั้นปฏิบัติตามข้อ 3.4.5.1 และข้อ 3.4.5.2 คำนวณปริมาณเหล็กทั้งหมด ร้อยละการคืนกลับ ความเบี่ยงเบนมาตรฐาน และความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ในแต่ละตัวอย่างของทั้งสองวิธี เปรียบเทียบค่าร้อยละการคืนกลับ ระหว่างวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 โดยวิธีทางสถิติ (ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 17, 18, 20)

3.4.10 การวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารสัมน้ำโดยวิธีที่ 2(ข้อ3.4.5.2)

3.4.10.1 วิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารสัมน้ำและหาค่าร้อยละการคืนกลับ

วิธีการ ชั่งตัวอย่างสารสัมน้ำมา 2 กรัม แล้วปฏิบัติตามข้อ 3.4.5.2 และ ชั่งตัวอย่างสารสัมน้ำมา 2 กรัม แล้วเติมสารละลายมาตรฐานเหล็กเกรดวัสดุอ้างอิง ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัม ต่อลูกบาศก์เดซิเมตร(ข้อ 3.3.16) จำนวน 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร จากนั้นปฏิบัติตามข้อ 3.4.5.2 คำนวณปริมาณเหล็กทั้งหมด ร้อยละการคืนกลับ (ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 21) คำนวณค่าความไม่แน่นอน(ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 23)

3.4.10.2 วิเคราะห์ปริมาณเหล็กที่ระดับแอลโอคิวในตัวอย่างสารสัมน้ำ

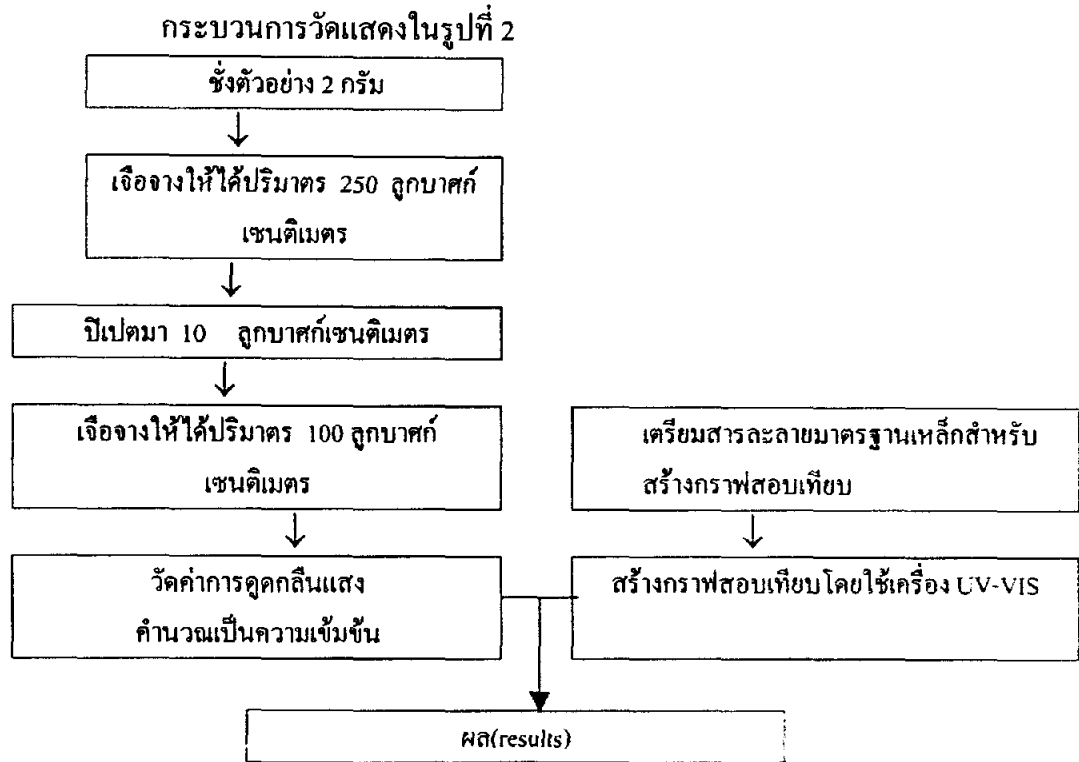
วิธีการ ชั่งตัวอย่างสารสัมน้ำที่มีปริมาณเหล็กเท่ากับแอลโอคิวมา 2 กรัม จำนวน 7 ซ้ำแล้วปฏิบัติตามข้อ 3.4.5.2 คำนวณปริมาณเหล็กทั้งหมด ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน(ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 22) คำนวณค่าความไม่แน่นอน(ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 24)

3.4.11 การประมาณค่าความไม่แน่นอน(uncertainty estimation)⁽³⁾

นำผลการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารสัมน้ำที่ได้จากข้อ3.4.10 มาคำนวณค่าความไม่แน่นอนตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

ขั้นตอนการคำนวณความไม่แน่นอน

3.4.11.1 ระบุสิ่งที่ต้องการวัด(specified measurand)



รูปที่ 2 แสดงขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารสัมมนา

ความเข้มข้นของเหล็กในตัวอย่างสารสัมมนาที่วิเคราะห์โดยเครื่องมือ ยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์รายงานผลในรูปร้อยละ โดยน้ำหนัก (r)

$$r = C_0 \times d \times 10^{-4} / m$$

เมื่อ r = ร้อยละโดยน้ำหนักของเหล็ก (g / 100 g)

d = แฟกเตอร์สำหรับเจือจางตัวอย่าง (250 / 10)

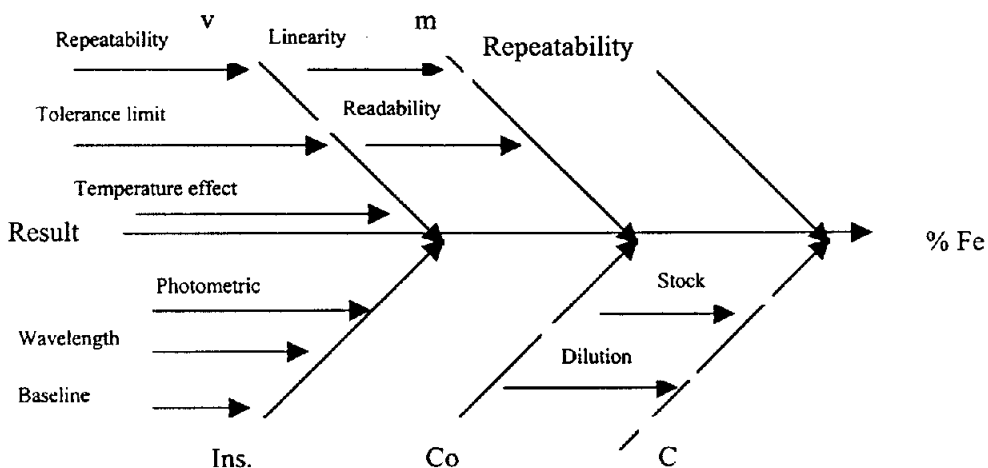
m = น้ำหนักตัวอย่าง (g)

C_0 = ความเข้มข้นของเหล็ก (ไมโครกรัม ต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร)

10^{-4} = แฟกเตอร์สำหรับเปลี่ยนหน่วยไมโครกรัมเป็นร้อยละ

3.4.11.2 บ่งชี้และวิเคราะห์แหล่งที่มาของความไม่แน่นอน (Identification and analysis of uncertainty sources)

แหล่งที่มาของความไม่แน่นอนของการวัดที่มีอิทธิพลต่อผลการวิเคราะห์ ปริมาณเหล็กตามวิธีการที่ระบุไว้ในข้อ 3.4.11.1 คือ น้ำหนัก ปริมาตร สารละลายมาตรฐานเหล็กช่วงใช้งาน ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง ขั้นตอนการเตรียมสารละลายมาตรฐานเหล็กช่วงใช้งาน สำหรับเตรียมกราฟสอบเทียบ เครื่องมือ ความไม่แน่นอนจากการวิเคราะห์ซ้ำ



รูปที่ 3 แสดงแหล่งที่มาของความไม่แน่นอนของการทดสอบที่มีอิทธิพลต่อผลการวิเคราะห์ ปริมาณ เหล็กในตัวอย่างสารส้มน้ำ

ก. ความไม่แน่นอนที่มาจากน้ำหนักมวลสาร (uncertainty from mass , U_m)
ได้แก่

ก.1 ความไม่แน่นอนจากค่าสภาพเชิงเส้น(linearity)

ก.2 ความไม่แน่นอนจากการอ่าน (readability or resolution)

ข. ความไม่แน่นอนจากปริมาตร(uncertainty from volume)

ปริมาตรของเครื่องแก้ววัดปริมาตรทุกชนิด มีแหล่งความไม่แน่นอนอยู่ 3 แหล่งด้วยกันคือ

ข.1 ความไม่แน่นอนของการวัดซ้ำ 10 ครั้ง

ข.2 ความไม่แน่นอนของเครื่องแก้วตามปริมาตรที่ระบุ

ข.3 ความไม่แน่นอนที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของสารละลายที่บรรจุใน เครื่อง

แก้วความไม่แน่นอนขึ้นอยู่กับชนิดของสารละลายที่บรรจุ และอุณหภูมิ ที่เปลี่ยนแปลง

ก. ความไม่แน่นอนที่มาจากสารละลายมาตรฐานหลักและขั้นตอนการเตรียมกราฟ
 สอบเทียบ $U_{(c)}$ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานหลัก (ตอนเริ่มต้น)
 ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานหลักในแต่ละจุดของกราฟสอบเทียบ ขั้นตอนการเตรียมสารละลาย
 มาตรฐานหลัก ทุกขั้นตอน

ง. ความไม่แน่นอนที่มาจากเครื่องมือ $U_{(Ins)}$

จ. ความไม่แน่นอนจากความเข้มข้นของหลักที่คำนวณจากกราฟสอบเทียบ $U_{(CO)}$

ฉ. ความไม่แน่นอนที่มาจากการวิเคราะห์ซ้ำ $U_{(Rep)}$

3.4.11.3 การคำนวณค่าความไม่แน่นอนจากแหล่งต่างๆ(quantifying uncertainty sources)

การคำนวณสามารถคำนวณจากข้อมูลที่ได้จากการทดลองหรือจากการสมมุติบนพื้นฐานที่ดี ถูกต้องตาม
 หลักวิชาการ

ก. ความไม่แน่นอนจากมวลสาร [mass , $U_{(m)}$]

ความไม่แน่นอนชนิดนี้มาจากสภาพเชิงเส้นและความละเอียดของเครื่องชั่ง เช่น เครื่อง
 ชั่ง 4 ตำแหน่ง ค่าสภาพเชิงเส้นโดยปกติ ผู้ผลิตจะเป็นผู้กำหนด ซึ่งสามารถดูได้จากคู่มือของเครื่องชั่งในที่นี้
 เครื่องชั่งที่ใช้ยู่มีค่าความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 0.0003 กรัม การกระจายเป็นแบบสี่เหลี่ยม เมื่อต้องการทำให้
 เป็นค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานต้องหารด้วย $\sqrt{3}$

$$\text{ความไม่แน่นอนมาตรฐาน} = \frac{\pm 0.0003 \text{ g}}{\sqrt{3}} = \pm 1.732 \times 10^{-4} \text{ g}$$

ความละเอียด ± 0.0001 กรัม ความไม่แน่นอน = $\pm 0.0001 / 2$ การกระจายเป็นแบบสี่
 เหลี่ยม (rectangular) เมื่อต้องการทำให้เป็นค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน ต้องหารด้วย $\sqrt{3}$

$$\text{ความไม่แน่นอนมาตรฐาน} = \frac{\pm 0.00005}{\sqrt{3}} = \pm 0.289 \times 10^{-4} \text{ g}$$

ค่าสภาพเชิงเส้น คำนวณสองครั้งโดยคิดเป็นน้ำหนักสุทธิของสารกับน้ำหนักของสารรวม
 กับภาชนะบรรจุ (Tare and the gross weight) ความไม่แน่นอนมาตรฐานรวมเท่ากับ

$$\begin{aligned} U_{(m)} &= \pm \sqrt{2 \times (1.732 \times 10^{-4})^2 + (0.289 \times 10^{-4})^2} \\ &= \pm 0.289 \times 10^{-4} \text{ g} \end{aligned}$$

ข. ความไม่แน่นอนจากเครื่องแก้ววัดปริมาตร (volumetric glassware , $U_{(v)}$)

ความไม่แน่นอนจากเครื่องแก้ววัดปริมาตรแบ่งเป็น 2 ชนิด คือ

ข.1 สำหรับเตรียมสารละลายตัวอย่าง

คำนวณจากสองแหล่งคือ จากเกณฑ์กำหนดของผู้ผลิต(manufacturer's specification) และจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ (temperature effect) สำหรับความไม่แน่นอนที่เกิดจากการวัดซ้ำให้คิดรวมอยู่ในความไม่แน่นอนจากการวิเคราะห์ซ้ำทั้งหมด

- ค่าความไม่แน่นอนจากเกณฑ์กำหนดของผู้ผลิต

$$\text{ความไม่แน่นอนมาตรฐาน} = \frac{\text{ค่า Tolerance}}{\sqrt{6}}$$

- ค่าความไม่แน่นอนจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ

$$\text{ความไม่แน่นอน} = \text{ปริมาตร} \times \text{อุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลง} \times \text{สัมประสิทธิ์การขยายตัวของสารละลายที่บรรจุอยู่}$$

การกระจายเป็นแบบสี่เหลี่ยม(rectangular) ดังนั้นเมื่อแปลงเป็นความไม่แน่นอนมาตรฐานต้องการด้วย $\sqrt{3}$ ค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานสัมพัทธ์จากเครื่องแก้วที่ใช้สำหรับเตรียมสารละลายตัวอย่างคือ $U_{(v)}$ as RSD

$$U_{(v)} \text{ as RSD} = \pm 0.00138 \text{ ลูกบาศก์เซนติเมตร}$$

(ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 26)

ตัวอย่างที่ 1 การคำนวณค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานของปิเปตขนาด 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใช้สำหรับเตรียมตัวอย่าง

1. เกณฑ์กำหนดของเครื่องแก้วระบุค่าคลาดเคลื่อน(tolerance) = ± 0.02 ลูกบาศก์เซนติเมตร การกระจายเป็น แบบสามเหลี่ยม

$$\text{ความไม่แน่นอนมาตรฐาน} = \frac{\pm 0.02}{\sqrt{6}} \text{ ลูกบาศก์เซนติเมตร}$$

$$= \pm 0.00816 \text{ ลูกบาศก์เซนติเมตร}$$

2. อุณหภูมิ ต่างจากอุณหภูมิ ที่สอบเทียบ ± 5 °c

การกระจายเป็น แบบสี่เหลี่ยม

$$\text{ความไม่แน่นอนมาตรฐาน} = \frac{\pm 5 \times 2.10 \times 10^{-4} \times 10}{\sqrt{3}} \text{ ลูกบาศก์เซนติเมตร}$$

$$= \pm 0.0060621 \text{ ลูกบาศก์เซนติเมตร}$$

ความไม่แน่นอนมาตรฐานของ ปิเปต 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร

$$= \pm \sqrt{(0.00816)^2 + (0.00606)^2}$$

$$= \pm 0.010169 \text{ ลูกบาศก์เซนติเมตร}$$

ตัวอย่างที่ 2 การคำนวณค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานของขวดแก้ววัดปริมาตร

250 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใช้สำหรับเตรียมตัวอย่าง

1. เกณฑ์กำหนดของเครื่องแก้วระบุค่าคลาดเคลื่อน(tolerance) = ± 0.12

ลูกบาศก์เซนติเมตร การกระจายเป็นแบบสามเหลี่ยม

ความไม่แน่นอนมาตรฐาน = $\frac{\pm 0.12}{\sqrt{6}}$ ลูกบาศก์เซนติเมตร

$$\sqrt{6}$$

$$= \pm 0.04899 \text{ ลูกบาศก์เซนติเมตร}$$

2. อุณหภูมิ ในขณะที่ทดลองเปลี่ยนแปลง $\pm 5^\circ\text{C}$

การกระจายเป็น แบบสี่เหลี่ยม

ความไม่แน่นอนมาตรฐาน = $\frac{\pm 5 \times 2.10 \times 10^{-4} \times 250}{\sqrt{3}}$ ลูกบาศก์เซนติเมตร

$$\sqrt{3}$$

$$= \pm 0.15155 \text{ ลูกบาศก์เซนติเมตร}$$

ความไม่แน่นอนมาตรฐานของขวดแก้ววัดปริมาตร 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร

$$U_{(v), 250 \text{ mL}} = \pm \sqrt{(0.04899)^2 + (0.15155)^2}$$

$$= \pm 0.15927 \text{ ลูกบาศก์เซนติเมตร}$$

ข.2 สำหรับเตรียมสารละลายมาตรฐานเหล็กที่ใช้สร้างกราฟสอบเทียบ

การคำนวณค่าความไม่แน่นอนจะคิดจากสองแหล่งคือความไม่แน่นอนของเครื่องแก้วตามปริมาตรที่ระบุและค่าความไม่แน่นอนจากการวิเคราะห์ซ้ำ 10 ครั้ง ไม่คิดค่าความไม่แน่นอนจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ เนื่องจากขณะการเตรียมสารละลายมาตรฐานเหล็กช่วงใช้งาน มีการเจือจางสาร อุณหภูมิของห้องปฏิบัติการคงที่ดังนั้นอุณหภูมิจึงไม่มีผลกระทบต่อค่าความไม่แน่นอนนี้

ความไม่แน่นอนของเครื่องแก้วตามปริมาตรที่ระบุ

ความไม่แน่นอนมาตรฐาน = $\frac{\text{ค่า Tolerance}}{\sqrt{6}}$

$$\sqrt{6}$$

การกระจายเป็นแบบสามเหลี่ยม (triangular)

ค่าความไม่แน่นอนจากการวิเคราะห์ซ้ำ 10 ครั้ง

ความไม่แน่นอนมาตรฐาน = SD / \sqrt{n}

$$= \frac{S_{\text{pooled}}}{\sqrt{n}} \text{ หรือ } \frac{SD}{\sqrt{n}} \text{ สูงสุด กรณีทำมากกว่า 1 คน}$$

(ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 27)

ตัวอย่างที่ 3 การคำนวณค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานของปิเปตขนาด 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใช้สำหรับเตรียมสารละลายมาตรฐาน การคำนวณเหมือนในตัวอย่างที่ 1 แต่เพิ่มการคำนวณค่าความไม่แน่นอนจากการวัดซ้ำ ในกรณีที่ผู้วิเคราะห์หลายคนให้นำเอาค่า S_{pooled} มาใช้แทนค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน ได้เลข S_{pooled} ของ ปิเปต 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร = 0.003827 ลูกบาศก์เซนติเมตร

ความไม่แน่นอนมาตรฐานของ ปิเปต 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร

$$= \pm \sqrt{(0.00816)^2 + (0.003827)^2}$$

$$= \pm 0.01087 \text{ ลูกบาศก์เซนติเมตร}$$

ก. ความไม่แน่นอนของความเข้มข้นของสารละลายหลักมาตรฐานช่วงใช้งาน $U_{(c)}$

ก.1 ความเข้มข้นของสารละลายหลักมาตรฐานตอนเริ่มต้น 1001 ± 2 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร ในกรดไนตริก ร้อยละ 2 การกระจายเป็น แบบสี่เหลี่ยม

$$\text{ความไม่แน่นอนมาตรฐาน} = \pm 2 \text{ มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร}$$

$$\sqrt{3}$$

$$= 1.1547 \text{ มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร}$$

ก.2 ความเข้มข้นของสารละลายหลักมาตรฐาน ที่เตรียมโดยการเจือจาง (D)

ความเข้มข้นเริ่มต้น (1) 1001 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

ความเข้มข้นขั้นที่ 2 (2) 100.1 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร $D = 1 : 10$

ความเข้มข้นขั้นที่ 3 (3) แสดงในตาราง 6

ตารางที่ 6 แสดงการเจือจางความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานหลัก

| ลำดับที่ | ความเข้มข้น | D | V _i | V _f |
|----------|--------------------------------------|---------|----------------|----------------|
| 1 | 100.1 $\mu\text{g} / 100 \text{ mL}$ | 1 : 100 | 1 | 100 |
| 2 | 200.2 $\mu\text{g} / 100 \text{ mL}$ | 1 : 50 | 2 | 100 |
| 3 | 300.3 $\mu\text{g} / 100 \text{ mL}$ | 1 : 33 | 3 | 100 |
| 4 | 400.4 $\mu\text{g} / 100 \text{ mL}$ | 1 : 25 | 4 | 100 |
| 5 | 500.5 $\mu\text{g} / 100 \text{ mL}$ | 1 : 20 | 5 | 100 |

(ผลการคำนวณค่าความไม่แน่นอนแสดงดังตารางที่ 28)

ง. ความไม่แน่นอนจากเครื่องมือ $U_{(Ins)}$

ง.1 ความแม่นยำของการดูคตินแสง

ผลจากการสอบเทียบ ค่าความไม่แน่นอนที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 เท่ากับ ± 0.002 เอบีเอส (ตัวประกอบครอบคลุม = 2)

$$\begin{aligned} \text{ความไม่แน่นอนมาตรฐาน} &= \frac{\text{ความไม่แน่นอนขยาย}}{\text{ตัวประกอบครอบคลุม}} \\ &= \pm \frac{0.002}{2} \text{ เอบีเอส} = 0.001 \text{ เอบีเอส} \end{aligned}$$

ง.2 ความละเอียด(Readability) 0.00001 เอบีเอส

$$\begin{aligned} \text{ความไม่แน่นอนมาตรฐาน} &= \pm 0.00001 \\ U_{(Ins)} &= \pm \frac{2\sqrt{3}}{\sqrt{(0.001)^2 + (2.886 \times 10^{-6})^2}} \\ &= \pm 0.00100 \end{aligned}$$

จ. ความไม่แน่นอนจากความเข้มข้นของสารละลายเหล็กที่อ่านได้จากกราฟสอบเทียบ $U_{(Co)}$

ปริมาณเหล็กคำนวณจากกราฟสอบเทียบ สร้างจากสารละลายมาตรฐานเหล็ก 5 ความเข้มข้นเตรียมจากสารละลายเหล็กมาตรฐาน 100.1, 200.2, 300.3, 400.4 และ 500.5 ไมโครกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

$$\text{สมการ } A_j = (C_i \times B_I) + B_o$$

เมื่อ A_j = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานเหล็กที่วัดแต่ละครั้ง

C_i = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเหล็ก

B_o = จุดตัดแกน

B_I = ความชันของกราฟมาตรฐาน

$$\text{Correlation coefficient } R = 0.99992$$

$$\text{สมการสอบเทียบ } Abs = 0.00149 \times \text{conc.}$$

กราฟแสดงในรูปที่ 9

U_{Co} คำนวณจากสูตร

$$U_{Co} = \frac{S}{B_I} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_o - \bar{C})^2}{S_{xx}}}$$

The residual standard deviation = $0.0031415 = 3.142 \times 10^{-3}$

S = ค่าความผิดพลาดในการดูคลื่นแสง (แกน y)

Sxx = ค่าความผิดพลาดของความเข้มข้น (แกน x)

Co/1 = ปริมาณเหล็กที่วัดได้ หน่วยเป็น ไมโครกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร
ของการวิเคราะห์ครั้งที่ 1

Co/2 = ปริมาณเหล็กที่วัดได้ หน่วยเป็น ไมโครกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร
ของการวิเคราะห์ครั้งที่ 2

$$S_{xx} = 300000$$

(ดูสูตรการคำนวณในภาคผนวก หน้า 71)

การวัดความเข้มข้น วัดซ้ำ 3 ครั้ง

Co/1 เท่ากับ 162.46 ไมโครกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

Co/2 เท่ากับ 166.09 ไมโครกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

(ผลการคำนวณค่าความไม่แน่นอนแสดงดังตารางที่ 29)

จ. ความไม่แน่นอนจากการวิเคราะห์ซ้ำ

$$\text{ความไม่แน่นอนมาตรฐาน} = \frac{S_{\text{pooled}}}{\sqrt{n}} \quad \text{หรือ} \quad \frac{\text{SD สูงสุด}}{\sqrt{n}}$$

(ผลการคำนวณค่าความไม่แน่นอนแสดงดังตารางที่ 30)

3.4.11.4 การคำนวณความไม่แน่นอนรวม (combined uncertainty)

ปริมาณร้อยละของเหล็กคำนวณตามสูตร

$$r = C_o \times d \times 10^{-4} / m$$

$$U_c(r) / r = \sqrt{\sum [U_x / X]^2}$$

$$U_{\text{expanded}} = U_c(r) \times 2$$

$$\text{Result} = r \pm U_{\text{expanded}}$$

$$= r \pm U$$

(ผลการคำนวณค่าความไม่แน่นอนแสดงดังตารางที่ 31)

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์

4.1 ผลการตรวจความใช้ได้ของเครื่องมือ

ความถูกต้องของค่าการดูดกลืนแสง ± 0.002 เอบีเอส (ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 7)

ความถูกต้องของความยาวคลื่น ± 0.2 นาโนเมตร (ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 8, รูปที่ 6)

เบสไลน์ ± 0.000006 เอบีเอสต่อชั่วโมง (ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 7)

4.2 ผลการตรวจความใช้ได้ของวิธีทดสอบ

4.2.1 ผลการหาค่า ไอดีแอล

ไอดีแอล = 0.3289 ไมโครกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

(ผลการทดลองแสดงดัง ตารางที่ 9)

4.2.2 สภาพเชิงเส้น

ความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณเหล็กที่เติมลงไปเป็นเส้นตรง
ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 1 (ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 10 รูปที่ 4)

4.2.3 ความแม่นยำระดับความเข้มข้น 40 120 240 360 และ 480 ไมโครกรัมต่อ 100

ลูกบาศก์เซนติเมตร

ร้อยละการคืนกลับ 98.67 99.09 99.83 99.76 และ 99.73 ตามลำดับ

(ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 11)

4.2.4 ความเที่ยงที่ ระดับความเข้มข้น ค่ากลาง สูง (40, 120, 360 ไมโครกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์

เซนติเมตร)

ร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 2.02, 0.81, และ 0.36 ตามลำดับ

(ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 12)

4.2.5 เอ็มดีแอลและแอล โอคิว

เอ็มดีแอล ร้อยละ 0.003 (2.27 ไมโครกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร)

แอล โอคิว ร้อยละ 0.009 (7.56 ไมโครกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร)

(ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 13 รูปที่ 5)

4.3 ผลการพิสูจน์ความเที่ยงและความแม่นยำที่ปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารสัมมน้ำเท่ากับ

แอลโอคิว

ร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 2.69

ร้อยละการคืนกลับเท่ากับ 98.43 (ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 14)

4.4 ผลการเปรียบเทียบความเที่ยงและความแม่นยำของวิธีที่ 1 กับ วิธีที่ 2

4.4.1 ผลการวิเคราะห์ ปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารส้มน้ำ ตามวิธีที่ 1 สารส้มน้ำ 5 ตัวอย่าง ได้ผลดังนี้ เหล็กปริมาณเหล็กร้อยละ 0.18744 0.15816 0.20727 0.14049 และ 0.19397 ตามลำดับ ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ร้อยละ 4.54 4.55 2.45 1.45 และ 5.16

(ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 15)

4.4.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารส้มน้ำ ตามวิธีที่ 2 ในตัวอย่างสารส้มน้ำ 5 ตัวอย่าง ได้ผลดังนี้ ค่าเฉลี่ยปริมาณเหล็ก 0.23041 0.25094 0.23231 0.14786 และ 0.22786 ตามลำดับ ความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ร้อยละ 1.39 0.56 2.59 0.19 และ 0.18

(ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 16)

4.4.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารละลายมาตรฐานเหล็กเกรดวัสดุอ้างอิง 2,000 ไมโครกรัมที่เติมลงไป ในตัวอย่างสารส้มน้ำ 5 ตัวอย่าง ตามวิธีที่ 1 พบว่าปริมาณเหล็กที่วิเคราะห์ได้ เกินร้อยละคิดเป็นร้อยละการคืนกลับดังนี้ 127.02 141.60 125.71 107.25 และ 128.68 ความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ร้อยละ 1.64 2.52 1.71 0.81 และ 2.89 (ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 17)

4.4.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารละลายมาตรฐานเหล็กเกรดวัสดุอ้างอิง 2,000 ไมโครกรัมที่เติมลงไป ในตัวอย่างสารส้มน้ำ 5 ตัวอย่าง ตามวิธีที่ 2 พบว่าปริมาณเหล็กที่วิเคราะห์ได้อยู่ในช่วง 95 - 106 คิดเป็นร้อยละการคืนกลับดังนี้ 97.53 94.76 105.42 106.10 และ 99.77 ความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ร้อยละ 2.78 2.02 2.46 5.57 และ 1.92 ตามลำดับ (ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 18)

4.4.5 ผลการเปรียบเทียบความเที่ยง

ผลการทดสอบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของความแม่นยำซึ่งแสดงอยู่ในรูปค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ระหว่างวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 โดยใช้สถิติ t-Test : Paired Two Sample for Means ได้ผลดังนี้ $t_{\text{คำนวณ}}$ เท่ากับ 2.856 และ $t_{\text{วิกฤต}}$ เท่ากับ 2.776 ($t_{\text{วิกฤต}} = t_{\alpha, 0.05, 2 \text{ ทาง}}$)

4.4.6 ผลการเปรียบเทียบความแม่นยำ

ผลการทดสอบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของความถูกต้องซึ่งแสดงอยู่ในรูปร้อยละการคืนกลับระหว่างวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 โดยใช้สถิติ t-Test : Paired Two Sample for Means ได้ผลดังนี้ $t_{\text{คำนวณ}}$ เท่ากับ 3.451 และ $t_{\text{วิกฤต}}$ เท่ากับ 2.776 ($t_{\text{วิกฤต}} = t_{\alpha, 0.05, 2 \text{ ทาง}}$)

4.5 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณเหล็ก (Fe)

จากการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารส้มน้ำ จำนวน 18 ตัวอย่าง ปริมาณเหล็กอยู่ในช่วง ร้อยละ 0.15 - 0.23 ร้อยละความแตกต่างสัมพัทธ์ 0.10 - 1.59 ร้อยละการคืนกลับ 97.9 - 103.4

(ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 21)

4.6 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณเหล็ก (Fe) ที่ระดับแอลกอฮอล์

ร้อยละปริมาณเหล็กเฉลี่ย 0.0085 ร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ 5.67

(ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 22)

4.7 ผลการคำนวณหาค่าความไม่แน่นอนของผลการวิเคราะห์ปริมาณ(Fe) ที่ระดับความเข้มข้น ร้อยละ 95

ค่าความไม่แน่นอน ร้อยละ ± 0.004 ถึง 0.007 (ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 23)

4.8 ผลการคำนวณหาค่าความไม่แน่นอนของผลการวิเคราะห์ปริมาณ(Fe) ความเข้มข้นเท่ากับแอลกอฮอล์ ที่ระดับความเข้มข้น ร้อยละ 95

ค่าความไม่แน่นอน ร้อยละ ± 0.004 (ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 24)

บทที่ 5

วิจารณ์ผล

จากการตรวจสอบความใช้ได้ของเครื่อง ยูวี วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ใช้ในการศึกษาทดลองนี้ พบว่ามีค่าความถูกต้องของการดูดกลืนแสง ± 0.002 เอบีเอส. ค่าความถูกต้องของความยาวคลื่น ± 0.2 นาโนเมตร ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ โดยวิเคราะห์ปริมาณสารละลายมาตรฐานเหล็ก ชนิดวัสดุอ้างอิงรับรองที่เติมลงไป ในตัวอย่างสารสัมฤทธิ์ที่มีปริมาณเหล็กค่า วิเคราะห์ 7 ซ้ำ ที่ 5 ระดับความเข้มข้น ดังนี้ 40, 120, 240, 360, และ 480 ไมโครกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตามลำดับ พบว่าค่าการดูดกลืนแสงมีความสัมพันธ์เชิงเส้นเป็นเส้นตรงกับปริมาณเหล็กที่เติมลงไปแสดงในตารางที่ 10 รูปที่ 4 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 1 (เกณฑ์การยอมรับ $r > 0.995$)⁽¹³⁾ ความถูกต้องซึ่งแสดงในรูปของร้อยละการคืนกลับ 98.67 ถึง 99.76 แสดงในตารางที่ 11 (เกณฑ์การยอมรับร้อยละ 95 – 105)⁽¹³⁾ ความแม่นยำซึ่งแสดงในรูปร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของปริมาณเหล็กที่เติมลงไปที่มีความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง เท่ากับ 2.02, 0.81 และ 0.36 แสดงในตารางที่ 12 (เกณฑ์การยอมรับ ร้อยละ ± 5)^(13,14) ขีดจำกัดของเครื่องมือ (instrumental detection limit, IDL) เท่ากับ 0.3289 ไมโครกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร หรือ ประมาณ ร้อยละ 0.0004 ขีดจำกัดที่ วิธีสามารถวิเคราะห์ได้ (method detection limit, MDL) เท่ากับร้อยละ 0.003 ขีดจำกัดที่สามารถวิเคราะห์ทางปริมาณ (limit of quantitative, LOQ) เท่ากับร้อยละ 0.009 อัตราส่วน IDL : MDL : LOQ เท่ากับ 1:7.5: 22.5 ซึ่งมากกว่าอัตราส่วนที่ วิธมาตรฐาน⁽⁵⁾ ระบุไว้คือ 1 : 4 :10 อยู่สองเท่า ทั้งนี้อาจเกิดจากประสิทธิภาพของเครื่องมือสูงสามารถวัดปริมาณเหล็กได้ในปริมาณที่ต่ำ แต่ขีดจำกัดของวิธี (MDL) สูงกว่า 4 เท่า อาจมาจากขีดความสามารถของวิธีและสิ่งรบกวนในเนื้อสารตัวอย่าง

วิเคราะห์ปริมาณเหล็กที่เติมลงไป ในตัวอย่างสารสัมฤทธิ์ ที่ความเข้มข้นเท่ากับ แอล โอคิว จำนวน 7 ซ้ำ พบว่า ร้อยละการคืนกลับ เฉลี่ยเท่ากับ 98.4 และ ร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เฉลี่ยเท่ากับ 2.69 แสดงในตารางที่ 14 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ

จากการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารสัมฤทธิ์ตามวิธีที่ 1 พบว่าความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์การยอมรับได้ ส่วนความแม่นยำเกินเกณฑ์การยอมรับมาก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก ตัวอย่างสารสัมฤทธิ์ มีการตกตะกอนของสารประกอบเชิงซ้อนของอะลูมิเนียมและเหล็ก เมื่อเตรียมตัวอย่าง โดยไม่ได้เติม กรดไฮโดรคลอริกเพิ่มและไม่ได้ต้ม จึงทำให้ตะกอนของสารประกอบเชิงซ้อนเหล่านั้นละลายไม่หมด ผลการวิเคราะห์จึงต่ำกว่าความเป็นจริง แต่เมื่อเติมสารละลายมาตรฐาน (spike sample) กรดจากสารละลายมาตรฐานที่เติมลงไป ช่วยละลายตะกอนในตัวอย่างจึงทำให้ร้อยละการคืนกลับสูง (ดูปัจจัยที่ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงเปลี่ยน ภาคผนวก หน้า 85)

จากการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ ปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารส้มน้ำ ตามวิธีที่ 2 พบว่า ความเที่ยงและความแม่นยำในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ เนื่องจากการเตรียมตัวอย่างที่ดี การละลายของเหล็กออกไซด์หมด จึงทำให้ผลการวิเคราะห์มีความเที่ยงและความแม่นยำมากกว่าวิธีที่ 1

ผลการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารส้มน้ำ จำนวน 18 ตัวอย่างและตัวอย่างสารส้มน้ำที่มีปริมาณเหล็กเท่ากับ แอล โอคิว พบว่า ความความเที่ยงและความแม่นยำในเกณฑ์การยอมรับ (ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 21 , 22) แสดงว่าวิธีวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารส้มน้ำที่ห้องปฏิบัติการพัฒนาขึ้นมีประสิทธิภาพและเหมาะสมกับตัวอย่างสารส้มน้ำ

การประมาณค่าความไม่แน่นอนของผลการวิเคราะห์ ทดสอบตามวิธีการ⁽⁸⁾ โดยพิจารณาความไม่แน่นอนจากแหล่งต่างๆดังนี้ น้ำหนักสาร ปริมาตร สารละลายมาตรฐานเหล็กช่วงใช้งาน ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง ขั้นตอนการเตรียมสารละลายมาตรฐานเหล็กช่วงใช้งานสำหรับเตรียมกราฟสอบเทียบ เครื่องมือ การวิเคราะห์ซ้ำ พบว่าความไม่แน่นอนต่ำมากเมื่อเทียบกับผลการวิเคราะห์คือได้น้อยกว่าร้อยละสิบของผลการวิเคราะห์ (ผลการวิเคราะห์ปริมาณร้อยละ 0.20 ความ ไม่แน่นอนประมาณร้อยละ ± 0.007)

แต่การประมาณค่าความไม่แน่นอนของผลการวิเคราะห์ที่ความเข้มข้นเท่ากับ แอล โอคิว พบว่ามีความไม่แน่นอนสูงเมื่อเทียบกับผลการวิเคราะห์ประมาณร้อยละ 50 ของผลการวิเคราะห์ (ผลการวิเคราะห์ประมาณร้อยละ 0.008 ความไม่แน่นอนร้อยละ ± 0.004) สาเหตุอาจเกิดจากความเข้มข้นของปริมาณเหล็กต่ำ ค่าการดูดกลืนแสง ยูวี-วิสิเบิล ต่ำ ความเบี่ยงเบนของการดูดกลืนแสงสูง เมื่อคำนวณเป็นค่าความไม่แน่นอนสัมพัทธ์จึงสูง⁽¹⁴⁾ คือที่ระดับความเข้มข้นสารเท่ากับแอล โอคิว ความไม่แน่นอนจะเป็นประมาณร้อยละ 30 ของผลการวิเคราะห์ (ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 11)

ถ้าพิจารณาด้านความเที่ยงเพียงด้านเดียว วิธีที่ 1 ความเที่ยงส่วนใหญ่ อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้แต่ความแม่นยำในเกณฑ์การยอมรับ ดังนั้น ควรเลือก วิธีที่ 2 ในการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารส้มน้ำ เพราะเป็นวิธีที่มีความเที่ยงและความแม่นยำมากกว่า

บทที่ 6

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

6.1 สรุปผล

จากการตรวจสอบความใช้ได้ของเครื่องยูวี – วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี ที่ใช้ในการศึกษานี้พบว่าเครื่องมือมีความแม่นยำของการวัดค่าสีแสง ความแม่นยำของความยาวคลื่นอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ และเบสไลน์มีเสถียรภาพ

ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารส้มน้ำ โดยวิธีที่ 2 สามารถสรุปได้ว่าวิธีนี้มีความความเที่ยงและความแม่นยำเหมาะสมสำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างสารส้มน้ำที่มีปริมาณเหล็กอยู่ในช่วงร้อยละ 0.009 ถึง 0.40

ผลการเปรียบเทียบการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารส้มน้ำ 5 ตัวอย่าง ตามวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 ด้านความความเที่ยงและความแม่นยำด้วยวิธีทางสถิติ t – Test : Paired Two sample for means พบว่า $t_{\text{คำนวณ}} > t_{\text{วิกฤต}}$ แสดงว่าความเที่ยงและความแม่นยำทั้งสองวิธีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยวิธีที่ 2 มีความเที่ยงและความแม่นยำมากกว่าวิธีที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญ(ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 19,20)

ผลการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารส้มน้ำ พบปริมาณเหล็กอยู่ในช่วงร้อยละ 0.15 – 0.23 ร้อยละการคืนกลับ 97.9 – 103.9 ร้อยละความแตกต่างสัมพัทธ์ 0 ถึง 1.59 ซึ่งผลการวิเคราะห์มีความแม่นยำและเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 21,34,18)

วิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารส้มน้ำที่ระดับความเข้มข้น เท่ากับ แอล โอคิว พบว่ามีความแม่นยำและเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 22)

การประมาณค่าความไม่แน่นอนของผลการวิเคราะห์ ทดสอบได้น้อยกว่า ผลการวิเคราะห์ทดสอบมาก แสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์ ที่พัฒนาขึ้นตลอดจนเครื่องมือ บุคลากรของห้องปฏิบัติการ มีขีดความสามารถสูงแสดงถึงศักยภาพของห้องปฏิบัติการ (ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 23)

จากการศึกษาทดลอง พัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารส้มน้ำ ทำให้ห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานอินทรีย์เคมีวิเคราะห์ กองเคมีได้รับการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการตามมาตรฐานสากล ไอเอสโอ/ไออีซี 17025 จากสำนักง เนมาตราชู เนผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม(คู่มือรับรองในภาคผนวก หน้า ๘2-๘3)

6.2 ข้อเสนอแนะ

การพัฒนาหรือปรับปรุงวิธีวิเคราะห์ หรือ วิธีมาตรฐาน แต่ใช้นอกเหนือขอบข่าย ต้องตรวจสอบความใช้ได้ของเครื่องมือและวิธีวิเคราะห์ก่อนนำมาใช้วิเคราะห์ตัวอย่างจริง วิธีตรวจสอบความใช้ได้ของเครื่องมือสามารถเลือกได้หลายวิธี แล้วแต่ความเหมาะสม พารามิเตอร์ที่ตรวจสอบควรเลือกเฉพาะที่มีผลกระทบต่อผลการวิเคราะห์โดยตรง วิธีตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ มีหลายวิธีตามที่ได้กล่าวมาแล้ว ห้องปฏิบัติ

การควรเลือก วิธีการ เทคนิค ให้เหมาะสม และควรคำนึงถึง เวลา ค่าใช้จ่าย และผลที่ได้รับด้วย ยกตัวอย่าง เช่น วิธีที่พัฒนาขึ้นจากวิธีมาตรฐาน ให้นำผลการวิเคราะห์ทั้งสองวิธีมาเปรียบเทียบกัน โดยวิธีทางสถิติ ผลการวิเคราะห์ต้องไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ถ้าไม่มีให้วิเคราะห์เปรียบเทียบกับวัสดุอ้างอิงรับรอง โดยความแม่นยำและความเที่ยงของวิธีต้องอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ และถ้าไม่มีวัสดุอ้างอิงรับรองก็อาจใช้ผลการเข้าร่วมโปรแกรมทดสอบความชำนาญ มาใช้เป็นหลักฐานยืนยันได้ว่าวิธีการนี้ใช้ได้ โดยพิจารณาค่าคะแนนมาตรฐาน (Z-score) ต้องอยู่ระหว่าง ± 2

สำหรับการประมาณค่าความไม่แน่นอนของผลการวิเคราะห์ ควรศึกษาวิธีการวิเคราะห์อย่างละเอียด ระบุที่มาของความไม่แน่นอนให้ครบ แจกแจงลักษณะการกระจายของข้อมูลให้ถูกต้อง เทคนิคการรวมค่าความไม่แน่นอนแต่ละแหล่งต้องถูกต้องและเหมาะสม พิจารณาแก้ไขเมื่อค่าความไม่แน่นอนของผลการวิเคราะห์สูง (มากกว่าร้อยละ 30 ของผลการวิเคราะห์)⁽¹⁴⁾ โดยเลือกใช้เครื่องมือที่มีค่าความไม่แน่นอนต่ำ ลดขั้นตอนหรือเปลี่ยนแปลงเทคนิคและวิธีการวิเคราะห์ทดสอบ

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบพระคุณ นางส่องแสง เลี้ยวสวัสดิ์ ผู้อำนวยการกองเคมี นางสาวจันทร์เพ็ญ ใจธีรภาพ
กุล หัวหน้ากลุ่มงานอินทรีย์เคมีวิเคราะห์ ที่ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์และแก้ไขข้อบกพร่อง นางยุภินท์
มิลเลอร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านเทคนิคการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี(method validation) ทำให้งานศึกษา
ครั้งนี้สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์

เอกสารอ้างอิง

1. แม้น อมรสิทธิ์ หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ กรุงเทพฯ : ชวนพิมพ์ 2539, หน้า 57-66.
2. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมสารส้ม. มอก. 165 – 2542. หน้า 1-10
3. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. ข้อกำหนดทั่วไปว่าด้วยความสามารถของห้องปฏิบัติการทดสอบและห้องปฏิบัติการสอบเทียบ. มอก.17025 – 2543. หน้า 12-14
4. อุมพร สุขม่วง และ กัทรา ปัญญาวัฒน์กิจ. เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตร การใช้UV-VIS ในงานวิเคราะห์ทดสอบและวิจัย รุ่นที่ 6. กุมภาพันธ์ 13-16 2544. กรุงเทพฯ : กรมวิทยาศาสตร์บริการ, 2544, หน้า 42-57
5. American Public Health Association. APHA, Standard methods for the examination of water and waste water. (part 1020B, 1030C,3020B) 20th edition, Washington.DC. 1998. p. 1-4 to 1 -- 27
6. Committee on Food Chemical Codex. Food chemicals codex. 4th edition, Washington,D.C. :National academy press. 1996. P.Xxiii - XXVii
7. Denney, Ronald, C., Roy Sin clair, Visible and ultraviolet spectroscopy performance validation. Republic of Gurmany : Bodenseewerk Perkin – Elmer GmbH. 1995, p. 2-1 to 2-20
8. Ellison, SLR., Rossolein, M., and Willium, A., Eurachem/Citac Guide : Quantifying uncertainty in analytical measurement. second edition. QUMA : 2000. P1
9. Eurachem Guide. The Fitness for purpose of analytical methods. A Laboratory guide to method validation and related topics. United kingdom – English edition 1.0-1998. p.41-45
10. Gessner,G.Hawley. The Condensed chemical dictionary. 9th rev. NewYork : Van nostrand reinhold company , Inc.,n.d.p.36
11. Miller, JC., Miller, SN., Statistics for analytical chemistry, 3rd edition, first publishing. New York : Ellis horwood limited. 1993. p.53-76
12. National Association of testing authorities. Format and content of test method and procedures for validation and verification of chemical test method NATA Technical Note No. 17 , Australia 1995.

13. National Association of testing authorities. Guidelines of quality control in the analytical laboratory
NATA Technical Note 23, Australia 1995.
14. Taylor, John K., Quality assurance of chemical measurements. Michigan : Lewis
publishers, INC.1987. p. 75 – 93.
15. Taylor, Tim, Shenton, Sandra Wilson. Method validation workshop for testing laboratories . 28
May 2001. Thai Industrial Standards Institute. United Kingdom accreditation service.
p. 1- 5

ภาคผนวก

ตารางที่ 7 แสดงผลการสอบเทียบความแม่นยำของการดูดกลืนแสง



Report of Calibration

Laboratory No. : VY.902

Sender's Sample Designation : UV-VIS-NIR Spectrophotometer

Marking : Varian Model : Cary 5E S/N : 95071160

Ambient temperature and Relative humidity : $(26 \pm 0.1)^{\circ}\text{C}$ and $(50 \pm 1)\%$

Date of Calibration : May 14, 2002

Result of Calibration :

* Calibration of Photometric Scale.

| Wavelength (nm) | SRM 930D,1930 Filter no. & Set Ident. | Nominal Value (Abs) | Reading Value (Abs) | Correction (Abs) | Absorbance Tolerance | |
|--------------------|--|------------------------|------------------------|---------------------|----------------------|------------------|
| | | | | | Conforms | Does not conform |
| 440.0 | 10-1650 | 1.033 | 1.034 | -0.001 | ✓ | |
| | 30-1650 | 0.530 | 0.530 | 0.000 | ✓ | |
| | 50-104 | 0.301 | 0.301 | 0.000 | ✓ | |
| 546.1 | 10-1650 | 0.998 | 0.997 | 0.001 | ✓ | |
| | 30-1650 | 0.498 | 0.497 | 0.001 | ✓ | |
| | 50-104 | 0.278 | 0.277 | 0.001 | ✓ | |
| 635.0 | 10-1650 | 1.012 | 1.010 | 0.002 | ✓ | |
| | 30-1650 | 0.521 | 0.520 | 0.001 | ✓ | |
| | 50-104 | 0.310 | 0.309 | 0.001 | ✓ | |

Note :

1. The Spectrophotometer was calibrated by using Standard Reference Materials 930D and 1930 (Traceable to NIST,U.S.A.).
2. The uncertainty of measurement is ± 0.002 Abs. at 95% confidence level

Approved by

Jiravan Tulasombut
(Mrs. Jiravan Tulasombut)

Scientist 7, Acting

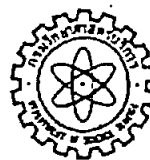
Chief, Calibration Subdivision

Calibrated by

Saowaluck Ukrisdawatid
(Ms. Saowaluck Ukrisdawatid)

Scientist 5

ตารางที่ 8 แสดงผลการสอบเทียบความแม่นยำของความยาวคลื่น



* Calibration of Wavelength Scale.

| Band No. | Wavelength (Spectral Bandwidth2.....nm.) | | | | |
|----------|---|-----------------------|--------------------|----------------------|------------------|
| | Nominal value (nm) | Reading value (nm) | Correction (nm) | Wavelength Tolerance | |
| | | | | Conforms | Does not conform |
| 1 | 241.08 | 241.10 | -0.02 | ✓ | |
| 2 | 249.98 | 250.10 | -0.12 | ✓ | |
| 3 | 278.03 | 278.10 | -0.07 | ✓ | |
| 4 | 287.47 | 287.60 | -0.13 | ✓ | |
| 5 | 333.40 | 333.50 | -0.10 | ✓ | |
| 6 | 345.49 | 345.40 | 0.09 | ✓ | |
| 7 | 361.16 | 361.10 | 0.06 | ✓ | |
| 8 | 385.86 | 385.80 | 0.06 | ✓ | |
| 9 | 416.62 | 416.60 | 0.02 | ✓ | |
| 10 | 451.30 | 451.20 | 0.10 | ✓ | |
| 11 | 467.94 | 467.90 | 0.04 | ✓ | |
| 12 | 485.33 | 485.20 | 0.13 | ✓ | |
| 13 | 536.97 | 536.80 | 0.17 | ✓ | |
| 14 | 640.84 | 640.90 | -0.06 | ✓ | |

Note

1. The Spectrophotometer was calibrated by using Standard Reference Material 2034.
2. The Standard Reference Material 2034 has been certified by National Institute of Standard and Technology(NIST.),U.S.A.
3. The uncertainty of measurement is ± 0.1 nm. at 95% confidence level.

ตารางที่ 9 แสดงผลการหาค่าไอดีแอล(IDL)

| การทดลองที่ | ปริมาณเหล็ก(Fe). ไมโครกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร |
|-------------------------|--|
| 1 | -1.07 |
| 2 | -1.46 |
| 3 | -1.49 |
| 4 | -1.23 |
| 5 | -1.46 |
| 6 | -1.33 |
| 7 | -1.62 |
| 8 | -1.61 |
| 9 | -1.69 |
| 10 | -1.65 |
| ค่าเฉลี่ย | -1.461 |
| ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน | 0.199969 |

$$\begin{aligned} \text{ไอดีแอล} &= 1.645 \times 0.199969 \\ &= 0.3289 \text{ ไมโครกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร} \end{aligned}$$

ตารางที่ 10 แสดงผลการตรวจสอบสภาพเชิงเส้น

| ลำดับ ที่ | | ตัวอย่างสารส้ม | | 40 | | 120 | | 240 | | 360 | | 480 | |
|----------------------------|--------|-----------------|----------------------|-----------------|----------------------|-----------------|----------------------|-----------------|----------------------|-----------------|----------------------|-----------------|----------------------|
| | | น้ำหนัก กรัม | ค่าการดูด กลืนแสง | น้ำหนัก กรัม | ค่าการดูด กลืนแสง | น้ำหนัก กรัม | ค่าการดูด กลืนแสง | น้ำหนัก กรัม | ค่าการดูด กลืนแสง | น้ำหนัก กรัม | ค่าการดูด กลืนแสง | น้ำหนัก กรัม | ค่าการดูด กลืนแสง |
| 1 | 2.0001 | 0.00030 | 0.06022 | 1.9996 | 0.17784 | 2.0002 | 0.35796 | 2.0001 | 0.53589 | 2.0000 | 0.71111 | 1.9998 | 0.71111 |
| 2 | 2.0001 | 0.00004 | 0.05979 | 1.9998 | 0.17834 | 2.0001 | 0.35807 | 1.9999 | 0.53770 | 2.0002 | 0.71619 | 2.0000 | 0.71619 |
| 3 | 1.9997 | -0.00203 | 0.05706 | 1.9997 | 0.17549 | 2.0002 | 0.35518 | 2.0000 | 0.53274 | 2.0002 | 0.71123 | 2.0002 | 0.71123 |
| 4 | 2.0002 | -0.00220 | 0.05728 | 1.9997 | 0.17517 | 2.0000 | 0.35406 | 1.9999 | 0.53221 | 2.0001 | 0.71062 | 2.0002 | 0.71062 |
| 5 | 2.0003 | -0.00237 | 0.05830 | 2.0003 | 0.17508 | 1.9999 | 0.35554 | 2.0002 | 0.53255 | 1.9999 | 0.71220 | 2.0002 | 0.71220 |
| 6 | 1.9996 | 0.00008 | 0.05966 | 1.9999 | 0.17823 | 1.9997 | 0.35760 | 1.9997 | 0.53414 | 1.9998 | 0.71270 | 2.0001 | 0.71270 |
| 7 | 1.9999 | 0.00010 | 0.05960 | 2.0002 | 0.17799 | 1.9996 | 0.35758 | 2.0000 | 0.53568 | 2.0002 | 0.71198 | 2.0001 | 0.71198 |
| ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย | | 0.00013 | 0.05884 | | 0.17688 | | 0.35657 | | 0.53442 | | 0.71229 | | 0.71229 |
| ค่าการดูดกลืนแสงที่ถูกต้อง | | - | 0.05871 | | 0.17675 | | 0.35644 | | 0.53429 | | 0.71216 | | 0.71216 |

หมายเหตุ ในกรณีที่ค่าการดูดกลืนแสงผิดปกติไม่นำค่ามาคิด

ตารางที่ 11 แสดงผลการตรวจสอบความแม่นยำ(accuracy), ร้อยละการคืนกลับ

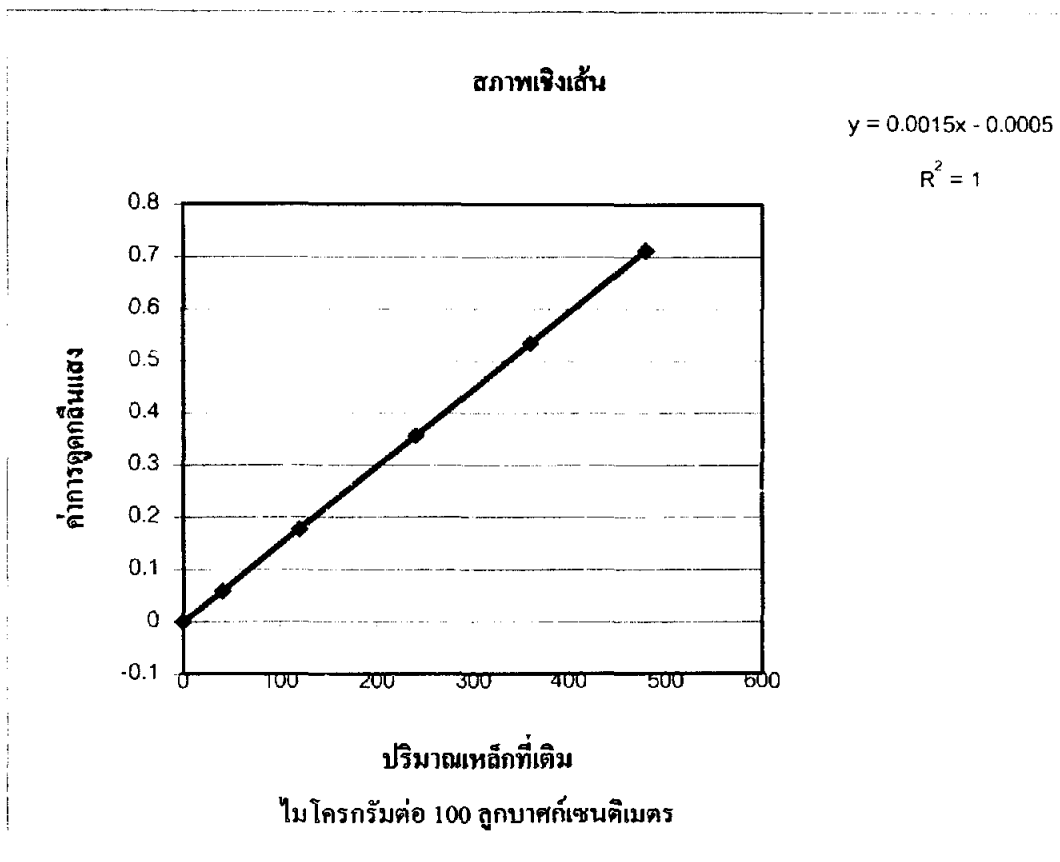
| ลำดับที่ | ปริมาณเหล็กที่เติม, ไมโครกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------|--|--------------------|-------------|--------------------|-------------|--------------------|-------------|--------------------|-------------|--------------------|-------------|--------------------|--|--|--|--|--|--|
| | ตัวอย่างสารสัมมนา | | 40 | | 120 | | 240 | | 360 | | 480 | | | | | | | |
| | ปริมาณเหล็ก | ปริมาณเหล็กทั้งหมด | ปริมาณเหล็ก | ปริมาณเหล็กทั้งหมด | ปริมาณเหล็ก | ปริมาณเหล็กทั้งหมด | ปริมาณเหล็ก | ปริมาณเหล็กทั้งหมด | ปริมาณเหล็ก | ปริมาณเหล็กทั้งหมด | ปริมาณเหล็ก | ปริมาณเหล็กทั้งหมด | | | | | | |
| 1 | 0.20 | 5.00 | 40.48 | 1012.00 | 119.54 | 2988.50 | 240.62 | 6015.50 | 360.23 | 9005.75 | 478.02 | 11950.50 | | | | | | |
| 2 | 0.03 | 0.75 | 40.19 | 1004.75 | 119.88 | 2997.00 | 240.70 | 6017.50 | 361.45 | 9036.25 | 481.43 | 12035.75 | | | | | | |
| 3 | 0.00 | 0.00 | 38.36 | 959.00 | 117.96 | 2949.00 | 238.76 | 5969.00 | 358.11 | 8952.75 | 478.10 | 11952.50 | | | | | | |
| 4 | 0.00 | 0.00 | 38.51 | 962.75 | 117.75 | 2943.75 | 238.00 | 5950.00 | 357.76 | 8944.00 | 477.69 | 11942.25 | | | | | | |
| 5 | 0.00 | 0.00 | 39.91 | 979.75 | 117.69 | 2942.25 | 239.00 | 5975.00 | 357.98 | 8949.50 | 478.75 | 11968.75 | | | | | | |
| 6 | 0.05 | 1.25 | 40.11 | 1002.75 | 119.81 | 2995.25 | 240.38 | 6009.50 | 359.06 | 8976.50 | 479.09 | 11977.25 | | | | | | |
| 7 | 0.07 | 1.75 | 40.06 | 1001.50 | 119.65 | 2991.25 | 240.37 | 6009.25 | 360.09 | 9002.25 | 478.60 | 11965.00 | | | | | | |
| ค่าเฉลี่ย | 0.09 | 2.19 | 39.56 | 988.93 | 118.90 | 2972.43 | 239.69 | 5992.25 | 359.24 | 8981.00 | 478.81 | 11970.25 | | | | | | |
| ร้อยละการคืนกลับ | - | - | - | 98.67 | - | 99.01 | - | 99.83 | - | 99.76 | - | 99.73 | | | | | | |
| หมายเหตุ | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

ตารางที่ 12 แสดงผลการตรวจสอบความเที่ยง(precision)

| ลำดับที่ | ตัวอย่างสารส้มน้ำ | | | | ตัวอย่างสารส้มน้ำ + 40 ไมโครกรัมต่อ 100 ลบ.ซม. | | | | |
|--------------------------|---|------------------|-------------|--------------------|---|------------------|----------------------|--------------------|---|
| | น้ำหนัก | ค่าการดูดกลืนแสง | ปริมาณเหล็ก | ปริมาณเหล็กทั้งหมด | น้ำหนัก | ค่าการดูดกลืนแสง | ปริมาณเหล็ก | ปริมาณเหล็กทั้งหมด | |
| 1 | 2.0001 | 0.00030 | 0.20 | 5.00 | 1.9996 | 0.06022 | 40.48 | 1012.00 | |
| 2 | 2.0001 | 0.00004 | 0.03 | 0.75 | 1.9998 | 0.05979 | 40.19 | 1004.75 | |
| 3 | 1.9997 | -0.00203 | 0.00 | 0.00 | 1.9997 | 0.05706 | 38.36 | 959.00 | |
| 4 | 2.0002 | -0.00220 | 0.00 | 0.00 | 1.9997 | 0.05728 | 38.51 | 962.75 | |
| 5 | 2.0003 | -0.00237 | 0.00 | 0.00 | 2.0003 | 0.05830 | 39.19 | 979.75 | |
| 6 | 1.9996 | 0.00008 | 0.05 | 1.25 | 1.9999 | 0.05966 | 40.11 | 1002.75 | |
| 7 | 1.9999 | 0.00010 | 0.07 | 1.75 | 2.0002 | 0.05960 | 40.06 | 1001.50 | |
| ค่าเฉลี่ย, ไมโครกรัม | | | 0.09 | 2.19 | ค่าเฉลี่ย, ไมโครกรัม | | 39.56 | 988.93 | |
| | | | | | | | ความเบี่ยงเบนมาตรฐาน | 0.79957 | - |
| | | | | | | | % RSD | 2.02 | - |
| ลำดับที่ | ตัวอย่างสารส้มน้ำ + 120 ไมโครกรัมต่อ 100 ลบ.ซม. | | | | ตัวอย่างสารส้มน้ำ + 360 ไมโครกรัมต่อ 100 ลบ.ซม. | | | | |
| | น้ำหนัก | ค่าการดูดกลืนแสง | ปริมาณเหล็ก | ปริมาณเหล็กทั้งหมด | น้ำหนัก | ค่าการดูดกลืนแสง | ปริมาณเหล็ก | ปริมาณเหล็กทั้งหมด | |
| 1 | 2.0002 | 0.17784 | 119.54 | 2988.50 | 2.0000 | 0.53589 | 360.23 | 9005.75 | |
| 2 | 2.0001 | 0.17834 | 119.88 | 2997.00 | 2.0002 | 0.53770 | 361.45 | 9036.25 | |
| 3 | 2.0002 | 0.17549 | 117.96 | 2949.00 | 2.0002 | 0.53274 | 358.11 | 8952.75 | |
| 4 | 2.0000 | 0.17517 | 117.75 | 2943.75 | 2.0001 | 0.53221 | 357.76 | 8944.00 | |
| 5 | 1.9999 | 0.17508 | 117.69 | 2942.25 | 1.9999 | 0.53255 | 357.98 | 8949.50 | |
| 6 | 1.9997 | 0.17823 | 119.81 | 2995.25 | 1.9998 | 0.53414 | 359.06 | 8976.50 | |
| 7 | 1.9996 | 0.17799 | 119.65 | 2991.25 | 2.0002 | 0.53568 | 360.09 | 9002.25 | |
| ค่าเฉลี่ย, ไมโครกรัม | | | 118.90 | 2972.43 | ค่าเฉลี่ย, ไมโครกรัม | | 359.24 | 8981.00 | |
| ความเบี่ยงเบนมาตรฐาน(SD) | | | 0.95848 | - | ความเบี่ยงเบนมาตรฐาน | | 1.29140 | - | |
| % RSD | | | 0.81 | - | % RSD | | 0.36 | - | |

สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์(correlation coefficient, r) = 0.99684

| ลำดับที่ | ปริมาณเหล็กที่เติม, ไมโครกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร | ค่าการดูดกลืนแสง |
|----------|--|------------------|
| 1 | 0 | 0 |
| 2 | 40 | 0.05871 |
| 3 | 120 | 0.17675 |
| 4 | 240 | 0.35644 |
| 5 | 360 | 0.53429 |
| 6 | 480 | 0.71216 |



รูปที่ 4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณเหล็กที่เติม

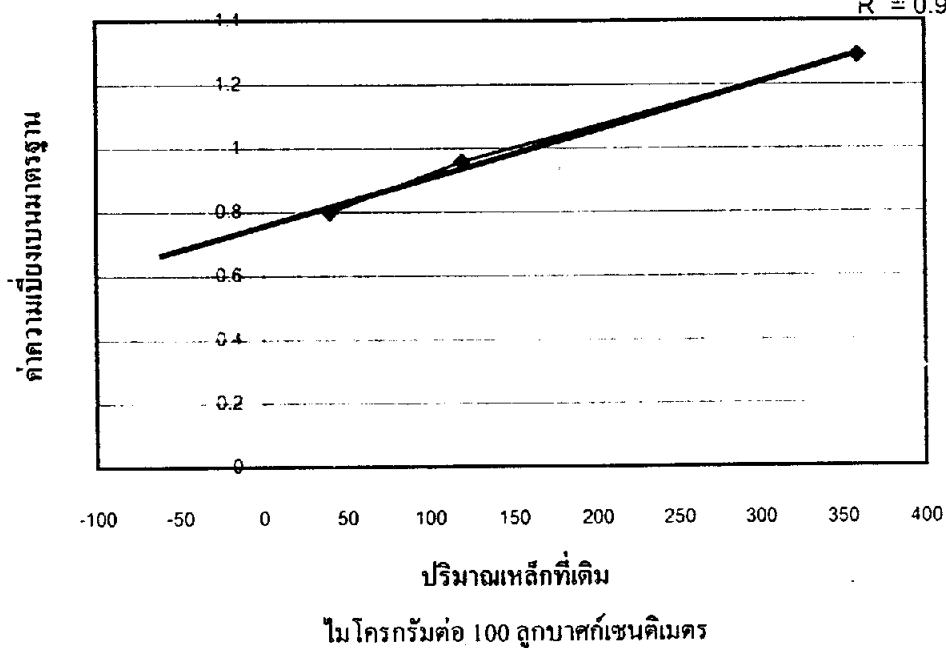
ตารางที่ 13 แสดงค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน(SD)กับปริมาณเหล็กที่เติม

| ลำดับที่ | ปริมาณเหล็กที่เติม, ไมโครกรัม ต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร | ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน |
|----------|--|-------------------------|
| 1 | 40 | 0.79957 |
| 2 | 120 | 0.95848 |
| 3 | 360 | 1.2914 |

ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเหล็กที่เติมกับค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน

$$y = 0.0015x + 0.7559$$

$$R^2 = 0.9937$$



รูปที่ 5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานกับปริมาณเหล็กที่เติม

เอ็มดีแอล(MDL) ร้อยละ 0.003

$$S_0 = 0.7559 \text{ ไมโครกรัมต่อ } 100 \text{ ลบ.ซม.}$$

$$\text{เอ็มดีแอล} = 3 S_0$$

$$= 3 \times 0.7559 \text{ ไมโครกรัมต่อ } 100 \text{ ลบ.ซม.}$$

$$= 2.27 \text{ ไมโครกรัมต่อ } 100 \text{ ลบ.ซม.}$$

$$\text{คำนวณเป็นเหล็ก, ร้อยละ} = \frac{2.27 \times 25 \times 10^{-4}}{2}$$

$$= 0.003$$

แอลโอคิว (LOQ) ร้อยละ 0.009

$$\text{แอลโอคิว} = 10 S_0$$

$$= 10 \times 0.7559 \text{ ไมโครกรัมต่อ } 100 \text{ ลบ.ซม.}$$

$$= 7.56 \text{ ไมโครกรัมต่อ } 100 \text{ ลบ.ซม.}$$

$$\text{คำนวณเป็นเหล็ก, ร้อยละ} = \frac{7.56 \times 25 \times 10^{-4}}{2}$$

$$= 0.009$$

ตารางที่ 14 แสดงผลการพิสูจน์ความแม่นยำและความเที่ยงของปริมาณเหล็กที่เท่ากับแอลโอคิว

| ลำดับที่ | ตัวอย่างสารส้มน้ำ | | | | ตัวอย่างสารส้มน้ำ + 200 ไมโครกรัม | | | |
|-----------------------------|-------------------|------------------|-------------|--------------------|-----------------------------------|------------------|-------------|--------------------|
| | น้ำหนัก | ค่าการดูดกลืนแสง | ปริมาณเหล็ก | ปริมาณเหล็กทั้งหมด | น้ำหนัก | ค่าการดูดกลืนแสง | ปริมาณเหล็ก | ปริมาณเหล็กทั้งหมด |
| 1 | 2.0003 | 0.00034 | 0.23 | 5.75 | 2.0003 | 0.01204 | 8.07 | 201.75 |
| 2 | 2.0001 | 0.00009 | 0.06 | 1.50 | 2.0001 | 0.01189 | 7.97 | 199.25 |
| 3 | 2.0002 | 0.00045 | 0.31 | 7.75 | 2.0002 | 0.01196 | 8.02 | 200.50 |
| 4 | 2.0002 | 0.00074 | 0.50 | 12.50 | 2.0003 | 0.01233 | 8.20 | 205.00 |
| 5 | 2.0001 | 0.00046 | 0.31 | 7.75 | 2.0003 | 0.01264 | 8.47 | 211.75 |
| 6 | 2.0002 | 0.00085 | 0.57 | 14.25 | 2.0001 | 0.01235 | 8.28 | 207.00 |
| 7 | 2.0003 | 0.00066 | 0.45 | 11.25 | 2.0002 | 0.01274 | 8.54 | 213.50 |
| ค่าเฉลี่ย, ไมโครกรัม | | | | 8.68 | ค่าเฉลี่ย, ไมโครกรัม | | 8.22 | 205.54 |
| | | | | | ความเบี่ยงเบนมาตรฐาน | | 0.22132 | 5.53291 |
| | | | | | % RSD | | 2.69 | 2.69 |
| ร้อยละการคืนกลับ(%Recovery) | | | | | | | | 98.43 |

ตารางที่ 15 แสดงความเที่ยงของผลการวิเคราะห์ตามวิธีที่ 1(มอก. 165-2542 : สารส้ม)

| ชื่อ ตัวอย่าง | น้ำหนักตัวอย่าง | ปริมาณเหล็ก(Fe), ไมโครกรัม | ปริมาณเหล็ก(Fe), ร้อยละ | ค่าเฉลี่ย (mean) | ความเบี่ยง เบนมาตรฐาน ฐาน(SD) | ความเบี่ยง เบนมาตรฐาน ฐานสัมพัทธ์ (% RSD) |
|---------------|-----------------|-------------------------------|----------------------------|---------------------|-------------------------------------|--|
| VP 478/1 | 2.4714 | 194.00 | 0.19624 | 0.18744 | 0.008511 | 4.54 |
| VP 478/2 | 2.2048 | 164.77 | 0.18683 | | | |
| VP 478/3 | 2.0932 | 190.08 | 0.17925 | | | |
| VQ 762/1 | 2.1808 | 141.46 | 0.16216 | 0.15816 | 0.007198 | 4.55 |
| VQ 762/2 | 2.0133 | 130.79 | 0.16247 | | | |
| VQ 762/3 | 2.1161 | 126.84 | 0.14985 | | | |
| VS 300/1 | 2.0428 | 173.91 | 0.21283 | 0.20727 | 0.005070 | 2.45 |
| VS 300/2 | 2.2578 | 183.24 | 0.20290 | | | |
| VS 300/3 | 2.1629 | 178.30 | 0.20609 | | | |
| VT 800/1 | 2.2688 | 126.58 | 0.13947 | 0.14049 | 0.002038 | 1.45 |
| VT 800/2 | 2.3232 | 132.74 | 0.14284 | | | |
| VT 800/3 | 2.1981 | 122.36 | 0.13917 | | | |
| VX 181/1 | 2.2832 | 165.36 | 0.18106 | 0.19397 | 0.01008 | 5.16 |
| VX 181/2 | 2.2004 | 171.82 | 0.19521 | | | |
| VX 181/3 | 2.2327 | 183.66 | 0.20565 | | | |

ตารางที่ 16 แสดงความเที่ยงของผลการวิเคราะห์ตามวิธีที่ 2 (วิธีที่พัฒนาขึ้น)

| ชื่อ ตัวอย่าง | น้ำหนักตัวอย่าง | ปริมาณเหล็ก (Fe), ไมโครกรัม | ปริมาณเหล็ก(Fe), ร้อยละ | ค่าเฉลี่ย (mean) | ความเบี่ยง เบนมาตรฐาน (SD) | ความเบี่ยง เบนมาตรฐาน สัมพัทธ์ (% RSD) |
|---------------|-----------------|-----------------------------------|----------------------------|---------------------|----------------------------------|---|
| VP 478/1 | 2.0347 | 189.77 | 0.23317 | 0.23041 | 0.003202 | 1.39 |
| VP 478/2 | 2.2469 | 207.76 | 0.23116 | | | |
| VP 478/3 | 2.1169 | 192.13 | 0.22690 | | | |
| VQ 762/1 | 2.2342 | 222.88 | 0.24940 | 0.25094 | 0.001406 | 0.56 |
| VQ 762/2 | 2.1416 | 216.00 | 0.25125 | | | |
| VQ 762/3 | 2.0773 | 208.79 | 0.25128 | | | |
| VS 300/1 | 2.2333 | 203.91 | 0.22826 | 0.23231 | 0.006006 | 2.59 |
| VS 300/2 | 2.1729 | 199.44 | 0.22946 | | | |
| VS 300/3 | 2.1648 | 207.48 | 0.23921 | | | |
| VT 800/1 | 2.0816 | 122.85 | 0.14754 | 0.14786 | 0.0002778 | 0.19 |
| VT 800/2 | 2.2062 | 130.64 | 0.14804 | | | |
| VT 800/3 | 2.1188 | 125.43 | 0.14800 | | | |
| VX 181/1 | 2.1320 | 194.12 | 0.22763 | 0.22786 | 0.0004131 | 0.18 |
| VX 181/2 | 2.2029 | 200.47 | 0.22751 | | | |
| VX 181/3 | 2.0672 | 189.99 | 0.22844 | | | |

ตารางที่ 17 แสดงความแม่นยำของผลการวิเคราะห์ตามวิธีที่ 1(มอก. 165-2542 : สารส้ม)

| ชื่อ ตัวอย่าง | น้ำหนักตัว อย่าง, กรัม | ปริมาณเหล็ก(Fe) ทั้งหมด, ไมโครกรัม | ปริมาณเหล็ก(Fe) ที่ มีอยู่ในตัวอย่าง, ไมโครกรัม | ปริมาณเหล็ก(Fe) ที่วิเคราะห์ได้, ไมโครกรัม | ร้อยละการคืน กลับ (% Recovery) | ค่าเฉลี่ย (mean) | ความเบี่ยง เบนมาตรฐาน (SD) | ความเบี่ยงเบน มาตรฐาน สัมพัทธ์ (% RSD) |
|---------------|------------------------------|--|---|--|--------------------------------------|---------------------|----------------------------------|---|
| VP 478/1 | 2.0280 | 6345.75 | 3801.28 | 2544.47 | 127.22 | 127.02 | 2.08 | 1.64 |
| VP 478/2 | 2.0176 | 6361.50 | 3781.79 | 2579.71 | 128.99 | | | |
| VP 478/3 | 2.0368 | 6314.75 | 3817.78 | 2496.97 | 124.85 | | | |
| VQ 762/1 | 2.0294 | 6123.00 | 3209.70 | 2913.30 | 145.67 | 141.60 | 3.58 | 2.52 |
| VQ 762/2 | 20417 | 6008.25 | 3229.15 | 2779.10 | 138.95 | | | |
| VQ 762/3 | 2.0300 | 6014.25 | 3210.65 | 2803.60 | 140.18 | | | |
| VS 300/1 | 2.0439 | 6702.75 | 4236.39 | 2466.36 | 123.38 | 125.71 | 2.15 | 1.71 |
| VS 300/2 | 2.0570 | 6815.75 | 4263.54 | 2552.21 | 127.61 | | | |
| VS 300/3 | 2.0646 | 6802.25 | 4279.30 | 2522.95 | 126.15 | | | |
| VT 800/1 | 2.0452 | 5012.50 | 2873.30 | 2139.20 | 106.96 | 107.25 | 0.81 | 0.75 |
| VT 800/2 | 2.0098 | 4986.75 | 2823.57 | 2163.18 | 108.16 | | | |
| VT 800/3 | 2.0013 | 4944.25 | 2811.63 | 2132.63 | 106.63 | | | |
| VX 181/1 | 2.0414 | 6452.00 | 3959.70 | 2492.30 | 124.61 | 128.68 | 3.72 | 2.89 |
| VX 181/2 | 2.0354 | 6620.25 | 3948.07 | 2672.18 | 133.61 | | | |
| VX 181/3 | 2.0353 | 6504.50 | 3947.87 | 2556.63 | 127.83 | | | |

หมายเหตุ : ปริมาณเหล็กที่เติม 2000 ไมโครกรัม

ตารางที่ 18 แสดงความแม่นยำของผลการวิเคราะห์ตามวิธีที่ 2 (วิธีที่พัฒนาขึ้น)

| ชนิดตัวอย่าง | น้ำหนักตัว อย่าง, กรัม | ปริมาณเหล็ก(Fe) ทั้งหมด, ไมโครกรัม | ปริมาณเหล็ก(Fe) ที่มี อยู่ในตัวอย่าง, ไมโครกรัม | ปริมาณเหล็ก(Fe) ที่วิเคราะห์ได้, ไมโครกรัม | ร้อยละการคืน กลับ (% Recovery) | ค่าเฉลี่ย (mean) | ความเบี่ยง เบนมาตรฐาน (SD) | ความเบี่ยงเบน มาตรฐาน สัมพัทธ์ (% RSD) |
|--------------|------------------------------|--|---|--|--------------------------------------|---------------------|----------------------------------|---|
| VP 478/1 | 1.9800 | 6472.00 | 4562.12 | 1909.88 | 95.49 | 97.53 | 2.71 | 2.78 |
| VP 478/2 | 2.0603 | 6677.00 | 4747.14 | 1929.86 | 96.49 | | | |
| VP 478/3 | 2.0165 | 6658.25 | 4646.22 | 2012.03 | 100.60 | | | |
| VQ 762/1 | 2.0116 | 6977.50 | 5047.91 | 1929.59 | 96.48 | 94.76 | 1.91 | 2.02 |
| VQ 762/2 | 1.9510 | 6797.50 | 4895.84 | 1901.66 | 95.08 | | | |
| VQ 762/3 | 1.9628 | 6779.75 | 4925.45 | 1854.30 | 92.71 | | | |
| VS 300/1 | 2.0230 | 6837.00 | 4699.63 | 2137.37 | 106.87 | 105.42 | 2.59 | 2.46 |
| VS 300/2 | 2.0595 | 6833.00 | 4784.42 | 2048.58 | 102.43 | | | |
| VS 300/3 | 2.0328 | 6861.50 | 4722.40 | 2139.10 | 106.96 | | | |
| VT 800/1 | 2.1361 | 5345.50 | 3158.44 | 2187.06 | 109.35 | 106.10 | 5.91 | 5.57 |
| VT 800/2 | 2.0689 | 5044.75 | 3059.08 | 1985.67 | 99.28 | | | |
| VT 800/3 | 2.0590 | 5237.75 | 3044.44 | 2193.31 | 109.66 | | | |
| VX 181/1 | 2.0000 | 6459.25 | 4557.20 | 1902.05 | 95.10 | 99.77 | 1.92 | 1.92 |
| VX 181/2 | 2.0559 | 6632.75 | 4684.57 | 1948.18 | 97.41 | | | |
| VX 181/3 | 2.0135 | 6544.00 | 4587.96 | 1956.04 | 97.80 | | | |

หมายเหตุ : ปริมาณเหล็กที่เติม 2000 ไมโครกรัม

ตารางที่ 19 แสดงผลการเปรียบเทียบความเที่ยง โดยวิธีทางสถิติ t-Test: Paired Two Sample
for Means

| | | | | | |
|-------------------|------|------|------|------|------|
| %RSD ₁ | 4.54 | 4.55 | 2.45 | 1.45 | 5.16 |
| %RSD ₂ | 1.39 | 0.56 | 2.59 | 0.19 | 0.18 |

t-Test: Paired Two Sample for

Means

| | <i>Variable 1</i> | <i>Variable 2</i> |
|---------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mean | 3.63 | 0.982 |
| Variance | 2.54005 | 1.05017 |
| Observations | 5 | 5 |
| Pearson Correlation | -0.21657824 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0 | |
| df | 4 | |
| t Stat | 2.856185766 | |
| P(T<=t) one-tail | 0.023053352 | |
| t Critical one-tail | 2.131846486 | |
| P(T<=t) two-tail | 0.046106703 | |
| t Critical two-tail | 2.776450856 | |

ตารางที่ 20 แสดงผลการเปรียบเทียบความแม่นยำโดยวิธีทางสถิติ t-Test: Paired Two Sample for Means

| | | | | | |
|------------------------|------|-------|--------|--------|--------|
| %Recovery ₁ | 127 | 141.6 | 125.71 | 107.25 | 128.68 |
| %Recovery ₂ | 97.5 | 94.8 | 105.4 | 106.09 | 96.8 |

t-Test: Paired Two Sample for Means

| | <i>Variable 1</i> | <i>Variable 2</i> |
|------------------------------|-------------------|-------------------|
| Mean | 126.048 | 100.118 |
| Variance | 150.79437 | 27.42712 |
| Observations | 5 | 5 |
| Pearson Correlation | -0.8084895 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0 | |
| df | 4 | |
| t Stat | 3.4514454 | |
| P(T<=t) one-tail | 0.01301 | |
| t Critical one-tail | 2.1318465 | |
| P(T<=t) two-tail | 0.0260201 | |
| t Critical two-tail | 2.7764509 | |

ตารางที่ 21 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก(Fe)ในตัวอย่างสารส้มน้ำ

| ลำดับที่ | ชื่อตัวอย่าง | หมายเลข ปฏิบัติการ | ปริมาณ Fe(%) | | | %Recovery | RPD | Correlation coefficient |
|----------|------------------------------|-----------------------|--------------|---------|-----------|-----------|------|----------------------------|
| | | | X_1 | X_2 | \bar{X} | | | |
| 1. | สารส้มน้ำ | UK 488 | 0.23237 | 0.23180 | 0.23208 | 100.6 | 0.25 | 0.99994 |
| 2. | สารส้มน้ำ | UL946 | 0.15164 | 0.15146 | 0.15155 | 99.0 | 0.12 | 0.99998 |
| 3. | สารส้มน้ำ เดือน ม. ค. 43 | UM 777 | 0.14034 | 0.13942 | 0.13988 | 103.9 | 0.66 | 0.99996 |
| 4. | สารส้มน้ำ เดือน ก. พ. 43 | UN 983 | 0.18593 | 0.18498 | 0.18600 | 102.0 | 0.08 | 0.99999 |
| 5. | สารส้มน้ำ เดือน มี. ย. 43 | US 800 | 0.18332 | 0.18261 | 0.18291 | 100.4 | 0.33 | 0.99999 |
| 6. | สารส้มน้ำ เดือน ก. ค. 43 | UU 110 | 0.18063 | 0.18012 | 0.18037 | 101.2 | 0.28 | 0.99999 |
| 7. | สารส้มน้ำ เดือน ส. ค. 43 | UV 89 | 0.20350 | 0.20452 | 0.20401 | 99.5 | 0.50 | 0.99999 |
| 8. | สารส้มน้ำ เดือน ก. ย. 43 | UW 149 | 0.20542 | 0.20438 | 0.20489 | 101.1 | 0.50 | 0.99999 |
| 9. | สารส้มน้ำ เดือน ต. ค. 43 | UX 684 | 0.20070 | 0.20392 | 0.20231 | 103.4 | 1.59 | 0.99999 |
| 10. | สารส้มน้ำ เดือน พ. ย. 43 | UZ 201 | 0.20061 | 0.20122 | 0.20091 | 99.0 | 0.30 | 1.0000 |
| 11. | สารส้มน้ำ | VA 723 | 0.19630 | 0.19915 | 0.19772 | 97.9 | 1.44 | 1.0000 |
| 12. | สารส้มน้ำ | VB 669 | 0.19847 | 0.19866 | 0.19856 | 99.2 | 0.10 | 0.99998 |
| 13. | สารส้มน้ำ | VC 904 | 0.19806 | 0.19737 | 0.19771 | 100.2 | 0.35 | 0.99990 |
| 14. | สารส้มน้ำ | VD 687 | 0.19428 | 0.19463 | 0.19495 | 98.8 | 0.69 | 0.99984 |
| 15. | สารส้มน้ำ | VF 670 | 0.20223 | 0.20222 | 0.20222 | 100.9 | 0 | 0.99997 |
| 16. | สารส้มน้ำ | VH 14 | 0.20136 | 0.20150 | 0.20154 | 99.8 | 0.18 | 0.99992 |
| 17. | สารส้มน้ำ | VI 700 | 0.20744 | 0.20722 | 0.20733 | 101.0 | 0.11 | 0.99993 |
| 18. | สารส้มน้ำ เดือน ก.ค 44 | VJ 180 | 0.20286 | 0.21038 | 0.20932 | 99.4 | 1.01 | 0.99994 |

ตารางที่ 22 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก(Fe), ร้อยละ เท่ากับแอลโอคิว

| ลำดับที่ | ปริมาณเหล็ก(Fe), ร้อยละ |
|--|-------------------------|
| 1 | 0.0084 |
| 2 | 0.0082 |
| 3 | 0.0095 |
| 4 | 0.0085 |
| 5 | 0.0085 |
| 6 | 0.0080 |
| 7 | 0.0083 |
| ค่าเฉลี่ย(mean) | 0.0085 |
| ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน(SD) | 0.00048 |
| ร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐาน สัมพัทธ์(%RSD) | 5.67 |

ตารางที่ 23 แสดงผลการประเมินค่าความไม่แน่นอน

| ลำดับที่ | หมายเลขปฏิบัติการ | ค่าความไม่แน่นอน % | | รายงานผล (%) $\bar{X} \pm U$ |
|----------|-------------------|--------------------|-------|---------------------------------|
| | | U_1 | U_2 | |
| 1 | UK 488 | 0.005 | 0.005 | 0.23 ± 0.005 |
| 2 | UL 492 | 0.005 | 0.005 | 0.15 ± 0.005 |
| 3 | UM 777 | 0.004 | 0.004 | 0.14 ± 0.004 |
| 4 | UN 983 | 0.004 | 0.004 | 0.19 ± 0.004 |
| 5. | US 800 | 0.005 | 0.005 | 0.18 ± 0.005 |
| 6 | UU 110 | 0.005 | 0.005 | 0.18 ± 0.005 |
| 7 | UV 89 | 0.005 | 0.005 | 0.20 ± 0.005 |
| 8 | UW 419 | 0.005 | 0.005 | 0.20 ± 0.005 |
| 9 | UX 684 | 0.007 | 0.007 | 0.20 ± 0.007 |
| 10 | UZ 201 | 0.005 | 0.005 | 0.20 ± 0.005 |
| 11 | VA 723 | 0.004 | 0.004 | 0.20 ± 0.004 |
| 12. | VB 669 | 0.005 | 0.005 | 0.20 ± 0.005 |
| 13. | VC 904 | 0.006 | 0.006 | 0.20 ± 0.006 |
| 14. | VD 687 | 0.006 | 0.006 | 0.19 ± 0.006 |
| 15. | VF 670 | 0.005 | 0.005 | 0.20 ± 0.005 |
| 16. | VH 14 | 0.006 | 0.006 | 0.20 ± 0.006 |
| 17. | VI 700 | 0.005 | 0.005 | 0.20 ± 0.005 |
| 18. | VJ.180 | 0.005 | 0.005 | 0.21 ± 0.005 |

ตารางที่ 24 แสดงผลการประเมินค่าความไม่แน่นอนที่ความเข้มข้นเท่ากับ แอลโอคิว

| ลำดับที่ | ปริมาณเหล็ก (Fe), ร้อยละ | ความไม่แน่นอน U | รายงานผล $\bar{X} \pm U$ |
|----------|-----------------------------|-----------------|--------------------------|
| 1 | 0.0084 | 0.0038 | 0.008 ± 0.004 |
| 2 | 0.0082 | 0.0038 | 0.008 ± 0.004 |
| 3 | 0.0095 | 0.0038 | 0.010 ± 0.004 |
| 4 | 0.0085 | 0.0038 | 0.008 ± 0.004 |
| 5 | 0.0085 | 0.0038 | 0.008 ± 0.004 |
| 6 | 0.0080 | 0.0038 | 0.008 ± 0.004 |
| 7 | 0.0083 | 0.0038 | 0.008 ± 0.004 |

ตารางที่ 25 แสดงผลการหาค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของการซั่งน้ำหนักของน้ำที่บรรจุในเครื่องแก้ว (n = 10)

ตารางที่ 25.1 ปีเปิด 1.00 ลูกบาศก์เซนติเมตร

| N | น้ำหนักของน้ำที่เท ออกจากเครื่องแก้ว 1 | น้ำหนักของน้ำที่เท ออกจากเครื่องแก้ว 2 |
|-----------------|---|---|
| 1 | 0.9946 | 0.9965 |
| 2 | 1.0008 | 1.0022 |
| 3 | 0.9967 | 0.9976 |
| 4 | 0.9934 | 1.0116 |
| 5 | 1.0001 | 0.9911 |
| 6 | 0.9995 | 0.9943 |
| 7 | 1.0000 | 0.9965 |
| 8 | 0.9987 | 0.9918 |
| 9 | 1.0007 | 0.9929 |
| 10 | 1.0001 | 0.986 |
| Mean | 0.99846 | 0.99605 |
| SD. | 0.002509661 | 0.006625594 |
| SD ² | 6.2984×10^{-6} | 4.38985×10^{-5} |
| F test | 6.970 | |
| Fcritical | 4.026 | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |

ตารางที่ 25.2 ปีเปิด 2.00 ลูกบาศก์เซนติเมตร

| N | น้ำหนักของน้ำที่เท ออกจากเครื่องแก้ว 1 | น้ำหนักของน้ำที่เท ออกจากเครื่องแก้ว 2 |
|-----------------|---|---|
| 1 | 1.9809 | 1.9957 |
| 2 | 1.9777 | 1.9956 |
| 3 | 1.9808 | 1.9962 |
| 4 | 1.9805 | 1.9914 |
| 5 | 1.9779 | 2.0011 |
| 6 | 1.9859 | 2.000 |
| 7 | 1.9864 | 1.9947 |
| 8 | 1.9962 | 1.9906 |
| 9 | 2.0021 | 1.9932 |
| 10 | 1.9968 | 1.9977 |
| Mean | 1.98652 | 1.99562 |
| SD. | 0.008337602 | 0.003392737 |
| SD ² | 6.95156×10^{-5} | 1.15107×10^{-5} |
| F test | 6.039 | |
| Fcritical | 4.026 | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |

ตารางที่ 25.3 ปีเปิด 4.00 ลูกบาศก์เซนติเมตร

| N | น้ำหนักของน้ำที่เท | น้ำหนักของน้ำที่เท |
|-----------------|--------------------------|--------------------------|
| | ออกจากเครื่องแก้ว 1 | ออกจากเครื่องแก้ว 2 |
| 1 | 3.9883 | 3.9837 |
| 2 | 3.9953 | 3.9887 |
| 3 | 3.9867 | 3.982 |
| 4 | 3.9885 | 3.9852 |
| 5 | 3.9893 | 3.9848 |
| 6 | 3.9882 | 3.9764 |
| 7 | 3.9875 | 3.9858 |
| 8 | 3.9882 | 3.9878 |
| 9 | 3.9869 | 3.9863 |
| 10 | 3.9889 | 3.9846 |
| Mean | 3.98878 | 3.98453 |
| SD. | 0.002308159 | 0.003264062 |
| SD ² | 5.3276×10^{-6} | 1.06541×10^{-5} |
| F test | 2.034 | |
| Fcritical | 4.026 | |
| $(n_1-1)SD_1^2$ | 4.79484×10^{-5} | - |
| $(n_2-1)SD_2^2$ | 9.58869×10^{-5} | - |
| Sum | 0.000143835 | - |
| Sum/18 | 7.99085×10^{-6} | $S_{pooled} = 0.0028268$ |

ตารางที่ 25.4 ปีเปิด 5.00 ลูกบาศก์เซนติเมตร

| N | น้ำหนักของน้ำที่เท | น้ำหนักของน้ำที่เท |
|-----------------|---------------------|--------------------------|
| | ออกจากเครื่องแก้ว 1 | ออกจากเครื่องแก้ว 2 |
| 1 | 5.0348 | 5.0093 |
| 2 | 5.0354 | 5.004 |
| 3 | 5.0399 | 5.019 |
| 4 | 5.042 | 5.0139 |
| 5 | 5.0297 | 5.0043 |
| 6 | 5.0186 | 4.9985 |
| 7 | 5.0101 | 4.9878 |
| 8 | 5.0098 | 5.001 |
| 9 | 5.0204 | 5.0011 |
| 10 | 5.0146 | 5.019 |
| Mean | 5.02553 | 5.00579 |
| SD. | 0.011652558 | 0.009242559 |
| SD ² | 0.000135782 | 8.54249×10^{-5} |
| F test | 1.589 | |
| Fcritical | 4.026 | |
| $(n_1-1)SD_1^2$ | 0.001222039 | - |
| $(n_2-1)SD_2^2$ | 0.000768824 | - |
| Sum | 0.001990863 | - |
| Sum/18 | 0.000110604 | $S_{pooled} = 0.0105168$ |

ตารางที่ 25.5 ปีเปิด 3.00 ลูกบาศก์เซนติเมตร

| N | น้ำหนักของน้ำที่เท ออกจากเครื่องแก้ว 1 | น้ำหนักของน้ำที่เท ออกจากเครื่องแก้ว 2 |
|-----------------|---|---|
| 1 | 3.0005 | 2.9898 |
| 2 | 2.98 | 2.9782 |
| 3 | 2.9791 | 2.9912 |
| 4 | 2.9817 | 2.9907 |
| 5 | 2.9773 | 2.9887 |
| 6 | 2.9773 | 2.9813 |
| 7 | 2.9781 | 2.9975 |
| 8 | 2.9761 | 2.9907 |
| 9 | 2.9759 | 2.9902 |
| 10 | 2.9783 | 2.9889 |
| Mean | 2.98043 | 2.98872 |
| SD. | 0.006893482 | 0.005100941 |
| SD ² | 4.75201×10^{-5} | 2.60196×10^{-5} |
| F test | 1.826 | |
| Fcritical | 4.026 | |
| $(n_1-1)SD_1^2$ | 0.000427681 | |
| $(n_2-1)SD_2^2$ | 0.000234176 | |
| Sum | 0.000661857 | |
| Sum/18 | 3.67698×10^{-5} | $S_{pooled} = 0.0060638$ |

ตารางที่ 25.6 บีเปิด 10.00 ลูกบาศก์เซนติเมตร

| N | น้ำหนักของน้ำที่เท ออกจากเครื่องแก้ว 1 | น้ำหนักของน้ำที่เท ออกจากเครื่องแก้ว 2 |
|-----------------|---|---|
| 1 | 9.9668 | 9.9695 |
| 2 | 9.9703 | 9.9698 |
| 3 | 9.9673 | 9.9639 |
| 4 | 9.9679 | 9.966 |
| 5 | 9.9621 | 9.9645 |
| 6 | 9.9658 | 9.9645 |
| 7 | 9.9598 | 9.9627 |
| 8 | 9.961 | 9.968 |
| 9 | 9.9729 | 9.9611 |
| 10 | 9.9647 | 9.959 |
| Mean | 9.96586 | 9.9649 |
| SD. | 0.004112636 | 0.003518207 |
| SD ² | 1.69138×10^{-5} | 1.23778×10^{-5} |
| F test | 1.366 | |
| Fcritical | 4.026 | |
| $(n_1-1)SD_1^2$ | 0.000152224 | |
| $(n_2-1)SD_2^2$ | 0.0001114 | |
| Sum | 0.000263624 | |
| Sum/18 | 1.46458×10^{-5} | $S_{pooled} = 0.003827$ |

ตารางที่ 25.7 ขวดวัดปริมาตร 100.00 ลูกบาศก์เซนติเมตร

| N | น้ำหนักของน้ำที่ บรรจุในเครื่องแก้ว 1 | น้ำหนักของน้ำที่ บรรจุในเครื่องแก้ว 2 |
|-----------------|--|--|
| 1 | 99.447 | 99.6113 |
| 2 | 99.461 | 99.6143 |
| 3 | 99.4548 | 99.5778 |
| 4 | 99.463 | 99.5864 |
| 5 | 99.4573 | 99.5701 |
| 6 | 99.4646 | 99.5765 |
| 7 | 99.4701 | 99.5607 |
| 8 | 99.4616 | 99.59 |
| 9 | 99.4432 | 99.5836 |
| 10 | 99.4453 | 99.5844 |
| Mean | 99.45679 | 99.58551 |
| SD. | 0.009032958 | 0.016711436 |
| SD ² | 8.15943×10^{-5} | 0.000279272 |
| F test | 3.423 | |
| Fcritical | 4.026 | |
| $(n_1-1)SD_1^2$ | 0.000734349 | |
| $(n_2-1)SD_2^2$ | 0.002513449 | |
| Sum | 0.003247798 | |
| Sum/18 | 0.000180433 | $S_{pooled} = 0.01343$ |

$$S_{pooled} = \sqrt{\frac{(m-1) \times S_1^2 + (n-1) \times S_2^2}{(m+n)-2}}$$

$$S_{pooled} = \sqrt{\frac{(9 \times 1.69 \times 10^{-5}) + (9 \times 1.238 \times 10^{-5})}{(10+10)-2}}$$

$$= 0.003827$$

ตารางที่ 26 แสดงค่าความไม่แน่นอนของเครื่องแก้วที่ใช้เตรียมสารละลายตัวอย่าง

| Description | Symbol | Value(V) | Spec.(mL) | U_{spec} | U_{lem} | U | U/V | $[U/V]^2$ |
|------------------|-----------|----------|-----------|-------------------|------------------|---------|------------------------|------------------------|
| volume 250 mL | V_{250} | 250 | 0.12 | 0.04899 | 0.15155 | 0.15927 | 6.370×10^{-4} | 4.058×10^{-7} |
| pipette 10 mL. | P_{10} | 10 | 0.02 | 0.008165 | 0.006062 | 0.01017 | 1.017×10^{-3} | 1.034×10^{-6} |
| volume 100 mL | V_{100} | 100 | 0.08 | 0.03266 | 0.060622 | 0.06886 | 6.886×10^{-4} | 4.742×10^{-7} |
| • Sum | | | | | | | | 1.914×10^{-6} |
| $U_{(V)}$ as RSD | | | | | | | | 0.00138 |

$$\begin{aligned}
 U_{(V)} \text{ as RSD} &= \pm \sqrt{(U_{(V)250}/250)^2 + (U_{(P)10}/10)^2 + (U_{(V)100}/100)^2} \\
 &= \pm \sqrt{(6.370 \times 10^{-4})^2 + (1.017 \times 10^{-3})^2 + (6.886 \times 10^{-4})^2} \\
 &= \pm 1.38000 \times 10^{-3} \\
 &= \pm 0.00138
 \end{aligned}$$

ตารางที่ 27 แสดงค่าความไม่แน่นอนของเครื่องแก้วที่ใช้เตรียมสารละลายมาตรฐาน

| Glassware type | Symbol | Spec.(mL) | U_{spec} | U_{ini} | U | U/V | $[U/V]^2$ |
|----------------|-----------|-----------|-------------------|------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| pipette 1 mL. | P_1 | 0.006 | 0.002449 | 0.006626 | 7.090×10^{-3} | 7.064×10^{-3} | 4.99×10^{-5} |
| pipette 2 mL. | P_2 | 0.006 | 0.002449 | 0.008338 | 8.774×10^{-3} | 4.345×10^{-3} | 1.888×10^{-5} |
| pipette 3 mL. | P_3 | 0.01 | 0.004082 | 0.006064 | 7.533×10^{-3} | 2.437×10^{-3} | 5.939×10^{-6} |
| pipette 4 mL. | P_4 | 0.01 | 0.004082 | 0.002827 | 5.526×10^{-3} | 1.241×10^{-3} | 1.540×10^{-6} |
| pipette 5 mL. | P_5 | 0.015 | 0.006124 | 0.010517 | 0.01254 | 2.434×10^{-3} | 5.924×10^{-6} |
| pipette 10 mL. | P_{10} | 0.02 | 0.008165 | 0.003827 | 0.01087 | 9.000×10^{-4} | 8.100×10^{-7} |
| volume 100 mL | V_{100} | 0.08 | 0.03266 | 0.013439 | 0.07016 | 3.531×10^{-4} | 1.250×10^{-7} |

ตารางที่ 28 แสดงค่าความไม่แน่นอนของสารละลายมาตรฐานหลักช่วงใช้งาน

| Dilution factor | Value(X) | Standard uncertainty[U _(x)] | U _(x) / X | [U _(x) / X] ² |
|-----------------|-------------------|---|--------------------------|-------------------------------------|
| f-10 | 10 | 9.670 × 10 ⁻³ | 9.670 × 10 ⁻⁴ | 9.351 × 10 ⁻⁷ |
| f-100 | 100 | 7.070 × 10 ⁻¹ | 7.070 × 10 ⁻³ | 5.000 × 10 ⁻⁵ |
| f-50 | 50 | 2.180 × 10 ⁻¹ | 4.360 × 10 ⁻³ | 1.900 × 10 ⁻⁵ |
| f-33.3 | 33.3 | 8.192 × 10 ⁻² | 2.460 × 10 ⁻³ | 6.060 × 10 ⁻⁶ |
| f-25 | 25 | 3.225 × 10 ⁻² | 1.290 × 10 ⁻³ | 1.6700 × 10 ⁻⁶ |
| f-20 | 20 | 4.920 × 10 ⁻² | 2.460 × 10 ⁻³ | 6.050 × 10 ⁻⁶ |
| C Stock | 1001 mg / L | 1.1547 mg / L | 1.154 × 10 ⁻³ | 1.332 × 10 ⁻⁶ |
| C ₁ | 100.1 mg / L | 0.15085 mg / L | 1.507 × 10 ⁻³ | 2.271 × 10 ⁻⁶ |
| C ₂ | 100.1 µg / 100 mL | 0.72392 µg / 100 mL | 7.232 × 10 ⁻³ | 5.230 × 10 ⁻⁵ |
| C ₃ | 200.2 µg / 100 mL | 0.92392 µg / 100 mL | 4.615 × 10 ⁻³ | 2.130 × 10 ⁻⁵ |
| C ₄ | 300.3 µg / 100 mL | 0.86667 µg / 100 mL | 2.886 × 10 ⁻³ | 8.330 × 10 ⁻⁶ |
| C ₅ | 400.4 µg / 100 mL | 0.79479 µg / 100 mL | 1.985 × 10 ⁻³ | 3.940 × 10 ⁻⁶ |
| C ₆ | 500.5 µg / 100 mL | 1.4434 µg / 100 mL | 2.884 × 10 ⁻³ | 8.317 × 10 ⁻⁶ |

$$\frac{U_f}{f} = \sqrt{\left[\frac{U_{(v_f)}}{v_f}\right]^2 + \left[\frac{U_{(v_i)}}{v_i}\right]^2}$$

$$\frac{U_{C_1}}{C_1} = \sqrt{\left[\frac{U_{C(\text{Stock})}}{C_{(\text{Stock})}}\right]^2 + \left[\frac{U_{(f10)}}{f10}\right]^2}$$

$$\frac{U_c}{c} = \sqrt{\left[\frac{U_{C(\text{Stock})}}{C_{(\text{Stock})}}\right]^2 + \left[\frac{U_{(C1)}}{C1}\right]^2 + \left[\frac{U_{(C2)}}{C2}\right]^2 + \left[\frac{U_{(C3)}}{C3}\right]^2 + \left[\frac{U_{(C4)}}{C4}\right]^2 + \left[\frac{U_{(C5)}}{C5}\right]^2 + \left[\frac{U_{(C6)}}{C6}\right]^2}$$

$$\begin{aligned} U_{f10} / f10 &= \pm \sqrt{(U_{(v_f)} 100/100)^2 + (U_{(v_i)} 10/10)^2} \\ &= \pm \sqrt{(1.250 \times 10^{-7}) + (8.100 \times 10^{-7})} \\ &= \pm 9.670 \times 10^{-4} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \frac{U_{(c)}}{c} &= \pm \sqrt{\frac{(1.154 \times 10^{-3})^2 + (1.507 \times 10^{-3})^2 + (7.232 \times 10^{-3})^2 + (4.615 \times 10^{-3})^2}{(2.886 \times 10^{-3})^2 + (1.985 \times 10^{-3})^2 + (2.884 \times 10^{-3})^2}} \\ &= \pm 9.823 \times 10^{-3} \end{aligned}$$

ตารางที่ 29 แสดงการคำนวณ Uco โดยใช้โปรแกรม Microsoft excel

| Aj | Cj | Cj - C = Cj - 300 | (Cj - C)² | Bo + BI x Cj | Aj - (Bo + BI x Cj) | [Aj - (Bo + BI x Cj)]² |
|---------|-----|-------------------|-----------|--------------|---------------------|------------------------|
| 0.14725 | 100 | -200 | 40000 | 0.149 | -0.00175 | 3.0625E-06 |
| 0.14728 | 100 | -200 | 40000 | 0.149 | -0.00172 | 2.9584E-06 |
| 0.147 | 100 | -200 | 40000 | 0.149 | -0.002 | 4E-06 |
| 0.30138 | 200 | -100 | 10000 | 0.298 | 0.00338 | 1.14244E-05 |
| 0.30155 | 200 | -100 | 10000 | 0.298 | 0.00355 | 1.26025E-05 |
| 0.30149 | 200 | -100 | 10000 | 0.298 | 0.00349 | 1.21801E-05 |
| 0.4485 | 300 | 0 | 0 | 0.447 | 0.0015 | 0.00000225 |
| 0.44842 | 300 | 0 | 0 | 0.447 | 0.00142 | 2.0164E-06 |
| 0.44857 | 300 | 0 | 0 | 0.447 | 0.00157 | 2.4649E-06 |
| 0.5938 | 400 | 100 | 10000 | 0.596 | -0.0022 | 4.84E-06 |
| 0.5939 | 400 | 100 | 10000 | 0.596 | -0.0021 | 4.41E-06 |
| 0.59398 | 400 | 100 | 10000 | 0.596 | -0.00202 | 4.0804E-06 |
| 0.74944 | 500 | 200 | 40000 | 0.745 | 0.00444 | 1.97136E-05 |
| 0.74971 | 500 | 200 | 40000 | 0.745 | 0.00471 | 2.21841E-05 |
| 0.74948 | 500 | 200 | 40000 | 0.745 | 0.00448 | 2.00704E-05 |
| | | | 300000 | | | 0.000128258 |

| N | Co/1 | Co/2 |
|---------|-----------|--------------|
| 1 | 162.5 | 166.07 |
| 2 | 162.5 | 166.07 |
| 3 | 162.37 | 166.12 |
| Mean | 162.45667 | 166.0866667 |
| Co-C | -137.5433 | -133.9133333 |
| (Co-C)² | 18918.169 | 17932.78084 |

$$S_{xx} = \sum_{j=1}^n (C_j - \bar{C})^2$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n A_j - (B_0 + B_1 C_j)}{n-2}}^2$$

$$U_{Co} = \frac{S}{BI} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_0 - \bar{C})^2}{S_{xx}}}$$

ตารางที่ 30 แสดงค่าความไม่แน่นอนจากการวิเคราะห์ซ้ำ

| N | ผลการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างสารสัมมนาหมายเลข ปฏิบัติการVC.904 | |
|------------------|---|------------------------|
| | %Fe (1) | %Fe(2) |
| 1 | 0.19672 | 0.19699 |
| 2 | 0.19872 | 0.19728 |
| 3 | 0.19800 | 0.19656 |
| 4 | 0.19734 | 0.19773 |
| Mean | 0.19770 | 0.19714 |
| SD. | 8.603×10^{-4} | 4.921×10^{-4} |
| SD. ² | 7.401×10^{-7} | 2.422×10^{-7} |
| F test | 3.06 | |
| Fcritical | 15.44 | |
| $(n1-1)SD_1^2$ | 2.220×10^{-6} | |
| $(n2-1)SD_2^2$ | 7.266×10^{-7} | |
| Sum | 2.947×10^{-6} | |
| Sum/6 | 4.912×10^{-7} | |
| S_{pooled} | 7.008×10^{-4} | |

| | | | | | |
|-------------|---------------------|---------------------|-----------|---------------------|---------------------|
| | VH.14 a | VH.14 b | | | |
| $U_{(v)}$ | 1.90×10^5 | 1.90×10^5 | Sum | 1.944×10^4 | 1.905×10^4 |
| $U_{(c)}$ | 1.06×10^4 | 1.06×10^4 | r. % | 0.20136 | 0.20172 |
| $U_{(ma)}$ | 1.000×10^6 | 1.00×10^4 | $U_{(v)}$ | 2.807×10^3 | 2.784×10^3 |
| $U_{(Rep)}$ | 6.047×10^4 | 6.047×10^6 | | | |
| $U_{(M)}$ | 1.49×10^8 | 1.43×10^8 | | | |
| $U_{(Co)}$ | 7.79×10^5 | 7.40×10^3 | | | |

ตารางที่ 31 แสดงค่าความไม่แน่นอนสัมพัทธ์ของแหล่งต่างๆ

| สัญลักษณ์ | รายละเอียด | ค่า(X) | หมายเลขตัวอย่าง : CD 277/01 หมายเลขปฏิบัติการ : VII.14 | | |
|--------------------|---|---------------------|--|--|---------------------|
| | | | ความไม่แน่นอนมาตรฐาน($U_{(Co)}$) | ความไม่แน่นอนมาตรฐานสัมพัทธ์ $U_{(Co)} / X$ | $[U_{(Co)} / X]^2$ |
| V | เครื่องแก้ววัดปริมาตร(glasswares) | 1 | 0.00138 | 0.00138 | 1.904×10^6 |
| C | ความเข้มข้นสารละลายเหล็กมาตรฐาน | 1 | 0.01030 | 0.01030 | 1.061×10^4 |
| Ins. | เครื่องมือ(Instrument) | 1 | 0.00100 | 0.00100 | 1.000×10^6 |
| Rep. | การวิเคราะห์ซ้ำ(Repeatability of determination) | 0.20154 | 4.956×10^4 | 2.459×10^3 | 6.047×10^6 |
| M | น้ำหนักตัวอย่าง | 2.0195 | 2.466×10^4 | 1.221×10^4 | 1.491×10^9 |
| Co | ปริมาณเหล็กที่วัดได้, ไม่ทราบ/100 สม.ขม. | 162.46 | 1.434 | 8.827×10^3 | 7.792×10^5 |
| r | ปริมาณเหล็ก, ร้อยละ | 0.20136 | | | |
| $U_{(r)}$ | ความไม่แน่นอนรวม | 2.773×10^3 | | | |
| $U_{(r) \times 2}$ | ความไม่แน่นอนขยาย | 5.595×10^3 | | | |

ตารางที่ 32 ตาราง Critical values of F for a two-tailed test (P = 0.05)

Critical values of F for a two-tailed test (P = 0.05)

| ν_1 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 12 | 15 | 20 |
|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | 647.8 | 799.5 | 864.2 | 899.6 | 921.8 | 937.1 | 948.2 | 956.7 | 963.3 | 968.6 | 976.7 | 984.9 | 993.1 |
| 2 | 38.51 | 39.00 | 39.17 | 39.25 | 39.30 | 39.33 | 39.36 | 39.37 | 39.39 | 39.40 | 39.41 | 39.43 | 39.45 |
| 3 | 17.44 | 16.04 | 15.44 | 15.10 | 14.88 | 14.73 | 14.62 | 14.54 | 14.47 | 14.42 | 14.34 | 14.25 | 14.17 |
| 4 | 12.22 | 10.55 | 9.979 | 9.605 | 9.364 | 9.197 | 9.074 | 8.980 | 8.905 | 8.844 | 8.751 | 8.657 | 8.569 |
| 5 | 10.01 | 8.434 | 7.764 | 7.383 | 7.146 | 6.978 | 6.853 | 6.757 | 6.681 | 6.619 | 6.525 | 6.428 | 6.329 |
| 6 | 8.813 | 7.260 | 6.599 | 6.227 | 5.988 | 5.820 | 5.695 | 5.600 | 5.523 | 5.461 | 5.366 | 5.269 | 5.168 |
| 7 | 8.073 | 6.542 | 5.890 | 5.523 | 5.285 | 5.119 | 4.995 | 4.899 | 4.823 | 4.761 | 4.666 | 4.568 | 4.467 |
| 8 | 7.571 | 6.059 | 5.416 | 5.053 | 4.817 | 4.652 | 4.529 | 4.433 | 4.357 | 4.295 | 4.200 | 4.101 | 3.999 |
| 9 | 7.209 | 5.715 | 5.078 | 4.718 | 4.484 | 4.320 | 4.197 | 4.102 | 4.026 | 3.964 | 3.868 | 3.769 | 3.667 |
| 10 | 6.937 | 5.456 | 4.826 | 4.468 | 4.236 | 4.072 | 3.950 | 3.855 | 3.779 | 3.717 | 3.621 | 3.522 | 3.419 |
| 11 | 6.724 | 5.256 | 4.630 | 4.275 | 4.044 | 3.881 | 3.759 | 3.664 | 3.588 | 3.526 | 3.430 | 3.330 | 3.226 |
| 12 | 6.554 | 5.096 | 4.474 | 4.121 | 3.891 | 3.728 | 3.607 | 3.512 | 3.436 | 3.374 | 3.277 | 3.177 | 3.073 |
| 13 | 6.414 | 4.965 | 4.347 | 3.996 | 3.767 | 3.604 | 3.483 | 3.388 | 3.312 | 3.250 | 3.153 | 3.053 | 2.949 |
| 14 | 6.298 | 4.857 | 4.242 | 3.892 | 3.663 | 3.501 | 3.380 | 3.285 | 3.209 | 3.147 | 3.050 | 2.949 | 2.844 |
| 15 | 6.200 | 4.765 | 4.153 | 3.804 | 3.576 | 3.415 | 3.293 | 3.199 | 3.123 | 3.060 | 2.963 | 2.862 | 2.756 |
| 16 | 6.115 | 4.687 | 4.077 | 3.729 | 3.502 | 3.341 | 3.219 | 3.125 | 3.049 | 2.986 | 2.889 | 2.788 | 2.681 |
| 17 | 6.042 | 4.619 | 4.011 | 3.665 | 3.438 | 3.277 | 3.156 | 3.061 | 2.985 | 2.922 | 2.825 | 2.723 | 2.616 |
| 18 | 5.978 | 4.560 | 3.954 | 3.608 | 3.382 | 3.221 | 3.100 | 3.005 | 2.929 | 2.866 | 2.769 | 2.667 | 2.559 |
| 19 | 5.922 | 4.508 | 3.903 | 3.559 | 3.333 | 3.172 | 3.051 | 2.956 | 2.880 | 2.817 | 2.720 | 2.617 | 2.509 |
| 20 | 5.871 | 4.461 | 3.859 | 3.515 | 3.289 | 3.128 | 3.007 | 2.913 | 2.837 | 2.774 | 2.676 | 2.573 | 2.464 |

ν_1 = number of degrees of freedom of the numerator and ν_2 = number of degrees of freedom of the denominator.

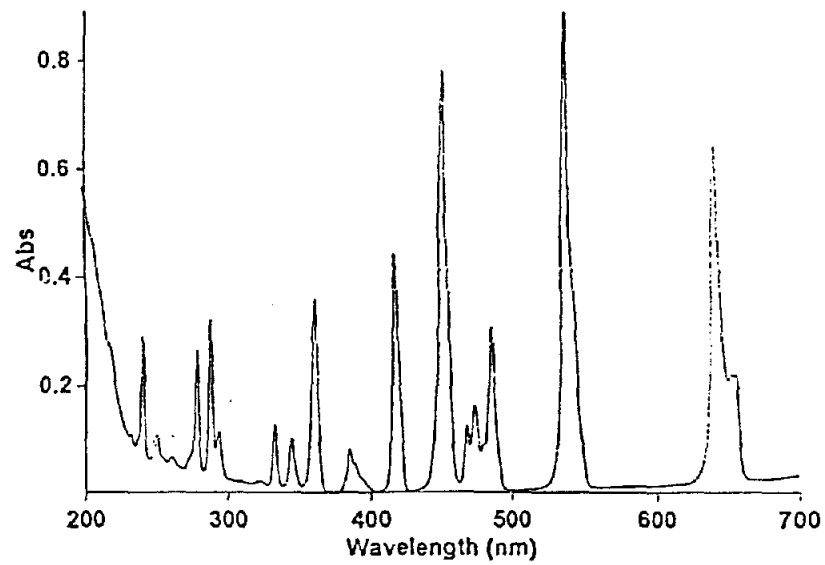
ตารางที่ 33 ตาราง The t-distribution

| The t-distribution | | | | |
|---|------|-------|-------|-------|
| Value of t for a confidence interval of | 90% | 95% | 98% | 99% |
| Critical value of $ t $ for P values of | 0.10 | 0.05 | 0.02 | 0.01 |
| Number of degrees of freedom | | | | |
| 1 | 6.31 | 12.71 | 31.82 | 63.66 |
| 2 | 2.92 | 4.30 | 6.96 | 9.92 |
| 3 | 2.35 | 3.18 | 4.54 | 5.82 |
| 4 | 2.13 | 2.78 | 3.75 | 4.60 |
| 5 | 2.02 | 2.57 | 3.36 | 4.03 |
| 6 | 1.94 | 2.45 | 3.14 | 3.71 |
| 7 | 1.89 | 2.36 | 3.00 | 3.50 |
| 8 | 1.86 | 2.31 | 2.90 | 3.36 |
| 9 | 1.83 | 2.26 | 2.82 | 3.25 |
| 10 | 1.81 | 2.23 | 2.76 | 3.17 |
| 12 | 1.78 | 2.18 | 2.68 | 3.05 |
| 14 | 1.76 | 2.14 | 2.62 | 2.98 |
| 16 | 1.75 | 2.12 | 2.58 | 2.92 |
| 18 | 1.73 | 2.10 | 2.55 | 2.88 |
| 20 | 1.72 | 2.09 | 2.53 | 2.85 |
| 30 | 1.70 | 2.04 | 2.46 | 2.75 |
| 50 | 1.63 | 2.01 | 2.40 | 2.63 |
| ∞ | 1.64 | 1.96 | 2.33 | 2.58 |

The critical values of $|t|$ are appropriate for a two-tailed test. For a one-tailed test the value is taken from the column for twice the desired P -value, e.g. for a one-tailed test, $P = 0.05$, 5 degrees of freedom, the critical value is read from the $P = 0.10$ column and is equal to 2.02.

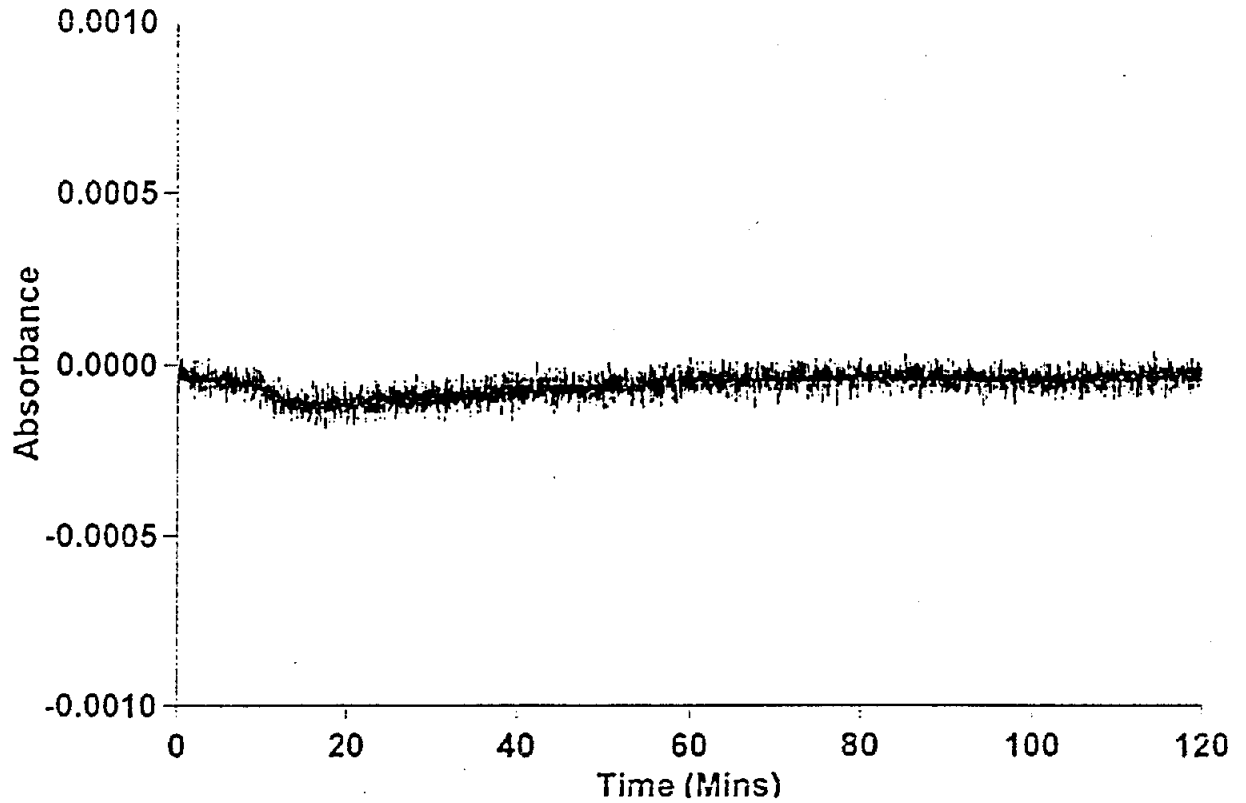
ตารางที่ 34 ร้อยละการคืนกลับของตัวอย่างที่วิเคราะห์โดยค่าผู้วิเคราะห์ และต่างเวลา

| ลำดับที่ | ร้อยละการคืนกลับ |
|--------------------------|------------------|
| 1 | 100.60 |
| 2 | 99.00 |
| 3 | 103.90 |
| 4 | 102.00 |
| 5 | 100.40 |
| 6 | 101.20 |
| 7 | 99.50 |
| 8 | 101.10 |
| 9 | 103.40 |
| 10 | 99.00 |
| 11 | 97.90 |
| 12 | 99.20 |
| 13 | 100.20 |
| 14 | 98.80 |
| 15 | 100.90 |
| 16 | 99.80 |
| 17 | 101.00 |
| 18 | 99.40 |
| ค่าเฉลี่ย, X | 100.41 |
| ความเบี่ยงเบนมาตรฐาน, SD | 1.57 |
| X \pm 2SD | 97.27 – 103.55 |
| X \pm 3SD | 95.7 – 105.11 |



| Wavelength (nm) | Abs |
|-----------------|---------|
| 640.90 | 0.64678 |
| 536.80 | 0.89299 |
| 485.20 | 0.31039 |
| 467.5 | 0.12623 |
| 451.20 | 0.78316 |
| 416.60 | 0.44419 |
| 385.80 | 0.08373 |
| 361.10 | 0.36206 |
| 345.40 | 0.10349 |
| 333.50 | 0.12816 |
| 287.60 | 0.32238 |
| 278.10 | 0.26620 |
| 241.10 | 0.29172 |

รูปที่ 6 ยูวีสเปกตรัมของ Holmium oxide



Report changed 15/5/01 13:13:13 by sorada

Cary Validation Report

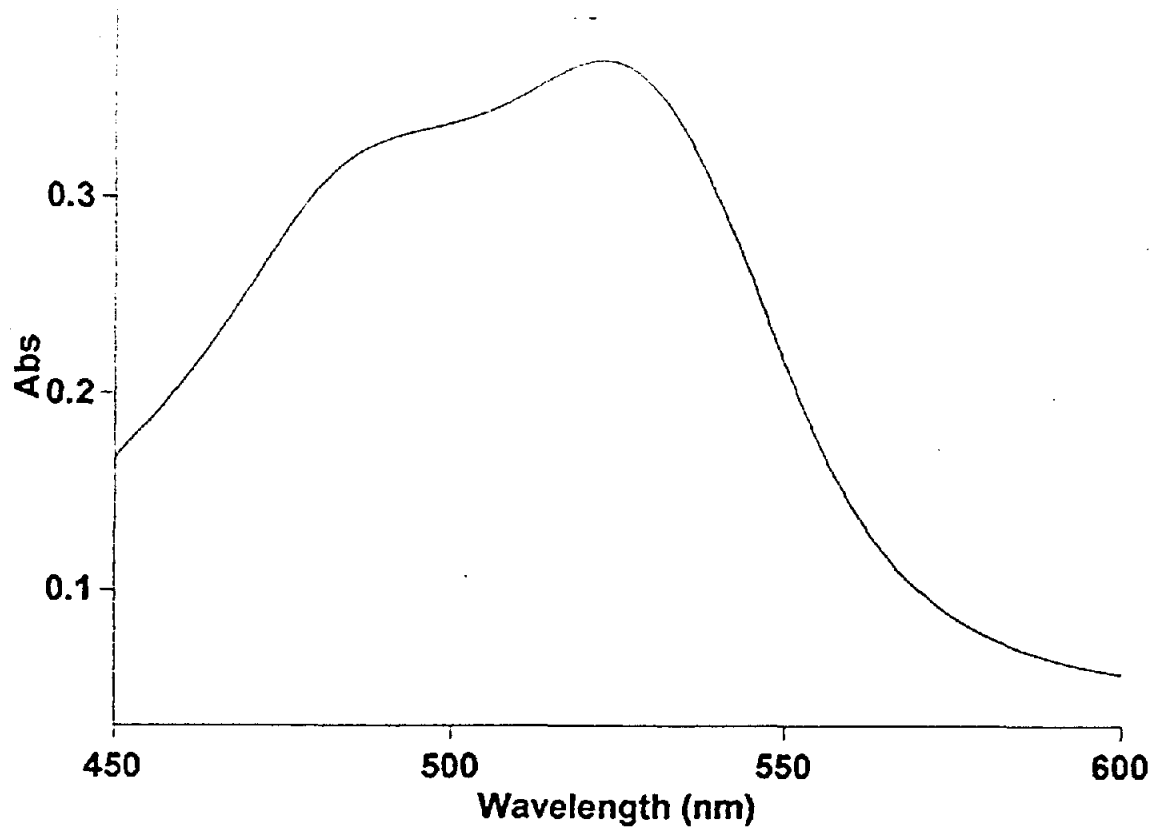
Collection Time: 10:45:06 15/5/01
 Instrument: Cary 500
 Software Version: 01.00(8)
 Report: 15_5_01 10;45;06.RVO
 Operator Name: sorada
 Comments:
 baseline stability

Photometric Stability test

15/5/01 10:46:01
 Instrument parameters
 SBW : 2.00 nm
 Ave Time(Sec) : 1.000
 Wavelength: 500.000 nm
 Limit : 0.0002 Abs/hr.
 Time : 2.0 (hrs).

Abs stability was 0.000006 Abs/hr. PASSED

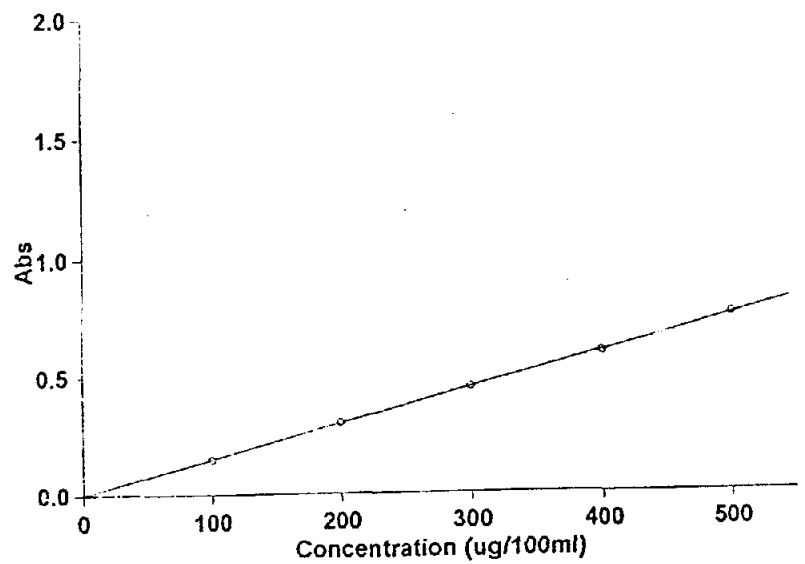
รูปที่ 7 แสดงเสถียรภาพของเบสไลน์



รูปที่ 8 ยูวี-วิสิเบิลสเปกตรัมของสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กในตัวอย่างสารสัมพัทธ์กับ 2, 2 ไบไพริดีล

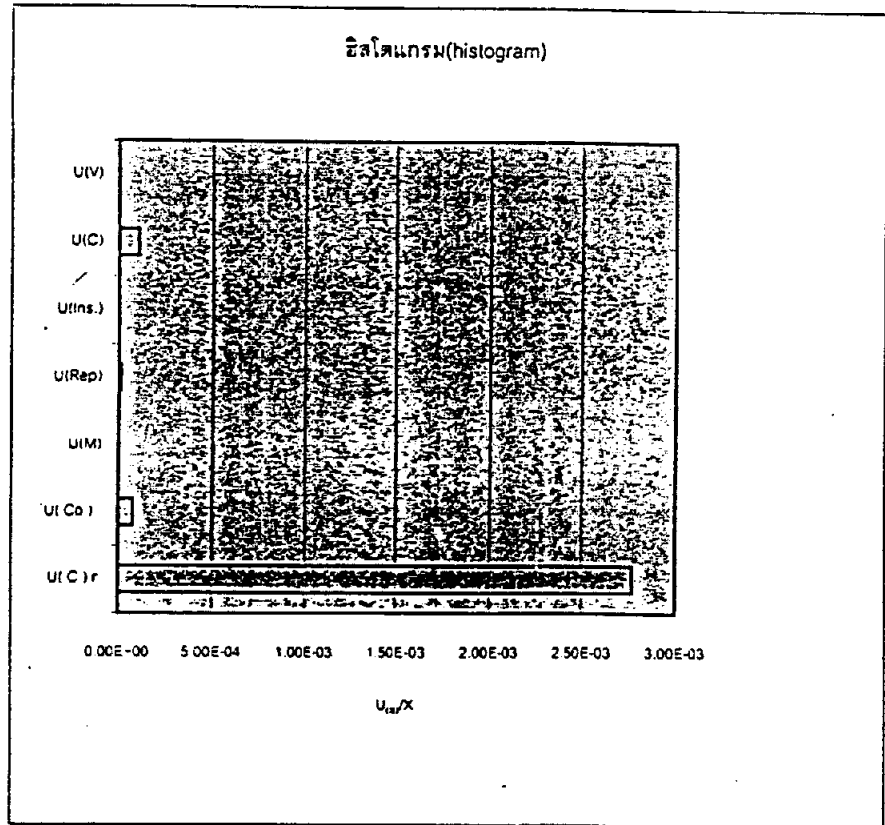
| Standard | Concentration ug/100ml | F | Mean | SD | IPSD | Readings |
|----------|------------------------|---------|--------|------|------|-------------------------------|
| Std 1 | 100.00 | 0.14718 | 0.0002 | 0.10 | | 0.14725 0.14728 0.14700 |
| Std 2 | 200.00 | 0.30147 | 0.0001 | 0.03 | | 0.30138 0.30155 0.30149 |
| Std 3 | 300.00 | 0.44850 | 0.0001 | 0.02 | | 0.44850 0.44842 0.44857 |
| Std 4 | 400.00 | 0.59380 | 0.0001 | 0.01 | | 0.59380 0.59374 0.59378 |
| Std 5 | 500.00 | 0.74954 | 0.0001 | 0.02 | | 0.74944 0.74971 0.74948 |

Calibration eqn: $A_{520} = 0.00149 \times \text{Conc}$
 Correlation Coefficient: 0.99992
 Calibration time: 4/1/2011 16:27:42

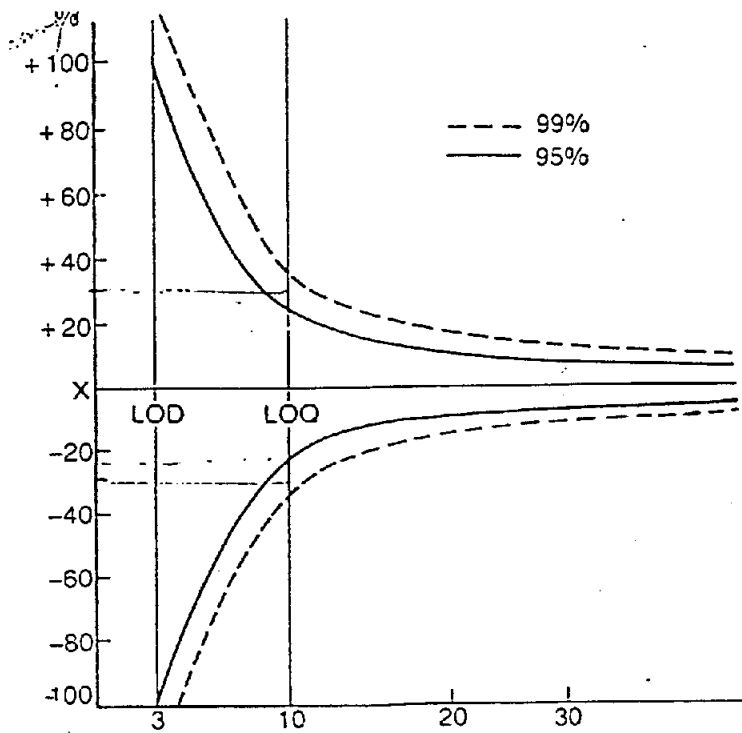


รูปที่ 9 กราฟสอบเทียบ(calibration curve)

| | |
|-------------|----------|
| $U_{(C)r}$ | 2.77E-03 |
| $U_{(Co)}$ | 7.79E-05 |
| $U_{(M)}$ | 1.49E-08 |
| $U_{(Rep)}$ | 1.26E-05 |
| $U_{(Ins)}$ | 1.00E-06 |
| $U_{(C)}$ | 1.06E-04 |
| $U_{(V)}$ | 1.90E-06 |



รูปที่ 10 ฮิสโตแกรมของความไม่แน่นอนมาตรฐานสัมพัทธ์จากแหล่งต่างๆ



รูปที่ 11 แสดงค่าความไม่แน่นอนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆของสารที่ด้องการวิเคราะห์

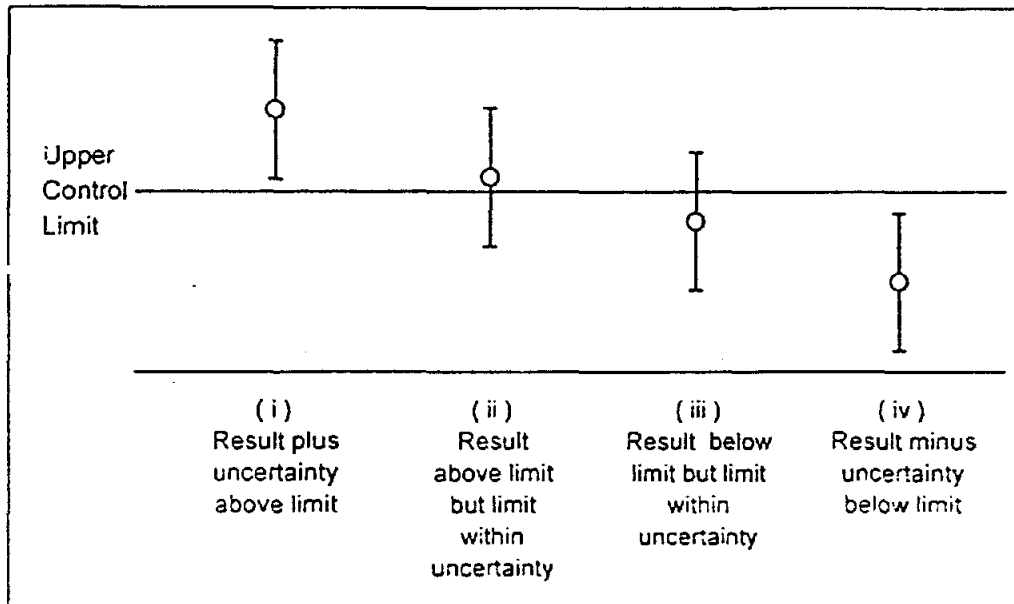


Figure 2: Uncertainty and compliance limits

รูปที่ 12 แสดงการเป็นไปตามเกณฑ์กำหนดของผลการวิเคราะห์ บวกลบค่าความไม่แน่นอน



ใบรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ

ใบรับรองฉบับนี้ให้ไว้เพื่อแสดงว่า

ห้องปฏิบัติการทดสอบ กองเคมี

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

เลขที่ 75/7 ถนนพระรามที่ 6 แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพมหานคร

ได้ผ่านการประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการ ทดสอบ

ภายใต้ระบบการรับรองห้องปฏิบัติการ ของ สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

ตามมาตรฐานข้อกำหนดทั่วไปว่าด้วยความสามารถของห้องปฏิบัติการทดสอบและห้องปฏิบัติการสอบเทียบ

มอก.17025 - 2543

ISO/IEC 17025 : 1999

หมายเลขการรับรองที่ ทดสอบ 0018

รายละเอียดการรับรองดังขอแจ้งการรับรองแนบท้าย

ออกให้ ณ วันที่ : 15 ตุลาคม 2544

สิ้นอายุ วันที่ : 14 ตุลาคม 2547

ลงชื่อ :

(นายสุรชัย เกลิงใจ)

รองปลัดกระทรวงอุตสาหกรรม

ปฏิบัติราชการแทนปลัดกระทรวงอุตสาหกรรม

ประธานกรรมการ

คณะกรรมการมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

ออกให้ครั้งแรก เมื่อ 23 ธันวาคม 2540

การรับรองห้องปฏิบัติการ สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม

ขอขำการรับรองห้องปฏิบัติการทดสอบ

ชื่อห้องปฏิบัติการ : ห้องปฏิบัติการทดสอบ

กองเคมี กรมวิทยาศาสตร์บริการ

สถานที่ตั้ง : 75/7 ถนนพระรามที่ 6 แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพมหานคร

หมายเลขการรับรองที่ : ทดสอบ 0018

สถานะของห้องปฏิบัติการ : ภายใน นอกสถานที่ ซ้ำคาว เคลื่อนที่

| วัสดุ/ผลิตภัณฑ์ที่ทดสอบ | รายการที่ทดสอบ/ช่วงของการวัด | มาตรฐาน/วิธีทดสอบ/เทคนิคที่ใช้ |
|-------------------------|--|---|
| 1. สารส้มน้ำ | <ul style="list-style-type: none"> • เหล็ก ช่วง : ร้อยละ 0.02 ถึง 0.5 โดยน้ำหนัก • ตะกั่ว ปริมาณต่ำสุดที่ตรวจสอบได้ : 1.0 มิลลิกรัม ต่อกลีโกรัม • แมงกานีส ปริมาณต่ำสุดที่ตรวจสอบได้ : 0.1 มิลลิกรัม ต่อกลีโกรัม • ความเป็นกรด - ด่าง ช่วง : 1.0 ถึง 7.0 | <p>In - house Method : CD.OC.TM.UV.01 Based on มอก. 165 - 2542</p> <p>In - house Method : CD.OC.TM.AA.01 Based on Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, APHA, AWWA, WEF, 20th ed., 1998</p> <p>มอก. 165 - 2542</p> |

ฉบับที่ 3

หน้า 1/9

ออก ณ วันที่ 15 ตุลาคม 2544

การรับรองห้องปฏิบัติการ สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม



1. หลักการวิเคราะห์สารด้วย ยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

การดูดกลืนแสงของสารละลาย จะเป็นปฏิภาคโดยตรงกับความเข้มข้นของสารละลายที่ต้องการวัด

$$A \propto C$$

$$A = -\log T \quad T = P/P_0$$

$$= \log P_0/P \quad A = \text{ค่าการดูดกลืนแสง}$$

Transmittance (T): fraction ของค่าของแสงที่ผ่านมาจาก absorbing species นิยาม โดย

$$T = P/P_0$$

P_0 คือ ความเข้มข้นแสงก่อนผ่าน absorbing species

P คือความเข้มแสงหลังผ่าน absorbing species

Molar absorptivity (ϵ):ค่าที่แสดงถึงความสามารถในการดูดกลืนแสงของ absorbing species ที่ความยาวคลื่นที่กำหนด มีหน่วยเป็นลิตรต่อโมล-เซนติเมตร

Beer 's Law

แสงผ่านสารละลายที่มีการดูดกลืนแสง ความส่องผ่านของแสง (transmittance)มีความสัมพันธ์เป็นสมการ exponential กับความเข้มข้นของสาร และระยะทางที่แสงผ่าน

$$A = \epsilon bc$$

A = absorbance

ϵ = molar absorptivity ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$)

b = ความกว้างของเซลล์ (cm.)

c = concentration (mol/L)

ข้อจำกัดในการใช้กฎของเบียร์

- ใช้แสงความยาวคลื่นแคบ (monochromatic light)
- สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
- ช่วงความเข้มข้นเหมาะสม
- สารดูดกลืนของสารแต่ละชนิดเป็นอิสระต่อกัน
- แสงที่ผ่านตัวอย่างต้องตกกระทบบนผิวของตัวกลาง

การเบี่ยงเบนจากกฎของเบียร์

- กราฟสอบเทียบไม่ผ่านจุด(0,0)
- กราฟสอบเทียบไม่เป็นเส้นตรงตลอดช่วง
- สาเหตุจากเครื่องมือ

สารดูดกลืนแสง (absorbing species)

สารประกอบอินทรีย์และอนินทรีย์ที่มีอิเล็กตรอน ใน n orbital

สารประกอบอินทรีย์ที่มีอิเล็กตรอนใน d และ f orbital

สารประกอบเชิงซ้อนที่มีการถ่ายโอนประจุ (Charge transfer)

การวิเคราะห์หาปริมาณของสารด้วยการใช้เทคนิค ยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี

-การวิเคราะห์หาปริมาณโดยวิธีกราฟสอบเทียบ(standard curve or external standard)

-การวิเคราะห์หาปริมาณโดยวิธีการเพิ่มเติมสารมาตรฐาน (standard addition)

-การหาปริมาณโดยวิธี Derivative และ Dual-Wavelength

-การหาปริมาณโดยวิธีการไทเทรต (photometric titration)

วิธีวิเคราะห์ที่นิยมใช้กันทั่วไป คือ วิธีกราฟสอบเทียบโดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) โดยเทียบกับสารละลายเบสค์ นำผลที่ได้มาเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสง กับความเข้มข้น จะได้กราฟเส้นตรง เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสง ของสารตัวอย่างได้ ก็จึงหาปริมาณของสารที่จะวิเคราะห์ได้โดยอ่านจากกราฟสอบเทียบ

ขั้นตอนการวิเคราะห์เชิงปริมาณ

ก่อนที่จะทำการวิเคราะห์สารตัวอย่างทั้งคุณภาพและปริมาณควรที่ศึกษาสภาวะที่เหมาะสม ที่สำคัญ คือ

1. ศึกษาการเตรียมสารละลายตัวอย่าง โดยเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม นั่นคือ ตัวทำละลายต้องไม่มีการดูดกลืนแสงในช่วงเดียวกับสารตัวอย่าง โมเลกุลไม่ควรมี conjugated system
2. เลือกสภาวะของเครื่องมือให้ถูกต้อง เช่น หลอดกำเนิดแสง สลิต
3. ศึกษาการดูดกลืนแสง สเปกตรัมโดยสแกน (scan) ค่าการดูดกลืนแสง
4. ศึกษาตัวแปรต่างๆที่จะทำให้ค่าการดูดกลืนแสง เปลี่ยนแปลงได้
 - ตัวทำละลาย
 - ความเป็นกรด-ด่าง (pH)
 - ตัวรบกวน (interference)
 - ในกรณีที่วิธีทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อน ควรศึกษาความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อนและเวลาในการเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์
5. ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณต้องเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ในกรณีทำการวิเคราะห์สารอินทรีย์ ซึ่งโดยปกติสารเหล่านั้นมักจะไม่มีสีและไม่ดูดกลืนแสงในช่วงยูวีด้วย ดังนั้นส่วนใหญ่จึงใช้วิธีทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อน กับพวกสารอินทรีย์บางชนิดเพื่อทำให้เกิดสารประกอบที่มีสี

สารที่จะใช้ในการทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนเพื่อให้ได้สารละลายที่มีสี ควรมีลักษณะดังนี้

1. ปราศจากสารรบกวนหรือเป็นสารที่บริสุทธิ์
2. ไม่ควรมีสี แต่ถ้ามีสี ควรดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นห่างกันพอสมควร
3. การเกิดสีควรเร็วพอสมควร
4. ปฏิริยาต้องเป็นปริมาณสัมพันธ์ (stoichiometry) และเฉพาะ (selectivity)
5. สีที่เกิดขึ้นไม่ควรขึ้นกับปริมาณสารที่เติมลงไปแต่จะต้องขึ้นกับปริมาณของสารที่ต้องการจะวิเคราะห์
6. ให้ λ_{max} ที่ความยาวคลื่นที่ต้องการ
7. ควรทราบถึงปฏิริยาที่เกิดขึ้นอย่างดี
8. วิธีการต่างๆไม่ควรยุ่งยากมากนักหรือมีขั้นตอนต่างๆที่ใช้เวลานานเกินไป

การบำรุงรักษาเครื่อง ยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

1. ทำความสะอาดเครื่องมืออยู่เสมอ โดยใช้ผ้านุ่มที่สะอาด ห้ามใช้ผ้าทำละลายอินทรีย์หรือสารกัดสี
2. ถ้ามีสารเคมีตกหรือหยดบนส่วนใดส่วนหนึ่งของเครื่องมือ ต้องรีบเช็ดออกทันที
3. หลังการวัดให้ทำความสะอาด cell ด้วย 2 % Teepol แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นจนสะอาด ปล่อยให้แห้ง เก็บในที่มืดชิด
4. หลังการใช้งานเสร็จ ต้องปิดเครื่องมือทุกส่วนที่เกี่ยวข้อง คลุมด้วยพลาสติกกันฝุ่น
5. Deuterium lamp check ปฏิบัติทุก 1 ปี

2. ประเภท ชนิด ชั้นคุณภาพ ของสารส้ม

สารส้มแบ่งออกเป็น 2 ประเภทตามการใช้งานคือ สารส้มอุตสาหกรรม และสารส้มเภสัชกรรม

2.1. สารส้มอุตสาหกรรมแบ่งออกเป็น 3 ชนิดคือ

2.1.1 ชนิดที่ 1 เกลือซัลเฟตของอะลูมิเนียม หรืออะลูมิเนียมซัลเฟต $[Al_2(SO_4)_3 \cdot xH_2O]$

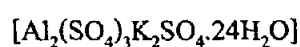
แบ่งออกเป็น 3 ชั้นคุณภาพคือ

(1) ชั้นคุณภาพที่ 1

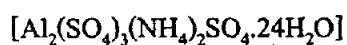
(2) ชั้นคุณภาพที่ 2

(3) ชั้นคุณภาพที่ 3

2.1.2 ชนิดที่ 2 เกลือเชิงซ้อนของโพแทสเซียมหรือโพแทสเซียม



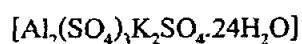
2.2 ชนิดที่ 3 เกลือเชิงซ้อนของแอมโมเนียมหรือแอมโมเนียมอะลัม



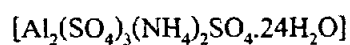
2.3 สารส้มเภสัชกรรม แบ่งออกเป็น 3 ชนิดคือ

2.3.1 ชนิดที่ 1 เกลือซัลเฟตของอะลูมิเนียมหรืออะลูมิเนียมซัลเฟต $[Al_2(SO_4)_3 \cdot xH_2O]$

2.3.2 ชนิดที่ 2 เกลือเชิงซ้อนของโพแทสเซียมหรือโพแทสเซียมอะลัม



2.3.3 ชนิดที่ 3 เกลือเชิงซ้อนของแอมโมเนียมหรือแอมโมเนียมอะลัม



3. สูตรการคำนวณสำหรับสถิติที่ใช้ในการทดลอง

3.1 ค่าเฉลี่ย(mean, \bar{X})

$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{n}$$

3.2 ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน(standard deviation, SD)

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

$$n < 30$$

3.3 สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน(covariance of variation)

$$\%C.V = \frac{SD \times 100}{\bar{X}}$$

3.4 การทดสอบนัยสำคัญ(significance test)

3.4.1 การทดสอบความแปรปรวน F-test

$$F = \frac{SD_1^2}{SD_2^2} > 1 \text{ เสมอ}$$

$F_{\text{คำนวณ}}$ มากกว่าหรือเท่ากับ $F_{\text{วิกฤต}}$ Two tailed 95 % degree of freedom เท่ากับ $n-1$ แสดงว่าค่าความแปรปรวนของข้อมูลทั้งสองชุดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

3.4.2 การทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย T-test

3.4.2.1 เปรียบเทียบระหว่างค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์กับค่าจริง

$$t = \frac{|\bar{x} - \mu|}{\frac{SD}{\sqrt{n}}}$$

$T_{\text{คำนวณ}}$ มากกว่าหรือเท่ากับ $T_{\text{วิกฤต}}$ Two tailed 95 % degree of freedom เท่ากับ $n-1$ แสดงว่าค่าเฉลี่ยของข้อมูลแตกต่างจากค่าจริงอย่างมีนัยสำคัญ

3.4.2.2 เปรียบเทียบระหว่างค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ 2 ชุด

ก. ค่าความแปรปรวนเท่ากัน

$$t = \frac{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)}{S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

$$S^2 = \frac{\{(n_1-1)s_1^2 + (n_2-1)s_2^2\}}{n_1 + n_2 - 2}$$

$T_{\text{คำนวณ}}$ มากกว่าหรือเท่ากับ $T_{\text{วิกฤต}}$ Two tailed 95 % degree of freedom

เท่ากับ $n_1 + n_2 - 2$ แสดงว่าค่าเฉลี่ยของข้อมูลทั้งสองชุดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ข. ค่าความแปรปรวนไม่เท่ากัน

$$t = \frac{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)}{S \sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}$$

$T_{\text{คำนวณ}}$ มากกว่าหรือเท่ากับ $T_{\text{วิกฤต}}$ Two tailed 95 % degree of freedom

เท่ากับ =

$$= \left\{ \frac{(s_1^2/n_1 + s_2^2/n_2)^2}{\frac{(s_1^2/n_1)^2}{n_1+1} + \frac{(s_2^2/n_2)^2}{n_2+1}} \right\} - 2$$

แสดงว่าค่าเฉลี่ยของข้อมูลทั้งสองชุดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

3.4.2.3 เปรียบเทียบระหว่างค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ 2 ชุดข้อมูลที่คู่กัน ซึ่งข้อมูลหนึ่งเป็นผลมาจากปัจจัยที่เลือก วิธีทดสอบที่ใช้คือ t-Test: Paired Two

Sample for Means

$$t = \frac{\bar{X}_d \sqrt{n}}{SD_d}$$

เมื่อ \bar{X}_d = ค่าเฉลี่ยของความแตกต่างระหว่างข้อมูลทั้งสองชุดที่คู่กัน
 SD_d = ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของความแตกต่างระหว่าง
ข้อมูลทั้งสองชุดที่คู่กัน
 n = จำนวนคู่ของข้อมูลที่นำมาเปรียบเทียบกัน
 $T_{คำนวณ}$ มากกว่าหรือเท่ากับ $T_{วิกฤต}$ Two tailed 95 % degree of freedom
เท่ากับ = $n-1$

3.5 ความสัมพันธ์ (correlation coefficient, r)

$$r = \frac{\sum XY - n \bar{X} \bar{Y}}{n XY}$$

n = จำนวนคู่ของตัวอย่าง

3.6 สมการถดถอย (simple linear regression)

$$y = a + bx$$

4. บทนิยาม

4.1 บทนิยามเกี่ยวกับการตรวจสอบความใช้ได้ของเครื่องมือ UV-VIS ⁽⁴⁾

4.1.1 stray radiation เป็นแสงที่มีพลังงาน/ความยาวคลื่นอยู่นอกช่วงที่ใช้วิเคราะห์แต่ตรวจวัดได้ด้วยดีเทคเตอร์

4.1.2 photometric linearity เป็นการวัดความสามารถของเครื่องมือที่ใช้กราสอบเทียบเป็นเส้นตรงใช้ตรวจสอบประสิทธิภาพของการวัดของเครื่องมือ

4.1.3. wavelength accuracy เป็นการตรวจวัดค่าความแม่นยำของการรายงาน ค่าความยาวคลื่นของเครื่องมือโดยเปรียบเทียบค่าที่เครื่องมือรายงานกับค่าจริงแสดงผลเป็นสเปกตรัม

4.1.4 wavelength repeatability เป็นการหาค่าความเที่ยงในการรายงานค่าความยาวคลื่น

4.1.5 spectral band width เป็นค่าความกว้างของพีกมาตรฐานวัดที่ความสูงของพีกเป็นครึ่งหนึ่งของความสูงพีกทั้งหมด ค่านี้ขึ้นอยู่กับความกว้างของช่องที่แสงผ่านของเครื่องมือ

4.1.6 photometric accuracy เป็นการหาค่าความแม่นยำของการวัดโดยการวัดค่าร้อยละการส่งผ่านของแสง(% Transmittance) หรือค่าการดูดกลืนแสงของเครื่องมือ โดยเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานค่าที่วัดได้กับค่าจริง

4.1.7 photometric repeatability เป็นการหาความเที่ยงของการวัดค่าความเข้มแสงซ้ำกันหลายๆครั้ง

4.1.8 baseline stability เป็นการวัดอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงต่อชั่วโมง (Abs./Hour)

4.1.9 baseline flatness เป็นการวัดสัญญาณรบกวนในระบบของเครื่องมือ ตลอดช่วงความยาวคลื่น ทำ baseline flatness (A.U.) บอกถึงปริมาณของสัญญาณรบกวน

4.1.10 ระดับสัญญาณรบกวน (noise level) เป็นสัญญาณรบกวน (noise) ซึ่งหมายถึงสัญญาณของดีเทคเตอร์ที่เปลี่ยนไปโดยผลมาจากแสงและอิเล็กทรอนิกส์

4.1.11 พลังงาน หมายถึง พลังงานของแสงที่ปล่อยจากโมโนโครมาเตอร์ไปกระทบตัวรับแสง ตลอดช่วงความยาวคลื่นที่ใช้

4.2 บทนิยามเกี่ยวกับการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ^(5 9.12.15)

4.2.1 Precision: ความเที่ยงของการวัดซ้ำหลาย ๆ ครั้ง ซึ่งแสดงผลโดยค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน(standard deviation) ซึ่งก็คือความผิดพลาดแบบสุ่ม (random error)

4.2.2 Bias: ความโน้มเอียง หรือความเบี่ยงเบนของผลการวิเคราะห์จากค่าความจริงอันเนื่องมาจากความผิดพลาดของระบบ(systematic error) ซึ่งเกิดจากวิธีการวิเคราะห์(method bias) การนำวิธีวิเคราะห์ไปปฏิบัติ(laboratory's practice bias)

4.2.3 Accuracy: ความแม่นยำของผลการวัดกับค่าจริง ซึ่งรวมค่าความโน้มเอียงและค่าความแม่นยำของกระบวนการวิเคราะห์

4.2.4 Selectivity/Specificity: ความสามารถในการวิเคราะห์สารที่ต้องการวิเคราะห์ในตัวอย่างที่มีสารอื่นเจือปน

4.2.5 Working Ranges: ช่วงความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์ที่สามารถทำการวิเคราะห์ได้ โดยมีค่าความถูกต้อง ความแม่นยำอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

4.2.6 Linear Ranges: ช่วงความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์ ที่มีความสัมพันธ์กับสัญญาณที่วัดได้เป็นเส้นตรง

4.2.7 Limit of Linearity (LOL): ค่าความเข้มข้นสูงสุดที่วัดได้อย่างมีความน่าเชื่อถือ

4.2.8 Useful range of methodology: ช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมแก่การใช้งาน คือช่วงระหว่าง LOQ กับ LOL

4.2.9 Instrumental detection limit (IDL): ความเข้มข้นที่ให้ค่าสัญญาณมากกว่า 1.645 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารละลายเบลงค์ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์⁽⁵⁾ โดยวัดค่าสารละลายเบลงค์ 10 ซ้ำ

4.2.10 Method detection limit (MDL): ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวัดได้ในสารตัวอย่าง

$$MDL = 3S_0$$

4.2.11 Limit of quantitation (LOQ): ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวัดทางปริมาณได้ในสารตัวอย่าง โดยมีความถูกต้องและความแม่นยำอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

$$LOQ = 10S_0$$

4.2.12 Robustness: ความแข็งของวิธี เป็นความสามารถในการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีเนื้อสารแตกต่างกันภายใต้ตัวแปรของภาวะการทำงานปกติ

4.2.13 Reproducibility: การทวนซ้ำได้เป็นค่าความแม่นยำที่ทำการทดสอบภายใต้ภาวะที่แตกต่างกัน ใช้วิธีทดสอบเดียวกัน ปฏิบัติโดยต่างบุคคล ต่างห้องปฏิบัติการ ช่วงระยะเวลาต่างกัน

4.2.14 Repeatability: การทำซ้ำได้ เป็นค่าความเที่ยงที่ทำการทดสอบภายใต้ภาวะทดสอบเดียวกัน ใช้วิธีทดสอบเดียวกัน ปฏิบัติโดย ห้องปฏิบัติการเดียวกัน ผู้ทดสอบคนเดียวกัน ช่วงระยะเวลาใกล้เคียงกัน

4.2.15 Ruggedness: ความสามารถของวิธีที่วิเคราะห์ตัวอย่างได้ ภายใต้สภาวะที่ต่างกัน เช่น อุณหภูมิ ความดันบรรยากาศ สารเคมี ภาวะความเป็นกรด-ด่าง(pH) ชนิดและความเข้มข้นของตัวทำละลาย ปริมาณตัวอย่าง เวลาที่ใช้กวนสารละลาย เป็นต้น